



# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA**

**Farmacocinética de Norfloxacinó en  
Conejos**

**Dña. Francisca García Martínez  
2016**



UNIVERSIDAD DE MURCIA  
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

---

# FARMACOCINÉTICA DE NORFLOXACINO EN CONEJO

---

Memoria presentada por  
Francisca García Martínez  
Para optar al grado de Doctor en  
Biología

2016



DEDICATORIA



*A mí madre, por su ejemplo de  
lucha y honestidad. Por el amor  
que tiene a sus hijos, por  
quererme y demostrarme cada  
día que nunca dejará de hacerlo.*



# AGRADECIMIENTOS





*Al finalizar este trabajo tiendo a hacer un análisis objetivo que me muestra al instante que la magnitud del mismo hubiese sido imposible sin la participación de muchas personas. Por ello, es para mí un verdadero placer utilizar este espacio para expresarles mi agradecimiento.*

*Deseo expresar un especial y sincero agradecimiento a mi director de tesis, el **Dr. Pedro Marín Carrillo**, por dirigirme extraordinariamente, siendo generoso en múltiples aspectos. Desde el primer momento me hizo ver que esta aventura investigadora era posible, demostrando su confianza en mí y animándome a que cumpliera esta meta científica que me propuse años antes. Le agradezco también su paciencia y sus siempre atentas respuestas a las inquietudes surgidas durante el desarrollo de este trabajo. Sus momentos de simpatía e inteligencia innata rompían el filo de algunos arduos conceptos de Farmacología, haciéndolos más asequibles al redondearlos como buen transmisor de conocimientos científicos. Además de agradecerle su ayuda en el despacho, también deseo hacerlo por la que me ofreció gustosamente en el laboratorio en la fase experimental, dedicando todo el tiempo que le fue posible. Y, ante todo, deseo agradecerle que, además de brindarme sus conocimientos y experiencias profesionales, me haya permitido considerarlo un amigo.*

*A mi directora de tesis, la **Dra. Elisa Escudero Pastor**, por aceptarme y depositar su confianza en mí para realizar este trabajo. Ha sido un aporte decisivo en el desarrollo de esta tesis al reflejar su excelente carrera profesional. Le agradezco, también, el haberme facilitado los medios para llevar a cabo la fase de experimentación y la de análisis estadístico de los datos. Su ayuda en la toma de muestras demostró que su competencia profesional no riñe con su exquisita y cálida personalidad.*

*Aprovecho para agradecer a **Verónica**, su aportación para las técnicas necesaria aplicadas al HPLC. Ha sido la clave del buen trabajo que se ha realizado, el cual no se puede concebir sin su oportuna participación. Ha mostrado ser una gran profesional y cariñosa compañera.*

*No puedo olvidar en mis agradecimientos a mis compañeras de trabajo, **Elena y Cruz**, que son dos profesoras admirables. Por sus buenos consejos en estos últimos años de mi vida. Han sido siempre generosas y dispuestas, compartiendo sus conocimientos y experiencias de tipo profesional y personal. Espero que en el futuro la vida nos ofrezca muchas oportunidades de trabajar nuevamente juntas.*

*Un especial agradecimiento a mi gran amiga **Alicia**, a la que conozco desde hace veinte años, por estar siempre a mi lado a pesar de la distancia. Por compartir tantos buenos momentos y por su cariño. También, deseo expresar mi gratitud a mis amigas **M<sup>a</sup> Cruz e Isa**, de quienes siempre he recibido comprensión por mis ausencias debidas a años de trabajo y estudio.*

*Este trabajo nunca hubiese sido posible sin el amparo que me dio y el amor que me inspiró **mi familia**, que, de forma incondicional, entendió mis malos momentos. Por haber estado siempre junto a mí en momentos importantes de mi vida, ayudándome mientras forjaba mi persona. Gracias por los buenos y malos momentos, por aguantarme y por escucharme.*

*Y, por supuesto, el agradecimiento más profundo a mi pequeña familia, **Jaime y nuestro hijito**, por lo maravillosos que sois al lograr emocionarme cada día con una sonrisa.*

*Las palabras nunca serán suficientes ni bellas para transmitir mi agradecimiento a todos vosotros.*

# ÍNDICE



1.- INTRODUCCIÓN .....	1
2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	6
2.1.- Introducción histórica .....	7
2.2.-Estructura química y clasificación .....	11
2.3.- Relación estructura actividad .....	17
2.4.- Propiedades físicas y químicas .....	20
2.5.- Mecanismo de acción .....	24
2.6.- Integración farmacocinética-farmacodinámica (PK/PD) .....	28
2.7.- Espectro antibacteriano .....	31
2.8.- Resistencias .....	36
2.8.1.- Alteraciones que afectan a la diana de las fluoroquinolonas.....	37
2.8.2.-Modificaciones que disminuyen la concentración de la quinolona en el interior de la bacteria.....	37
2.8.2.1.- Resistencias por alteración de la membrana externa en bacterias gram negativas.....	37
2.8.2.2.-Resistencia a causa de la sobreexpresión de bombas de eflujo en bacterias gram positivas y gram negativas.....	38
2.8.3.- Sensibilidad a norfloxacin. Puntos de corte.....	42
2.9.- Propiedades Farmacocinéticas .....	44
2.9.1.-Absorción y biodisponibilidad .....	44
2.9.2.- Distribución tisular y conjugación proteica.....	46
2.9.3.- Aclaramiento plasmático.....	49
2.9.4.- Diferencias interespecíficas de norfloxacin.....	51
2.10.- Interacciones .....	53
2.11.- Toxicidad y efectos adversos .....	56
2.12.- Aplicaciones terapéuticas de las fluoroquinolonas .....	62
3.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	65
3.1.- Material .....	66
3.1.1.- Material fungible .....	66
3.1.2.- Productos y reactivos .....	66
3.1.3.- Aparatos .....	67
3.1.4.- Software informático .....	67

3.2.- Animales .....	68
3.3.- Métodos: protocolo experimental .....	68
3.4.- Técnicas analíticas. Validación de la técnica .....	69
3.5.- Análisis farmacocinético .....	71
3.5.1.- Análisis Compartimental .....	71
3.5.2.- Análisis No Compartimental .....	71
3.6.- Métodos estadísticos .....	72
4.- RESULTADOS.....	73
4.1.- Administración intravenosa .....	74
4.2.- Administración intramuscular .....	77
4.3.- Administración subcutánea .....	79
4.4.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos de norfloxacino obtenidos tras su administración intravenosa, intramuscular y subcutánea .....	81
5.- DISCUSIÓN .....	82
5.1.- Administración intravenosa de norfloxacino en conejos.....	83
5.1.1.- Modelo farmacocinético .....	83
5.1.2.- Parámetros farmacocinéticos .....	85
5.1.2.1.- Constantes híbridas .....	85
5.1.2.2.- Microconstantes.....	87
5.1.2.3.- Tiempos de vida media y tiempo medio de residencia.....	89
5.1.2.4.- Volúmenes de distribución aparentes.....	91
5.1.2.5.- Área bajo la curva.....	91
5.1.2.6.- Aclaramiento plasmático .....	92
5.2.- Administración intramuscular de norfloxacino en conejos .....	93
5.2.1.- Modelo farmacocinético .....	93
5.2.2.- Tiempo de vida media, MRT y MAT .....	94
5.2.3.- Tiempo máximo y concentración máxima .....	96
5.2.4.- Constante de absorción y semivida de absorción .....	97
5.2.5.- Área bajo la curva y biodisponibilidad .....	98
5.3.- Administración subcutánea de norfloxacino en conejos .....	100
5.3.1.- Modelo farmacocinético .....	100
5.3.2.- Tiempo de vida media, MRT y MAT .....	102

5.3.3.- Tiempo máximo y concentración máxima .....	103
5.3.4.- Constante de absorción y semivida de absorción .....	104
5.3.5.- Área bajo la curva y biodisponibilidad .....	105
5.4.- Comparación entre administraciones .....	107
5.5.- Integración farmacocinética/farmacodinamica .....	111
6.- CONCLUSIONES .....	113
7.- RESUMEN .....	116
8.- SUMMARY .....	118
9.- BIBLIOGRAFÍA.....	120
10.- APÉNDICES.....	142
10.1.- Tablas .....	143
10.2.- Gráficos .....	166
10.3.- Abreviaturas .....	178





# 1. INTRODUCCIÓN



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

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

- El coste total del tratamiento, que supone un incremento en los gastos de producción. En este sentido, debido a que el rendimiento neto es menor, se ha de procurar minimizar los gastos, sin que por ello disminuya la eficacia del tratamiento.
- El mantenimiento de unos niveles eficaces de fármaco es fundamental en cualquier tipo de tratamiento, pero con los antibióticos es, además, imprescindible, ya que de no observarse esta condición, se pueden producir resistencias bacterianas, con los inconvenientes que ello conlleva, junto con la menor o nula eficacia del tratamiento y el innecesario incremento de los costes de producción.
- La precaución de evitar la presencia de residuos en los productos alimenticios de origen animal destinados al consumo humano.

Las fluoroquinolonas son un grupo de antibacterianos sintéticos que despiertan alto interés tanto en medicina humana, como en medicina veterinaria (Ihrke y cols., 1999). Comparados con otros agentes antimicrobianos, las fluoroquinolonas presentan, además de un amplio espectro, una buena absorción tras la administración vía oral, un alto volumen de distribución, penetrando en casi todos los tejidos y células del organismo y un tiempo de vida medio prolongado, permitiendo regímenes de administración de 1-2 veces al día (Walker, 2000; Schentag, 2000).

Estos quimioterapéuticos, a las dosis apropiadas, son bactericidas, presentando un patrón concentración dependiente y un efecto postantibiótico (EPA) prolongado (Walker, 2000). El conocimiento y monitorización de estos antimicrobianos, especialmente sus características farmacocinéticas y farmacodinámicas frente a patógenos determinados, permite optimizar el régimen de dosificación, para evitar la aparición de mutantes resistentes y conseguir el éxito clínico (Aminimanizani y cols., 2001).

El norfloxacin (NFLX) es una fluoroquinolona con un amplio espectro de actividad a bajas dosis frente a los microorganismos de mayor incidencia en algunas especies animales, incluyendo gérmenes resistentes a  $\beta$ -lactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos y macrólidos. Además, posee una excelente penetración tisular, por lo que se presenta como una alternativa potencial a la terapéutica convencional de los procesos infecciosos en los conejos (González, 1994).

La molécula de NFLX es la primera de las fluoroquinolonas que se desarrolló para uso clínico. Su estructura química es ácido 1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazinil) 3-quinolincarboxílico (Lombardo, 2012). En comparación con las primeras quinolonas, el átomo de flúor presente en la sexta posición mejoró la actividad contra bacterias gram negativas. Además, el anillo de piperazina en la séptima posición del ácido carboxílico de la quinolona le confiere a la molécula mayor potencia antibacteriana (Somasundaram y Manivannan, 2013) que abarca patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* (Sharma y cols., 2008).

Debido a dichas modificaciones en la molécula de la quinolona NFLX, en general, es más activa, con un espectro más amplio de inhibición que otras quinolonas. Específicamente, el espectro antibacteriano de NFLX incluye numerosas especies bacterianas gram negativas como bacterias de la familia Enterobacteriaceae y contra otras bacterias entéricas como *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* y *Campylobacter jejunii* (Cué y cols., 2005; Sharma y cols., 2008). Además, este fármaco es activo frente a especies de la familia Pasteurellaceae como *Pasteurella multocida* y, en menor medida, *Haemophilus influenzae* (Pavithra y cols., 2010).

Norfloxacin presenta actividad contra especies gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (incluyendo meticilina resistentes), *Moraxella catarrhalis* (incluyendo las productoras de penicilinasas) y *Streptococcus* spp. (Cué y cols., 2005; Sharma y cols., 2008).

Al igual que con todas las fluoroquinolonas, la actividad de NFLX contra las bacterias anaeróbicas es nula o casi nula (Goldstein, 1987), no presentando actividad contra clamidias, micoplasmas y micobacterias (Cué y cols., 2005).

La farmacocinética de NFLX ha sido estudiada en distintas especies animales, como cabras (El-Sayed y cols., 2011; Wajeeha y cols., 2006), ovejas (González y cols., 1997; Javed y cols., 2005; González y cols., 2001; Soback y cols., 1994), pollos (Abu-Basha y cols., 2008; Song y Chen, 1995), cerdos (Chang y cols., 2007; Shem-Tov y Ziv, 1994; Shem-Tov y cols., 1994), terneros (Ambros y cols., 2006; Gips y Soback, 1996), caballos y mulas (Park y Yun, 2003; Rehan, 2004), vacas (Gips y Soback, 1999), perros (Wallis y cols., 1996; Walker y cols., 1989), gansos (Laczay y cols., 1998), ratas (Delon y cols., 1996), burros (Lavy y cols., 1995), perros (Brown y cols., 1990), ratones y monos rhesus (Gilfillan y cols., 1984). En conejos, únicamente se han realizado estudios farmacocinéticos tras la administración oral de NFLX (Pavithra y cols., 2010; Park y cols., 1998).

Para la elección del antimicrobiano más óptimo en conejos no sólo se tiene en cuenta el espectro de actividad del mismo, sino también en el perfil de tolerancia, evitando aquellos quimioterápicos que provoquen con frecuencia efectos adversos gastrointestinales. La administración de antimicrobianos en conejos suele realizarse utilizando la vía parenteral y la enteral. La vía parenteral incluye la administración intramuscular, subcutánea, intraperitoneal e intravenosa, siendo la vía subcutánea la más frecuente en la administración de antibióticos en conejos. La vía intravenosa se reserva generalmente para los casos de enfermedad infecciosa grave. Por otro lado, la vía enteral está ampliamente extendida en la administración de antibióticos en granjas y en conejos de compañía, utilizando jeringas o mezclando el fármaco con la comida, utilizando incluso mermeladas o gelatinas. El antibiótico ideal, por tanto, debería ser fácil de administrar, con actividad bactericida y que no generase efectos adversos gastrointestinales (Rosenthal, 2001).

En conejos, las fluoroquinolonas son un grupo de quimioterápicos comúnmente utilizados. Este grupo de fármacos presenta un buen perfil de tolerancia y es efectivo frente a patógenos habituales en esta especie, tales como *Pasteurella* spp. y otros gram negativos (Rosenthal, 2001). Además, en el conejo, las fluoroquinolonas son fármacos de eficacia probada, siendo activos también frente a *Bordetella bronchiseptica* y *Listeria monocytogenes* (Burgmann, 2000).

Considerando todo lo expuesto hasta el momento, y teniendo en cuenta la importancia en producción animal del conejo y que no existen trabajos sobre el comportamiento farmacocinético de NFLX en esta especie por vías parenterales, se plantea estudiar la farmacocinética de NFLX en el conejo con el fin de alcanzar los siguientes objetivos:

1. Establecer los parámetros farmacocinéticos de NFLX tras su administración en conejos por vía intravenosa a la dosis de 10 mg/kg.
2. Establecer los parámetros farmacocinéticos de NFLX tras su administración en conejos por vía intramuscular a la dosis de 10 mg/kg.
3. Establecer los parámetros farmacocinéticos de NFLX tras su administración en conejos por vía subcutánea a la dosis de 10 mg/kg.

## 2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA





## 2.1.- INTRODUCCIÓN HISTÓRICA

Las 4-quinolonas, también denominadas análogos o derivados del ácido nalidíxico, o simplemente quinolonas, deben su nombre al oxígeno exocíclico en posición 4 (Appelbaum y Hunter, 2000) y a la palabra “quinolona”, la cual es una transformación del término 4-oxo-1,4-dihidroquinoleína, estructura común de los derivados de la quinoleína. Estos antimicrobianos constituyen un grupo heterogéneo de quimioterápicos de síntesis que se emplean desde hace décadas (Dámaso, 1990).

Históricamente, Price obtuvo en 1949, por degradación de alcaloides, el ácido 1-metil-4-quinolona-3-carboxílico, una molécula sin actividad biológica, a la que denominó quinolona. Más tarde se fueron sintetizando compuestos similares, algunos con poder antibacteriano, pero sin aplicación clínica (Gobernado y Santos, 2002).

El primer compuesto introducido en terapéutica en el año 1964, por Lesher y cols., fue el ácido nalidíxico, progenitor de las 4-quinolonas derivado de síntesis del grupo de las 1,8-naftiridinas y descubierto al azar en plena síntesis del antipalúdico cloroquina. El ácido nalidíxico, por ofrecer una actividad adecuada contra aerobios gram negativos y alcanzar concentraciones suficientes en orina, fue la primera quinolona útil para el tratamiento de infecciones localizadas en las vías urinarias.

A pesar de las continuas investigaciones dirigidas a descubrir compuestos de mayor efectividad, el desarrollo de las quinolonas se produjo lentamente generándose quinolonas que no poseían más que ventajas marginales con respecto al ácido nalidíxico. Así, en 1968, Turner y cols., sintetizaron el ácido oxolínico. Más tarde, en 1971, Shimizu y cols., el ácido piromídico y, en 1973, Wick y cols., el cinoxacino.

La mejora de la actividad de estos compuestos frente a gram negativos, ampliándose el espectro incluso frente a *Pseudomonas* spp., se produjo con la introducción de una cadena lateral piperazinil en la posición 7, a partir de la cual surgió el ácido piperámico o pipemídico, sintetizado por Shimizu y cols., en 1975 (Dámaso, 1990; Shimizu, 1975).

Además del ácido nalidíxico, los quimioterápicos enoxacino, ácido oxolínico, ácido piromídico, ácido piperámico o pipemídico y cinoxacino se emplearon como antisépticos urinarios (preferentemente), intestinales y biliares, en virtud de su actividad primariamente bacteriostática y de su espectro fundamentalmente restringido a bacilos gram negativos (Dámaso, 1990).

La utilización sistémica del ácido nalidíxico se ha limitado por varios aspectos (Abelson y Hallas, 2003; Appelbaum y Hunter, 2000; Gobernado y Santos, 2002; González, 1994; Stockley, 2004):

- Pobre absorción tras la administración por vía oral.
- Corta vida media.
- Limitado espectro antimicrobiano (modesta actividad frente a gram negativos), que provocó un uso restringido al tratamiento de las infecciones del tracto urinario, en el cual se encontraban altas concentraciones de fármaco.
- Bajas concentraciones séricas y tisulares, que se atribuyen a su elevada unión a las proteínas plasmáticas (UPP).

En el desarrollo de nuevas quinolonas, el primer paso adelante se produjo al incorporar uno, dos y hasta tres átomos de flúor en la molécula 7-piperazino-4-quinolona dando lugar a las denominadas quinolonas fluoradas o fluoroquinolonas, que poseen un espectro más amplio y una mayor actividad antibacteriana que los compuestos precedentes. Existe un antecedente (la flumequina), sintetizada en 1973, quinolona que contiene un átomo de flúor en su estructura, pero que no goza de las características farmacocinéticas de las nuevas fluoroquinolonas.

La primera fluoroquinolona aprobada para uso clínico en medicina fue el norfloxacin (Martínez y cols., 2006). Este fármaco, debido a que en el núcleo básico de la quinolona contiene un átomo de flúor en la posición 6 y un anillo piperazínico en posición 7 (Ito y col., 1980), demostró una mejorada actividad antibacteriana frente a gram negativos y gram positivos, como *P. aeruginosa* y estafilococos, respectivamente (Sharma y cols., 2008).

Desde el ácido nalidíxico hasta el norfloxacin pasaron cerca de dos décadas pero la siguiente fase de investigación se desarrolló muy rápidamente. Norfloxacin fue patentado en 1978 (Sharma y cols., 2008), y tres años más tarde se patentaron muchas más fluoroquinolonas nuevas, de las cuales, algunas fueron rechazadas en el mercado, aunque otras todavía hoy se comercializan: pefloxacin (patentada en 1979), enoxacin (1980), fleroxacin (1981), ciprofloxacino (1981) y ofloxacino (1982). Las ventajas de estos compuestos residen en un espectro que incluye tanto especies bacterianas pertenecientes a gram positivos, como a gram negativos, y en una buena absorción vía oral, proporcionando niveles adecuados en plasma. A partir de estas moléculas, las quinolonas pasaron a ser utilizadas en infecciones sistémicas. Si bien, y pese a las mejoras introducidas, algunas

especies, concretamente *S. aureus* y *P. aeruginosa*, mostraron resistencia a este grupo de quimioterápicos (Appelbaum y Hunter, 2000; Emmerson y Jones, 2003).

Durante las dos últimas décadas, la investigación con fluoroquinolonas, concretamente en el ámbito de sus propiedades microbiológicas ha tenido como objetivos (Appelbaum y Hunter, 2000):

1. Mejorar su actividad frente al neumococo, incluyendo aquellas cepas resistentes a betalactámicos o a otros antibióticos como los macrólidos.
2. Mejorar la actividad frente a estafilococos, concretamente *S. aureus* meticilin resistentes.
3. Mejorar la actividad, en general, contra cocos gram positivos.
4. Mejorar la actividad frente a anaerobios.
5. Mejorar la actividad frente a cepas resistentes a ciprofloxacino y ofloxacino, incluyendo cepas de estafilococos y enterobacterias.
6. Mantener buena actividad frente a gram negativos, incluyendo *Pseudomonas* spp. y distintas especies no fermentadoras.
7. Disminuir la velocidad de aparición de resistencias.

En definitiva, se han desarrollado un gran número de quinolonas, muchas de las cuales han sido patentadas, otras están en fase avanzada de desarrollo, y algunas comercializadas y retiradas del mercado por provocar graves efectos adversos.

En medicina veterinaria, desde la aparición de NFLX, este grupo de antibióticos ha sufrido un gran desarrollo y expansión, apareciendo diferentes fluoroquinolonas registradas exclusivamente para medicina veterinaria. Así, se encuentra enrofloxacin como la primera fluoroquinolona aprobada para uso animal (Martínez y cols., 2006), pradofloxacin, difloxacin, danofloxacin, marbofloxacin, sarafloxacin, orbifloxacin e ibafloxacin (AGEMED, 2015; EMEA, 2015). Norfloxacin no se emplea como antibiótico en medicina veterinaria, pero como fluoroquinolona posee propiedades farmacocinéticas y antimicrobianas que las hacen potencialmente aplicables en este campo.

Debido a que las fluoroquinolonas poseen su amplio espectro, actividad bactericida dependiente de la concentración, óptimas características farmacocinéticas y baja toxicidad, se utilizan ampliamente para un importante número de infecciones en caninos, felinos, equinos, bovinos, ovinos, caprinos, porcinos, aves y conejos.

Las fluoroquinolonas son eficaces para el tratamiento de neumonías en lechones y terneros, otitis en caninos, infecciones urinarias en animales de compañía, infecciones dérmicas en

caninos y felinos e infecciones gastrointestinales en porcinos, bovinos y aves (Ihrke y cols., 1999; Lees y Aliabadi, 2002b). En el conejo, el tratamiento con estos antimicrobianos está indicado en distintos procesos infecciosos, recogidos en la Tabla I (Burgmann, 2000):

Órgano/Aparato	Signos clínicos/Diagnóstico	Microorganismos causantes de la infección
Piel y tejido subcutáneo	Dermatitis, abscesos	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
	Mastitis	<i>Pseudomonas</i> spp., <i>Pasteurella</i> spp., <i>Staphylococcus aureus</i>
Respiratorio	Neumonía, infecciones en el tracto respiratorio superior, conjuntivitis, descarga nasal.	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Gastrointestinal	Diarrea, colibacilosis	<i>Escherichia coli</i>
	Diarrea	<i>Salmonella</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.
Urogenital	Cistitis	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas</i> spp.
SNC	Nistagmus, tortícolis	<i>Pasteurella multocida</i>
General	Somnolencia, anorexia, pirexia, septicemia	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Pasteurella multocida</i>

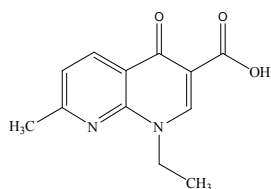
*Tabla I. Tratamiento con fluoroquinolonas en distintos procesos infecciosos que afectan al conejo (Burgmann, 2000).*

## 2.2.-ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN

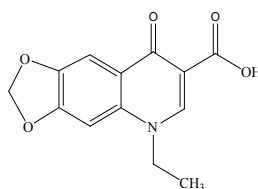
Los quimioterápicos 4-quinolonas son ácidos orgánicos de pK elevado que, en general, comparten un núcleo común: la estructura bicíclica 4-oxo-1,4-dihidroquinoleína, o 4-quinolona, compuesta de dos anillos, uno de tipo piridona, con un ácido carboxílico libre en posición 3 y un átomo de nitrógeno en posición 1, y un segundo anillo aromático (Gobernado y Santos, 2002).

Estas sustancias sintéticas pueden tener estructura naftiridínica (ej: ácido nalidíxico y enoxacino), quinolónica (ej: ácido oxolínico y NFLX), pirimidínica (ej: ácido piromídico, ácido piperámico o pipemídico) o cinolónica (cinoxacino) (Dámaso, 1990).

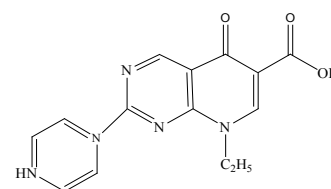
A continuación, se exponen algunas fórmulas químicas desarrolladas de estos compuestos



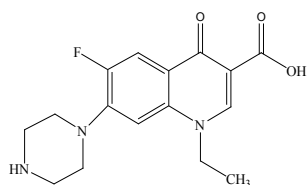
Ácido nalidíxico



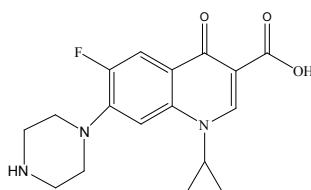
Ácido oxolínico



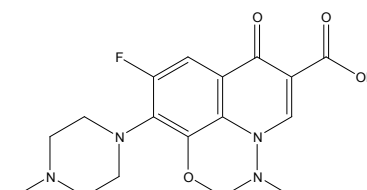
Ácido pipemídico



Norfloxacino



Ciprofloxacino



Marbofloxacino

*Figura 1 – Ejemplos de estructura química de algunas quinolonas.*

Se ha establecido una clasificación de las quinolonas en base a las diferentes estructuras químicas y a la aparición de estos quimioterápicos en el mercado (Gobernado y Santos, 2002):

## I.- PRIMERA GENERACIÓN:

### 1.- Derivados de la naftiridina:

1.1.- No fluoradas: Ácido nalidíxico.

1.2.- Fluoradas: Enoxacino, Tosufloxacino.

### 2.- Derivados de la cinolina: Cinoxacino

### 3.- Derivados de la piridopirimidina:

Ácido piromídico,

Ácido pipemídico o piperámico.

### 4.- Derivados de la quinoleína:

#### 4.1.- Quinolonas no fluoradas:

Ácido oxolínico.

Acroxoxacino (antes rosoxacino).

Droxacino.

Miloxacino.

Tioxacino.

#### 4.2.- Monofluoroquinolonas: Flumequina.

## II.- SEGUNDA GENERACIÓN (derivados de la quinoleína)

### 1.- Monofluoroquinolonas:

Amifloxacino.

Ciprofloxacino.

Irloxacino o pifloxacino.

Levofloxacino

Norfloxacino

Ofloxacino.

Pefloxacino.

### 2.- Difluoroquinolonas: Difloxacino, Lomefloxacino.

### 3.- Trifluoroquinolonas: Fleroxacino, Temafloxacino.

## III.- TERCERA GENERACIÓN

### 1.- Monofluoroquinolonas (derivados de la quinoleína):

Grepafloxacino,

Gatifloxacino.

### 2.- Difluoroquinolonas (derivados de la quinoleína): Esparfloxacino.

### 3.- Trifluoroquinolonas (derivados de la naftiridina): Tosufloxacino.

## IV.- CUARTA GENERACIÓN (derivados de la quinoleína)

## 1.- Monofluoroquinolonas: Clinafloxacin, Moxifloxacin.

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

PRIMERA GENERACIÓN (Figura II): moléculas históricamente más antiguas y que definen los núcleos básicos de estos antimicrobianos. Estructuralmente se caracterizan por la ausencia de un radical 6-fluoro, con excepción de flumequina, y por no exhibir una asociación de 6-fluoro con el grupo piperazina en posición C7 (presente en ácido pipemídico)

Poseen un reducido espectro de actividad y por ser agentes quimioterápicos sólo útiles en infecciones del tracto urinario (Mella y cols., 2000), siendo útiles frente a ciertas Enterobacterias, y no frente a otras especies como *Pseudomonas* sp., cocos gram positivos y anaerobios (King y cols., 2000).

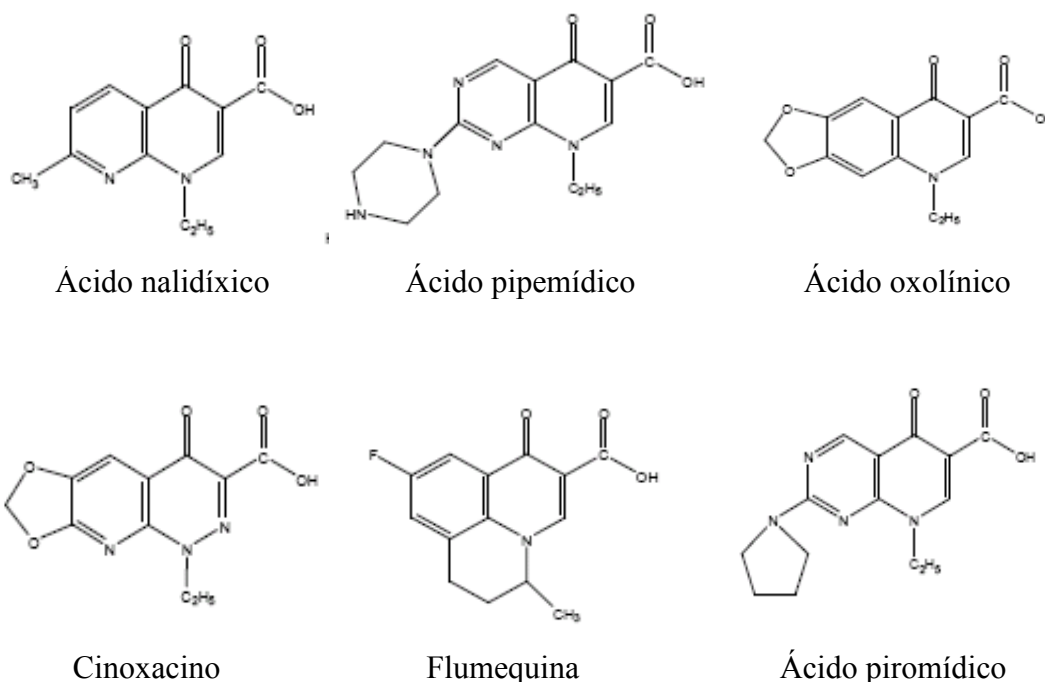


Figura II - Principales quinolonas de primera generación.

SEGUNDA GENERACIÓN (Figura III): presentan un átomo de flúor en la posición 6 que permite aumentar tanto la afinidad por sus blancos (topoisomerasas tipo II) como la capacidad de penetración al interior de la célula bacteriana (hasta setenta veces con respecto a las quinolonas que no tienen flúor en esta posición) y



un piperazina o metil piperazina (diamida cíclica) en la posición 7 del núcleo quinolónico (Mella y cols., 2000; Tálens-Visconti y cols., 2002). La molécula estándar de esta generación es norfloxacin.

En comparación con las fluoroquinolonas de primera generación, clínicamente presentan mayor potencia, amplio espectro antimicrobiano, buenas propiedades farmacocinéticas, menos toxicidad, menos efectos secundarios y menores resistencias bacterianas. Presentan actividad frente *P. aeruginosa*, algunas bacterias gram positivas como *S. aureus* y determinadas especies de micobacterias, clamidias y rickettsias. Su actividad frente a *Acinetobacter* y *Stenotrophomonas maltophilia* es moderada, siendo escasa frente a *S. pneumoniae* y otras especies de *Streptococcus* spp. (King y cols., 2002). Son moléculas utilizadas para una serie de infecciones graves que incluyen cuadros osteoarticulares, digestivos, de tejidos blandos, infecciones respiratorias e infecciones de transmisión sexual (Damaso, 1990).

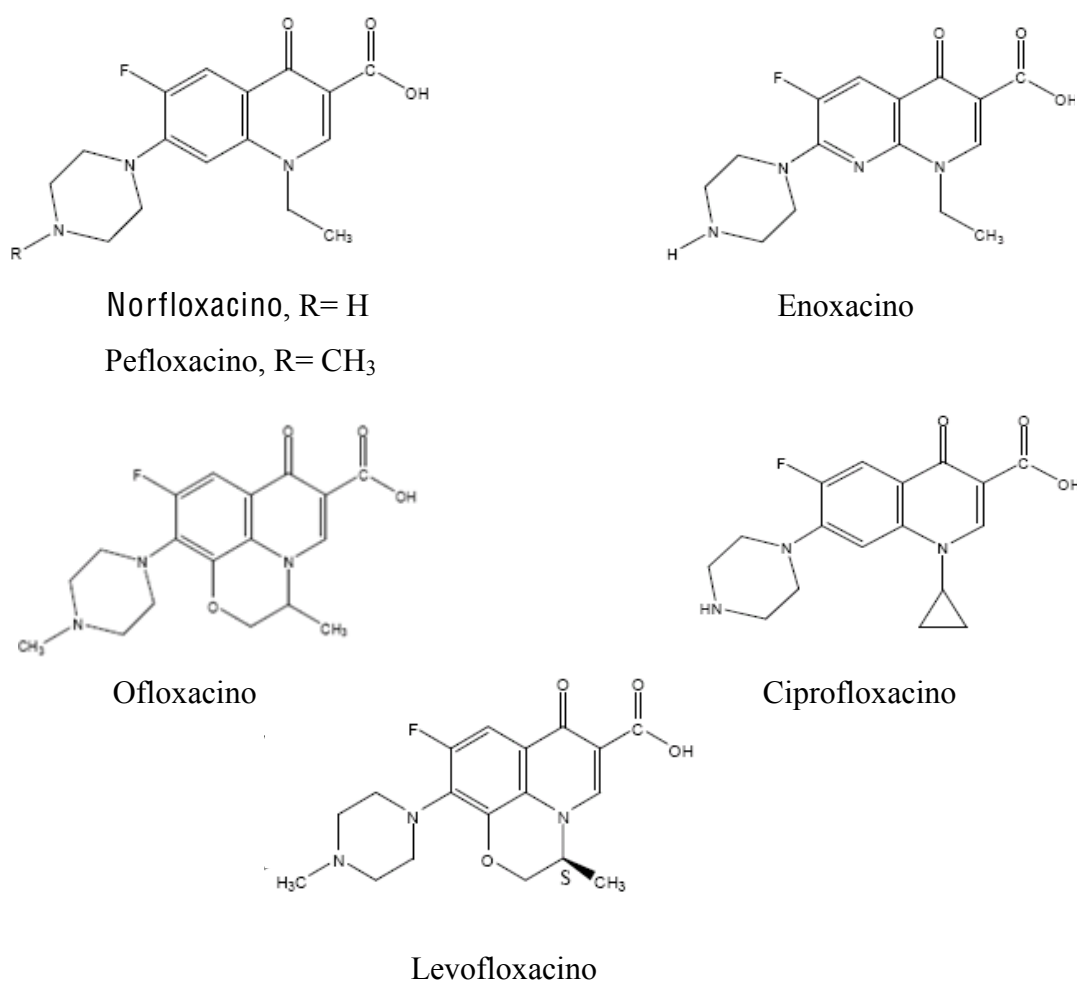


Figura III.- Principales quinolonas de segunda generación.

TERCERA GENERACIÓN (Figura IV): químicamente caracterizadas por la presencia de grupos cíclicos aminados en C7, siendo frecuentes la presencia de aminopirrolidinas y grupos azabicyclo, junto con la presencia de radicales en posición C5 y C8 (Tillotson y Blondeau, 2000).

Son una importante alternativa frente *S. pneumoniae*, incluyendo cepas resistentes a penicilina. Presentan una mayor actividad anti estafilocócica, pero no son útiles en infecciones producidas por *S. aureus* meticilin resistentes (Lowy, 1998). También presentan una actividad levemente superior a las quinolonas de segunda generación frente a anaerobios (Damaso, 1990).

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

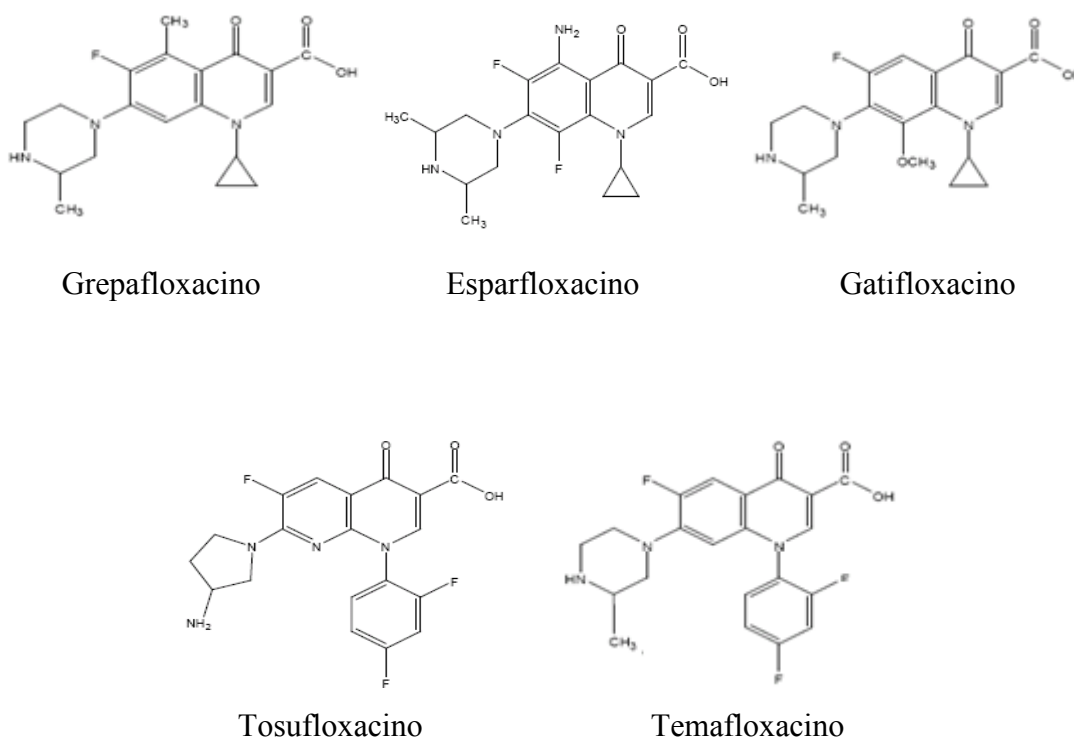


Figura IV.- Principales quinolonas de tercera generación.

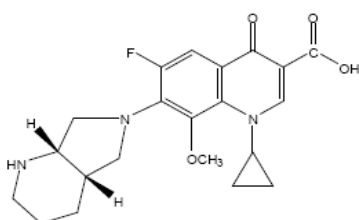
CUARTA GENERACIÓN (Figura V): presentan mayor actividad contra gérmenes anaerobios, utilizándose en infecciones polimicrobianas como las abdominales y ginecológicas (Gargallo-Viola y cols., 1991; King y cols., 2000). Algunas de ellas

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

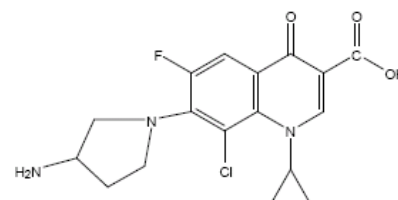
Otro punto importante es la actividad frente a gram negativos. Las nuevas moléculas desarrolladas mejoran discretamente su actividad frente a enterobacterias y bacilos gram negativos no fermentadores, siendo ciprofloxacino la fluoroquinolona de elección frente a *P. aeruginosa*.

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

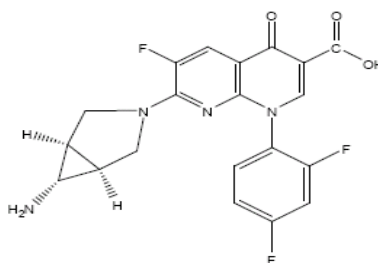
Se han desarrollado nuevas estructuras como las 6-desfluorquinolonas, sin átomo de flúor en posición 6, el cuál se había venido considerando imprescindible para un grado suficiente de actividad. Un ejemplo de estas moléculas son el garenoxacino y PGE 9262932, las cuales se caracterizan por una aumentada actividad *in vitro*, espectro muy amplio y un reducido potencial de selección de resistencias (García y Muñoz, 2003).



Moxifloxacino



Clinafloxacino



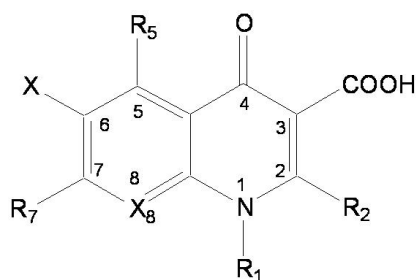
Trovafloxacino

Figura V.- Principales quinolonas de cuarta generación.

### 2.3.- RELACIÓN ESTRUCTURA ACTIVIDAD

Desde el punto de vista clínico, las fluoroquinolonas han experimentado una serie de cambios evolutivos muy significativos desde su introducción. Existe una gran cantidad de información acerca de los efectos en la actividad, farmacocinética, interacciones y reacciones adversas provocados por modificaciones estructurales en el núcleo y en los sustituyentes de las moléculas de las fluoroquinolonas (Appelbaum y Hunter, 2000; Gobernado y Santos, 2002).

Las fluoroquinolonas poseen una estructura común (figura VI), que parece necesaria para su actividad, y que, por tanto, no sufre modificaciones. Contienen un nitrógeno trisustituído en la posición 1, un carbonilo en 4, un grupo carboxilo en 3 y un segundo ciclo condensado con este anillo de 4-piridona (Espada y Avendaño, 1993).



*Figura VI. Estructura básica o núcleo de las quinolonas.*

Actualmente, se cree que el ácido carboxílico en posición 3 y el oxígeno exocíclico en posición 4 conforman la porción de la molécula que se une a la ADN girasa bacteriana y que resulta esencial para el transporte intrabacteriano del antibiótico, por consiguiente, es vital no interferir en esta zona. La posición 2 está muy cercana al lugar de unión, por tanto, para no modificar la estereoquímica de la molécula a este nivel, las sustituciones en esta posición no se deben realizar con grupos voluminosos, además las modificaciones que se han realizado en esta posición no han supuesto un gran éxito.

La mayoría de las quinolonas que presentan la mejor actividad antibacteriana y el mayor espectro se corresponden con las que incorporan un átomo de flúor en la posición 6 de la molécula, y de un grupo piperazínico heterocíclico en la posición 7 (Appelbaum y Hunter, 2000; Gobernado y Santos, 2002). Estas modificaciones, como ya se ha comentado anteriormente, se introdujeron por primera vez con NFLX, y produjeron un verdadero avance en la terapéutica (Appelbaum y Hunter, 2000).

La estructura química de NFLX se corresponde con el ácido 1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazinil) 3-quinolincarboxílico (Lombardo, 2012). Como todas las fluoroquinolonas, contiene un átomo de fluor que se sitúa en la posición 6 del núcleo básico de la quinolona (Martínez y cols., 2006). En comparación con las primeras quinolonas, este sustituyente ha mejorado la actividad contra bacterias gram negativas y ha extendido la actividad de estas moléculas a algunas bacterias gram positivas (González, 1994). Este incremento de la potencia se acompaña con un incremento paralelo en la unión y formación del complejo DNA-DNA girasa y mayor penetración intrabacteriana. Además, el anillo de piperazina en la séptima posición de la quinolona que confiere a la molécula mayor propiedad antibacteriana (Somasundaram y Manivannan, 2013), especialmente contra *P. aeruginosa* y también mejora la penetrabilidad celular, presentando volúmenes de distribución mayores que las anteriores quinolonas y una disminución de su UPP. Mientras que el átomo de flúor es importante para la unión y penetración, el grupo piperazínico permite, sobre todo, la óptima penetración celular (González, 1994).

Para las diferentes estructuras de las 4-quinolonas comercializadas, se presentan espectro antibacteriano y características farmacocinéticas diferentes en función de las sustituciones realizadas en las posiciones de la molécula 2,4-dihidroquinolina. Estas propiedades derivadas de las diferentes sustituciones se describen en la Tabla II (Appelbaum y Hunter (2000), Domagala (1994) y Gobernado y Santos (2002)).

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

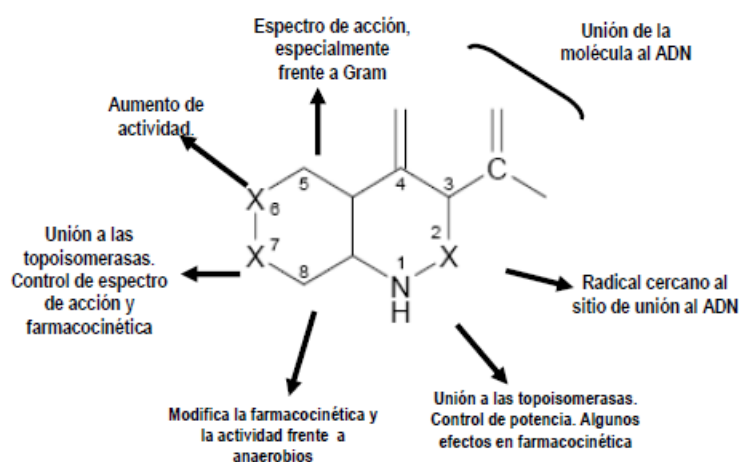


Figura VII. Relación estructura y actividad de la molécula de quinolona.

Posición	Efecto en el espectro y características farmacocinéticas del fármaco
1	La estabilidad de la molécula y la potencia antibacteriana está determinada por la adición de una cadena lateral a través del nitrógeno. Los primeros compuestos como el NFLX (ácido nalidíxico, ácido pipemídico, etc.) poseen un grupo etilo en esta posición, que confiere estabilidad a la molécula. La introducción de un grupo voluminoso a través del nitrógeno genera compuestos con mejoras en la actividad contra gram positivos y gram negativos. Un grupo ciclopropil provoca buena actividad contra gram negativos (ciprofloxacino, esparfloxacino, grepafloxacino, clinafloxacino, moxifloxacino, gatifloxacino y gemifloxacino). Con un anillo 2,4-difluoropentil en posición 1 se encuentran temafloxacino, tosufloxacino y trovafloxacino, incrementando éste último su actividad frente a gram positivos. El anillo es oxadiadiazina parece que conferir a la molécula de ventajas farmacocinéticas como mayor tiempo de eliminación y mayor volumen de distribución aparente (marbofloxacino).
5	La sustitución en esta posición está orientada a incrementar la actividad contra gram positivos pero está muy influenciada por la sustitución en otras posiciones. Sustituyentes voluminosos en esta posición reducen mucho la actividad. Es probable que se deba a interferencias con el sitio activo de unión en 3-4. Otros sustituyentes empleados en posición 5 y que mejoran la actividad contra gram positivos son R = CH <sub>3</sub> (como en grepafloxacino) o R = NH <sub>2</sub> (como en esparfloxacino). NFLX no presenta sustitución en esta posición.
6	El átomo de flúor en el C <sub>6</sub> , o en el C <sub>9</sub> , dependiendo si la quinolona es bicíclica como sucede en la molécula de NFLX o tricíclica, controla la unión y efectos sobre el complejo ADN-girasa y la penetración intrabacteriana, aumentando notablemente la potencia. Ello fue el punto más importante en el desarrollo de las nuevas quinolonas.
7	Radicales en C <sub>7</sub> , controlan la farmacocinética, el espectro y la potencia antibacteriana. - Anillos heterocíclicos de 5 ó 6 elementos, como piperacina, aumentan la potencia sobre gram negativos, y como pirrolidina, la aumentan sobre gram positivos. - Compuestos con un anillo piperazina: NFLX, enoxacino y ciprofloxacino, poseen el anillo de piperacina no sustituido, mientras que grepafloxacino, lomefloxacino y fleroxacino presentan un anillo 3-metilpiperacina. Ofloxacino y levofloxacino poseen una 4-metilpiperacina, y esparfloxacino tiene una 3,5-dimetilpiperacina. Estas sustituciones en la piperazina suponen mayor actividad contra gram positivos, y pueden aumentar la penetración a través de la pared celular. - Compuestos con un anillo pirrolidina: Las aminopirrolidinas también aumentan la actividad antibacteriana, mejorando, sobre todo, frente a gram positivos. Sin embargo, esta actividad disminuye si el anillo no contiene el grupo amino. Tosufloxacino y clinafloxacino tienen un anillo 3-aminopirrolidina. Sitafloxacino un grupo 3-amino-4-ciclohexil, y gemifloxacino posee un grupo aminometilo y un sustituyente 4-metiloximino. Todos ellos tienen una excelente actividad frente a gram positivos.
8	La sustitución en esta posición afecta las propiedades farmacocinéticas y a la actividad antibacteriana, particularmente frente a especies anaerobias. Las naftiridonas tienen un <i>nitrógeno</i> en lugar de un carbono en el anillo (enoxacino, tosufloxacino, trovafloxacino y gemifloxacino). Los sustituyentes en posición 8 del anillo que favorecen la actividad antibacteriana son los <i>halógenos</i> (cloro y flúor). Pero muchas 8- <i>cloro</i> quinolonas (Bay 3118) presentan pobre estabilidad a la luz ultravioleta y mayor incidencia de fototoxicidad, pese a tener una excelente actividad. Asimismo las 8- <i>fluro</i> quinolonas presentan fototoxicidad (esparfloxacino, fleroxacino y lomefloxacino). Por ello, lomefloxacino ha sido retirado y se ha limitado el uso de esparfloxacino y fleroxacino. Un grupo <i>metoxi</i> confiere una buena actividad contra anaerobios y parece no acompañarse de fototoxicidad (moxifloxacino y gatifloxacino). Otra posibilidad es <i>no sustituir</i> ésta posición como sucede en NFLX, pefloxacino, ciprofloxacino y grepafloxacino).

Tabla 11.- Propiedades derivadas de las diferentes sustituciones en las fluoroquinolonas (Appelbaum y Hunter (2000), Domagala (1994) y Gobernado y Santos (2002))

## 2.4.- PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

Las quinolonas son sustancias cristalinas, de color blanco amarillento o amarillo pálido, poco solubles o insolubles en agua a pH neutros y solventes orgánicos, solubles en soluciones ligeramente alcalinas o ácidas y termorresistentes. Concretamente, su solubilidad es alta en ácido acético glacial y ligera en etanol, metanol y agua (Sharma y cols., 2008). La versión soluble en agua de NFLX es el nicotinato de norfloxacino y, sobre todo, el acetato de norfloxacino-glicina (Park y cols., 1998). Además de presentar dichas propiedades, NFLX es inodoro y posee un sabor amargo (Sharma y cols., 2008).

Con algunas excepciones, las fluoroquinolonas presentan pobre solubilidad en agua, entre pH 6 y 8. Dentro de este rango, tienen baja solubilidad en agua mientras que, en condiciones más ácidas son susceptibles de precipitar. Se ha relacionado esta propiedad con los casos de cristaluria en humanos y animales (Ball, 2000; Vancutsem y cols., 1990). En el caso de NFLX, al presentar junto al grupo carboxílico un grupo básico (amina terciaria), poseen una liposolubilidad baja excepto en un rango de pH entre 6 y 8 (González, 1994). Dicha naturaleza anfotérica implica que el NFLX sea de rápida disolución, absorción y penetración tisular (González, 1994).

Conociendo las constantes de disociación de cada quinolona en particular, se puede establecer la relación solubilidad-pH así como el estado de ionización de cada molécula a un pH determinado. Esto último es de capital importancia para el establecimiento de la capacidad de las quinolonas para ser absorbidas a través del tracto gastrointestinal o de otras membranas biológicas (Stein, 1987).

Estos antimicrobianos son ácidos orgánicos con un pK elevado (Gobernado y Santos, 2002), fotosensibles y muy estables a temperatura ambiente, sin pérdidas apreciables de su actividad ni de sus propiedades físico-químicas al cabo de varios años en condiciones adecuadas (Dámaso, 1990). Sin embargo, existen datos publicados sobre la estabilidad de las fluoroquinolonas que se han centrado en el ácido nalidíxico, el cual es inestable en soluciones alcalinas, además de ser susceptible de sufrir una descomposición fotolítica y pirólisis (Takasagi, 1968). No obstante, las nuevas quinolonas como el NFLX parecen ser químicamente más estables, aunque es necesario tener en cuenta esta característica física.

Las quinolonas presentan grupos potencialmente ionizables. El ácido nalidíxico, flumequina y ácido oxolínico únicamente tienen un grupo relevante ionizable que es el

grupo 3-carboxilo. Ofloxacino, NORFLOXACINO y enoxacino, entre otros, tienen dos grupos ionizables, el 3-carboxilo y el sustituyente del N-4 de la piperazina.

Se han determinado los valores de las constantes de ionización (pKa) de numerosas quinolonas, observándose que el pKa1 correspondiente al grupo carboxílico es de un valor cercano a  $6,0 \pm 0,3$  y que éste es relativamente independiente del tipo de sustitución en la posición 7. Por otra parte, el pKa2, correspondiente a la amina básica, puede variar entre 5 y 9, dependiendo de la naturaleza química de la cadena lateral (Riley y col., 1989).

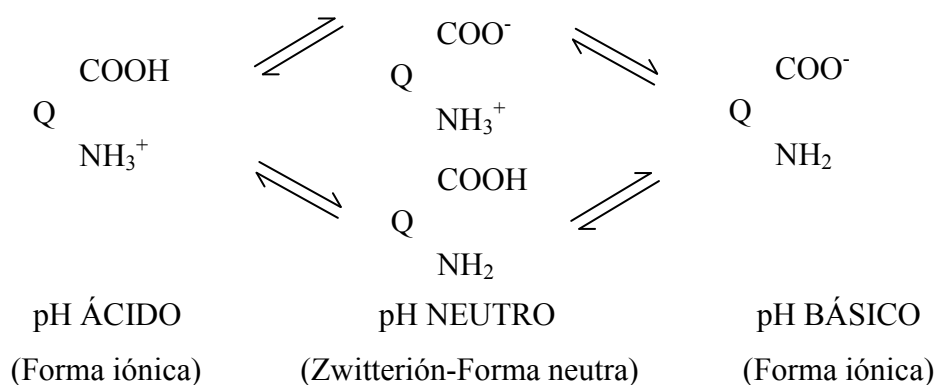
A continuación, en la Tabla III, se muestran constantes de ionización de algunas quinolonas, medidas a través de métodos espectrofotométricos (Martínez y cols., 2006).

Quinolona	pKa1	pKa2
Ciprofloxacino	6,0	8,8
Difloxacino	6,1	7,6
Enoxacino	6,0	8,5
Enrofloxacino	6,0	8,7
Fleroxacino	5,7	8,0
Lomefloxacino	5,8	9,3
Norfloxacino	6,4	8,7
Ofloxacino	6,1	8,2
Pefloxacino	6,3	7,6
Sarafloxacino	6,2	8,6
Temafloxacino	5,6	8,8

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

Las quinolonas poseen un grupo carboxílico de carácter ácido y un grupo amino de carácter básico y por tanto son moléculas de naturaleza anfotérica (Orero y cols., 2002). En la Figura VIII se presentan las cuatro formas de quinolona que pueden encontrarse en función del pH extracelular:





*Figura VIII.- Formas de quinolona en función del pH extracelular.*

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

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

Por otro lado, en estudios previos se ha demostrado, que el coeficiente de partición octanol/agua ( $P_{app}$ ) de cada fluoroquinolona tiene influencia sobre las concentraciones de las mismas dentro de los microorganismos. De forma que en gram positivos, cuanto mayor  $P_{app}$  (mayor hidrofobicidad) aumenta la concentración de fluoroquinolonas dentro de la bacteria, y en gram negativos la concentración de fármaco aumenta cuanto menor sea  $P_{app}$  (mayor hidrofilia) (Piddock, 1999).

En terapéutica antimicrobiana, la penetración, acumulación y localización de los antimicrobianos en el interior de las células fagocíticas son conceptos a tener en cuenta.

El grado de penetración de un antimicrobiano se cuantifica usando la relación entre la concentración intracelular y la extracelular del antimicrobiano (I/E). En las quinolonas, este cociente oscila entre 2 y 28, dependiendo del tipo de célula, de la quinolona considerada y de otros factores como el método utilizado (Gobernado, 2001). En la Tabla IV se aprecia mediante el valor que adquiere el cociente I/E, la penetración de diferentes quinolonas en los polimorfonucleares (Gobernado, 2001):

Quinolona	Polimorfonucleares
Ácido pipemídico	2,4
Norfloxacinó	2,2-5,7
Ciprofloxacino	4-7
Ofloxacino	6,2-8,1
Levofloxacino	6,7-9,8
Moxifloxacino	6,3
Gatifloxacino	5

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

Norfloxacinó también presenta otras propiedades físico-químicas importantes recogidas en la Tabla V:

Propiedades físico-químicas	
Punto Isoeléctrico	7,5
Peso Molecular	319,3

*Tabla V- otras propiedades físico-químicas del norfloxacino.*

## 2.5.- MECANISMO DE ACCIÓN

Las fluoroquinolonas en general y el norfloxacino en particular, son compuestos bactericidas que actúan sobre los microorganismos sensibles produciendo, esencialmente, un efecto bactericida a dos o cuatro veces la CMI (Gobernado y Santos, 2002).

Para que estos quimioterápicos encuentren su “diana”, tienen que penetrar en el interior de la célula bacteriana. En las bacterias gram negativas, las quinolonas penetran a través de los canales acuosos transmembrana de las porinas, y luego, por difusión simple, atraviesan el peptidoglicano y la membrana citoplasmática. La entrada es pasiva, sin consumo de energía, y no saturable. Es probable que, además, las quinolonas hidrófobas puedan atravesar la membrana externa en función de su liposolubilidad. En las bacterias gram positivas, que no tienen porinas ni polisacáridos, el paso también es por difusión simple (Chapman y Georgopapadakou, 1988; Gobernado y Santos, 2002; Nikaido y Thanassi, 1993; Ruiz, 2003).

Una vez dentro de la bacteria, la principal diana es la inhibición de dos topoisomerasas: la tipo II o ADN girasa y la topoisomerasa IV. La girasa del ADN o topoisomerasa II, fue el primer blanco identificado. Por ello, a estos quimioterápicos también se les denomina “inhibidores de la girasa”.

Respecto a la estructura de las enzimas implicadas:

- La ADN girasa es un tetrámero constituido por dos subunidades A y otras dos subunidades B. Las subunidades A son proteínas codificadas por el gen *gyrA* (inicialmente denominado “nal” A porque se describió en estudios realizados con el ácido nalidíxico), mientras que las dos subunidades B, que son igualmente proteínas, son codificadas por el gen *gyrB* (inicialmente llamado “cou” al describirse en ensayos efectuados con la coumermicina A) (Dámaso, 1990; Hooper, 2001).
- La topoisomerasa IV, C<sub>2</sub>E<sub>2</sub>, está formado por dos subunidades C y dos E, codificadas por los genes *parC* y *parE*, respectivamente (Bearden y Danziger, 2001). Los aminoácidos codificados por los genes *parC* y *parE* son homólogos a los codificados por *gyrA* y *gyrB*. Esta similitud en la secuencia de aminoácidos entre la ADN girasa y la topoisomerasa IV (especialmente en las posiciones productoras de resistencia en la subunidad A de la girasa), implica que estos compuestos pueden inhibir la actividad de la topoisomerasa IV y la de la ADN

girasa, aunque no con la misma intensidad (Azanza y cols., 2003; Schedletzky y cols., 1999; Taléns-Visconti y cols., 2002).

Las enzimas ADN girasa y topoisomerasa IV están involucradas en el proceso de replicación, recombinación y reparación del ADN de la bacteria cuyo ADN está densamente empaquetado. Sus funciones se detallan a continuación (Aktipis, 2000; Dougherty y cols., 2001; Schedletzky y cols., 1999):

- Topoisomerasa II o ADN girasa: Introduce superenrollamientos negativos en el ADN; relaja el ADN superenrollado positiva o negativamente. En concreto, los monómeros A llevan a cabo los cortes en puntos determinados de la molécula de ADN (Taléns-Visconti y cols., 2002).
- Topoisomerasa IV: Relaja el ADN; separa los dos cromosomas que permanecen encadenados al final de la replicación; pero no puede introducir superenrollamiento negativo.

El modo de acción de la ADN girasa y la topoisomerasa IV es mediante la fijación a una molécula de ADN, y realizan sus funciones a expensas de ATP; es decir éstas topoisomerasas son ATPasas (Aktipis, 2000).

Las quinolonas se unen a la subunidad A de la ADN girasa a través de un residuo de tirosina, e impiden el cierre de los cortes producidos en el ADN. Los estudios sobre la cinética de unión de las fluoroquinolonas a la ADN girasa sugieren que cuatro moléculas se unen estereoquímicamente a la diana en una unión cooperativa (Lees y Aliabadi, 2002b; Shen y cols., 1989b).

Estas enzimas son inhibidas a través de la formación de un complejo ternario entre quinolona, enzima y ADN, aunque también se puede formar primero un complejo no intercalante con ADN, al que posteriormente se unirá la enzima (Espada y Avendaño, 1993; Shen y cols., 1989a).

El proceso celular que actúa en el complejo ternario formado *in vivo* produce, un bloqueo del movimiento de la horquilla de replicación, una inhibición de la síntesis de ADN rápida y reversible con cese del crecimiento (acción bacteriostática) y una rotura irreparable de la doble hélice de ADN (Hiasa y cols., 1996; Hooper, 2000a). La molécula de ADN, demasiado extendida, no tiene espacio suficiente en el interior de la célula bacteriana (Dámaso, 1990). Posteriormente, la muerte de la bacteria (acción bactericida) tiene lugar,

de forma rápida, por la síntesis de exonucleasas (Dámaso, 1990; Gobernado y Santos, 2002).

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

A continuación, se describen otras actuaciones demostradas de las quinolonas:

- Debido a su actuación sobre las bacterias se liberan polisacáridos, probablemente por alteraciones en la formación del peptidoglicano en la pared celular, con aumento de la hidrofobicidad de la superficie celular, mayor permeabilidad para la entrada de los antibióticos betalactámicos, vulnerabilidad a otros fármacos, y mejor lisis de los detergentes; además los microorganismos se vuelven más sensibles a la acción del complemento sérico C<sub>3</sub>, aumentando la capacidad fagocítica de los macrófagos alveolares y polimorfonucleares (Gobernado y Santos, 2002).
- La respuesta de la bacteria a la inhibición de la ADN girasa es una autoprotección hacia la replicación del ADN atacado, lo que se denomina respuesta SOS, que se puede medir por el aumento de la producción de β-galactosidasa, y que explica las formas filamentosas que adquieren las bacterias gram negativas después de haber estado en contacto con las quinolonas (Gobernado y Santos, 2002).
- La acción bactericida se observa principalmente en el caso de las fluoroquinolonas, siendo además bifásica, es decir, para cada quinolona existe una concentración bactericida máxima por encima de la cual la actividad disminuye, pero que vuelve a aumentar si se incrementa más la concentración. Esta característica parece que se explica por el hecho de que con ciertas concentraciones la acción bacteriostática impide la síntesis de proteínas que participan en la acción bactericida. Este hecho no es aplicable a moxifloxacino, el cuál tiene un marcado efecto bactericida dependiente de la concentración, y que no es bifásico como el de otras fluoroquinolonas (Durham y cols., 2000).

Si se tiene en cuenta lo anteriormente citado, no es recomendable la utilización conjunta de las quinolonas con sustancias que inhiban la síntesis proteica o el ARN bacteriano (rifampicina, cloranfenicol y tianfenicol), ya que puede reducirse de forma significativa la actividad bactericida. *In vitro* se han observado interacciones antagónicas entre ciprofloxacino y cloramfenicol, y en medicina humana han sido descritas entre ciprofloxacino y rifampicina (Walker, 2000). Ofloxacino y moxifloxacino no experimentan este antagonismo, lo que hace pensar que ambos poseen, además del mecanismo común a las quinolonas, otro mecanismo diferente (Boswell y cols., 1999; Dámaso, 1990).

En resumen, las quinolonas como NORFLOXACINO, actúan en cuatro etapas: a) paso al interior celular, b) bloqueo de la diana (inhibición de la síntesis de ADN y proteica), c) inducción de la respuesta SOS y autolisinas (alteraciones de la pared celular) y d) muerte celular (Gobernado y Santos, 2002).

## 2.6.- INTEGRACIÓN FARMACOCINÉTICA-FARMACODINÁMICA (PK/PD)

La determinación de la dosis necesaria de fluoroquinolonas para lograr el resultado clínico deseado se consigue con la relación entre farmacocinética y actividad microbiológica (farmacodinámica). Las quinolonas son antibióticos concentración dependiente (Zhanel, 2001), en estos casos, los parámetros que mejor se relacionan con la eficacia de un antibiótico son las relaciones  $AUC_{0-24h} / CMI$  y  $C_{max} / CMI$  ya que se consigue un mayor efecto bactericida (mayor eliminación de bacterias) cuanto mayor es la concentración en contacto con esas bacterias.

La ratio  $C_{max} / CMI$  es particularmente importante en presencia de bacterias con concentraciones mínimas inhibitorias (CMIs) elevadas o en presencia de bacterias con una capacidad de proliferación elevada (Craig y Dalhoff, 1998). En este último caso, las bacterias tienen una mayor probabilidad de sufrir una mutación, que podría conducir a la creación de una población bacteriana menos susceptible. En los procesos infecciosos donde hay una alta carga bacteriana, la probabilidad de mutación es mayor (Craig y Dalhoff, 1998; Drusano y cols., 1993). Diversas investigaciones han demostrado que las fluoroquinolonas con una ratio  $C_{max} / CMI_{90} > 3$  provocan una reducción en el recuento bacteriano de un 99%, y con ratio  $C_{max} / CMI_{90} \geq 8$ , previenen la aparición de microorganismos resistentes (Craig, 1998). Estas ratios aseguran un incremento de la mortalidad de organismos sensibles o inhibición de bacterias con altos valores de CMIs y, por tanto, un menor número de microorganismos que facilita la acción de las defensas orgánicas cuando las concentraciones sistémicas del antibiótico son mínimas. Altas concentraciones de antibiótico, en relación a la CMIs de los microorganismos, también contribuyen a incrementar el efecto post-antibiótico (PAE). El PAE in vivo, es mayor que in vitro para la mayoría de los microorganismos, a excepción de los estreptococos  $\beta$ -hemolíticos. Por tanto, una adecuada ratio  $C_{max} / CMI_{90}$  será fundamental para retrasar el recrecimiento de patógenos, por varias horas. El resultado de usar este tipo de regímenes de dosificación es una menor cantidad de microorganismos capaces de producir subpoblaciones resistentes.

Aunque existe una gran cantidad de información sugiriendo que las fluoroquinolonas son altamente efectivas en presencia de un alto ratio  $C_{max} / CMI_{90}$ , se han observado excepciones que rompen la regla. Por ejemplo, en el caso de *Bacillus anthracis*, ciertos estudios han sugerido que la ratio  $AUC / CMI$  es mejor para predecir el éxito que la ratio

$C_{max} / CMI_{90}$  (Deziel y cols., 2001). También hay que tener en cuenta el tiempo transcurrido entre dosis. Si este tiempo va más allá de 24 horas (como en el caso del gemifloxacino), la efectividad puede depender del tiempo en que la concentración de fármaco excede de la CMI ( $T > CMI$ ) (MacGowan y cols., 2001).

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

Numerosos estudios en modelos animales (basados en infecciones causadas por gram negativos) han mostrado que, para asegurar su supervivencia, es necesario un valor de AUC/CMI de 100 o mayor (Craig, 1998; Craig y Dalhoff, 1998; Thomas y cols., 1998). Este valor de 100, si se traslada a concentración de fármaco, equivale aproximadamente a 4 veces la CMI a lo largo de un intervalo ( $\tau$ ) de 24 horas de dosificación (Walker, 2000). La ratio AUC/CMI tiene una gran importancia en el resultado clínico observado con moxifloxacino (Vesga y cols., 1996), ciprofloxacino (Forrest y cols., 1993) y grepafloxacino (Forrest y cols., 1997).

Diversos estudios han publicado que los valores de AUC/CMI necesarios para asegurar el éxito terapéutico son diferentes para infecciones causadas por gram negativos y gram positivos. Para organismos gram negativos, el valor de AUC/CMI necesario para asegurar la cura y la prevención de cepas resistentes es de 100-125 (Forrest y cols., 1993). En contraste, la ratio AUC/CMI para bacterias gram positivas es considerablemente menor, aproximadamente 30-50 (Ibrahim y cols., 2002; Preston y cols., 1998; Wright y cols., 2000). Investigaciones con fluoroquinolonas de tercera generación han sugerido que, en microorganismos gram positivos, los valores de AUC/CMI son substancialmente menores cuando  $C_{max}/CMI \geq 10$  (Nightingale y cols., 2000). Además, Lees y Aliabadi (2002b) han realizado investigaciones de la ratio AUC/CMI obteniendo un efecto bacteriostático, bactericida y eliminación total bacteriana con varias fluoroquinolonas. En todos los casos, este índice fue menor de 100-125 para terneros, ovejas, cabras y camellos.

Por tanto, la integración PK/PD es una guía para obtener estimaciones iniciales de dosis, que son necesarias para alcanzar la respuesta clínica deseada, modificar un régimen de dosificación en pacientes que tienen alterado el aclaramiento, o para calcular una dosis basándose en la información de la susceptibilidad de organismos patógenos.



Sin embargo, no es correcto usar estos índices para asegurar la efectividad de un producto o para comparar productos. Hay numerosos factores farmacocinéticos y farmacodinámicos que no pueden predecirse. Por ejemplo, la concentración sérica de un fármaco no necesariamente refleja la capacidad de este para penetrar en el sitio de infección o en el interior de la célula bacteriana.

Las modificaciones en la relación pH intracelular/pKa del fármaco, contenido en oxígeno, y actividad enzimática intracelular pueden alterar la actividad bactericida de un antibiótico (Butts, 1994). Además, la potencia de un antibiótico es frecuentemente considerada en términos de CMI, que es un efecto estático sobre el crecimiento bacteriano. La CMI de un antibiótico puede no ser igual que su concentración bactericida mínima (CBM ó MBC). Desde el momento los valores de CMI y CBM de un antibiótico son estimados *in vitro*, estos no reflejan la capacidad antimicrobiana *in vivo* debido a numerosos factores (Craig y Dalhoff, 1998). Mientras que se ha demostrado que algunas fluoroquinolonas tienen actividad *in vitro* e *in vivo* contra bacterias en fase estacionaria (p.e., ofloxacino y ciprofloxacino), otras no (p.e., NFLX) (Lode y cols., 1998). También se ha de tener en cuenta que una vez que se ha alcanzado un determinado valor de la ratio AUC/CMI o  $C_{max}/CMI$  para un determinado antibiótico, el incremento de estas ratios no aumenta su eficacia clínica, ya que elevadas concentraciones de fluoroquinolonas inhiben la síntesis de ARN y la síntesis proteica, provocando una disminución en su actividad bactericida (Lode y cols., 1998).

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

## 2.7.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO

Las quinolonas son rápidamente bactericidas y muestran efecto post antibiótico debido a que actúan específicamente sobre el ADN (Vancutsem y cols., 1990; Mckellar, 1996). Además, actúan como antibióticos concentración dependientes frente a bacterias gram negativas y como tiempo dependiente o una combinación de ambos efectos frente a gram positivas (Cester y cols., 1996).

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

Incluso a concentraciones por debajo de la CMI, las fluoroquinolonas son capaces de (Wetzstein y De Jong, 1996):

- Inhibir la división celular.
- Reducir la tasa de crecimiento bacteriano.
- Inducir cambios en la ultraestructura de la superficie bacteriana que previene la colonización de tejidos específicos.
- Aumentar la susceptibilidad de algunos microorganismos a la fagocitosis.
- Interferir en la expresión de factores de virulencia.

El pH del medio puede afectar a la eficacia de las fluoroquinolonas. Se ha comprobado menor actividad contra bacterias gram negativas en medio ácido que en medio básico. Las bacterias gram positivas parecen no verse afectadas por el pH (McKellar, 1996; Brown, 1996). Wetzstein demostró que a pH ligeramente ácido (tejidos inflamados, abscesos o fagocitos) se reduce la tasa de muerte de algunas bacterias en presencia de enrofloxacin. En contraste, a pH 8 la actividad bactericida del enrofloxacin no varía (Wetzstein y De Jong, 1996).

Entre otras características microbiológicas, las fluoroquinolonas presentan (Otero y cols., 2001b):

- Rápida actividad bactericida a concentraciones relativamente bajas.
- Prolongado efecto post antibiótico sobre estafilococos, enterobacterias y pseudomonas.
- Estrecha relación entre la CMI y la concentración bactericida mínima

- Inhiben a las bacterias resistentes a los aminoglucósidos y betalactámicos.
- No seleccionan mutantes resistentes mediados por plásmidos.
- Frecuencia de resistencia mutacional baja ( $<10^{-9}$ ).
- No alteran la flora de estreptococos y anaerobios intestinales.

En general, las fluoroquinolonas de amplio espectro cubren una amplia variedad de patógenos, incluyendo microorganismos gram positivos, gram negativos, micoplasmas y pseudomonas. En la Tabla VI se observan de forma simplificada, las características comparativas de siete quinolonas, entre las que se encuentra NFLX.

FLUOROQUINOLONA		NAL	PIP	NFLX	CIP	LEV	MOX
Generación		1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>
Acción sobre	gram positivos	-	-	+	++	+++	+++
	gram negativos	++	++	+++	+++	++	++
	microorganismos intracelulares	-	-	+	+	+++	+++
	Anaerobios	-	-	-	-	-	++

NAL: ácido nalidíxico; PIP: ácido pipemídico; CIP: ciprofloxacino; NFLX: norfloxacino; LVF: levofloxacino; MOX: moxifloxacino; GAT: gatifloxacino

Tabla VI.- Características comparativas de siete quinolonas (Gobernado y Santos, 2002).

En particular, el espectro antibacteriano del NFLX incluye especies bacterianas gram negativas como *P. aeruginosa* (Nix y Vito, 1987) ó bacterias de la familia Enterobacteriaceae, entre las que se encuentran *E. coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica* y *Plesiomonas shigelloide*. Este agente antimicrobiano también ejerce su acción contra otras bacterias entéricas como *A. hydrophila*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* y *C. jejunii* (Cué y cols., 2005; Sharma y cols., 2008). Además, este fármaco es activo frente a especies de la familia Pasteurellaceae como *P. multocida* y, en menor medida, *H. influenzae* (Pavithra y cols., 2010).

Norfloxacino también presenta actividad contra especies gram positivas como *S. aureus*, *S. epidermidis* (incluyendo meticilina resistentes), *M. catarrhalis* (incluyendo los productores de penicilinasas) y *Streptococcus* spp. (Cué y cols., 2005; Sharma y cols., 2008). En general, los estafilococos son más susceptibles al fármaco que los estreptococos (Goldstein, 1987).

Al igual que otras fluoroquinolonas, la actividad del NFLX contra las bacterias anaeróbicas es nula o casi nula (Goldstein, 1987). Algunos autores indican que NFLX es activo frente patógenos intracelulares (Barry, 1989) organismos resistentes a la asociación de sulfamidatrimetoprim y algunos micoplasmas (Braunis, 1987).

Grobbel y cols. (2007) determinaron los valores de CMI<sub>50</sub> para enrofloxacino, ciprofloxacino, danofloxacino, difloxacino, marbofloxacino y norfloxacino frente a *M. haemolytica*, *P. multocida*, *E. coli*, *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulasa negativos, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *B. bronchiseptica* y *Streptococcus suis*, aisladas de bovino y porcino. Los datos mostraron una alta actividad *in vitro* de enrofloxacino y ciprofloxacino contra todos los patógenos bovinos y porcinos testados. De hecho, NFLX mostró menos actividad que enrofloxacino para todos los aislamientos de *B. bronchiseptica*, *S. uberis*, *S. suis*, estafilococos coagulasa negativo y *S. dysgalactiae*, así como contra la mayoría de los aislamientos de *E. coli* (60 aislamientos de 70), *S. aureus* (46 de 47) y de *P. multocida* (74 de 75). Norfloxacino fue más activo frente a *M. haemolytica* y *A. pleuropneumoniae* que difloxacino, pero menos que ciprofloxacino, danofloxacino, marbofloxacino y enrofloxacino.

Tras estudiar especies de la familia Enterobacteriaceae, Sharma y cols. (2008) determinaron que más de 90 % de las cepas (CMI<sub>90</sub>) eran inhibidas a concentraciones menores de 2 mg/L. Las bacterias patógenas entéricas, incluyendo *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Y. enterocolitica*, *A. hydrophila*, *P. shigelloides*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* y *C. jejunii* fueron muy susceptibles con una CIM<sub>90</sub> < 1 mg/L. La actividad de NFLX frente a *Neisseria meningitidis* y *M. catarrhalis*, que incluye cepas productoras de β- lactamasas, fue a una menor concentración (CIM<sub>90</sub> < 0,06 mg/L). La CIM<sub>90</sub> para *P. aeruginosa* presentó un rango de 1 a 3,1 mg/L, mientras que otras especies de este y otros géneros como *Acinetobacter* spp. fueron más resistentes. La actividad contra estreptococos, incluyendo cepas resistentes a la meticilina, fue menor (rango CMI<sub>90</sub>: 1-6.1 mg/l) que la actividad contra las bacterias gram negativas. Frente a estafilococos se obtuvo mayor actividad. Además, se determinó que NFLX es, generalmente, inactivo contra la mayoría de bacterias anaeróbicas clínicamente importantes como micobacterias, micoplasmas y clamidias.

Pavithra y cols. (2009) determinaron una CMI<sub>90</sub> de 0,06, 0,12, 0,25 y 0,5 mg/ml para *H. influenzae*, *E. coli*, *Enterobacter* spp. y *Klebsiella* spp., respectivamente, frente a NFLX.

En un estudio donde se comparó NFLX y enoxacino, se observó que tenían la misma actividad antimicrobiana (CMI<sub>90</sub>) frente a *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae* y algunas otras especies de gram positivos, pero estas actividades eran débiles en comparación con ciprofloxacino (Ismael y Tayeb, 1994).

En la Tabla VII, se expresan los valores de CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y rango de concentraciones (µg/ml) obtenidas con NFLX frente diversas cepas bacterianas aisladas en diferentes especies animales.

Cepa	Especie	CMI <sub>50</sub> µg/ml	CMI <sub>90</sub> µg/ml	Rango	Referencia
<i>Escherichia coli</i>	Vaca	0,06	-	0,016-0,5	Grobbel y cols., 2007
	Cerdo	0,10	0,25	-	Takahashi y cols., 1990
	Aves	0,5	-	-	Ozawa y cols., 2010
<i>Salmonella</i> sp.	Conejo	-	0,02	-	Pavithra y cols., 2010
<i>Shigella</i> spp.	Conejo	-	0,05	-	Pavithra y cols., 2010
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	<1	-	Sharma y cols., 2008
<i>Mannheimia haemolytica</i>	Vaca	0,03	-	0,03-0,25	Grobbel y cols., 2007
	Conejo	<0,02	-	-	Pavithra y cols., 2010
<i>Pasteurella multocida</i>	Vaca	0,03	-	0,016-0,12	Grobbel y cols., 2007
	Cerdo	0,03	0,06	-	Prescott y Yielding, 1990
<i>Pasteurella haemolytica</i>	Terneros	0,03	0,06	-	Prescott y Yielding, 1990
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Cerdo	2,0	-	0,5-4,0	Grobbel y cols., 2007
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Cerdo	0,03	0,03	-	Prescott y Yielding, 1990
<i>Actinobacillus suis</i>	Cerdo	0,03	0,03	-	Prescott y Yielding, 1990
<i>Haemophilus influenzae</i>	Conejo	<0,05	-	-	Pavithra y cols. 2010
<i>Haemophilus parasuis</i>	Cerdo	0,03	0,03	-	Prescott y Yielding, 1990
<i>Haemophilus somnus</i>	Ternero	0,125	0,125	-	Prescott y Yielding, 1990
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	<1	-	Sharma y cols., 2008
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	-	-	<1	-	Sharma y cols., 2008
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	<1	-	Sharma y cols., 2008
<i>Vibrio cholerae</i>	-	-	<1	-	Sharma y cols., 2008
<i>Campylobacter jejunii</i>	-	-	<1	-	Sharma y cols., 2008
<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	-	0,06	-	Sharma y cols., 2008
<i>Francisella tularensis</i> subsp. <i>Holarctica</i>	Liebre	≤ 4	≤ 4	≤ 4	García del Blanco y cols., 2004
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	1-3,1	Sharma y cols., 2008
Estreptococos	-	-	-	1-6,1	Sharma y cols., 2008

<i>Streptococcus pyogenes</i>	Conejo	1,6	-	-	Pavithra y cols., 2010
<i>Streptococcus faecalis</i>	Conejo	3,1	-	-	Pavithra y cols., 2010
<i>Streptococcus equi</i>	Caballo	8	8	-	Prescott y Yielding, 1990
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Vaca	1,0	-	1,0-8,0	Grobbel y cols., 2007
<i>Streptococcus suis</i>	Cerdo	2,0	-	1,0-8,0	Grobbel y cols., 2007
<i>Streptococcus uberis</i>	Vaca	2,0	-	1,0-8,0	Grobbel y cols., 2007
<i>Streptococcus zooepidermicus</i>	Caballo	8	8	-	Prescott y Yielding, 1990
Estafilococos	-	-	-	0,5-32	Sharma y cols., 2008
<i>Staphylococcus aureus</i>	Conejo	0,8	-	-	Pavithra y cols., 2010
	Vaca	0,5	-	0,06-8	Grobbel y cols., 2007
<i>Actinomyces pyogenes</i>	Ternero	8	8	-	Prescott y Yielding, 1990
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	Oveja	0,5	0,5	-	Prescott y Yielding, 1990
	Cabra				
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Cerdo	0,125	0,125	-	Prescott y Yielding, 1990
<i>Rhodococcus equi</i>	Caballo	2	4	-	Prescott y Yielding, 1990
<i>Mycoplasma agalactiae</i>	Cabra	-	-	0,1-12,8	Paterna y cols., 2013

Tabla VII.- Valores de  $CMI_{50}$ ,  $CMI_{90}$  y rango de concentraciones ( $\mu\text{g/ml}$ ) obtenidas con norfloxacinó frente diferentes cepas bacterianas obtenidas de distintas especies animales.

## 2.8.- RESISTENCIAS

Las quinolonas deben penetrar en el interior de la bacteria para poder ejercer su efecto citotóxico, alcanzar su diana celular, las topoisomerasas II y IV, y posteriormente inducir la muerte de la célula. La resistencia a las quinolonas incluye aquellos mecanismos que impiden a estos quimioterápicos alcanzar su diana y/o interactuar con la misma (Hooper, 2002). La inactivación de las fluoroquinolonas ha sido descrita con enrofloxacino frente a los hongos *Phanerochaete chrysosporium* y *Gloeophyllum striatum* (Wetzstein y cols., 1997) y, recientemente, ha sido puesto de manifiesto la N-acetilación del anillo piperazínico de las quinolonas, por parte de una acetiltransferasa que también modifica los aminoglucósidos y que está codificada por una variante del gen *aac(6')Ib*. Esta resistencia se ha considerado transferible y de bajo nivel (Robicsek y cols., 2006).

Además de la inactivación de las quinolonas, anteriormente descrita, los mecanismos que utilizan los microorganismos para eludir la acción bactericida de las quinolonas se basan en las alteraciones que afectan a la diana de las mismas y las modificaciones que disminuyen la concentración de la quinolona en el interior de la bacteria.

Kawakami y cols. (2010) aislaron estafilococos coagulasa positiva *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi* subsp. *coagulans* a partir de perros con pioderma. En estas cepas se determinó, entre otros agentes antimicrobianos, la resistencia a NFLX obteniéndose unos niveles de susceptibilidad del 34,1 y del 45% en *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, respectivamente. Para determinar la prevalencia de cepas resistentes a la meticilina, se utilizó un método de PCR, que permitió la detección del fragmento del gen *mecA* en el 66,5 % en *S. pseudintermedius* y 30,0 % en *S. schleiferi* subsp. *coagulans*. La frecuencia de susceptibilidad a NFLX fue significativamente menor en los estafilococos coagulasa positivo resistentes a la meticilina que en sensibles a meticilina. Estos datos sugieren un alto nivel de resistencia a la meticilina en estafilococos aislados de perros con pioderma.

La resistencia para NFLX en búfalos con mastitis provocada por *Staphylococcus* spp. fue determinada por de Medeiros y cols. (2011) siendo el porcentaje de 31,6%.

Por otro lado, no se ha estudiado la resistencia por plásmidos al NFLX. (Sharman y cols., 2008).

### 2.8.1.- ALTERACIONES QUE AFECTAN A LA DIANA DE LAS FLUOROQUINOLONAS.

Las fluoroquinolonas pueden verse afectadas en su mecanismo de acción mediante mutaciones en los genes que codifican la ADN girasa (*gyrA*, *gyrB*) y la topoisomerasa IV (*parC*, *parE*). Estas alteraciones se consideran el mecanismo principal de resistencia a fluoroquinolonas. Las mutaciones en *gyrA*, el gen que codifica la subunidad A de la ADN girasa, constituyen el mecanismo más común de resistencia a quinolonas en las bacterias gram negativas, mientras que las mutaciones en *parC* (gen que codifica la subunidad C de la topoisomerasa IV) lo son para las gram positivas (Gobernado, 2001). Estas mutaciones involucran áreas similares en el gen, denominadas QRDR (*quinolone resistance-determining regions*), que en el caso de *gyrA* en *E.coli* se localiza entre el aminoácido 67 y el 106. También se han observado mutaciones que afectan a la subunidad B de la ADN girasa (*gyrB*) y a la subunidad E de la topoisomerasa IV (*parE*), sin embargo, estas mutaciones son menos frecuentes y de menor relevancia clínica (Sanders, 2001). La presencia de una única mutación (mutantes de primer escalón) en la región QRDR de *gyrA*, suele dar lugar a altos niveles de resistencia para el ácido nalidíxico, mientras que son necesarias mutaciones adicionales en *gyrA* y/o en *parC* para obtener estos niveles de resistencia en fluoroquinolonas (Hooper, 2000b; Ruiz, 2003).

### 2.8.2.-MODIFICACIONES QUE DISMINUYEN LA CONCENTRACIÓN DE LA QUINOLONA EN EL INTERIOR DE LA BACTERIA

Existen varias modificaciones que originan una disminución de quinolonas en el interior de las bacterias. Así, se han observado:

- resistencias por alteración de la membrana externa en bacterias gram negativas
- resistencias a causa de la sobreexpresión de bombas de eflujo en bacterias gram positivas y gram negativas.

#### 2.8.2.1.- RESISTENCIAS POR ALTERACIÓN DE LA MEMBRANA EXTERNA EN BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

Las modificaciones en la membrana externa de bacterias gram negativas se originan por alteraciones de los genes que codifican los canales de las porinas, que ejercen un papel fundamental en la difusión de la quinolona a través de la membrana externa. Cohen y cols. (1989), observaron que varios mutantes, que mostraban resistencia a las quinolonas



hidrofílicas, tenían en común la reducción del número de OmpF, la principal y mayor proteína de las porinas de la membrana externa de *E. coli*. Se ha observado que fármacos como cloramfenicol, tetraciclinas y salicilatos pueden inducir la expresión de *MarA* (gen regulador cuyo efecto neto es la disminución de la expresión de OmpF) (Ruiz, 2003). Estas resistencias suelen ser de bajo nivel, necesitándose que el microorganismo disponga además de algún otro mecanismo de resistencia para hacer inviable la acción de la fluoroquinolona (Sanders, 2001).

#### 2.8.2.2.-RESISTENCIA A CAUSA DE LA SOBREENPRESIÓN DE BOMBAS DE EFLUJO EN BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS

Las bombas de eflujo expulsan la quinolona desde el medio intracelular al extracelular por acción de transportadores activos endógenos, impidiendo su acumulación (Li y Nikaido, 2004).

La sobreexpresión ó mayor expresión de una bomba de eflujo u otra va a depender del microorganismo y de la quinolona a la que se ve expuesta (Join-Lambert y cols., 2001).

Así se encuentra que:

- Durante los días de tratamiento frente a *P. aeruginosa*, ciprofloxacino desarrolla preferentemente, en ratas, la sobreexpresión de MexEF-OprN, mientras que trovafloxacino desarrolla MexCD-OprJ (Join-Lambert y cols., 2001).
- Los sistemas/bombas de eflujo son diferentes para gram positivos y gram negativos, en estos últimos los sistemas de eflujo son multicomponentes. La Tabla VIII recoge, para importantes patógenos en clínica, las bombas de eflujo causantes de resistencia a fluoroquinolonas. Nótese como para una misma bomba en muchos casos el espectro incluye varios quimioterápicos, por lo que, en el caso de que un patógeno sobreexpresara alguno de estos sistemas, se pueden establecer resistencias cruzadas entre antibióticos (Li y Nikaido, 2004; Aeschlimann, 2003; Join-Lambert y cols., 2001; Poole, 2000).
- La expresión de los transportadores de expulsión puede determinar el grado de sensibilidad antimicrobiana, y está reconocida como causa de resistencia de bajo grado a quinolonas (Hooper, 2002; Taléns-Visconti y cols., 2002).

Como ya se ha mencionado anteriormente, las quinolonas son antibióticos sintéticos (moléculas sin contacto previo con microorganismos) y que, además, actúan sobre enzimas con funciones esenciales para la bacteria, estas razones provocan que el desarrollo de

mutantes resistentes no sea rápido. Ante la exposición a la fluoroquinolona, la supervivencia de las bacterias se ve comprometida y se desarrollan mecanismos de resistencia que disminuyen la concentración del antibiótico en el interior celular, como la sobreexpresión de bombas de eflujo, aunque este hecho suponga un coste extra para la bacteria. Estas ventajas *a priori* de las quinolonas, tienen la contrapartida de seleccionar la sobreexpresión de estos sistemas, que en muchas ocasiones confieren a los microorganismos resistencias multifármaco (Poole, 2000; Li y Nikaido, 2004), si bien, ya se conocen y se realizan estudios con inhibidores de estas bombas, como reserpina y otras moléculas más potentes como 5'-metoxihidnocarpina, fenilalanilarginil- $\beta$ -naftilamida o la M-clorofenil-hidrazona (Pidcock y Jin, 1999; Schmitz y cols., 2000; Li y Nikaido, 2004). A este respecto, Beyer y cols. (2000), estudian la emergencia de resistentes utilizando reserpina, como inhibidor de los sistemas de eflujo de fluoroquinolonas en *S. aureus* y *S.pneumoniae*.

Los mecanismos de resistencia pueden manifestarse solos o en combinación. La resistencia se manifiesta por un aumento de la CMI de las quinolonas para bacterias determinadas, y generalmente, ocurre en distintos escalones. Las cepas mutantes de primer escalón aparecen por mutación de una de las dos topoisomerasas, dando como resultado un grado moderado de resistencia. Una nueva mutación da lugar a los mutantes de segundo escalón, que conlleva a una resistencia más elevada con CMIs aún superiores (Sanders, 2001).

En la siguiente tabla se recoge los componentes y los sustratos de las bombas de eflujo de varios microorganismos:

Microorganismo	Componentes de la bomba de eflujo			Sustratos del sistema de eflujo	
GRAM NEGATIVOS	<i>Acinetobacter baumannii</i>	AdeA	AdeB	AdeC	Fluoroquinolonas, Aminoglucósidos, Cloramfenicol, Novobiocina, Tetraciclinas, Trimetoprim
	<i>Campylobacter jejuni</i>	CmeA	CmeB	CmeC	Fluoroquinolonas, Acido Nalidíxico, Ampicilina, Cefotaxima, Eritromicina Cloramfenicol
	<i>Escherichia coli</i>	AcrA	AcrB	TolC	Fluoroquinolonas, Betalactámicos, Cloramfenicol, Macrólidos, Novobiocina, Rifampicina,
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MexA	MexB	OprM	Fluoroquinolonas, Aminoglucósidos, Betalactámicos, Cloramfenicol, Macrólidos, Novobiocina, Sulfonamidas, Tetraciclinas, Trimetoprim
		MexC	MexD	OprJ	Fluoroquinolonas, Cloramfenicol, Cefalosporinas, Tetraciclinas
		MexE	MexF	OprN	Fluoroquinolonas, Cloramfenicol
		MexX	MexY	OprM	Fluoroquinolonas, Aminoglucósidos, Cefalosporinas, Eritromicina, Tetraciclinas
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	SmeA	SmeB	SmeC	Fluoroquinolonas, Aminoglucósidos, Betalactámicos
		SmeD	SmeE	SmeF	Fluoroquinolonas, Tetraciclinas, Eritromicina
	<i>Salmonella typhimurium</i>	AcrA	AcrB	TolC	Fluoroquinolonas, Betalactámicos
GRAM POSITIVOS	<i>Bacillus subtilis</i>	Blt		Fluoroquinolonas	
		Bmr		Fluoroquinolonas	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	EmeA		Fluoroquinolonas, Clindamicina, Eritromicina, Novobiocina	
	<i>S. aureus</i>	NorA		Fluoroquinolonas (quinolonas fundamentalmente hidrófilas como enoxacino y NFLX)	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	PmrA		Fluoroquinolonas		

Tabla VIII.- Componentes y sustratos de las bombas de eflujo en bacterias gram positivas y gram negativas

Generalmente, las resistencias a quinolonas son de tipo cromosómico, aunque se han registrado casos de resistencia mediada por plásmidos. Concreta y cronológicamente:

- *In vitro*, se ha observado la capacidad de *S. pneumoniae* y de estreptococos del grupo viridans de incorporar vía transformación, fragmentos de *gyrA* y *parC*, que incluyen las regiones QRDR. Estos estudios, además, muestran que la resistencia podría ser transferida del ADN de *S. pneumoniae* a estreptococos del grupo viridans y a la inversa (Ferrándiz y cols., 2000).
- Tran y Jacoby (2002), demuestran la existencia del gen *qnr* en plásmidos, y que la proteína que codifica protege a la ADN girasa de la inhibición causada por las quinolonas, si bien, Jacoby y cols. (2003), describen la baja prevalencia de este gen, ya que sólo lo encontraron en seis cepas (cinco de *K. pneumoniae* y una de *E. coli*) de entre un elevado número de series procedentes de 19 países.
- En la última Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco 2006, se recogen distintos trabajos en los que se comunica la resistencia a fluoroquinolonas mediada por los genes transmitidos por plásmidos de la familia *qnr*. Se describen los genes *qnrA* (con las variantes del A1 al A7), los genes *qnrB* (con las variantes del B1 al B6) y los genes *qnrS1* y *qnrS2*, cada uno de ellos con distinta prevalencia según las diferentes regiones geográficas. Estos genes:
  1. Confieren resistencia frente al ácido nalidíxico, frente a las fluoroquinolonas la confieren de bajo nivel, pero facilitan la aparición de un mayor nivel de resistencia debida a mutaciones adicionales en los genes cromosómicos.
  2. Están presentes en una gran variedad de especies de enterobacterias (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii* y *Enterobacter* spp.) tanto de adquisición comunitaria como nosocomial.
  3. Se asocian en general con betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y con alguna mutación además en *gyrA* o *parC*.
- Además, se ha descrito una nueva bomba de eflujo plasmídica denominada Qep, causante de resistencia transmisible a fluoroquinolonas, en un aislado de *Escherichia coli* procedente de Japón (ICAAC, 2006).

El uso extensivo y abusivo de quinolonas, tanto en medicina humana como en veterinaria ha originado un continuo incremento en la prevalencia de aislados resistentes a las mismas (Ruiz, 2003). Blanco y cols., en 1997, publican el porcentaje de resistencias a quinolonas que registraron en 301 aislados clínicos de *E. coli* pertenecientes a pollos infectados y 167 aislados controles de *E. coli* obtenidos en Orense. En el estudio se pone de manifiesto una resistencia de nivel medio-alto (36-46%) para el ácido pipemídico y nalidíxico y una resistencia moderada (13-24%) para NFLX, ofloxacino, ciprofloxacino, flumequina y pefloxacino. A raíz de los resultados y a consecuencia del riesgo de resistencia cruzada con patógenos entéricos humanos (concretamente, *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp.), los autores recomiendan un uso prudente de fluoroquinolonas en aves de corral.

En medicina humana, la prevalencia de la resistencia de *Streptococcus pneumoniae* a fluoroquinolonas en España es baja, aunque varía con el tiempo, la región geográfica, la edad y el origen de las cepas (De la Campa y cols., 2004). La incidencia total de *S. pneumoniae* resistente a ciprofloxacino registrada en los últimos años oscila entre 2,6 y 7% (Pérez y cols., 2001; De la Campa y cols., 2004).

Por otro lado, se ha observado que las fluoroquinolonas más modernas se ven menos afectadas por las resistencias y seleccionan menos mutantes resistentes, este hecho, podría deberse a su gran afinidad por las topoisomerasas, y por tanto, a su gran poder letal, por ello se ha recomendado restringir el uso de las quinolonas más antiguas (Beyer y cols., 2000; Pestova y cols., 2000; Sanders, 2001; Li y Nikaido, 2004). Así, mientras que una cepa de *S. pneumoniae* mutante de primer escalón es resistente a ofloxacino, puede seguir siendo sensible a moxifloxacino, aunque la sensibilidad para éste último disminuye (Gobernado, 2001).

El problema aparece cuando la resistencia tiene impacto en la clínica, es decir, cuando los tratamientos empíricos dejan de ser eficaces. Los fracasos del tratamiento además de repercutir en el paciente, también impactan en el Sistema de Salud en conjunto, prolongando la enfermedad y llevando a incrementos en los costos de la salud.

### 2.8.3.- SENSIBILIDAD A NORFLOXACINO. PUNTOS DE CORTE

La sensibilidad a NFLX y a otras fluoroquinolonas ha sido estudiada frente a diversas especies como *S. aureus*, *P.aeruginosa*, *E.coli* y *K.pneumoniae*, las cuales son altamente sensibles a este fármaco. En comparación con otras quinolonas, NFLX tiene mayor

actividad antimicrobiana que esparfloxacino y ofloxacino frente a *P. aeruginosa*. Dicha actividad también es mayor que cuando se emplea levofloxacino y ofloxacino si la especie bacteriana es *E. coli* (Nakade, 2012).

Elmadiena y col. (2013) analizaron la susceptibilidad de NFLX frente a cepas de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* aisladas de pollos. La mayoría de las cepas de *Salmonella* sp. (90,6 %) fueron sensibles a NFLX. De forma similar, años atrás se observó que el 100 % de los aislados de *Salmonella* spp. de muestras cloacales de patos fue sensible a NFLX (Tsai y Hsiang, 2005). El mismo resultado se obtuvo en tortugas (Nowakiewicz y cols., 2011).

Nonga y Muhairwa (2009) estudiaron la susceptibilidad de *Campilobacter jejuni* en patos frente a NFLX y otros fármacos. Los resultados demostraron que la menor resistencia se presentó para NFLX, siendo la susceptibilidad del 90%.

Además, se ha determinado la sensibilidad in vitro de *A pleuropneumoniae* y *P. multocida* tipo “A” frente a NFLX. Williams y cols (2001), observaron que un 100% de 153 cepas de *A pleuropneumoniae* analizadas fue sensible a NFLX. De 80 cepas de *P. multocida* tipo “A”, observaron que un 88,8% era sensible a NFLX, siendo 11,2% y 0% el número de cepas intermedias y resistentes, respectivamente. Norfloxacino también ha resultado ser activo frente a cepas de *E. coli* aisladas de muestras nasales y pulmones de cerdos, siendo la sensibilidad al fármaco mayor del 74% (Markowska y cols., 2010). En cambio, en pollos la sensibilidad del fármaco (22,8%) es menor frente a cepas de *E. coli* (Ozawa y cols., 2010).

Por otro lado, para la determinación de la CMI se puede emplear la técnica en disco de sensibilidad a antibióticos, estandarizada por la FDA. Se han fijado como puntos de corte los siguientes valores (Ficha técnica, 2007):

Microorganismo	CMI estándar (µg/mL)		
	Resistente	Sensibilidad intermedia	Sensible
<i>Staphylococcus</i> spp.	≥ 16	8	≤ 4

Tabla IX.- Puntos de corte establecidos para norfloxacino.

## 2.9.- PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS

### 2.9.1.- ABSORCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD

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

En general, la administración oral postprandial de fluoroquinolonas no va a sufrir una disminución clínicamente importante en su biodisponibilidad (F) a menos que se administren con alimentos que contengan alta cantidad de cationes divalentes. Sin embargo, debido a la naturaleza lipofílica de las quinolonas, los alimentos pueden incrementar su biodisponibilidad oral y, por tanto, aumentar las concentraciones sistémicas. Por ejemplo, si se administra ibafloxacin junto con alimentos, se produce un incremento del AUC y  $C_{max}$  en gatos (Coulet y cols., 2005).

Al igual que otras quinolonas, NFLX presenta valores muy aceptables para dichas variables farmacocinéticas. El fármaco presenta una buena absorción oral a dosis de 60 mg/kg en el ganado ovino (González y cols., 1997). Además, existen evidencias de que se alcanzan concentraciones en plasma elevadas, siendo los tiempos de absorción reducidos en las especies animales estudiadas y las biodisponibilidades elevadas.

Shem-Tov y Ziv (1994), compararon  $t_{max}$  y F según la vía de administración intramuscular y subcutánea en cerdos obteniendo valores muy similares. De hecho, la biodisponibilidad osciló entre 51-64% tras la administración intramuscular y subcutánea. En esta misma especie animal, cuando la vía de administración es oral, la biodisponibilidad fue de un 31,10%, siendo la  $t_{max}$  de 1,36 horas (Chang y cols., 2007).

En terneros, Gips y Soback (1996), obtuvieron una biodisponibilidad de NFLX que variaba de 73% al 106% según la dosis administrada por vía intramuscular. Los resultados sugirieron que los volúmenes de inyección elevados disminuyen la cantidad total de fármaco absorbido.

En cabras, El-Sayed y cols. (2011), obtuvieron un valor de  $t_{max}$  de 4,01 h y una biodisponibilidad de 70,04% tras la aplicación intramuscular de 10 mg/kg de NFLX en animales sanos.

Cuando la administración es por vía oral, en pollos la biodisponibilidad es del 50%, siendo necesario el transcurso de una hora para que se alcance la  $C_{max}$  del fármaco (Abu-Basha, 2008). En perros, el valor estuvo entre el 35-46% (Brown y cols., 1990). En contraste, en corderos y en ovejas la biodisponibilidad fue, respectivamente, 73,51 % y 4,04% (González y cols., 1997).

La biodisponibilidad de NFLX sufre una disminución notable en otras especies animales como el caballo en el que se alcanza un valor de 55% tras la administración intramuscular. En esta especie, la concentración máxima del fármaco se presentó a las 0,86 h desde la administración del fármaco (Park y Yun, 2003).

En contraste con los elevados datos obtenidos en las especies animales citadas, la biodisponibilidad de NFLX administrado por vía intramuscular y oral fue drásticamente menor en burros 31,5 % y 9,6%, respectivamente, tras la administración de una dosis de 10 mg / kg, (Lavy y cols., 1995).

Respecto al conejo como especie animal objeto de este estudio, tras la administración oral de 5 mg/Kg de NFLX y su sal (nicotinato de norfloxacino), se obtuvo una biodisponibilidad de 29 % y 45 %, respectivamente. El tiempo en el que se alcanzó la concentración máxima de NFLX y su sal fue de 0,46 h y 0,43 h, respectivamente. (Park y cols., 1998).

A continuación, se expone una tabla con los valores de tiempo máximo y de biodisponibilidad obtenidos para NFLX en estas especies:



Especie	Vía	t <sub>max</sub> (h)	F (%)	Referencia
Conejo	VO	0,43	45,0	Park y cols., 1998
Ternero	IM	-	106,0	Gips y Soback, 1996
Cordero	VO	-	73,5	González y cols., 1997
Cabra	IM	4,01	70,0	El-Sayed y cols., 2011
Caballo	IM	0,86	55,0	Park y Yun, 2003
Cerdo	SC	0,25	64,0	Shem-Tov y Ziv, 1994
	IM	0,25	51,0	Shem-Tov y Ziv, 1994
	VO	1,36	31,1	Chang y cols., 2007
Pollo	VO	1	50,0	Abu-Basha, 2008
Perro	VO	-	46,0	Brown y cols., 1990
Burro	IM	-	31,5	Lavy y cols., 1995
	VO	-	9,6	Lavy y cols., 1995

Tabla X.- Valores de t<sub>max</sub> y biodisponibilidad obtenidos para norfloxacin

### 2.9.2.- DISTRIBUCIÓN TISULAR Y CONJUGACIÓN PROTEICA

Debido a la capacidad de un agente antimicrobiano para pasar de la sangre a los tejidos, la actividad *in vivo* del fármaco depende de su fracción libre. Por tanto, cuando se usan las características farmacocinéticas y farmacodinámicas para evaluar una dosis apropiada de una quinolona, es más interesante conocer la fracción libre de fármaco (fu) que la concentración total de éste (Bergogne-Berezin, 2002; Craig y Ebert, 1989; Drusano, 2002). A este respecto, es importante reseñar que las CMI<sub>s</sub> calculadas *in vitro* son determinadas en base a la concentración de fármaco libre. Desafortunadamente, en la bibliografía veterinaria se le da muy poca importancia a este factor, y la mayoría de estudios farmacocinéticos expresan sus parámetros (p.e.: AUC, C<sub>max</sub>) para concentración total de fármaco.

La difusión de un antibiótico al sitio de infección puede verse dificultada por la existencia de barreras que provocan diferencias entre la concentración plasmática de fármaco y las concentraciones a las que están expuestos los microorganismos. Ejemplos de estas barreras

son los abscesos, la barrera hemato-encefálica y la pared bacteriana (Costerton y cols., 1999; Toutain y cols., 2002).

Por esta razón, comprender la respuesta de un agente infeccioso, facilitará que se desarrollen y usen los ratios farmacocinéticos/farmacodinámicos para calcular la dosis óptima. De forma similar, la comprensión de las características de unión de un antibiótico y su capacidad para difundirse en tejidos a través de las barreras biológicas, ayuda a los clínicos a definir una apropiada pauta terapéutica.

Respecto a la conjugación proteica que puede sufrir el NFLX, aproximadamente el 15 % del fármaco se une a las proteínas plasmáticas (Sharma y cols., 2008).

En general, las fluoroquinolonas poseen amplios volúmenes de distribución, mayores de 1,0 L/kg. (Aminimanizani y cols., 2001; Lode y cols., 1998). Cuando se consideran estos valores es importante conocer que los volúmenes de los fluidos corporales compartimentalizados son alrededor de 0,05 L/kg para plasma, 0,2 L/kg para fluidos extracelulares y 0,7 L/kg para el agua corporal total (Wamberg y cols., 2002). Volúmenes superiores a 0,7 L/kg indican que el fármaco está unido preferentemente a tejidos, pudiendo o no estar disponible para su función, y pudiendo haber sido secuestrado en el interior de las células. No obstante, cuando se considera la concentración de antibiótico intersticial libre, se confirma que esta concentración es comparable a la concentración del fármaco libre en plasma (Araki y cols., 1997). Por tanto, excluyendo las situaciones asociadas a la captación iónica, alcanzado el equilibrio de concentraciones (libre) entre sangre y tejidos (Muller y cols., 1999), las concentraciones de fármaco libre en tejidos pueden preverse en base a la concentración de fármaco libre en plasma, incluso en casos en que la unión a proteínas no es lineal (Kovar y cols., 1997).

Estudios en animales han demostrado que el volumen de distribución de norfloxacin es muy grande, aproximadamente 50 % del peso corporal (Sharm y cols., 2008). Norfloxacin logra una buena penetración en los tejidos y fluidos corporales, difundiendo rápidamente a los espacios extravasculares. Tiene un volumen de distribución elevado en las especies estudiadas como, por ejemplo, en conejo (Pavithra y cols., 2010).

La distribución de la mayoría de los fármacos está influenciada por muchos factores relacionados con la edad (Eltom y cols., 1993). González y cols. (1997) estudiaron la farmacocinética de la NFLX después de la administración por vía oral e intravenosa en corderos y ovinos adultos, obteniéndose concentraciones plasmáticas de administración acordes a un modelo abierto de tres compartimientos. Los volúmenes de distribución del

fármaco fueron significativamente mayores en corderos. Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos previamente para danofloxacino (Friis, 1991; Giles y cols., 1991).

En corderos, es posible que las diferencias de unión puedan contribuir al aumento de  $V_{ss}$ . Además, puede que otros factores, tales como la unión a cartílago, influyan en la distribución en animales recién nacidos debido a concentraciones más altas son NFLX encontrado en el cartílago articular después de la administración del fármaco en rata, conejo, perro y mono jóvenes (Machida y cols., 1990).

En corderos, el alto  $V_{ss}$  y la relación de transferencia entre el compartimento periférico y el central indicaron que NFLX se distribuye ampliamente, sugiriendo que las concentraciones de los fármacos en determinados tejidos son considerablemente superiores a los de la sangre. En el ovinos adultos, Soback y cols. (1994) obtuvieron un  $V_{ss}$  por vía intravenosa de 1,4 L/kg.

En el ganado vacuno, el total de agua corporal disminuye y el contenido de grasa aumenta con el aumento de la edad (Reiche, 1983). Por esta razón, el volumen de distribución de fármacos anfóteros como NFLX, podría ser mayor en animales jóvenes que en los adultos. Además, la concentración de proteínas séricas son bajas después del nacimiento.

En rumiantes, no hay datos comparativos acerca de la unión NFLX proteína, pero se ha observado que, en recién nacidos, un alto volumen de distribución de fármacos altamente unidos (De Backer, 1985).

Las diferencias respecto a  $V_{ss}$  debidas al estado de madurez de la especie animal no se presentó en terneros destetados y no destetados después de la administración intravenosa de NFL (Soback y cols., 1994) y nicotinato de NFLX (Gips y Soback, 1996). La  $V_{ss}$  fue similar para ambos grupos de edad. Abu-Basha y cols. (2008) obtuvieron un valor de  $V_{ss}$  de 2,13 en terneros.

El  $V_{ss}$  fue de 3,34 en burros (Lavy y cols., 1995), 2,19 en caballos (Park y Yun, 2003) y 1.46 en pollos (Abu-Basha y cols., 2008).

En contraste, Soback y cols., 1994, obtuvieron un volumen de distribución aparente menor (1,40 l/kg) en ovejas, por lo que se sospecha una mayor unión a proteínas plasmáticas o un grado bajo de acumulación en ciertos órganos.

El Sayed y cols. (2011), obtuvieron un  $V_d$  de 0.42 L/kg tras la administración intramuscular de NFLX en cabras y un grado de unión a proteínas del 14,07%. Después de la administración de 10 mg/kg de NFLX durante 5 días consecutivos, la fluroquinolona mostró acumulación en el suero, la orina y la leche de las cabras. Los resultados de este

estudio indicaron que NFLX era útil para el tratamiento de infecciones del tracto urinario y mastitis en esta especie animal.

En conejos, NFLX presentó altos volúmenes de distribución y un porcentaje de unión a proteínas menor del 40% (Pavithra y cols., 2010). Park y cols. (1998) obtuvieron, en esa misma especie animal, un  $V_{ss}$  de 2,21 L/kg con dosis de 5 mg/kg.

En la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos para el volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) para diferentes especies animales:

Especie	Dosis (mg/kg)	$V_{ss}$ (L/kg)	Referencia
Cerdo	7,2	4,66	Chang y cols., 2007
	7,0	3,20	Shem-Tov y Ziv, 1994
Caballo	4,0	2,19	Park y Yun, 2003
Ternero	7,5	2,13	Gips y Soback, 1996
Oveja	25	1,40	Soback y cols., 1994

*Tabla XI.- Valores obtenidos de  $V_{ss}$  para diferentes especies animales tras la administración intravenosa de norfloxacinó*

### 2.9.3.- ACLARAMIENTO PLASMÁTICO Y ELIMINACIÓN

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

1. Vía renal: enrofloxacinó, orbifloxacinó, ofloxacinó, temafloxacinó y lomefloxacinó.
2. Vía hepática: difloxacinó y perfloxacinó.
3. Por ambas vías renal y hepática: NFLX, marbofloxacinó, danofloxacinó, y ciprofloxacinó.

El metabolismo hepático que sufren las fluoroquinolonas varía en las distintas especies animales y para las distintas quinolonas, lo que se traduce en un amplio rango de semividas (Greene y Budsberg, 1993; Nix y Schentag, 1988; Vancutsem y cols., 1990). El metabolismo hepático de estos antibióticos incluye reacciones de glucuroconjugación (moxifloxacinó, grepafloxacinó, cinafloxacinó y esparfloxacinó), N-oxidación y

desmetilación (levofloxacino), y se lleva a cabo principalmente por el sistema del citocromo P<sub>450</sub> (Bergogne-Berezin, 2002).

Norfloxacino sufre metabolismo hepático por enzimas del sistema microsomal P<sub>450</sub> y excreción renal (Sharma y cols., 2008).

Las quinolonas se conjugan con ácido el ácido glucurónico con el grupo COOH de la posición 3. Los metabolitos principales se derivan de sustituciones químicas en el anillo de piperazina. Estos se producen por modificación del nitrógeno del grupo amino con formación de los derivados de formilo y acetilo o por oxidación de un átomo de carbono en el anillo de piperazina a un grupo ceto designa como el oxo derivado.

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

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

En humanos, NFLX tiene una vida media de eliminación de 3 h aproximadamente. La concentración en estado estacionario de norfloxacino se alcanza generalmente dentro de los dos días de dosificación (Sharma y cols., 2008).

Los valores de aclaramiento (Cl) de NFLX en las diferentes especies estudiadas son, en general, relativamente bajos en especies animales adultas. De hecho, se ha observado que la eliminación de NFLX fue más rápida en los corderos después de la administración oral que en animales adultos (González y cols., 1997).

Además, se ha observado que el aclaramiento plasmático y la eliminación del fármaco son significativamente menores en ovejas que en corderos (González y cols., 1997).

En la oveja, se han obtenido valores de aclaramiento renal de creatinina y de NFLX de 0,042 y 0,013 ml/min·kg, respectivamente, tras la administración intramuscular de NFLX (Javed y cols., 2005). En la cabra, el aclaramiento ha sido 0,18 ml/kg/min (El Sayed y cols., 2011), obteniéndose, también, bajos valores en el conejo (Park y cols., 1998) y en el burro (Lavy y cols., 1995).

En contraste, en el ternero no destetado, Gips y cols. (1996) obtuvieron valores elevados para el aclaramiento (11,7 L/h·kg) cuando se administró intravenosamente 7,5 mg/kg de NFLX. Este mayor aclaramiento renal se traduce en esta especie en una semivida más corta.

A continuación, se expone una tabla con los diferentes valores de aclaramiento plasmático en las diferentes especies animales:

Especie	Cl (L/h·kg)	Referencia
Ternero destetado	0,70	Gips y Soback, 1996
Ternero no destetado	0,51	Gips y Soback, 1996
Oveja	0,075	González y cols., 1997
Cordero	0,32	González y cols., 1997
Cerdos	0,80	Chang y cols., 2007

*Tabla XII.- Valores de Cl en diferentes especies animales.*

#### 2.9.4.- DIFERENCIAS INTERESPECÍFICAS DE NORFLOXACINO

La farmacocinética de NFLX ha sido estudiada en distintas especies animales, como cabras (El-Sayed y cols., 2011; Wajeeha y cols., 2006), ovejas (González y cols., 1997; Javed y cols., 2005; González y cols., 2001; Soback y cols., 1994), pollos (Abu-Basha y cols., 2008), cerdos (Chang y cols., 2007; 1995; Shem-Tov y Ziv, 1994; Shem-Tov y cols., 1994), terneros (Ambros y cols., 2006; Gips y Soback, 1996), caballos y mulas (Park y Yun., 2003; Rehan, 2004), vacas (Gips y Soback, 1999), perros (Walker y cols., 1989), gansos (Laczay y cols., 1998), ratas (Delon y cols., 1996), burros (Lavy y cols., 1995), ratones y monos rhesus (Gilfillan y cols., 1984). En conejos, únicamente se han realizado estudios farmacocinéticos tras la administración intravenosa y oral de NFLX (Pavithra y cols.; 2010; Park y cols., 1998).

A continuación, en la Tabla XIII se muestran los distintos parámetros farmacocinéticos de NFLX obtenidos en diferentes especies animales. En ella, se han reflejado los datos de los estudios más recientes:

Especie	Vía mg/kg	$T_{1/2\lambda z}$ h	$V_{ss}$ L/kg	Cl L/h·kg	AUC mg·h/L	MRT h	$C_{max}$ mg/L	$t_{max}$ h	F %
Conejo	VO(100)	-	-	-	2,67	-	2,23	-	-
	VO (5)	3,37	-	-	2,28	-	0,68	0,46	29
	IV (5)	3,14	-	-	7,95	-	-	-	-
Ternero destetado	IV (7,5)	-	2,13	0,70	-	3,08	-	-	-
Cabra	IM (10)	5,96	-	-	-	-	-	4,01	70,04
Cerdo	IV(7,2)	7,42	4,66	-	-	-	-	-	-
	IV (7)	2,10	3,2	-	-	2,9	-	-	-
	IM (14)	4,45	-	-	-	-	-	-	51-64
	SC (14)	4,45	-	-	-	-	-	-	51-64
	VO (7,2)	7,13	-	-	-	-	0,43	1,36	31,10
Ovejas	IV (10)	12,5	1,05	0,075	168,5	17,45	-	-	-
	VO (60)	-	-	-	-	-	1,53	10,2	4,04
Pollo	VO (16)	4,49	-	-	21,6	4,05	4,94	1,00	50
Cordero	IV (10)	13,5	4,52	0,32	47,97	14,7	-	-	-
Perro	VO (11)	6,3	-	-	-	-	1,00	1,00	-
Burro	IV (10)	3,83	3,34	1,09	-	-	-	-	-
	VO (10)	-	-	-	-	-	-	-	9,60
	IM (10)	-	-	-	-	-	-	-	31,5
Caballo	IV (4)	5,44	2,19	-	-	-	-	-	-
	IM (4)	9,47	-	-	-	-	0,44	0,86	55
Vaca	IV (10)	5,88	3,10	0,62	-	-	-	-	-

*Tabla XIII.- Parámetros farmacocinéticos de norfloxacinó obtenidos en diferentes especies animales.*

## 2.10.- INTERACCIONES

Las siguientes interacciones medicamentosas han sido documentadas o son teóricamente posibles en las personas o en los animales que reciben NFLX u otras fluoroquinolonas:

- Antiácidos y productos lácteos que contienen cationes divalentes o trivalentes como  $Mg^{++}$ ,  $Al^{+++}$  y  $Ca^{++}$  pueden unirse a las fluoroquinolonas e impedir su absorción debiendo separarse su administración oral al menos 2 horas (Wise, 1999). En el caso de NFLX, la presencia de productos alimenticios como lácteos deteriora ligeramente su absorción. Además, la actividad antimicrobiana in vitro se ve disminuida por el pH ácido y altas concentraciones de iones  $Mg^{2+}$  en el medio (Sharma y cols., 2008).

Wallis y cols. (1996) predijeron un orden de clasificación de los metales que se pueden esperar para dificultar la absorción gastrointestinal de las fluoroquinolonas, in vivo. Se investigaron los efectos de los iones metálicos sobre la farmacocinética de NFLX administrado por vía oral en el perro. Norfloxacin (12 mg / kg) se administró solo o con dosis equimolares de cada una de las sales de cloruro de  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Zn^{++}$ ,  $Fe^{++}$  y  $Al^{+++}$ . Se observaron reducciones estadísticamente significativas en las concentraciones séricas de NFLX después del análisis por HPLC. La  $C_{max}$  se redujo entre un 29-85%, mientras que el AUC<sub>0-infinito</sub> se redujo en un 29-79%.

- También se ha estudiado el efecto de los productos lácteos sobre la farmacocinética de moxifloxacin. Para ello se administraron dos dosis únicas de este antibacteriano con yogur y sin él. La presencia de yogur aumentó el valor de  $t_{max}$  y redujo en un 15% el de  $C_{max}$ , sin modificar el valor del AUC. Por lo que no se consideró necesario realizar ningún cambio en la dosis de moxifloxacin para compensar el efecto de los productos lácteos (Wise, 1999).

- Otros antibióticos como amonoglucósidos, cefalosporinas de tercera generación y penicilinas de amplio espectro, pueden producir sinergismo contra algunas bacterias (en particular, *P. aeruginosa*), pero no es predecible. También se ha estudiado la sinergia entre NFLX y la anfotericina B para *Candida* spp. y *Cryptococcus* spp. (Sharma y cols., 2008). Sin embargo, aunque se ha producido cierta resistencia cruzada dentro del grupo de las fluoroquinolonas, hay poca resistencia cruzada entre la el NFLX y antibióticos de otras clases (Goldstein, 1987).

- Ciclosporina. Las fluoroquinolonas pueden exacerbar la nefrotoxicidad y reducir el metabolismo de la ciclosporina (usadas vía sistémica) (Plumb, 2010)

- Gliburida. Es posible la presentación de hipoglucemias graves (Plumb, 2010).



- Hierro, Zinc (vía oral). Disminuyen la absorción, se debe separar la administración de ambos 2 horas (Plumb, 2010).
- Metotrexato. Es posible un aumento de sus niveles con la correspondiente toxicidad (Plumb, 2010).
- Fenitoína. Sus niveles se pueden alterar (Plumb, 2010).
- Cimetidina y probenecid. Los fármacos anti-H<sub>2</sub> no interfieren en la absorción, pero el uso concomitante de cimetidina o probenecid inhibe la secreción tubular de las fluoroquinolonas (Gobernado y Santos, 2002; Stockley, 2004).

Bloquea la secreción tubular de ciprofloxacino y aumentan los niveles en sangre y vida media de NFLX. El probenecid se segrega en los túbulos renales mediante un mecanismo activo y posee una alta afinidad por el transportador de aniones; de este modo, compite y bloquea la excreción de muchos ácidos orgánicos. El valor del aclaramiento renal de ciprofloxacino disminuye alrededor del 50% cuando se administra 1 g de probenecid vía oral antes de un comprimido de ciprofloxacino (500 mg), aunque no se modifican los valores de AUC o de  $t_{1/2}$ . Este efecto también se ha observado con marbofloxacino, enoxacino y fleroxacino, y es posible que también ocurra con otras fluoroquinolonas cuya excreción se produzca principalmente por orina mediante secreción tubular activa. (Gobernado y Santos, 2002; Stockley, 2004).

- Sucralfato. Inhibe la absorción. Separar al menos dos horas su administración (Plumb, 2010).
- Teofilina y cafeína. Norfloxacino puede aumentar los niveles en sangre de estas sustancias (Plumb, 2010; Gobernado y Santos, 2002). La interacción descrita entre algunas quinolonas y estos fármacos, se debe a la inhibición ejercida por estos antimicrobianos sobre el sistema enzimático del citocromo P<sub>450</sub> encargado de su metabolismo. La acción está influenciada por la naturaleza de los radicales en posición 7 y en posición 1 de la quinolona (si bien, la influencia es menor por R<sub>1</sub>), siendo los más comprometidos los grupos piperazínicos (ciprofloxacino y NFLX) y pirrolidínicos (tosufloxacino y clinafloxacino) en posición 7, y disminuyendo cuando el grupo ciclopropil en la posición 1 se sustituye por otros grupos, como el fluorofenil, o se hacen modificaciones en C<sub>7</sub> (Gobernado y Santos, 2002; Stockley, 2004; Gutiérrez, 2004).

Esta interacción, determina la aparición de los efectos tóxicos típicos de teofilina y cafeína con manifestaciones sobre el SNC, incluyendo convulsiones. Norfloxacino,

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

Regmi y cols. (2006) examinaron los efectos de ofloxacino y NFLX sobre la teofilina obteniendo concentraciones plasmáticas aumentadas sobre todo de NFLX y una reducción significativa del aclaramiento total del fármaco al emplear ofloxacino.

- Warfarina. Aumento de los efectos de la warfarina (Plumb, 2010).
- Triclosán. Varias fluoroquinolonas muestran sinergia y NFLX no muestra antagonismo (Li y cols., 2012).

## 2.11.- TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS

En general, las quinolonas son antibióticos bien tolerados, aunque con algunas excepciones. El tanto por ciento medio de reacciones adversas a las quinolonas es bajo, aunque oscila mucho entre cada par quinolona-efecto adverso (Gobernado y cols., 1999). Algunas características como es el perfil de efectos adversos son compartidas entre las quinolonas fluoradas. La similitud en estas características tiene su origen en la presencia de partes comunes en su estructura química (Azanza y cols., 2000; Mandell y cols., 2001). Los problemas relacionados con estos quimioterápicos, pueden observarse en el aparato digestivo, la piel, el riñón, el sistema musculoesquelético, el sistema cardiovascular y el sistema nervioso central (SNC), manifestándose por náuseas, vómitos, diarreas, dolor abdominal, anorexia, elevación de las transaminasas, ictericia colostática, hepatitis, eritema, prurito, fotosensibilidad, cristaluria, hematuria, elevación de las cifras de urea, artropatías, tendinitis, taquicardia, alargamiento del intervalo QTc en el electrocardiograma, insomnio, cefaleas, temblores y convulsiones. Algunas quinolonas, no obstante, son capaces de causar efectos graves o con tasas superiores a otros antibióticos usados como alternativas, lo que ha supuesto su eliminación del arsenal terapéutico: fleroxacino por fototoxicidad y toxicidad sobre el SNC, trovafloxacino por alteraciones hepáticas graves, grepafloxacino por alteraciones en el ritmo cardíaco (espacio QTc del electrocardiograma), temafloxacino por causar anemia hemolítica grave, además de clinafloxacino el cual se asoció a fototoxicidad e hipoglucemia (Sharma y cols., 2008; Ball, 2000; Fish, 2001; Rubinstein., 2001; Emmerson y Jones, 2003).

La relación entre la estructura química y el perfil de efectos adversos es la siguiente (Azanza y cols., 2000; Ball, 2000; Mandell y cols., 2001):

Tipo de reacción adversa		Intensidad
R <sub>1</sub>	Interacción con xantinas	Ciclopropil>CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> >difluorofenil>FC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
R <sub>5</sub>	Fotosensibilidad Genotoxicidad	CH <sub>3</sub> >>H>NH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> >NH <sub>2</sub> >H
R <sub>7</sub>	Neurotoxicidad Interacción con AINE Interacción con xantinas	Piperazinil> ciclopropil>>otros Piperazinil>> ciclopropil>>otros Ciclopropil>> piperazinil>>otros
X <sub>8</sub>	Determinante mayor de fototoxicidad Genotoxicidad	CF > CCl> N> CH> COMe, CCF CF > CCl≥ COMe >N> CH

*Tabla XIV.- Relación entre la estructura química y el perfil de efectos adversos en las quinolonas.*

Las quinolonas pueden presentar las siguientes reacciones adversas:

#### REACCIONES ADVERSAS GASTROINTESTINALES

Las alteraciones gastrointestinales son comunes a todas las quinolonas, la mayoría de las veces leves y reversibles, y son las que se presentan con mayor frecuencia. El malestar gastrointestinal parece estar causado por una combinación entre irritación gástrica directa e influencia sobre el SNC, sin que se haya demostrado una asociación entre estos efectos adversos y estructuras químicas específicas (Mandell, 2001). Se producen en un 5-13% de los enfermos, manifestándose como náuseas, vómitos, anorexia, dispepsia, alteración del gusto, dolor abdominal y diarrea (Gobernado y Santos, 2002).

También han sido descritos casos de diarrea asociada a *Clostridium difficile* (DACD) a consecuencia de la administración de fluoroquinolonas como ciprofloxacino, gatifloxacino o levofloxacino (McCusker y cols., 2003; Gaynes y cols., 2004).

#### REACCIONES ADVERSAS SOBRE SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Los efectos sobre el sistema nervioso central, son los más comunes después de los gastrointestinales, con una incidencia que oscila entre el 0,9% y el 7,4%. Se manifiestan por cefalea, mareos leves, convulsiones, fatiga, insomnio, confusión y agitación (Cohen y cols., 2001).

Aunque las convulsiones son muy infrecuentes y generalmente ocurren en pacientes con factores predisponentes a padecerlas, son de gran interés. Su aparición podría ser consecuencia de que las quinolonas a concentraciones históricas elevadas, se unen al receptor del ácido gamma-aminobutírico (GABA), un inhibidor de la transmisión del impulso nervioso en la sinapsis de la célula nerviosa cerebral de los mamíferos, desplazándolo y dando lugar a estimulación del SNC. También podría deberse a la activación de los receptores de aminoácidos estimulantes y modificación en los receptores de adenosina. Esta estimulación se relaciona directamente con la estructura de la quinolona. Las sustituciones en la posición 7 de la molécula parecen tener más influencia en este tipo de efectos. Las moléculas con el grupo piperacina tienen mayor unión a los receptores GABA, mientras que los grupos de mayor peso molecular presentan menor unión (Kawakami y cols., 1997; Fish, 2001). Por otro lado, también puede contribuir la sustitución en la posición 4 (Gobernado y Santos, 2002).

Además del receptor del GABA, el receptor N-metil-D-aspartato podría ser un punto de unión de las quinolonas con el SNC (Fish, 2001).

Estos efectos adversos pueden potenciarse por las interferencias con otros fármacos sobre el mismo receptor o por interacción medicamentosa general (Azanza y cols., 2000).

#### REACCIONES ALÉRGICAS

Las fluoroquinolonas pueden producir reacciones alérgicas, aunque su incidencia no supera el 2% con ninguno de los fármacos de este grupo. Los cuadros clínicos más frecuentes son prurito, eritema y urticaria. De forma excepcional (incidencia < 2/100.000), se han descrito reacciones anafilácticas y anafilactoides. Los antecedentes alérgicos a uno de los fármacos de este grupo contraindican, en principio, la utilización del resto de esta familia (Azanza y cols., 2000).

#### REACCIONES DE FOTOSENSIBILIDAD

Algunas quinolonas fluoradas pueden producir una reacción de fotosensibilidad tras la exposición a la luz solar. El término fotosensibilidad comprende tanto las reacciones fotoalérgicas como las fototóxicas (Fish, 2001).

Las reacciones fotoalérgicas son raras y requieren la exposición previa de la fluoroquinolona, además, son dependientes de la presencia de sustituyentes fotohapténicos (Fish, 2001).

En contraste, las reacciones fototóxicas son más frecuentes, y se presentan en forma de eritema o de erupción bullosa grave (Fish, 2001).

La fototoxicidad depende de la descomposición de la fluoroquinolona y del O<sub>2</sub> y, por tanto, de los radicales libres formados bajo la acción de los rayos UVA. Está relacionada con los sustituyentes de la posición C<sub>5</sub> de la molécula, siendo el grupo metil el más perjudicial, y en la posición C<sub>8</sub>, siendo los halógenos los peores en este segundo caso. Un grupo metoxi, en lugar de un halógeno en dicha posición ha demostrado menor toxicidad (Fish, 2001; Mandell y cols., 2001).

#### REACCIONES ADVERSAS MUSCULOESQUELÉTICAS

Las reacciones adversas musculoesqueléticas hacen referencia a las artropatías y a la tendinitis.

Todas las fluoroquinolonas pueden producir alteraciones del cartílago articular en animales jóvenes cuando se administran a dosis elevadas, por lo que se sospecha que puede tratarse de un efecto adverso propio del grupo farmacológico. La incidencia no supera el 1% con ninguno de los fármacos (Mandell y cols., 2001), sin embargo, su uso está restringido en la población pediátrica (Chalumeau y cols., 2003).

La administración interarticular de quinolonas produce necrosis de los condrocitos y erosiones con formación de cavidades. Se sospecha que el mecanismo es una disfunción mitocondrial generada por la inhibición de la síntesis de ADN y de la actividad del glucosaminoglicano en el cartílago articular inmaduro (Fish, 2001).

La artritis producida por quinolonas se presenta con mayor frecuencia en pacientes menores de 30 años. Sus características clínicas son la presencia de inflamación y dolor articular que afecta a una o varias articulaciones y que se presenta coincidiendo con el inicio del tratamiento. Excepcionalmente, se ha descrito evolución a la cronicidad, ya que el curso habitual es hacia la resolución completa en algunas semanas (Fish, 2001).

Además de las artropatías, estos antibióticos se han implicado en la etiología de tendinitis y ruptura de tendones de mano, hombros y principalmente del tendón de Aquiles, siendo la afectación tanto bilateral como unilateral. Los enfermos de más riesgo son los sometidos a tratamientos largos, uso concomitante de esteroides y los atletas, aunque con incidencia baja, 0,3%. Las modificaciones estructurales moleculares de las fórmulas de estos fármacos no mejoran este efecto secundario, que es común, en mayor o menor grado, a todas las quinolonas, considerándose un cuadro clínico propio de esta familia de fármacos (Azanza y cols., 2000).

Difloxacino, al igual que otras quinolonas, puede causar lesiones en cartílago de animales jóvenes, por lo que se debe valorar el beneficio-riesgo antes de su administración (Von Keutz y Schluter, 1999).

#### REACCIONES ADVERSAS OCULARES

Se han descrito reacciones adversas oculares en animales de experimentación, cuando se administran en altas dosis pefloxacino y ácido nalidíxico. Los cuadros clínicos más frecuentes son: cataratas, punteados opacos en el cristalino, cambios morfológicos de la retina, y alteración de la agudeza visual (Fish, 2001).

#### REACCIONES ADVERSAS EN EL APARATO URINARIO

En cuanto al aparato urinario, se ha visto elevación de los niveles de creatinina entre el 0,2 y el 1,0% de los enfermos tratados con quinolonas. Excepcionalmente, se ha descrito algún caso de cristaluria, relacionada con el grado de solubilidad de la quinolona y el pH urinario, y fallo renal, por acción directa o por reacción de hipersensibilidad en adultos mayores de 60 años (Mandell y cols., 2001). Estos efectos no se han descrito con las nuevas fluoroquinolonas (Fish, 2001).

## REACCIONES ADVERSAS CARDIACAS

Se ha observado prolongación del intervalo QTc, especialmente con esparfloxacino y grepafloxacino, tanto después de la administración i.v. como p.o. de fluoroquinolonas (Fish, 2001).

Aparentemente, los efectos de las fluoroquinolonas en el tejido miocárdico están relacionados con el gen HERG, que codifica el canal de potasio Ikr. La inhibición de HERG/Ikr por las fluoroquinolonas puede inducir la prolongación del intervalo QTc, y como consecuencia, podría provocar arritmias ventriculares o taquicardia ventricular conocida como *torsade de pointes* (Fish, 2001).

Esparfloxacino produjo una prolongación del QTc de 500 milisegundos en el 1,2-3% de los pacientes tratados. Además se describieron siete pacientes con arritmias cardiacas que se relacionaron con el tratamiento. Aparentemente, los cambios se relacionaron directamente con la dosis administrada. La relación de grepafloxacino con algunos casos de prolongación del QTc, fue la causa de su retirada (Azanza y cols., 2000).

## REACCIONES ADVERSAS HEMATOLÓGICAS.

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

## CARCINOGENICIDAD Y TERATOGENICIDAD

Está descrito que las quinolonas pueden inhibir a la topoisomerasa II de los mamíferos, homóloga de la ADN girasa de las bacterias, produciendo toxicidad celular y clastogenicidad (roturas en la cadena de ADN) a concentraciones muy elevadas. No obstante, no se ha descubierto en el ser humano ningún efecto carcinogénico, probablemente porque la enzima humana es estructuralmente y funcionalmente distinta: sólo tiene 2 subunidades, en vez de 4, posee distinto peso molecular, 172 kDa, y carece de actividad sobre el enrollamiento del ADN; por consiguiente, estas supuestas alteraciones no deberían manifestarse en el ser humano, y de producirse, ocurrirían a concentraciones de quinolona muy altas (Gobernado y Santos, 2002).

En cuanto a los efectos teratogénicos, ha sido descrito pérdida de peso fetal y un aumento de la mortalidad fetal con levofloxacino en ratones, al administrar dosis muy elevadas (80

veces la dosis humana máxima). Gatifloxacino produjo malformaciones en el esqueleto y un aumento en la mortalidad neonatal y perinatal cuando se administró en ratas a dosis equivalentes o superiores a la dosis máxima en humanos.

#### REACCIONES ADVERSAS HEPÁTICAS

Todas las fluoroquinolonas se han relacionado con alteraciones de la función hepática. El cuadro más frecuente consiste en una elevación de la cifra de transaminasas, que cursa de forma asintomática y que se ha descrito globalmente con una incidencia en torno al 2-3%. En la práctica totalidad de los casos, se trata de un hallazgo casual que desaparece con rapidez al suspender la administración del fármaco.

#### REACCIONES ADVERSAS DESCRITAS CON NORFLOXACINO

Como otras fluoroquinolonas, NFLX está contraindicado en animales jóvenes debido a la posibilidad de producir alteraciones en el cartílago (Ball y cols., 1999).

Está descrito que NFLX causa fotosensibilidad cutánea en animales y, ocasionalmente, en humanos (Bilski y cols., 1996). Mochizuki y cols. (1995) examinaron la toxicidad retiniana. La fluoroquinolona presentó alta afinidad por la melanina y los resultados indicaron una alta concentración de NFLX en los tejidos oculares que contenían melanina.



## 2.12.- APLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LAS FLUOROQUINOLONAS

Las quinolonas utilizadas en medicina veterinaria son (AGEMED, 2015; EMEA, 2015):

Fluoroquinolona	Especies animales
Flumequina	Gallinas, pavos, cerdos, corderos, cabritos, terneros, salmón y trucha
Enrofloxacino	Perros, gatos, conejos, pollos, pavos, terneros, caballos y cerdos.
Orbifloxacino	Perros y gatos.
Ibafloxacino	Autorización revocada
Difloxacino	Perros, pollos, pavos y terneros.
Danofloxacino	Bóvidos (carne y leche) y cerdos.
Marbofloxacino	Perros, gatos, cerdos y bovino (carne y leche).
Sarafloxacino	Autorización revocada
Pradofloxacino	Perros, gatos.

*Tabla XV.- Quinolonas utilizadas en medicina veterinaria*

### EN VACUNO, OVINO Y CAPRINO:

Las fluoroquinolonas son activas frente a microorganismos asociados a infecciones respiratorias agudas en ganado, caprino y ovino, causadas por *Mannheimia haemolytica*, *P. multocida* y *Haemophilus somnus*. Otras indicaciones pueden ser mastitis, metritis, conjuntivitis, e infecciones causadas por *Mycoplasma* spp., como la neumonía y la otitis media.

### EN CERDO:

Las fluoroquinolonas son activas en el tratamiento de infecciones causadas por *Mycoplasma hyopneumoniae*, y se podrían utilizar en la prevención y tratamiento de infecciones por patógenos tales como *Escherichia coli*, *P. multocida* y *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

### EN CABALLOS:

Los efectos adversos que las fluoroquinolonas pueden ejercer sobre las articulaciones como la erosión del cartílago implican que su uso no esté recomendado en potros menores de 3 años. Si bien, la posibilidad de administrar estos quimioterápicos vía oral, convierte a este grupo, en antibióticos de primera elección en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias gram negativas en caballos. El enrofloxacino se ha utilizado en la pleuritis

crónica causada por *E.coli* con éxito clínico. En estos animales, también ha sido descrita la seguridad y eficacia de orbifloxacino (Walter, 2000; USP Drug information, 2003).

#### EN PERROS Y GATOS:

Tanto en perros como en gatos, las fluoroquinolonas pueden ser utilizadas en infecciones del tracto urinario (como prostatitis) e infecciones respiratorias del tracto superior tales como rinitis y del tracto respiratorio inferior como neumonías, incluyendo las causadas por *B. bronchiseptica*. Además, también son ampliamente utilizadas en pioderma profunda y superficial, en otitis media y externa, en infecciones de heridas, en peritonitis asociadas a metronidazol (en caso de infecciones por microorganismos anaerobios), en osteomielitis causadas por gram negativos aerobios y en infecciones causadas por micoplasmas, como conjuntivitis e infecciones de tejidos blandos. Como en otras especies, estos antimicrobianos no deben emplearse en animales jóvenes, menores de 8 meses y en caso de perros de razas grandes, su uso no está recomendado hasta los 12 meses de edad (Walter, 2000).

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

#### EN AVES DE CORRAL:

En las explotaciones de aves de corral, se necesitan agentes antimicrobianos con capacidad bactericida rápida frente a los patógenos que frecuentemente se aíslan, entre los que destacan: *E. coli*, que causa graves septicemias y celulitis, *Salmonella* spp., *Haemophilus paragallinarum* y *P. multocida*. Sarafloxacino y enrofloxacino han sido desarrollados para el uso en aves de corral y las indicaciones aprobadas en Estados Unidos comprenden el tratamiento de las infecciones causadas por *E. coli* en pollos y pavos, aunque en la actualidad, sarafloxacino ya no está autorizado en la Unión Europea. Enrofloxacino, además, también ha sido aprobado en el tratamiento de las infecciones causadas por *P. multocida* en pavos (Walter, 2000; USP Drug information, 2003).

#### EN CONEJOS:

El tratamiento con fluoroquinolonas está indicado en distintos procesos infecciosos que afectan a piel y tejido subcutáneo en el conejo, (dermatitis, abscesos y mastitis causadas por patógenos como *S. aureus*, *Pseudomonas* spp., *P. multocida* y *Pasteurella* spp.), tracto respiratorio (neumonía, infecciones en el tracto respiratorio superior y conjuntivitis

producidas por *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*), aparato gastrointestinal (diarrea, colibacilosis ocasionadas por agentes como *E. coli*, *Salmonella* spp. y *Pseudomonas* spp.), sistema nervioso central (nistagmus, tortícolis causadas por *P. multocida*), aparato urogenital (cistitis originada por *Escherichia coli* o *Pseudomonas* spp.) y en procesos infecciosos en los que se aísla *Listeria monocytogenes* o *P. multocida* y que cursan con somnolencia, anorexia, pirexia y septicemia (Burgmann , 2000).

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

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

#### OTROS:

En Estados Unidos aunque la seguridad y la eficacia de enrofloxacino no ha sido establecida, sí que se han realizado recomendaciones acerca de la dosis, basadas en datos farmacocinéticos, para el tratamiento de infecciones por patógenos susceptibles, en las siguientes especies: avutarda, camello, pato, llama, loro gris africano, pitón, emus y oryx (Lewbart y cols., 1997; USP Drug information, 2003).

### 3.- MATERIAL Y MÉTODOS



### 3.1.- MATERIAL

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

#### 3.1.1.- MATERIAL FUNGIBLE

- Cánulas intravenosas INTROCAN<sup>®</sup> CERTO
- Jeringuillas de 2 mL
- Tubos de ensayo de varias capacidades.
- Micropipetas de varias capacidades Gilson<sup>®</sup>.
- Puntas para micropipetas de varias capacidades.
- Matraces aforados de varias capacidades.
- Matraces Erlenmeyer de varias capacidades.
- Probetas de diversas capacidades.
- Vasos de precipitado de varias capacidades.
- Viales con tapón para autoinyector 8 x 40, 1 mL, Wheaton, USA.
- Tubos Eppendorf 1,5 y 2 mL.
- Pinzas.
- Guantes esteriles.

#### 3.1.2.- PRODUCTOS Y REACTIVOS

- Agua bidestilada.
- Heparina sódica 5% (ROVI).
- Agua para HPLC (Scharlau, Barcelona).
- Ácido trifluoroacético (Panreac 99.0%)
- Norfloxacinó nicotinato (Santa Cruz Biotechnology)
- Norfloxacinó puro (Fluka)
- Enrofloxacinó puro (Monheim, Alemania)
- Acetonitrilo HPLC (Prolabo).
- Agua para HPLC (Prolabo).
- Metanol para HPLC (Prolabo)
- Alcohol 96° (Montplet)

- Suero salino fisiológico (NaCl 0.9) (Braun)

### 3.1.3.- APARATOS

- Agitador magnético SBS A-06.
- Agitador de tubos Heidolph Reax 2000.
- Autoclave modelo Presoclave 75 (Selecta).
- Balanza de precisión Sartorius BP121S, pesada entre 0.0001 y 120 g.
- Campana de flujo laminar horizontal micro-V (Telstar).
- Centrífuga ALC modelo 4236.
- Congelador Sanyo MDF ( - 45 °C).
- Sonicador Branson 2200.
- Bomba de vacío y equipo de filtración Millipore<sup>®</sup>.
- Frigorífico Electrolux<sup>®</sup> modelo ER 3818C.
- Ordenador personal Pentium IV.
- HPLC compuesto de:
  - Bomba cuaternaria modelo LC-10Asvp (Shimadzu).
  - Detector de fluorescencia de modelo RF-10Ax1 (Shimadzu).
  - Autoinyector modelo SIL-10Advp (Shimadzu), con refrigeración por sistema Peltier.
  - Desgasificador DGU 14A (Shimadzu).
  - Módulo mezclador FCV-10AL-VP (Shimadzu).
  - Horno para columnas CTO-10 ASvp (Shimadzu) con rango de temperaturas 4-80° C.
  - PC con el programa Shimadzu Class-VP Chromatography Data System.
  - Columnas Kromasil C<sub>18</sub> 100x5 μm 150x4.6 mm (Análisis Vínicos, Tomelloso, Spain).
  - Precolumnas con la misma composición que la columna.

### 3.1.4.- SOFTWARE INFORMÁTICO

- Programa de Análisis Farmacocinético Winnonlin Professional<sup>®</sup> 5.2.1
- Programa de análisis farmacocinético MULTIFIT (PROOST, 1997).

- Paquete de análisis estadístico SPSS<sup>®</sup> versión 12.0.1, Chicago, 2003 y STATGRAPHICS Plus (versión 5) Manugistics, Inc., Rockville, USA.
- Programa de gráficos PRISM 3.0. para WINDOWS (GRAPHPAD SOFT.INC.).
- Programa para simulación de estructuras químicas CHEMDRAW Ultra Versión 6.0. y CS CHEM3D STD.
- Procesador de textos Microsoft<sup>®</sup> Word 2007 y Hoja de cálculo Microsoft<sup>®</sup> Excel 2007.

### 3.2.- ANIMALES

Para la realización del presente estudio se han utilizado 5 conejos de la raza New Zealand White con pesos entre 3.5 y 4.6 kg y de 1.5 a 2 años de edad procedentes de la granja de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia. Los animales estuvieron con alimento y bebida *ad libitum* durante la experiencia, con ciclos de 12 horas luz-oscuridad. Todos los animales se encontraban en buen estado de salud, y no recibieron ningún fármaco durante al menos 15 días antes del inicio de la experiencia.

### 3.3.- MÉTODOS: PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Se preparó una solución acuosa al 2% de norfloxacino (nicotinato de norfloxacino; Santa Cruz Biotechnology), que posteriormente fue esterilizada en nuestro laboratorio mediante filtración. A todos los conejos se les administró NFLX por vía intravenosa, intramuscular y subcutánea de acuerdo a un esquema paralelo, con un intervalo de 15 días de duración entre cada administración.

#### ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA.

Se administró a cada uno de los individuos del grupo, en la vena marginal de la oreja, una dosis única de norfloxacino a 10 mg/kg de peso corporal. Las extracciones de sangre se realizaron en la vena marginal contralateral a los siguientes tiempos: blanco (anterior a la administración), 5, 10, 15, 30, 45 minutos y 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 32, 48 horas desde la administración del fármaco.

#### ADMINISTRACIÓN INTRAMUSCULAR.

En los cinco animales, se procedió a la administración intramuscular de una dosis única de norfloxacino a 10 mg/kg de peso corporal, a nivel del músculo semimembranoso. Las muestras se recogieron de la vena marginal de la oreja a los tiempos que se detallan: blanco



(previo a la administración), 5, 10, 15, 30, 45 min y 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 32, 48 y 72 horas.

#### ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA.

En los cinco animales, se procedió a la administración subcutánea a nivel escapular de una dosis única de norfloxacin a 10 mg/kg de peso corporal. Las muestras se recogieron de la vena marginal de la oreja a los tiempos que se detallan: blanco (previo a la administración), 5, 10, 15, 30, 45 minutos y 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 32, 48 y 72 horas.

En los tres casos, las muestras (1 mL) se recogieron mediante la inserción de catéteres intravenosos y jeringas heparinizadas, para posteriormente trasvasar la muestra a tubos eppendorf. A continuación las muestras de sangre se sometían a centrifugación durante 10 minutos a 1500 g para separar el plasma. Una vez separado, éste se congelaba por duplicado a -45°C, dentro de los treinta minutos siguientes a la extracción, hasta el momento de realizar las determinaciones analíticas.

### 3.4.- TÉCNICAS ANALÍTICAS. VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA

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

Tras la adición de 5 µL del estándar interno (enrofloxacin 25000 µg/L) a 200 µL de plasma, se añaden 200 µL de acetonitrilo. Las proteínas son precipitadas por agitación en un baño de ultrasonidos seguido de centrifugación durante 10 min a 3000 rpm. Del sobrenadante se extraen 100 µL, que se diluyen 4 veces con la fase móvil a emplear para el análisis por HPLC y se transfiere a los viales del autoinyector. La separación se llevó a cabo utilizando una columna de fase reversa Kromasil C<sub>18</sub> de 150 x 4,6 mm, 5 µm de diámetro de partícula, con un volumen de inyección de 50 µL. Tanto las muestras dentro del autoinyector (sistema Peltier), como la columna fueron termostatazadas a 5°C, realizándose la determinación en modo isocrático. La fase móvil estaba compuesta por acetonitrilo (20%) y ácido trifluoroacético al 0,1 % (80%). La velocidad de flujo de la misma fue de 1,0 mL/min. La detección se realizó a una longitud de onda de excitación de 277 nm y una longitud de onda de emisión de 444 nm. La duración de los cromatogramas fue de diez minutos.

Respecto a la validación de la técnica, se debe tener en cuenta:

#### LINEALIDAD

Las curvas de calibrado se prepararon con 8 concentraciones diferentes de NFLX entre 5 y 1000  $\mu\text{g/L}$  usando blancos de plasma de los conejos y adicionando el estándar interno. El estándar interno empleado fue enrofloxacino. El coeficiente de correlación ( $r$ ) obtenido fue  $> 0,998$ .

Las soluciones estándar de NFLX se prepararon mediante diluciones seriadas en metanol hasta alcanzar concentraciones finales de 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000  $\mu\text{g/L}$ . La cantidad de estándar interno añadido fue de 5  $\mu\text{L}$  a una concentración de 25000  $\mu\text{g/L}$ . Los controles se prepararon a partir de un pool de blancos de plasma con cantidades conocidas de NFLX para alcanzar concentraciones similares. Las alícuotas de los estándares, controles y muestras fueron procesadas como se ha descrito anteriormente y se inyectaron 50  $\mu\text{L}$  en el sistema cromatográfico.

#### RECUPERACIÓN

Los porcentajes de recuperación se determinaron comparando las áreas de los picos de los controles a las distintas concentraciones de fármaco, con las áreas de los picos de los estándares a las concentraciones correspondientes preparados con fase móvil. Cada punto se establece a partir de un promedio de tres determinaciones para las concentraciones de NFLX de 25, 250 y 1000  $\mu\text{g/L}$ . La media de recuperación fue  $90,21 \pm 8,00 \%$ .

#### PRECISIÓN

La precisión del ensayo se evaluó expresando la desviación estándar relativa (RDS) como un porcentaje del valor medio. La precisión intra-día se estimó mediante el análisis, en el mismo día, de seis muestras repetidas de tres concentraciones estándar usadas para las curvas de calibrado ( $\text{RSD} < 3,08\%$ ). La precisión inter-día se estimó mediante el análisis de tres concentraciones estándar durante tres días consecutivos ( $\text{RSD} < 3,30\%$ ).

#### LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN Y DETECCIÓN

El límite de detección de NFLX en plasma se estableció para la concentración más baja que se podía detectar diferenciándola del ruido de fondo del aparato. El límite de cuantificación se estableció para el nivel de concentración más bajo utilizado en las curvas de calibrado y para el que el RSD fue menor del 15%. De este modo, el límite de detección resultó ser de 3  $\mu\text{g/L}$  y el límite de cuantificación de 5  $\mu\text{g/L}$ .

### 3.5.- ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

#### 3.5.1.- ANÁLISIS COMPARTIMENTAL

Una vez obtenidas las concentraciones de NFLX en plasma a los diferentes tiempos de extracción tras la administración, se han ajustado los datos a las ecuaciones mono-, bi- y triexponenciales mediante el programa MULTIFIT, propuesto por Proost (1997), y basado en Yamaoka y cols. (1981). Los ajustes se han realizado utilizando el algoritmo MARQUARDT y empleando como criterio de ponderación los inversos de las concentraciones ( $1/C$  y  $1/C^2$ ).

Una vez realizados los ajustes a los diferentes modelos farmacocinéticos, el criterio utilizado para determinar cual era la ecuación que mejor se ajustaba a los datos observados fue el Criterio de Información de Akaike ó AIC (Yamaoka y cols., 1978), cuya expresión es:

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

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

A partir de las ecuaciones finales, ajustadas por los procedimientos mencionados, se han calculado los diferentes parámetros farmacocinéticos (Gibaldi y Perrier, 1982).

#### 3.5.2.- ANÁLISIS NO COMPARTIMENTAL

Los parámetros no compartimentales se calcularon de acuerdo con la teoría de los momentos estadísticos (Riegelman y Collier, 1980; Gibaldi y Perrier, 1982), utilizando el programa informático WinNonlin Professional<sup>®</sup> (versión 5.2.1).

Finalmente, la biodisponibilidad se ha calculado relacionando las áreas totales bajo las curvas de concentración plasmática obtenidas por el método trapezoidal, tras la administraciones extravasculares (intramuscular y subcutánea) e intravenosa. Este parámetro queda indicado como  $F$ .

### 3.6.- MÉTODOS ESTADÍSTICOS

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

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

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

Para verificar si existían diferencias significativas entre las concentraciones experimentales y las concentraciones teóricas obtenidas mediante el análisis farmacocinético, para cada animal y cada vía de administración se realizó un análisis de regresión ( $R^2$ ) y una matriz de correlación de Pearson.

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



## 4.- RESULTADOS



#### 4.1.- ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA

Los valores de concentración plasmática de norfloxacin, obtenidos tras la administración intravenosa de este fármaco a conejos, a una dosis de 10 mg/kg de peso vivo, se muestran en la Tabla 1. En todos los casos se observa que en los animales se produce un marcado descenso de las concentraciones durante las primeras dos horas tras su administración, en tanto que ese descenso se hace más lento a partir de ese momento.

La evolución de los valores medios de concentración plasmática de NFLX a los distintos tiempos de extracción, se muestra en los Gráficos 1 y 2, representación directa y semilogarítmica, respectivamente. En la Tabla 2 se muestran dichos valores junto con diversos estadísticos. Así mismo, en los Gráficos 3 a 7 se pueden observar las representaciones gráficas semilogarítmicas, para cada animal, de la evolución de las concentraciones de NFLX a lo largo del tiempo tras su administración intravenosa. Con respecto al coeficiente de variación, Wagner (1968) indica que, en los ensayos farmacocinéticos, cuando los valores de concentración plasmática se distribuyen normalmente, los coeficientes de variación que se obtienen, oscilan entre el 25% y 75%. Estableciendo que, el número de animales idóneo a utilizar en estos estudios debe estar comprendido entre 5 y 20. En el presente estudio se ha obtenido valores incluso inferiores al 25% a las 0,083, 1 y 2 horas. Además, son inferiores al 75% que Wagner (1968) considera como normal en todas las extracciones, excepto a las a las 24 horas, donde su valor es de 82,95%. A pesar de ello se deduce que *a priori* los datos obtenidos resultan válidos.

Sin embargo, con el fin de confirmar dicha suposición, se ha realizado el test de Kolmogorov-Smirnov entre todos los valores de concentración plasmática de NFLX obtenidos en los diferentes animales para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este estudio se muestran en la última columna de la Tabla 2, donde puede apreciarse que el nivel de significación (NS) es muy elevado para todos los tiempos de extracción, excepto el obtenido para el tiempo de extracción de 24 horas que resulta ligeramente inferior. Por tanto, queda comprobado el excelente ajuste de las concentraciones a la distribución normal.

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



Estudiada la homogeneidad de los datos, se ha procedido al ajuste de los mismos a modelos farmacocinéticos lineales mono, bi y tricompartmentales, mediante regresión no lineal, utilizando el programa MULTIFIT, ponderando los datos a 1,  $1/C$  y  $1/C^2$ . El programa MULTIFIT es una adaptación del programa MULTI (Yamaoka y cols., 1981), realizada específicamente para el tratamiento farmacocinético de niveles plasmáticos, por el profesor Proost (versión 18-06-97) del Departamento de Farmacocinética y liberación de fármacos de la Universidad de Groningen (Holanda). En este estudio, los datos obtenidos presentan un mejor ajuste a un modelo bicompartimental para las vías IM y SC. En el caso de la administración intravenosa, el modelo que mejor representa la evolución de las concentraciones plasmáticas a lo largo del tiempo es el tricompartmental. En los tres casos resultaron mejores ajustes, con valores de AIC menores, cuando se ponderaban las concentraciones. Para la vía intravenosa, la ponderación que mejor ajuste de los datos proporcionaba en el conejo 4 fue  $1/C^2$ . En el resto de conejos el mejor ajuste resultaba con ponderación  $1/C$ .

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes a un ajuste tricompartmental para cada uno de los animales (considerando que la eliminación del fármaco se produce desde el compartimento central), se muestran en la Tabla 3. Sus respectivos valores medios, así como otros estadísticos de desviación quedan reflejados en la Tabla 4, en la cual se observa como los coeficientes de variación son inferiores al 75% señalado por Wagner (1968) en la mayoría de los casos. Estos coeficientes de variación son un indicio de la homogeneidad de los parámetros obtenidos para el ajuste tricompartmental.

Para verificar dicha apreciación, se ha realizado una prueba de Kolmogorov-Smirnov, cuyos resultados se muestran en la última columna de la Tabla 4, donde se comprueba como, en general, los niveles de significación son muy elevados y por tanto los datos son homogéneos. Sin embargo, en el caso de algunos parámetros del tercer compartimento, el coeficiente de variación supera el 75% (Tabla 4).

La Tabla 5 pone de manifiesto las relaciones que se establecen entre las constantes híbridas de disposición rápida y lenta ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  y  $\lambda_z$ ), las microconstantes de transferencia y retorno entre los compartimentos central y periféricos ( $k_{12}$ ,  $k_{21}$ ,  $k_{13}$  y  $k_{31}$ ), y eliminación ( $k_{10}$ ) para cada conejo. En la Tabla 6 se muestran los estadísticos más importantes de dichas relaciones, así como el nivel de significación obtenido tras realizar el test de Kolmogorov-Smirnov.

En la Tabla 7 se muestran las concentraciones teóricas que se obtienen con las ecuaciones de ajuste para cada conejo. Los estadísticos de las mismas se reflejan en la Tabla 8, así como los resultados de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, demostrándose su ajuste a la distribución normal.

Con el fin de corroborar una buena correlación entre las concentraciones experimentales y teóricas de cada conejo, se ha procedido a realizar un análisis de regresión y una matriz de correlación de Pearson. Los resultados de dicho estudio aparecen en las Tabla 9, en las que se comprueba que no existen diferencias significativas entre las mismas, por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

En la Tabla 10, se muestran los resultados del estudio farmacocinético no compartimental, obtenidos mediante el programa WINNONLIN Professional<sup>®</sup> (versión 5.2.1). En dicha tabla aparecen los valores del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC), área bajo la curva del segundo momento estadístico (AUMC) y tiempo medio de residencia (MRT), correspondientes a los distintos momentos farmacocinéticos, el aclaramiento (Cl), el volumen aparente de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) y el volumen aparente de distribución en función del área bajo la curva ( $V_z$ ). Las medias de dichos valores, así como los estadísticos más relevantes y los parámetros deducidos de las concentraciones medias, aparecen en la Tabla 11. Finalmente, se ha realizado a dichos valores la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y los resultados correspondientes aparecen en la Tabla 11. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación y unos niveles de significación dentro de los niveles considerados adecuados por Wagner (1968).

## 4.2.- ADMINISTRACIÓN INTRAMUSCULAR

La Tabla 12 muestra los valores de concentración plasmática de norfloxacinó obtenidos tras la administración intramuscular de una dosis de 10 mg/kg de peso vivo a conejos. En todos los animales, la concentración del fármaco sigue una evolución semejante a lo largo del tiempo, aumentando hasta las 0,75 horas y descendiendo posteriormente de una manera gradual y sostenida, detectándose concentraciones plasmáticas hasta las 24 horas.

La representación gráfica de los valores medios de las concentraciones plasmáticas (media  $\pm$  SD), a los distintos tiempos de extracción, aparece en Gráfico 8. Así mismo, en el Gráfico 9, aparece la representación semilogarítmica de los citados valores. En los Gráficos 10 a 14 se pueden observar las representaciones gráficas semilogarítmicas, para cada animal, de la evolución de las concentraciones de NFLX a lo largo del tiempo tras su administración intramuscular.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de NFLX, junto con los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 13. Los coeficientes de variación obtenidos son inferiores al 25% en todos los casos

Para confirmar la homogeneidad de estos resultados, se realizó un test de Kolmogorov-Smirnov, entre todos los valores de concentración plasmática de NFLX obtenidos en los diferentes animales, para un mismo tiempo de extracción. Los resultados de este test, se muestran en la Tabla 13. Como puede apreciarse los niveles de significación son muy elevados en todos los tiempos.

De la misma manera que en la administración intravenosa del fármaco, se ha procedido al ajuste de las concentraciones plasmáticas obtenidas experimentalmente en cada uno de los animales, así como de las concentraciones medias, a modelos farmacocinéticos mono, bi y tricompartmentales, considerando la existencia o no de tiempo de latencia y ponderando a 1, al inverso de las concentraciones ( $1/C$ ) y al inverso del cuadrado de las mismas ( $1/C^2$ ). Los resultados de dichos ajustes a modelos mono-, bi- y tricompartmentales reflejan un mejor valor de AIC y por lo tanto un ajuste más adecuado para el modelo bicompartmental ponderado a  $1/C^2$ , sin tiempo de latencia.

Los parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste bicompartmental, para cada uno de los animales se muestran en la Tabla 14. Los valores medios de dichos parámetros, así como diversos estadísticos de desviación quedan reflejados en la Tabla 15. En esta

última, se puede apreciar que todos los valores de los coeficientes de variación obtenidos son inferiores al 75%, llegando a ser inferiores al 25% para los parámetros  $\lambda_1$ ,  $t_{1/2\lambda_1}$  y  $t_{1/2ka}$ .

Como en los casos anteriores, el test de Kolmogorov-Smirnov demuestra el ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos para el modelo bicompartimental en los cinco animales. En última columna de la Tabla 15 se presentan los resultados de dicha prueba, apreciándose elevados niveles de significación para todos los parámetros, excepto para  $t_{1/2\lambda_2}$  con un valor de 0,452.

En la Tabla 16 aparecen las concentraciones teóricas deducidas de las ecuaciones de ajuste para cada conejo. Los estadísticos de las mismas se muestran en la Tabla 17 donde puede apreciarse que los coeficientes de variación son muy inferiores al 25% en todos los tiempos. Se ha realizado a dichos valores la prueba de Kolmogorov-Smirnov obteniéndose niveles de significación muy elevados en todos los tiempos.

Con el fin de corroborar una buena correlación entre las concentraciones experimentales y teóricas de cada conejo, se ha procedido a realizar un análisis de regresión y una correlación de Pearson. Los resultados de dicho estudio aparecen en la Tabla 18, en la que se comprueba que no existen diferencias significativas entre las mismas, por lo que las concentraciones teóricas son plenamente representativas del proceso y el ajuste obtenido es totalmente válido.

El resultado del estudio farmacocinético no compartimental queda reflejado en la Tabla 19. El estudio estadístico de los parámetros no compartimentales se muestra en la Tabla 20, así como el correspondiente test de Kolmogorov-Smirnov. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación inferiores al 25% y unos niveles de significación muy elevados. Para el NS, el valor más bajo se corresponde con el parámetro AUCM (0,692). Por tanto, los parámetros están dentro de los niveles considerados adecuados por Wagner (1968).

### 4.3.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA

La Tabla 21 muestra los valores de concentración plasmática de NFLX obtenidos tras la administración subcutánea de una dosis de 10 mg/kg de peso vivo a conejos. Se observa que en cada uno de los animales, a partir del primer tiempo de extracción, la concentración del fármaco va aumentando hasta la primera media hora. A partir de ese momento las concentraciones van descendiendo paulatinamente en todos los individuos, encontrándose niveles detectables hasta las 24 en todos los conejos.

Los valores medios de las concentraciones plasmáticas de NFLX, junto con los estadísticos de desviación, se presentan en la Tabla 22. Entre estos estadísticos figura el coeficiente de variación que en todos los casos es marcadamente inferior al 25%. En el Gráfico 15 se representan los valores medios (media  $\pm$  SD) de las concentraciones plasmáticas de NFLX, a los distintos tiempos de extracción y en el Gráfico 16 aparece la representación semilogarítmica de dichos valores medios (media  $\pm$  SD). Así mismo, en los Gráficos 17 a 21 se pueden observar las representaciones gráficas semilogarítmicas, para cada animal, de la evolución de las concentraciones de NFLX a lo largo del tiempo tras su administración subcutánea.

Según el test de Kolmogorov-Smirnov realizado a las concentraciones obtenidas en los distintos animales para un mismo tiempo a fin de comprobar la homogeneidad de las mismas (Tabla 22), se obtienen niveles de significación elevados en todos los tiempos excepto a las 0,75 horas.

De la misma manera que en las anteriores vías de administración del fármaco, se ha procedido al ajuste de las concentraciones plasmáticas obtenidas experimentalmente en cada uno de los animales, así como de las concentraciones medias, a modelos farmacocinéticos mono, bi y tricompartmentales, considerando la existencia o no de tiempo de latencia y ponderando a 1, al inverso de las concentraciones ( $1/C$ ) y al inverso del cuadrado de las mismas ( $1/C^2$ ). Y al igual que en los apartados anteriores, los resultados de dichos ajustes a modelos mono-, bi- y tricompartmentales reflejan un mejor ajuste de AIC para el modelo bicompartimental ponderado a ( $1/C^2$ ), sin tiempo de latencia. Los parámetros farmacocinéticos hallados para el ajuste bicompartimental, para cada uno de los animales, se presentan en la Tabla 23. Los valores medios de estos parámetros, y de algunos estadísticos de desviación, quedan reflejados en la Tabla 24.

El ajuste a la distribución normal de los parámetros obtenidos para el modelo bicompartimental, se comprueba mediante la realización de un test de Kolmogorov-Smirnov (Tabla 24). Excepto para el parámetro  $C_z$  donde el nivel de significación no es muy elevado, los elevados valores obtenidos demuestran la homogeneidad de los datos experimentales.

En la Tabla 25 aparecen las concentraciones teóricas deducidas de las ecuaciones de ajuste para cada conejo. Los estadísticos de las mismas y el nivel de significación obtenido tras haber realizado la prueba de Kolmogorov-Smirnov quedan reflejados en la Tabla 26. Como puede apreciarse se obtienen elevados niveles de significación y coeficientes de variación inferiores al 75% en todos los tiempos. Además, para casi todos los tiempos los coeficientes de variación son menores del 25%.

La Tabla 27 pone de manifiesto la buena correlación existente entre las concentraciones experimentales y teóricas de cada conejo, mediante un análisis de regresión y una matriz de correlación de Pearson.

El resultado del estudio farmacocinético no compartimental queda reflejado en la Tabla 28. El estudio estadístico de los parámetros no compartimentales y el resultado de la prueba de Kolmogorov-Smirnov se muestra en la Tabla 29. Como se puede observar, todos los parámetros muestran unos coeficientes de variación y unos niveles de significación dentro de los niveles considerados adecuados por Wagner (1968) excepto para el parámetro MAT donde el coeficiente de variación es ligeramente superior al 75%. En cambio, el nivel de significación es elevado.

#### 4.4.- COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE MARBOFLOXACINO OBTENIDOS TRAS SU ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA, INTRAMUSCULAR Y SUBCUTÁNEA

Para verificar la existencia de diferencias significativas entre las administraciones intramuscular y subcutánea de norfloxacin se han aplicado pruebas estadísticas paramétricas (t de Student) y no paramétricas (test de Wilcoxon) a los parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el análisis compartimental y los parámetros farmacocinéticos no compartimentales. Los resultados de este estudio se muestran en la Tabla 30, en la que se puede observar que, entre las dos vías, no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en los parámetros farmacocinéticos, excepto para el  $\lambda_z$ ,  $t_{1/2\lambda_z}$ ,  $k_a$ ,  $C_{max}$  y  $t_{max}$ .

La representación gráfica semilogarítmica de las tres vías de administración, en la que se observan los valores medios experimentales de concentración obtenidos a los distintos tiempos de extracción, aparece en el Gráfico 22.

La comparación de las vías intravenosa e intramuscular, pone de manifiesto no existen diferencias significativas entre los parámetros farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales, excepto para AUC, donde sí se observan diferencias significativas entre ambas vías de administración.

También se ha realizado la comparación entre la vía de administración intravenosa y la vía subcutánea. No observándose diferencias significativas entre los parámetros, excepto de nuevo en el caso de AUC y AUMC.

## 5.- DISCUSIÓN





## 5.1.- ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE NORFLOXACINO EN CONEJOS

### 5.1.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO

La evolución de las concentraciones plasmáticas de norfloxacin a una dosis de 10 mg/kg a conejos, se ha ajustado a los modelos farmacocinéticos mono-, bi- y tricompartmentales ponderando los datos experimentales al inverso de su valor ( $1/C$ ) y al cuadrado del inverso de su valor ( $1/C^2$ ).

A la hora de decidir cuál de dichos modelos es el más idóneo, se deben tener en cuenta los coeficientes de ajuste, tanto lineales, coeficiente de correlación ( $R^2$ ), como no lineales, *criterio de información de Akaike* o AIC (Yamaoka y cols., 1978), considerando éste último el principal criterio de decisión. En este estudio, los valores de AIC son concluyentes, en cuanto que adquiere valores más favorables (menores) con el modelo tricompartmental con ponderación  $1/C$ , excepto para el conejo número 4 que es  $1/C^2$ .

El que aparezca un ajuste del NFLX al modelo tricompartmental es un hecho relativamente frecuente, ya que si se realizan suficientes extracciones a tiempos muy próximos al momento de la administración, es posible diferenciar, más de una exponencial. Así pues, se puede concluir que las concentraciones plasmáticas experimentales obtenidas tras la administración intravascular de una dosis de 10 mg/kg de NFLX en conejos, se ajustan mejor a un modelo tricompartmental abierto.

El modelo tricompartmental abierto se caracteriza por la existencia de un compartimento central y dos periféricos. Dependiendo de que el proceso de eliminación se produzca desde el compartimento central, o desde los compartimentos periféricos, se obtendrán distintos modelos posibles. En este caso se ha considerado que la eliminación se produce desde el compartimento central.

El modelo tricompartmental abierto tras una dosis intravascular, viene definido por la siguiente ecuación:

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

Hay que considerar, que dicha ecuación adquiere valores diferentes para cada animal. Para hallar la ecuación que mejor define la evolución de las concentraciones plasmáticas de NFLX en el conejo, se deben llevar a cabo estudios estadísticos que permitan calcular los valores medios para cada uno de los parámetros que intervienen en la misma.

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

Para verificar la bondad del ajuste a un modelo tricompartmental abierto, se han calculado las concentraciones teóricas correspondientes a cada animal y las concentraciones teóricas medias a los mismos tiempos utilizados en la fase experimental (Tablas 7 y 8). Se ha procedido a realizar un análisis de regresión y una matriz de correlación de Pearson entre las concentraciones experimentales y las teóricas, resultando en todos los casos un alto valor para el coeficiente de regresión ( $p > 0,05$ ) y por lo tanto ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones experimentales y las teóricas (Tabla 9).

Por consiguiente, la ecuación que mejor define la evolución de las concentraciones plasmáticas experimentales, en el conejo tras la administración intravenosa, de una dosis única de 10 mg/kg de norfloxacin, adquiere el siguiente valor:

$$(2) \quad C = 14128,54 \cdot e^{-9,13 \cdot t} + 4791,16 \cdot e^{-0,90 \cdot t} + 1014,10 \cdot e^{-0,22 \cdot t}$$

El modelo de disposición tricompartmental concuerda con el obtenido para NFLX en la oveja (González y cols., 2011). Sin embargo, la mayoría de autores obtienen que tras la administración de norfloxacin por vía intravenosa el fármaco sigue un comportamiento bicompartmental, como por ejemplo en perro (Brown y cols., 1990), pollo (Anadon y cols., 1992), cerdo (Chang y cols., 2007) y caballo (Park y cols., 2003). También, predomina el modelo bicompartmental cuando se administran otras fluoroquinolonas en conejo, como ocurre con marbofloxacin (Marín y cols., 2013), grepafloxacin (Pérez y cols., 2002), ofloxacin (Marangos y cols., 1997), enrofloxacin (Broome y cols., 1991), danofloxacin (Fernández-Varón y cols., 2007), orbifloxacin (Marín y cols., 2007) y difloxacin (Fernández-Varón y cols., 2008).

Las representaciones de las concentraciones medias experimentales (Gráfico 1 y 2) ponen de manifiesto que los niveles de NFLX descienden rápidamente en la fase inicial y, a partir de aproximadamente 2 horas tras la administración, disminuyen de forma más paulatina, siendo más lento aún este descenso, a partir de las 12 horas postadministración, dando lugar a una segunda y tercera fase de eliminación, respectivamente.

Este hecho se aprecia más claramente al observar la representación semilogarítmica de las concentraciones experimentales y teóricas (Gráfico 2 y 4), en la que se diferencia una fase lineal correspondientes a la parte final de la curva, una fase intermedia capaz de representar una recta semilogarítmica de pendiente más pronunciada, y una fase inicial que es susceptible de descomponerse en otra recta de pendiente todavía más pronunciada que las anteriores.

La transformación de estas tres rectas semilogarítmicas, en sus ecuaciones exponenciales correspondientes, desarrolla la expresión triexponencial ya indicada (ecuación 2). Por tanto, la desaparición de NFLX del plasma de conejo, está regida por tres constantes híbridas de disposición. La primera de ellas ( $\lambda_1$ ), rige fundamentalmente los procesos de distribución y la tercera ( $\lambda_z$ ), los procesos de eliminación. La constantes  $\lambda_2$ , sería una constante intermedia, entre los dos procesos. Una vez alcanzado el equilibrio en la distribución, la fase de disposición rápida primero ( $\lambda_1$ ) y consecutivamente la fase intermedia ( $\lambda_2$ ), dejan de tener influencia práctica, por lo que se puede asumir que la desaparición de NFLX del plasma en conejo, queda determinada por la constante híbrida de disposición lenta correspondiente a la última fase ( $\lambda_z$ ).

El descenso rápido inicial de las concentraciones plasmáticas, implica una rápida distribución a los tejidos durante la primera fase, seguida de una distribución y eliminación más lentas en las siguientes, detectándose concentraciones plasmáticas de NFLX hasta las 24 horas.

#### 5.1.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos por análisis compartimental de norfloxacin se muestran en las Tablas 3 y 4 (modelo tricompartmental). En las Tablas 10 y 11 aparecen los parámetros farmacocinéticos no compartimentales del fármaco. A continuación se van a comentar los parámetros más representativos, teniendo en cuenta el ajuste tricompartmental.

##### 5.1.2.1.- CONSTANTES HÍBRIDAS

Las constantes  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  y  $\lambda_z$ , son de primer orden y se encargan de la distribución y eliminación del antibiótico de manera conjunta, por ello se las denomina constantes híbridas de disposición rápida, intermedia y lenta, respectivamente (Pla y Pozo, 1974). En

el caso de norfloxacinó, se han encontrado valores de  $9,13 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$ ,  $0,90 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_2$  y de  $0,22 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_z$ .

Como se puede apreciar, norfloxacinó posee una fase de disposición rápida, con una pendiente pronunciada, seguida de una fase intermedia más lenta y de menor pendiente (Gráficos 2 y 4) y finalmente aparece una fase todavía más lenta, con una menor pendiente. Por tanto, aparecen tres fases con pendientes diferenciadas, lo cual es otro índice de ajuste a un modelo tricompartmental, que es congruente con la eliminación polifásica del fármaco.

Las constantes híbridas de disposición pueden relacionarse mediante las razones  $\lambda_1/\lambda_z$  y  $\lambda_2/\lambda_z$ , que informa cuál de las constantes controla principalmente los procesos de distribución y eliminación (Pla y Obach, 1982). Así, cuanto más elevado sean dichos cocientes, tanto más tricompartmental puede considerarse la distribución del fármaco. La relación entre las microconstantes de disposición rápida e intermedia  $\lambda_1/\lambda_2$  es bastante elevada, alcanzando un valor medio de 10,29, por lo que la diferencia entre ambas fases queda constatada. En este estudio, las relaciones  $\lambda_1/\lambda_z$  y  $\lambda_2/\lambda_z$ , se han mostrado elevadas, con un valor medio de 47,69 y 4,35, respectivamente (Tabla 6). Ello es indicativo de la diferencia existente entre las fases de distribución y la de eliminación (Tabla 6). Además, indica que la distribución del NFLX es tricompartmental y que es la constante  $\lambda_z$  la que controla principalmente los procesos anteriormente citados, ya que los regula durante más tiempo.

Autores que han ajustado a modelos tricompartmentales las concentraciones de norfloxacinó, como González y cols. (1997), no muestran los valores para estas constantes en ovejas, con lo cual no es posible establecer comparación alguna.

En conejo, para otras fluoroquinolonas cuyo mejor ajuste fue al modelo bicompartimental, se han descrito valores inferiores de  $\lambda_1$  y variables respecto  $\lambda_z$ , en relación a los obtenidos para norfloxacinó. Concretamente, Fernández-Varón y cols. (2005) indican para moxifloxacinó valores de  $\lambda_1$  de  $5,66 \text{ h}^{-1}$  y  $0,38 \text{ h}^{-1}$ , respectivamente, y para danofloxacinó (Fernández-Varón y cols., 2007) valores de  $0,74 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y de  $0,14 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_z$ . Marín y cols. (2008) obtienen para orbifloxacinó un valor de  $\lambda_1$  de  $1,10 \text{ h}^{-1}$  y de  $0,28 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_z$ . Pérez y cols. (2002) indican para grepafloxacinó valores de  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$  de  $3,55 \text{ h}^{-1}$  y  $0,324 \text{ h}^{-1}$ , respectivamente, y Park y cols. (1998), para NFLX describen un valor de  $4,48 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_1$  y de  $0,26 \text{ h}^{-1}$  para  $\lambda_z$ . En general, los valores de  $\lambda_z$  varían entre  $0,14\text{-}0,38 \text{ h}^{-1}$  siendo el valor

obtenido en el presente estudio ( $0,22 \text{ h}^{-1}$ ) intermedio entre los registrados para danofloxacino y orbifloxacino.

#### 5.1.2.2.- MICROCONSTANTES

Las constantes  $\lambda_1, \lambda_2$  y  $\lambda_z$ , no son las verdaderas constantes de distribución y eliminación, ya que son híbridas y participan en ambos procesos. Las denominadas microconstantes son las que realmente los regulan.

En el modelo tricompartmental (Figura IX), considerando que la eliminación del fármaco se produce desde el compartimento central, existen cinco microconstantes: las constantes de transferencia del compartimento central al primer y al segundo compartimento periférico ( $k_{12}$  y  $k_{13}$ ), las constantes de retorno de cada compartimento periférico al central ( $k_{21}$  y  $k_{31}$ ), y la constante de eliminación desde el compartimento central ( $k_{10}$ ).

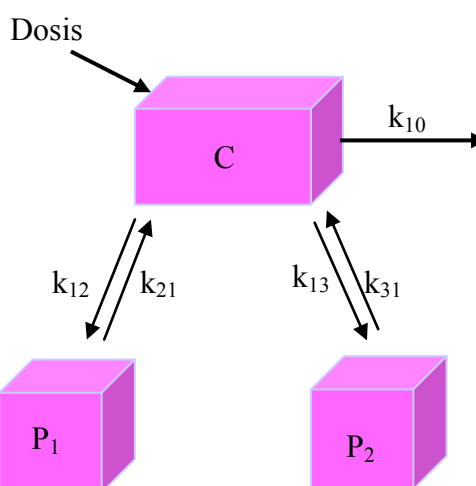


Figura IX. Modelo Tricompartmental Abierto

Los valores medios obtenidos para dichas constantes, en el caso de NFLX en el conejo son  $k_{12} = 4,5 \text{ h}^{-1}$ ,  $k_{21} = 3,2 \text{ h}^{-1}$ ,  $k_{13} = 0,51 \text{ h}^{-1}$ ,  $k_{31} = 0,34 \text{ h}^{-1}$  y  $k_{10} = 1,7 \text{ h}^{-1}$  (Tabla 4). Se puede apreciar que las constantes de transferencia a los compartimentos periféricos son mayores que las de retorno. Esto indica que puede existir cierta retención en los compartimentos periféricos, siendo mayor en el compartimento periférico  $P_1$  puesto que el acceso del fármaco ocurre a una velocidad más elevada que al compartimento  $P_2$ .

La Tabla 3 pone de manifiesto que, para casi todos los animales, la constante de eliminación desde el compartimento central ( $k_{10}$ ), adquiere un valor elevado, pero menor

que la constante  $k_{12}$ , indicando una rápida eliminación de NFLX desde el compartimento central, que puede estar limitada por la distribución de norfloxacino al primer compartimento periférico.

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

Así, la relación  $\lambda_z/k_{10}$ , alcanza un valor de 0,12 y señala una eliminación global del antibiótico desde todo el organismo, regida por una constante  $\lambda_z$  inferior a la verdadera constante de eliminación ( $k_{10}$ ), lo que confirma de nuevo la adecuación de la disposición de NFLX a un modelo tricompartmental.

Del estudio de la relación  $k_{12}/k_{10}$ , se obtiene un valor de 2,36. Como se puede observar, este valor es elevado e indica que existe una velocidad de distribución del fármaco superior a la de eliminación del mismo del plasma, por metabolismo y excreción, lo que indica que el fármaco accede de una manera rápida y completa al primer compartimento periférico. Este hecho no sucede si se considera la relación existente entre la constante de transferencia del compartimento central al segundo compartimento periférico y la constante de eliminación ( $k_{13}/k_{10}$ ), cuyo valor es de 0,23. Como se puede observar, este valor es algo reducido e indica que NFLX accede de una manera más lenta y limitada al segundo compartimento periférico. Además, también muestra que existe una velocidad de distribución del fármaco poco relevante frente a la de eliminación del mismo desde plasma, por metabolismo y/o excreción. Esto indica que la eliminación puede interferir en el proceso de distribución de NFLX en el segundo compartimento periférico.

Además, este cociente entre constante de transferencia y de eliminación está relacionado con la duración y el perfil de la fase de disposición rápida  $\lambda_1$ , la cual es tanto más fugaz cuanto mayor sea este índice (Pla y Obach, 1982), lo que corrobora el resultado obtenido para la relación ya comentada  $\lambda_1/\lambda_z$ . Por lo tanto la eliminación, en principio, no interfiere notablemente en el proceso de distribución de NFLX.

Si se estudia la relación entre la constante de transferencia y retorno, desde el compartimento periférico  $k_{12}/k_{21}$ , esta adquiere el valor de 1,26. Según este valor, el acceso del fármaco al compartimento periférico se realiza más fácilmente que el retorno al compartimento central, resultando en una cierta retención de NFLX en dicho compartimento periférico, que no es demasiada acusada a juzgar por el valor que toma la citada relación. Si se considera la relación entre las constantes de transferencia y retorno que afectan al segundo compartimento periférico  $k_{13}/k_{31}$ , se observa que el valor es similar

1,14. Por lo que se puede inferir que norfloxacino es retenido selectivamente en determinados componentes tisulares del conejo ya que el retorno del fármaco al compartimento central se realiza más difícilmente que el acceso del mismo a los compartimentos periféricos, facilitando su distribución.

Esta característica determina las propiedades cinéticas de NFLX, esperándose concentraciones tisulares altas y mantenidas. Estas concentraciones tisulares deben ser utilizadas para estimar de un modo más exacto los regímenes de dosificación, ya que los niveles plasmáticos van a constituir, en principio, un mal punto de referencia (Girard y cols., 1987; Shepard y cols., 1990).

Del análisis de la relación  $k_{21}/k_{10}$ , se obtiene un valor de 1,76 y de lo que se deduce que el retorno del fármaco del compartimento periférico  $P_1$  al compartimento central no condiciona la eliminación del fármaco.

A pesar de lo descrito, la retención de NFLX en el compartimento periférico, es un proceso reversible. Por lo tanto, la transferencia desde el compartimento periférico al central no limita la velocidad de eliminación.

Por último, la relación  $k_{21}/k_{31}$  (13,52) indica, de acuerdo con lo anterior, que la velocidad de salida del primer compartimento es mucho mayor que la del segundo compartimento.

### 5.1.2.3.- TIEMPOS DE VIDA MEDIA Y TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT)

El tiempo de vida media de la fase de disposición rápida ( $t_{1/2\lambda 1}$ ) para norfloxacino, ha sido de 0,15 horas y la vida media en la fase de disposición intermedia ( $t_{1/2\lambda 2}$ ) de 1,08 horas. En la fase de disposición lenta el valor de  $t_{1/2\lambda z}$ , considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982), ha sido de 4,73 horas.

Respecto a la semivida de norfloxacino, en otras especies animales se han registrado valores inferiores, como en corderos ( $t_{1/2\lambda z} = 1,47$  h, González y cols. 1997), pollos ( $t_{1/2\lambda z} = 3,51$  h, Abu-Basha y cols., 2011), y ovejas ( $t_{1/2\lambda z} = 0,17$  h, González y cols. 1997), pero similares en asnos ( $t_{1/2\lambda z} = 3,83$  horas, Lavy y cols., 1995). Para el nicotinato de norfloxacino también se obtuvo un valor inferior ( $t_{1/2\lambda z} = 2,10$  h, Shem y Ziv, 1994) en el cerdo, aunque para esta sal resultó más prolongada en la oveja ( $t_{1/2\lambda z} = 6,20$  h, Soback y cols., 1994). También se han descrito vidas medias más prolongadas con esta sal en cabra y perro ( $t_{1/2\lambda z} = 5,96$  h, El-Sayed y cols., 2011;  $t_{1/2\lambda z} = 6,30$  h, Walker y cols. 1989,



respectivamente) y con norfloxacino-glicina en cerdo y caballo ( $t_{1/2\lambda z} = 7,42$  h, Chang y cols., 2007 y  $t_{1/2\lambda z} = 5,44$  h, Parck y Yun, 2003, respectivamente).

Respecto a otras fluoroquinolonas que siguen un modelo bicompartimental, en el conejo se han registrado valores de vida media más cortos para ibafloxacino ( $t_{1/2\lambda z} = 2,85$  h, Marín y cols., 2007), difloxacino ( $t_{1/2\lambda z} = 4,19$  h, Fernández-Varón y cols., 2008), orbifloxacino ( $t_{1/2\lambda z} = 2,50$  h, Marín y cols., 2008), moxifloxacino ( $t_{1/2\lambda z} = 1,84$  h, Fernández-Varón y cols., 2005;  $t_{1/2\lambda z} = 2,15$  h, Cárceles y cols., 2006), grepafloxacino ( $t_{1/2\lambda z} = 2,10$  h, Pérez y cols., 2002), ofloxacino ( $t_{1/2\lambda z} = 1,59$  h, Marangos y cols., 1997), esparfloxacino, ( $t_{1/2\lambda z} = 2,39$  h, Liu y cols., 1998) y enrofloxacino ( $t_{1/2\lambda z} = 3,00$  h, Elmas y cols., 2007;  $t_{1/2\lambda z} = 2,50$  h, Broome y cols., 1991). Un valor similar al del presente estudio se ha descrito para danofloxacino ( $t_{1/2\lambda z} = 4,88$  horas; Fernández-Varón y cols., 2007).

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

En el presente estudio se ha obtenido un valor de MRT de 2,14 horas (Tabla 11). Un valor similar se obtiene en el pollo (MRT = 2,96 h, Abu-Basha y cols., 2008). En la mayoría de especies animales se han registrado valores superiores (cordero, MRT = 15,16 h, González y cols., 1997; ternero, MRT = 3,08 h, Gips y Soback, 1996; oveja, MRT = 8,02 h, Soback y cols., 1994; cerdo, MRT = 2,90 h, Shem y Ziv, 1994). Para el norfloxacino-glicina, Parck y Yun (2003) obtuvieron un valor de MRT de 4,32 horas en el caballo.

En el conejo, para otras fluoroquinolonas los valores de MRT obtenidos fueron inferiores para ibafloxacino (MRT = 1,03 h, Marín y cols., 2007), enrofloxacino (MRT = 1,55 h, Broome y cols., 1991) y orbifloxacino (MRT = 1,88 h, Marín y cols., 2008). Valores similares se obtuvieron con moxifloxacino (MRT = 2,44 h, Fernández-Varón y cols., 2005 y MRT = 2,61 h, Cárceles, 2006). En contraste, valores más prolongados se han registrado para danofloxacino (MRT = 4,14 h, Fernández-Varón y cols., 2007), marbofloxacino (MRT = 4,74 h, Marín y cols., 2013) y difloxacino (MRT = 4,82 h, Fernández-Varón y cols., 2008).

#### 5.1.2.4.- VOLÚMENES DE DISTRIBUCIÓN APARENTES

El volumen de distribución aparente de NFLX calculado en función del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo ( $V_z$ ) en conejo, alcanza un valor de 4,92 L/kg, en tanto que el volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) adquiere un valor de 1,71 L/kg, obtenidos ambos por métodos no compartimentales (Tabla 11). Como se puede observar estos valores son elevados, e indican que el fármaco tiene una amplia distribución en el conejo. Para la mayoría de las especies estudiadas, los valores obtenidos de  $V_z$  y/o  $V_{ss}$  resultaron inferiores a los de este estudio (cabra,  $V_z = 0,42$  L/kg, El-Sayed y cols., 2011; oveja,  $V_z = 1,40$  L/kg, Soback y cols., 1994; pollo,  $V_{ss} = 1,46$  L/kg, Abu- Basha y cols., 2008; asno  $V_z = 3,34$  L/kg, Lavy y cols., 1995). En cambio, tras la administración de nicotinato de norfloxacin, se obtuvieron valores más elevados en el cerdo ( $V_{ss} = 3,2$  L/kg, Shem y Ziv, 1994) y el ternero ( $V_{ss} = 2,13$  L/kg, Gips y Soback, 1996). En el caballo, el valor de  $V_{ss}$  fue de 2,19 L/kg tras la administración de norfloxacin-glicina.

Respecto a otras fluoroquinolonas en conejo, se han descrito valores de  $V_{ss}$  similares para moxifloxacin ( $V_{ss} = 1,95$  L/kg, Fernández-Varón y cols., 2005;  $V_{ss} = 2,08$  L/kg, Cárceles y cols., 2006), orbifloxacin ( $V_{ss} = 1,88$  L/kg, Marín y cols., 2008), marbofloxacin ( $V_{ss} = 1,99$  L/kg, Marín y cols., 2013) y difloxacin ( $V_z = 2,47$  L/kg y  $V_{ss} = 1,95$  L/kg, Fernández-Varón y cols., 2008). Únicamente adquieren un valor marcadamente superior al del presente estudio enrofloxacin ( $V_{ss} = 4,80$  L/kg, Elmas y cols., 2007) y danofloxacin ( $V_{ss} = 3,16$  L/kg, Fernández-Varón y cols., 2007). Estos valores son elevados, indicando una buena distribución orgánica de las fluoroquinolonas en esta especie.

Si observamos los volúmenes de distribución aparentes calculados, se puede constatar que

$$V_z(4,92) > V_{ss}(1,71)$$

lo cual, según Wagner (1983), debe cumplirse siempre.

#### 5.1.2.5.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC)

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

El valor de AUC obtenido para NFLX en conejo ha sido de 13016,12  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 11). Este valor es inferior al obtenido en ovejas (AUC = 63547  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ) y corderos (AUC = 34586  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ), a la dosis de 30 y 60 mg/kg, respectivamente, y en pollos a dosis de 16 mg/kg (46640  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ; Abu-Basha y cols., 2008).

En otras especies, los valores de AUC han sido inferiores al valor obtenido en el presente estudio, así en cerdos se obtuvo un AUC = 9660  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Chang y cols., 2007) y en caballos un AUC = 8250  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Park y Yun, 2003), pero teniendo en cuenta que las dosis de administración fueros también inferiores, 7,2 y 4 mg/kg, respectivamente.

Respecto a otras fluoroquinolonas en conejo, se han descrito valores inferiores de AUC para moxifloxacino (Cárceles y cols., 2006; Fernández-Varón y cols., 2005), orbifloxacino (Marín y cols., 2007), difloxacino (Fernández-Varón y cols., 2008) y danofloxacino (Fernández-Varón y cols., 2007), pero hay que indicar que en todos los casos las dosis aplicadas fueron inferiores (dosis = 5 mg/kg para moxifloxacino, difloxacino y orbifloxacino, y 6 mg/kg para danofloxacino). Abo-El-Sooud y Goudah (2009) obtuvieron un valor similar al de este estudio (AUC es 12210  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ) pero a la dosis de 2,5 mg/kg.

#### 5.1.2.6.- ACLARAMIENTO PLASMÁTICO

El aclaramiento plasmático en función del área bajo la curva (Cl), obtenido mediante análisis no compartimental en este estudio, ha sido 0,80 L/kg·h (Tabla 11), indicando una eliminación rápida de norfloxacino en el conejo. En casi todas las especies estudiadas, los valores obtenidos fueron inferiores al obtenido en el presente estudio. Así por ejemplo, González y cols. (2014) obtuvieron en oveja y corderos un valor de aclaramiento plasmático de 0,32 y 0,075 L/kg·h, respectivamente. El-Sayed y cols. (2011) en la cabra reportan un valor de 0,01 L/kg·h, Park y Yun (2003) en caballo de 0,49 L/kg·h y Gips y Soback (1999) en la vaca de 0,62 L/kg·h. Se obtuvieron valores similares en cerdo (Cl = 0,80 L/kg·h; Chang y cols., 2007).

Si se compara los valores de norfloxacino obtenidos en el conejo con otras fluoroquinolonas, el aclaramiento plasmático (Cl) obtenido fue similar al valor del presente estudio con moxifloxacino (Cl = 0,80 L/kg·h, Fernández-Varón y cols., 2005), orbifloxacino (Cl = 0,91 L/kg·h, Marín y cols., 2008) y danofloxacino (Cl = 0,76 L/kg·h, Fernández-Varón y cols., 2007). Por el contrario, fue inferior en difloxacino (Cl = 0,59 L/kg·h; Abd El-Aty y cols., 2005) y marbofloxacino (Cl = 0,2 L/kg·h; Abo-El-Sooud y Goudah, 2009), indicando una eliminación más lenta en estos casos que con norfloxacino.

## 5.2.- ADMINISTRACIÓN INTRAMUSCULAR DE NORFLOXACINO EN CONEJOS

### 5.2.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO

La evolución de las concentraciones plasmáticas de norfloxacin, tras la administración intramuscular de 10 mg/kg a conejos, se ha ajustado a modelos mono-, bi- y tricompartmentales, tanto con tiempo de latencia, como sin él, con y sin ponderación de los datos experimentales.

Del mismo modo que tras la administración intravenosa, se consideraron los coeficientes de ajuste lineales ( $R^2$ ) y, fundamentalmente, los no lineales (AIC) para decidir que modelo resultaba más apropiado; siendo el AIC, el parámetro fundamental de decisión.

Teniendo en cuenta los parámetros de ajuste lineales, se constató que en todos los conejos, el coeficiente  $R^2$  no permite discernir entre el modelo cinético mono, bi o tricompartmental. Sin embargo, al analizar el ajuste definitivo a modelos no lineales, y considerando el modelo más adecuado el que presenta un menor valor de AIC (Yamaoka y cols., 1978), se observó que todos los animales estudiados presentan un menor valor de AIC, cuando se ajustan a un modelo bicompartimental abierto con absorción de primer orden, sin tiempo de latencia y con ponderación de los datos ( $1/C^2$ ), por lo que este modelo resultó ser el más adecuado.

Las concentraciones de norfloxacin obtenidas en otras especies animales tras la administración intramuscular también se ajustan a un modelo bicompartimental abierto, como sucede en la cabra (El-Sayed y cols., 2011), el cerdo (Shem-Tov y Ziv, 1994) y el caballo (Park y Yun, 2003).

Para otras fluoroquinolonas en conejo, también se observa que el mejor modelo farmacocinético que describe evolución de las concentraciones a lo largo del tiempo es el bicompartimental, coincidiendo con este estudio. Así sucede con enrofloxacin (Elmas y cols., 2007), danofloxacin (Fernández-Varón y cols., 2007), orbifloxacin (Marín y cols., 2008), y marbofloxacin (Marín y cols., 2013), tras la administración intramuscular de los citados antimicrobianos.

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

$$(3) \quad C = C_a \cdot e^{-k_a \cdot t} + C_1 \cdot e^{-\lambda_1 \cdot t} + C_2 \cdot e^{-\lambda_2 \cdot t}$$

La ecuación 3, adquiere valores distintos en cada animal. Los valores medios de los parámetros, así como los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 15. Estos

estadísticos, en particular el coeficiente de variación junto con el test de Kolmogorov-Smirnov (Tabla 15), revelan que los parámetros son homogéneos y se ajustan a una distribución normal. Los niveles de significación más bajos se obtuvieron para  $t_{1/2\lambda z}$ .

Por tanto, la ecuación que mejor describe la evolución de las concentraciones plasmáticas de NFLX en conejo, tras su administración intramuscular, obtenida con los parámetros medios, adopta el siguiente valor:

$$(4) \quad C = -4805,85 \cdot e^{-4,78 \cdot t} + 2907,37 \cdot e^{-0,51 \cdot t} + 1206,08 \cdot e^{-0,16 \cdot t} \mu\text{g/L}$$

En los Gráficos 8 y 9, se representan las concentraciones medias experimentales de manera directa y semilogarítmica, respectivamente. Las cinéticas individuales aparecen en los Gráficos 10, 11, 12, 13 y 14.

La ecuación 4 resulta válida para definir la evolución temporal de las concentraciones plasmáticas de NFLX en conejos, tras su administración intramuscular. Sin embargo, esta ecuación no es válida, para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos que caracterizan el modelo, ya que estos últimos vienen definidos por el estudio tras la administración intravenosa. En todo caso, sí se ha de considerar el tiempo de vida media de la fase terminal, ( $t_{1/2\lambda z}$ ), que es el único parámetro considerado como dato útil y que puede ser comparado con el obtenido tras la administración intravenosa.

### 5.2.2.- TIEMPO DE VIDA MEDIA, MRT Y MAT

El valor de vida media obtenido tras la administración intramuscular ha sido de 4,92 horas (Tabla 15). Este valor resulta muy similar al obtenido tras la administración intravenosa, que es de 4,73 horas (Tabla 4), lo que es indicativo en principio de que el proceso de absorción no produce variaciones en la eliminación del fármaco.

Valores similares se obtuvieron en la cabra para norfloxacino-glicina ( $t_{1/2\lambda z} = 4,60-5,24$  h, Wajeeha y cols., 2006) y en el cerdo para nicotinato de norfloxacino ( $t_{1/2\lambda z} = 4,45$  h, Shem-Tov y Ziv, 1994). Sin embargo, en caballo se registraron valores superiores de vida media para norfloxacino-glicina ( $t_{1/2\lambda z} = 9,47$  h, Park y Yun., 2003).

En conejo, con otras fluoroquinolonas, se han descrito valores de  $t_{1/2\lambda z}$  inferiores: 2,09 horas para el moxifloxacino (Fernández-Varón y cols, 2005), 2,54 horas para el orbifloxacino (Marín y cols., 2008), 3,82 horas para el difloxacino (Abd El-Aty y cols., 2005) y 2,40 horas para el enrofloxacino (Elmas y cols., 2002). Solo con marbofloxacino y

danofloxacino se registraron valores superiores de  $t_{1/2\lambda_z}$ , concretamente de 7,72 horas (Marín y cols., 2013) y 6,70 horas (Fernández-Varón y cols., 2007), respectivamente.

Por otro lado, el valor del MRT, el cual es independiente de la ecuación de ajuste y se calcula directamente a partir de la curva experimental, alcanza un valor de 4,32 h (Tabla 20). Este parámetro es prácticamente el doble al valor obtenido tras la administración intravenosa (Tabla 11).

En la literatura existen estudios de este parámetro para NFLX en otras especies animales distintas al conejo. Se han publicado valores más prolongados en la oveja (MRT = 12,38, González y cols. 2001) y en la cabra, para dos preparaciones de NFLX (MRT = 5,72 h y MRT = 4,79, Wajeeha y cols., 2006). En el caballo, para norfloxacino-glicina, el valor ha sido muy superior (MRT = 29,51 h, Park y Yun., 2003). Los valores de MRT más prolongados suelen obtenerse en especies de mayor tamaño que el conejo, ya que presentan una tasa metabólica menor.

Otras fluoroquinolonas estudiadas en conejo presentan valores similares al obtenido en el presente estudio, como ocurre con difloxacino (MRT = 4,24 horas; Abd El-Aty y cols., 2005), moxifloxacino (MRT = 3,20 h; Fernández-Varón y cols., 2005), enrofloxacino (MRT = 3,19 h; Elmas y cols., 2002), danofloxacino (MRT = 5,01 horas; Fernández-Varón y cols., 2007) y marbofloxacino (MRT = 5,52 h; Marín y cols., 2013).

En las Tablas 19 y 20, se presentan los valores correspondientes al MRT intramuscular y al tiempo medio de absorción (MAT); en tanto que el MRT intravenoso aparece en las Tablas 10 y 11. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar como el valor de MAT es similar al MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, resulta que el MRT intravenoso (2,14 horas) es muy similar al MAT intramuscular (2,18 horas), y si se tienen en cuenta los tiempos de vida media, se puede inferir que, en principio, no se produce fenómeno de flip-flop, es decir, el proceso de absorción de NFLX tras su administración intramuscular, no condiciona su eliminación.

En trabajos realizados por otros autores se muestran valores inferiores que los de este trabajo para moxifloxacino (MAT = 0,76 h, Fernández-Varón y cols., 2005), danofloxacino (MAT = 0,87 h, Fernández-Varón y cols., 2007), orbifloxacino (MAT = 0,48 h, Marín y cols., 2008) y difloxacino (Abd El-Aty y cols., 2005) y marbofloxacino (MAT = 0,86 h, Marín y cols., 2013).

### 5.2.3.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA

Otro parámetro a tener en cuenta tras la administración intramuscular es el tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima o tiempo máximo ( $t_{m\acute{a}x}$ ). El valor de este parámetro ha sido de 0,75 horas (Tabla 20). El  $t_{m\acute{a}x}$  es independiente de la dosis administrada, pero sí que varía en función de la forma farmacéutica administrada y de la vía de administración, ya que depende de la constante de absorción.

En casi todas las especies estudiadas, se obtienen valores similares, como por ejemplo sucede en el pollo ( $t_{m\acute{a}x} = 0,6$  h, Anadón y cols., 1992), en la cabra ( $t_{m\acute{a}x} = 0,89$  h y  $t_{m\acute{a}x} = 0,77$  h, Wajeeha y cols., 2006) y en el caballo ( $t_{m\acute{a}x} = 0,86$  h, Park y Yun, 2003). Sin embargo, en el cerdo, para el nicotinato de norfloxacin, la velocidad de absorción fue más rápida, siendo el valor de  $t_{m\acute{a}x} = 0,25$  horas (Shem-Tov y Ziv, 1994). En contraste, se ha publicado un valor más prolongado en la oveja ( $t_{m\acute{a}x} = 1,95$  h, González y cols., 2001) y en el perro ( $t_{m\acute{a}x} = 5$  h, Walker y cols., 1989).

Respecto a otras fluoroquinolonas en conejo, también se han descrito valores de  $t_{m\acute{a}x}$  similares para moxifloxacino ( $t_{m\acute{a}x} = 0,5$  h, Fernández-Varón y cols., 2005), orbifloxacino ( $t_{m\acute{a}x} = 0,67$  h, Marín y cols., 2008), danofloxacino ( $t_{m\acute{a}x} = 0,67$  h, Fernández-Varón y cols., 2007) y enrofloxacino ( $t_{m\acute{a}x} = 0,64$  h, Elmas y cols., 2002). El valor obtenido en este estudio es inferior al obtenido para difloxacino, donde se registró un valor de  $t_{m\acute{a}x} 1,61$  de horas (Abd El-Aty y cols., 2005), lo que resulta en un tiempo 2,15 veces superior en alcanzar la concentración plasmática máxima, indicando una absorción más lenta que en el presente estudio.

Los resultados obtenidos indican una absorción similar en conejo de NFLX tras la administración intramuscular que la mayoría de las fluoroquinolonas estudiadas.

En este estudio, la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ) obtenida para NFLX en conejo ha sido de en 3679,97  $\mu\text{g/L}$  (Tabla 20).

En el resto de especies donde se ha estudiado norfloxacin, las concentraciones máximas obtenidas han sido inferiores. En la oveja, para esta misma vía de administración y dosis (10 mg/kg), se ha publicado un valor de  $C_{m\acute{a}x}$  de 3290,00  $\mu\text{g/L}$  (González y cols., 2001), mostrando, por tanto, una absorción algo más extensa en el conejo. En la cabra, se ha obtenido un valor inferior de  $C_{m\acute{a}x}$  de 2060,00  $\mu\text{g/L}$  y 1840,00  $\mu\text{g/L}$  tras la utilización de dos preparaciones distintas (Wajeeha y cols., 2006) pero a la dosis de 5 mg/kg. Para

norfloxacino-glicina y a la dosis de 2 mg/kg, también se presenta una menor concentración máxima en el caballo ( $C_{\text{máx}} = 440,00 \mu\text{g/L}$ , Park y Yun., 2003).

Respecto a otras fluoroquinolonas en conejo, se han descrito valores más bajos pero hay que indicar que las dosis utilizadas en dichos estudios fueron inferiores. Esto se ha registrado en el caso de moxifloxacino a dosis de 5 mg/kg ( $C_{\text{máx}} = 1288,17 \mu\text{g/L}$ , Fernández-Varón y cols., 2005), danofloxacino a dosis de 6 mg/kg ( $C_{\text{máx}} = 1790 \mu\text{g/L}$ , Fernández-Varón y cols., 2007), enrofloxacino a dosis de 5 mg/kg ( $C_{\text{máx}} = 1441 \mu\text{g/L}$ , Elmas y cols., 2002), orbifloxacino a dosis de 5 mg/kg ( $C_{\text{máx}} = 3240 \mu\text{g/L}$ , Marín y cols., 2008) y marbofloxacino a dosis de 2 mg/kg. ( $C_{\text{máx}} = 2040,00 \mu\text{g/L}$ , Marín y cols., 2013). En contraste, el valor fue superior en el caso de difloxacino a dosis de 5 mg/kg ( $C_{\text{máx}} = 3850 \mu\text{g/L}$ , Abd El-Aty y cols., 2005).

Por otro lado, como ya se ha comentado previamente, la ecuación 4 define la evolución de las concentraciones plasmáticas, tras la administración intramuscular de NFLX en conejo. Sin embargo, las constantes de absorción y eliminación, que se extraen de dicha ecuación no son reales, sino aparentes, ya que la constante de absorción, en realidad, está reflejando procesos de absorción, distribución y eliminación, mientras que la constante de eliminación, a su vez se encuentra condicionada por los procesos de absorción. Por tanto, si bien los parámetros farmacocinéticos caracterizadores del modelo se calculan a partir de la administración intravenosa, para el cálculo de la constante real de absorción, se ha de recurrir a métodos indirectos.

#### 5.2.4.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN Y SEMIVIDA DE ABSORCIÓN

En el presente estudio, se ha obtenido un valor aparente de la constante de absorción ( $k_a$ ) de  $4,78 \text{ h}^{-1}$  y de la vida media asociada a la misma ( $t_{1/2ka}$ ) de 0,13 h.

Se han registrado valores para  $k_a$  descritos en la cabra para dos preparaciones de NFLX ( $k_a = 1,55 \text{ h}^{-1}$  y  $k_a = 1,77 \text{ h}^{-1}$ , Wajeeha y cols., 2006), donde su valor fue inferior al obtenido en este estudio. Consecuentemente, Wajeeha y cols. (2006) presentaron valores de  $t_{1/2ka}$  de 0,49 h, que resultaron más prolongados que en el presente trabajo. Este dato refleja que en cabra la absorción del NFLX tras su administración intramuscular resulta más lenta que en el conejo.

Para otras fluoroquinolonas, en el conejo, se han registrado valores similares para la constante de absorción  $k_a$  como es el caso de danofloxacino ( $k_a = 4,18 \text{ h}^{-1}$ , Fernández-Varón y cols., 2007), orbifloxacino ( $k_a = 3,85 \text{ h}^{-1}$ , Marín y cols, 2008) y moxifloxacino ( $k_a$



=  $6,51 \text{ h}^{-1}$ , Fernández-Varón y cols., 2005). En contraste, se han obtenido valores superiores para marbofloxacino ( $k_a = 29,13$ , Marín y cols., 2013).

Respecto a la vida media asociada a la constante de absorción ( $t_{1/2ka}$ ), también se han registrado valores similares para otras fluoroquinolonas en conejo como es el caso de moxifloxacino cuyo valor de  $t_{1/2ka}$  es 0,11 h (Fernández-Varón y cols., 2005), marbofloxacino ( $t_{1/2ka} = 0,11\text{h}$ , Marín y cols., 2013), danofloxacino ( $t_{1/2ka} = 0,17 \text{ h}$ , Fernández-Varón y cols., 2007) y orbifloxacino ( $t_{1/2ka} = 0,18 \text{ h}$ , Marín y cols., 2008).

#### 5.2.5.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD

Otro parámetro de interés es el área bajo la curva (AUC), obtenido tras la administración intramuscular, que alcanza un valor de  $14212,80 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  y es superior al obtenido vía intravenosa ( $\text{AUC} = 13016,12 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ ).

En todas las especies en las que hay estudios por vía intramuscular, los valores obtenidos han sido inferiores al de este trabajo. En la oveja, el valor de AUC ha sido de  $2930,11 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (González y cols., 2001), a igualdad de dosis ( $10 \text{ mg/kg}$ ). Wajeeha y cols. (2006), con dos preparaciones de norfloxacin, obtuvieron, en la cabra, valores de AUC de  $7570,00$  y  $5050,00 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , que son inferiores al valor registrado en el presente estudio en conejo. Esto es indicativo de una disposición menos extensa pero hay que indicar que la dosis administrada fue inferior ( $5 \text{ mg/kg}$ ).

En conejos, tras la administración intramuscular se han obtenido valores inferiores con otras fluoroquinolonas pero a menor dosis de administración. Es el caso de moxifloxacino ( $\text{AUC} = 4740 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , dosis  $5 \text{ mg/kg}$ , Fernández-Varón y cols., 2005), orbifloxacino ( $\text{AUC} = 6750 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , dosis  $5 \text{ mg/kg}$ , Marín y cols., 2008), danofloxacino ( $\text{AUC} = 7680 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , dosis  $6 \text{ mg/kg}$ , Fernández-Varón y cols., 2007), enrofloxacin ( $\text{AUC} = 5400 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , dosis  $5 \text{ mg/kg}$ , Elmas y cols., 2002), difloxacin ( $\text{AUC} = 8100 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , dosis  $5 \text{ mg/kg}$ , Abd El-Aty y cols., 2005) y marbofloxacin ( $\text{AUC} = 5840,00 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , dosis  $2 \text{ mg/kg}$ , Marín y cols., 2013). Por tanto, teniendo en cuenta las diferentes dosis de administración, se podría afirmar que, los datos indican una disposición más extensa para norfloxacin en el conejo.

El AUC también permite calcular la biodisponibilidad (F) tras la administración intramuscular. Para su cálculo se han de relacionar las áreas totales bajo la curva de concentración plasmática, obtenidas tras la administración intravenosa e intramuscular del fármaco, multiplicando dicha relación por el cociente entre la dosis intravenosa y la intramuscular, ya que la dosis que se introduce directamente en la circulación sanguínea

está disponible en su totalidad, de ahí que se utilice como referencia (Gibaldi y Perrier, 1982; Wagner, 1983). La ecuación utilizada es la siguiente:

$$(5) \quad F = \frac{AUC \text{ i.m.} \cdot D \text{ i.v.}}{AUC \text{ i.v.} \cdot D \text{ i.m.}} \cdot 100$$

La biodisponibilidad obtenida ha sido muy elevada, alcanzando el 112,95 % de la dosis administrada.

En casi todas las especies animales distintas al conejo, los valores de F han sido inferiores a los detectados en este trabajo. En el caballo, para norfloxacino-glicina, la biodisponibilidad fue del 55% (Park y Yun, 2003). Con nicotinato de norfloxacino, Lavy y cols. (1995) obtuvieron, en el asno, valores inferiores (F= 31,5 % y F = 18,8 % a dosis de 10 y 20 mg/kg, respectivamente). Para esta misma sal, Shem y Ziv, en el cerdo, también obtuvieron menor biodisponibilidad que en el presente estudio (F = 51%) y El-Sayed y cols. (2011) en cabra registraron un valor de 70,04%. Por tanto, se deduce, según lo anterior, que NFLX presenta mayor biodisponibilidad tras la administración intramuscular en conejo que en otras especies animales.

De igual manera ocurre con otras fluoroquinolonas en conejo, donde casi todos los valores de biodisponibilidad detectados son inferiores a los aquí expuestos, pero también muy elevados. Así, se obtiene con moxifloxacino un valor de biodisponibilidad de 92,96 % (Fernández-Varón y cols., 2005), con orbifloxacino un valor de 109,87 % (Marín y cols., 2008), danofloxacino un valor de 102,34 % (Fernández-Varón y cols., 2007) y con difloxacino, concretamente un valor de 95,29 % (Abd El-Aty y cols., 2005). Para marbofloxacino, la F también es superior al obtenido por Abo-El-Sooud y Goudah (2009), donde la biodisponibilidad es 101,9 % pero inferior al registrado por Marín y cols. (2013), que fue del 123,30 %. Teniendo en cuenta lo anterior, se deduce que NFLX, como otras quinolonas en conejo, presenta una excelente biodisponibilidad tras la administración intramuscular.

### 5.3.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE NORFLOXACINO EN CONEJOS

En la literatura no existen prácticamente estudios sobre la mayoría de los parámetros farmacocinéticos para NFLX en otras especies animales tras su administración subcutánea, pero sí existen estudios con otras fluoroquinolonas en conejo. Respecto a otras especies animales, se han realizado estudios farmacocinéticos de norfloxacinó administrado por vía subcutánea solamente en animales de laboratorio (ratones y ratas) a la dosis de 25 mg/kg (Gilfillan y cols., 1994) y en el cerdo a dosis de 14 mg/kg (Shem-Tov and Ziv, 1994).

#### 5.3.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO

La evolución de las concentraciones plasmáticas de nofloxacinó, tras la administración subcutánea de 10 mg/kg en conejos, se ha ajustado, igual que en la administración intramuscular, a modelos mono, bi y tricompartmentales, tanto con tiempo de latencia, como sin él, con y sin ponderación de los datos experimentales.

Al igual que tras la administración intravenosa e intramuscular, se tuvieron en cuenta los coeficientes de ajuste lineales ( $R^2$ ) y fundamentalmente los no lineales (AIC), para poder decidir qué modelo resulta más apropiado; siendo el AIC, el parámetro fundamental de decisión.

Al realizar el ajuste definitivo a modelos no lineales, y considerando el más adecuado el que presenta un menor valor de AIC (Yamaoka y cols., 1978) se observa que las concentraciones de NFLX en todos los animales estudiados presentan un menor valor de AIC cuando se ajustan al modelo bicompartimental, por lo que este modelo resulta ser el más apropiado. Así, el modelo farmacocinético elegido cuando el NFLX se administra por vía subcutánea, es el modelo bicompartimental abierto sin periodo de latencia y con ponderación de los datos  $1/C^2$ , igual que ocurre con la administración intramuscular.

Shem-Tov y Ziv (1994) coinciden con este modelo bicompartimental para describir las concentraciones de nicotinato de norfloxacinó en el cerdo.

Para otras fluoroquinolonas, también fue el modelo bicompartimental el que mejor describió la evolución de las concentraciones a lo largo del tiempo, coincidiendo con este estudio. Así sucede para danofloxacinó (Fernández-Varón y cols., 2007), difloxacinó (Fernández-Varón y cols., 2008), orbifloxacinó (Marín y cols., 2008), y marbofloxacinó (Marín y cols., 2013).

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

$$(6) \quad C = C_a \cdot e^{-k_a \cdot t} + C_1 \cdot e^{-\lambda_1 \cdot t} + C_2 \cdot e^{-\lambda_2 \cdot t}$$

Dicha ecuación, adquiere valores distintos en cada animal, con los parámetros que se muestran en la Tabla 23. Los estadísticos de desviación se muestran en la Tabla 24, así como los valores de los parámetros que resultan de las concentraciones medias. Estos estadísticos, en particular el coeficiente de variación junto con el test de Kolmogorov-Smirnov, revelan que los parámetros son homogéneos y no existen diferencias significativas para un mismo parámetro. Hay que señalar que los tiempos de latencia detectados en estos animales son despreciables.

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

$$(7) \quad C = -6210,34 \cdot e^{-4 \cdot t} + 4577,71 \cdot e^{-0,70 \cdot t} + 1346,19 \cdot e^{-0,17 \cdot t} \mu\text{g/L}$$

En los Gráficos 15 y 16, se representan las concentraciones medias experimentales de manera directa y semilogarítmica, respectivamente. Las cinéticas individuales aparecen en los Gráficos 17 a 21.

La ecuación 7 resulta por tanto válida para definir la evolución temporal de las concentraciones plasmáticas del NFLX en conejo, tras su administración subcutánea. Sin embargo, esta ecuación no es válida para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos caracterizadores del modelo, ya que estos últimos vienen definidos por el estudio tras la administración intravenosa.

### 5.3.2.- TIEMPO DE VIDA MEDIA, MRT Y MAT

En todo caso, sí se ha de considerar el tiempo de vida media de la fase terminal, ( $t_{1/2\lambda z}$ ), que es un parámetro que nos proporciona un dato útil para ser comparado con el obtenido tras la administración intravenosa e intramuscular. El valor obtenido ha sido de 4,41 horas (Tabla 24), que resulta inferior al obtenido tras la administración intravenosa, que es de 4,73 horas (Tabla 4) y tras la administración intramuscular (4,92 horas; Tabla 15). Este resultado puede ser indicativo de que el proceso de absorción, al igual que en la administración intramuscular, no es un factor limitante de la eliminación.

En otras especies animales distintas al conejo, se han obtenido valores similares de vida media como sucede en el cerdo para el nicotinato de norfloxacinó ( $t_{1/2\lambda z} = 4,45$  h, Shem-Tov y Ziv, 1994).

En conejo, para otras fluoroquinolonas, se han descrito valores de  $t_{1/2\lambda z}$  inferiores con enrofloxacinó ( $t_{1/2\lambda z} = 1,71$  h, Broome y cols., 1991). Valores similares para este parámetro han sido publicados con moxifloxacinó ( $t_{1/2\lambda z} = 5,41$  h, Cárceles y cols., 2006) y orbifloxacinó ( $t_{1/2\lambda z} = 5,14$  h, Marín y cols., 2008), obteniéndose valores superiores con danofloxacinó ( $t_{1/2\lambda z} = 8,20$  h, Fernández-Varón y cols., 2007), difloxacinó ( $t_{1/2\lambda z} = 7,53$  h, Fernández-Varón y cols., 2008) y marbofloxacinó ( $t_{1/2\lambda z} = 6,65$  h, Marín y cols., 2013).

Por otro lado, el valor del MRT, que como ya se comentó, es independiente de la ecuación de ajuste y se calcula directamente a partir de la curva experimental, alcanza un valor de 3,09 horas (Tabla 29). Este parámetro es superior al descrito tras la administración intravenosa ( $MRT_{IV} = 2,14$  horas; Tabla 11).

Otras fluoroquinolonas estudiadas en conejo presentan valores inferiores a los obtenidos en este estudio como sucede con enrofloxacinó ( $MRT = 1,46$  h, Broome y cols., 1991) y orbifloxacinó ( $MRT = 2,80$  h, Marín y cols., 2008). Valores más prolongados se han obtenido con danofloxacinó ( $MRT = 4,73$  h, Fernández-Varón y cols., 2007), difloxacinó ( $MRT = 5,18$  h, Fernández-Varón y cols., 2008), moxifloxacinó ( $MRT = 5,21$  h, Cárceles y cols., 2006) y marbofloxacinó ( $MRT = 5,42$  h, Marín y cols., 2013).

En las Tablas 28 y 29, se presentan los valores correspondientes a los MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) subcutáneos, en cada individuo y los valores medios; en tanto que el MRT intravenoso aparece en las Tablas 10 y 11.

A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar como todos los animales presentan un valor de MAT inferior

al MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, resulta que el MRT intravenoso ( $MRT = 2,14$  h) resulta superior al MAT subcutáneo ( $MAT = 1,35$  h). De ello se concluye que, en principio, no se produce fenómeno de flip-flop, es decir, la absorción, tras la administración subcutánea de norfloxacin, no condiciona su eliminación.

En el conejo, se han descrito valores inferiores con difloxacin ( $MAT = 0,37$  h, Fernández-Varón y cols., 2008), orbifloxacin ( $MAT = 0,91$  h, Marín y cols., 2005), danofloxacin ( $MAT = 0,59$  h, Fernández-Varón y cols., 2007) y marbofloxacin ( $MAT = 0,75$  h, Marín y cols., 2013). En contraste, para moxifloxacin el valor fue más elevado ( $MAT = 3,14$  horas, Cárceles y cols., 2006), indicando para esta fluoroquinolona la posible existencia del fenómeno flip-flop.

### 5.3.3.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA

Otro parámetro a tener en cuenta tras la administración subcutánea es el tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima o tiempo máximo ( $t_{m\acute{a}x}$ ). El valor de este parámetro ha sido de 0,5 horas (Tabla 29) y ha resultado ser menos prolongado que tras la administración intramuscular de NFLX (0,75 h), indicando que la absorción desde el punto de inyección subcutáneo se produce de forma más rápida que tras la administración intramuscular. El  $t_{m\acute{a}x}$  es independiente de la dosis administrada, pero sí se modifica en función de la forma farmacéutica administrada y la vía de administración, ya que depende de la constante de absorción.

Valores inferiores de  $t_{m\acute{a}x}$  se ha obtenido para el nicotinato de norfloxacin en el cerdo ( $t_{m\acute{a}x} = 0,25$ h, Shem-Tov y Ziv, 1994), indicando una velocidad de absorción aún mayor que en el conejo.

Respecto a otras fluoroquinolonas administradas en el conejo, se han publicado valores también inferiores a 1 hora, como con ofloxacin ( $t_{m\acute{a}x} = 0,74$  h, Marangos y cols., 1997), enrofloxacin ( $t_{m\acute{a}x} = 0,90$  horas, Broome y cols., 1991), danofloxacin ( $t_{m\acute{a}x} = 0,68$  h, Fernández-Varón y cols., 2007), difloxacin ( $t_{m\acute{a}x} = 0,96$  h, Fernández-Varón y cols., 2008), marbofloxacin ( $t_{m\acute{a}x} = 0,50$  h, Marín y cols., 2013) y orbifloxacin ( $t_{m\acute{a}x} = 0,67$  h, Marín y cols., 2008). Por tanto, existe tras la administración subcutánea una rápida absorción de las distintas fluoroquinolonas en esta especie.

En este estudio, la concentración plasmática máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), obtenida a la dosis de 10 mg/kg tras la administración de NFLX en conejo, ha sido de 4277,53  $\mu$ g/L (Tabla 29). En el presente experimento la concentración máxima alcanzada por vía subcutánea es 1,16

veces superior a la obtenida tras la vía de administración intramuscular (3679,96  $\mu\text{g/L}$ ; Tabla 20) a igualdad de dosis, indicando que la eficacia del proceso de absorción es superior tras la administración subcutánea, tanto en rapidez como en extensión.

En conejos, tras la administración subcutánea de enrofloxacino en régimen de dosis múltiples de 5 mg/kg, se ha registrado un valor de  $C_{\text{máx}}$  de 2070  $\mu\text{g/L}$ . Con difloxacino, se ha obtenido un valor bastante inferior de 879,50  $\mu\text{g/L}$  (dosis: 5 mg/kg, Fernández-Varón y cols., 2008) y para orbifloxacino, el valor de  $C_{\text{máx}}$  fue de 2950  $\mu\text{g/L}$  (dosis: 5 mg/kg, Marín y cols., 2008). Para marbofloxacino el valor de  $C_{\text{máx}}$  fue de 1643,28  $\mu\text{g/L}$  pero la dosis fue muy inferior a la del presente estudio (2 mg/kg). La administración de danofloxacino en conejos ha resultado en un valor de  $C_{\text{máx}}$  de 1790  $\mu\text{g/L}$  (dosis: 6 mg/kg, Fernández-Varón y cols., 2007), inferior al obtenido en el presente estudio a pesar de utilizar más de la mitad de dosis. Tras la administración subcutánea de una dosis de ofloxacino de 20 mg/kg, Marangos y cols. (1997) obtienen un valor de de 14100  $\mu\text{g/L}$ . Broome y cols. (1991). Este último valor es bastante superior al obtenido en este estudio pero la dosis fue doble.

Por otro lado, como ya se ha comentado previamente, la ecuación 7 define la evolución de las concentraciones plasmáticas, tras la administración subcutánea de NFLX en conejo. Sin embargo, las constantes de absorción y eliminación, que se extraen de dicha ecuación no son reales, sino aparentes, ya que la constante de absorción, en realidad está reflejando procesos de absorción, distribución y eliminación, mientras que la constante de eliminación, a su vez, se encuentra condicionada por los procesos de absorción y distribución. Por tanto, aunque los parámetros farmacocinéticos caracterizadores del modelo se calculan a partir de la administración intravenosa, para el cálculo de la constante de absorción, se ha de recurrir a métodos indirectos.

#### 5.3.4.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN Y SEMIVIDA DE ABSORCIÓN

En el presente estudio, se ha obtenido un valor aparente de la constante de absorción ( $k_a$ ) de 4,00  $\text{h}^{-1}$  (Tabla 24) y de la vida media asociada a la misma ( $t_{1/2ka}$ ) de 0,18 h. Mostrando una absorción similar a la que ocurre tras la vía de administración intramuscular ( $k_a = 4,78 \text{ h}^{-1}$  y  $t_{1/2ka} = 0,13 \text{ h}$ ).

No existen datos publicados en otras especies tras la administración subcutánea de norfloxacino de la constante de absorción y su semivida asociada con los que establecer comparación. Sin embargo, en conejo, para otras fluoroquinolonas, se han obtenido valores de vida media de absorción inferiores para orbifloxacino ( $t_{1/2ka} = 0,19 \text{ h}$ , Marín y cols.,

2008), danofloxacino ( $t_{1/2ka} = 0,17$  h, Fernández-Varón y cols., 2007), difloxacino ( $t_{1/2ka} = 0,17$  h, Fernández-Varón y cols., 2008), marbofloxacino ( $t_{1/2ka} = 0,12$ , Marín y cols., 2013) y enrofloxacino ( $t_{1/2ka} = 0,3$  h, Broome y cols., 1991). Por tanto, se puede observar que las fluoroquinolonas en el conejo, presentan velocidades elevadas de absorción, y por tanto, valores reducidos de semivida, cuando se administran por vía subcutánea.

### 5.3.5.- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD

Otro parámetro de interés es el área bajo la curva (AUC), obtenido tras la administración subcutánea, que alcanza un valor de 10735,82  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 29). Este parámetro es interesante, porque nos permite, como ya se refirió anteriormente, calcular la biodisponibilidad (F) tras la administración subcutánea. Para su cálculo se han de relacionar las áreas totales bajo la curva de concentración plasmática, obtenidas tras la administración intravenosa y subcutánea del fármaco, multiplicando dicha relación por el cociente entre la dosis intravenosa y la subcutánea, como ya se realizó anteriormente con la vía de administración intramuscular (Gibaldi y Perrier, 1982; Wagner, 1983).

Para otras fluoroquinolonas, los valores obtenidos de AUC son en general menos elevados que los del presente estudio, pero también lo fueron las dosis empleadas para los experimentos. Así, para marbofloxacino (2 mg/kg) se ha registrado que un valor de AUC de 5140,00  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Marín y cols. 2013), para moxifloxacino (5 mg/kg) el valor fue de 7670  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Cárceles y cols., 2006), para danofloxacino (6 mg/kg) el valor que se obtuvo fue 7680  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Fernández-Varón y cols., 2007) y para orbifloxacino (5 mg/kg) el valor fue igual a 7000  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Marín y cols., 2008). Para difloxacino (5 mg/kg) el valor fue 10790  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Fernández-Varón y cols., 2008), lo que resulta similar al del presente estudio.

La biodisponibilidad tras la administración subcutánea de NFLX ha sido elevada, alcanzando el 80,08%.

Para el nicotinato de norfloxacino, en el cerdo, se ha publicado un menor valor de biodisponibilidad (F = 64%, Shem-Tov y Ziv, 1994).

En conejo, para otras fluoroquinolonas, se han registrado datos de biodisponibilidad variables. Broome y cols. (1991), obtuvieron para enrofloxacino, valores de biodisponibilidad similares (F = 77%), mostrando, por tanto, una exposición similar con este antibacteriano al registrado con NFLX en esta especie animal. También se han obtenido biodisponibilidades altas con otras fluoroquinolonas en el conejo (moxifloxacino:



F = 117 %, Cárceles y cols., 2006; danofloxacino: F = 96,44 %, Fernández-Varón y cols., 2007; difloxacino: F = 84,65 %, Fernández-Varón y cols., 2008; orbifloxacino: F = 110,67 %, Marín y cols., 2008 y marbofloxacino: F = 114,81%, Marín y cols., 2013).

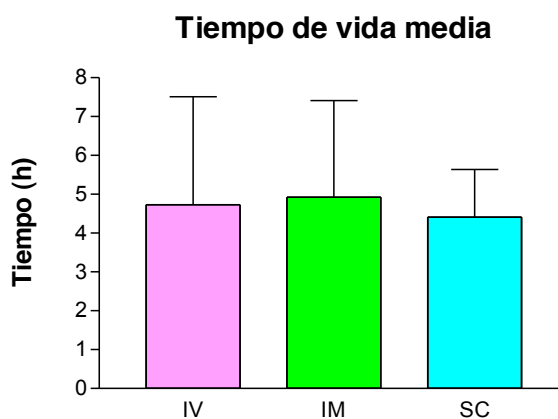
#### 5.4.- COMPARACIÓN ENTRE ADMINISTRACIONES

Al comparar los resultados obtenidos en conejo tras la administración de NFLX por las distintas vías, se observa que la disposición plasmática tras su administración intravenosa, se ajusta a un modelo farmacocinético tricompartmental abierto, siendo bicompartimental abierto para las otras dos vías de administración.

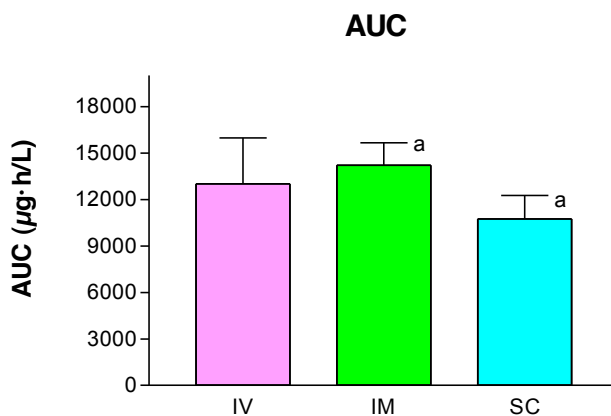
Las representaciones gráficas de las concentraciones experimentales (Gráfico 22), resultan muy parecidas si se exceptúa la fase de absorción de las vías extravasculares. Lo que, en principio, sugiere una similitud en el comportamiento del antibiótico al ser administrado por cualquiera de las vías estudiadas. Sin embargo, para poder realizar esta afirmación es necesario comparar los parámetros farmacocinéticos obtenidos en cada caso. En la Tabla 30 se comparan los parámetros farmacocinéticos más representativos obtenidos por las diferentes vías, mediante métodos paramétricos (t-Student) y no paramétricos (test de Wilcoxon) para un nivel de significación de  $p < 0,05$ . Dicho estudio revela que cuando se compara la vía intravenosa con la intramuscular o la subcutánea, existen diferencias significativas en los valores de AUC. Además, al comparar la vía intravenosa con la subcutánea, también se encuentran diferencias significativas en el valor de AUCM. Entre las vías extravasculares existen diferencias significativas para los parámetros:  $\lambda_z$ ,  $t_{1/2\lambda_z}$ ,  $K_a$ ,  $C_{m\acute{a}x}$  y  $t_{m\acute{a}x}$ . Por tanto, existen diferencias entre las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea.

En primer lugar, hay que señalar el hecho de que para  $t_{1/2\lambda_z}$  no se hayan detectado diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre la vía intravenosa y las extravasculares, es debido a que el proceso de absorción es tan rápido tras las administraciones extravasculares que no condiciona el tiempo de eliminación del fármaco. La prueba *t* de Student y el test no paramétrico de Wilcoxon ponen de manifiesto tales similitudes. Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) para este parámetro en el caballo (Carretero y cols., 2002) entre las vías de administración intramuscular e intravenosa. Se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre las vías extravasculares, no obstante, los valores medios obtenidos son muy parecidos.

La siguiente figura muestra la vida media obtenida en conejo por las diferentes vías de administración:



La siguiente figura muestra el AUC obtenidos en conejo por las diferentes vías de administración:



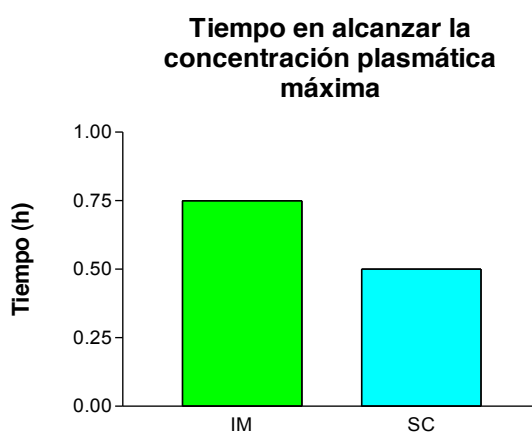
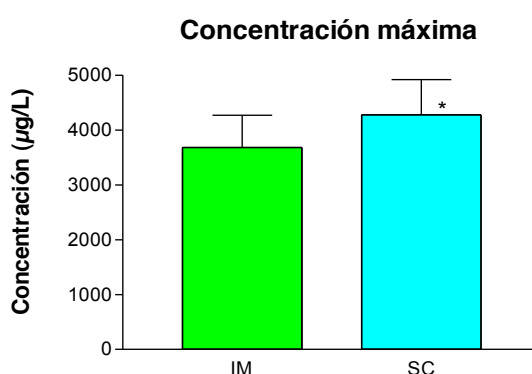
<sup>a</sup>Diferencias significativas con la administración IV ( $p < 0,05$ )

Dichos valores, son significativamente ( $p < 0,05$ ) superiores en el caso de la vía intramuscular y significativamente menores en la vía subcutánea, cuando ambos son comparados con la vía intravenosa.

Como se ha dicho anteriormente, se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en los valores de  $t_{\text{máx}}$  y  $C_{\text{máx}}$  entre las vías de administración extravasculares (Tabla 30). Dichas diferencias se corroboran con la prueba  $t$  de Student y el test no paramétrico de Wilcoxon.

Los valores de  $t_{m\acute{a}x}$  son algo más elevados en el caso de la administración intramuscular y de forma inversa ocurre con los valores de  $C_{m\acute{a}x}$ , pero el estudio estadístico precisa que estas diferencias son significativas. Por lo tanto, ambas vías presentan un tiempo de absorción y una concentración máxima diferente.

Las siguientes figuras muestran las concentraciones máximas obtenidas y los tiempos a los que se alcanzan dichas concentraciones en el conejo, por las diferentes vías extravasculares:

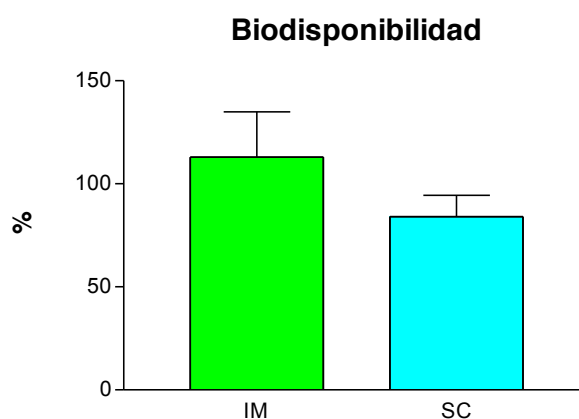


No se han detectado diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en los valores de MRT entre las diferentes vías de administración (Tabla 30). El valor de MRT, al igual que sucedía con  $t_{1/2\lambda_z}$ , no presenta diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre las vías intravenosa y extravasculares, y confirma que la permanencia de NFLX en el conejo es similar tras las

tres vías de administración de este estudio. Carretero y cols., (2002) tampoco detectan diferencias significativas entre los MRT de NFLX obtenidos por las vías intramuscular e intravenosa en el caballo.

De nuevo, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en los valores de MAT entre las diferentes vías de administración (Tabla 30).

Respecto a la biodisponibilidad, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las dos vías de administración extravasculares (Tabla 30). En ambas vías extravasculares estudiadas en este trabajo, los valores de biodisponibilidad alcanzan valores elevados, lo que es una característica frecuente de las fluoroquinolonas. La siguiente figura muestra los valores de biodisponibilidad obtenidos en conejo por las dos vías de administración:



Por lo tanto, se puede indicar que la vía de administración de NFLX en el conejo condiciona la exposición al mismo, puesto que, como se ha dicho anteriormente, todas las vías estudiadas presentan diferencias en su disposición cinética, aunque puede ser que no tengan una relevancia clínica importante.

## 5.5.- INTEGRACIÓN FARMACOCINÉTICA/FARMACODINAMICA

Norfloxacino pertenece al grupo de antibacterianos cuya actividad antimicrobiana es concentración dependiente, es decir, producen la muerte bacteriana dependiendo de la concentración alcanzada. En consecuencia, los dos parámetros farmacocinético-farmacodinámicos (PK-PD), que se correlacionan con mayor frecuencia con el éxito clínico en el tratamiento de una infección y con la aparición de mutantes resistentes son el índice de concentración plasmática máxima/concentración mínima inhibitoria ( $C_{m\acute{a}x}/CMI$ ) y el ratio AUC/CMI (Xuan y cols., 2001).

Con modelos animales y diferentes quinolonas se ha observado que ratios  $AUC/CMI \geq 100-125$  o de  $C_{m\acute{a}x}/CMI \geq 8-10$  son buenos predictores de la eficacia clínica (Craig, 1998; Turnidge, 1999). Si bien, hay que señalar que estos valores numéricos de AUC/CMI y  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  se han generado de infecciones experimentales en animales de laboratorio o en pruebas clínicas en el hombre, por lo que pueden ser o no aplicables a infecciones en conejos, o en general, a infecciones en animales (Lees y Shojaee Aliabadi, 2002a). Sin embargo, corrigiendo las diferencias interespecíficas, a partir de estudios realizados con modelos animales *in vivo* se puede extrapolar y determinar el valor del parámetro PK-PD necesario para obtener una buena eficacia antimicrobiana y minimizar la aparición de resistencias (Andes y Craig, 2002a; Toutain y Lees, 2004).

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

Algunos autores han sugerido que valores de AUC/CMI, menores a 100, pueden ser apropiados en Medicina Veterinaria para animales inmunocompetentes.

Lees y Shojaee Aliabadi (2002a), tras la administración de danofloxacino en varias especies rumiantes en experiencias *ex vivo*, han observado valores de AUC/CMI inferiores para obtener distintos efectos, tal y como se muestra en la tabla siguiente:

AUC/CMI	Ternero	Oveja	Cabra	Camello
Bacteriostático	15,9 ± 2	17,8 ± 1,7	22,6 ± 1,7	17,2 ± 3,6
Bactericida	18,1 ± 1,9	20,2 ± 1,7	29,6 ± 2,5	21,2 ± 3,7
Erradicación	33,5 ± 3,5	28,7 ± 1,8	52,4 ± 8,1	68,7 ± 15,6

Las experiencias realizadas con estos modelos han identificado el ratio AUC/CMI como el índice que mejor predice el éxito clínico, y la relación  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  como la que mejor indica las dosis para evitar la aparición de resistencias (Andes y Craig, 2002b).

Se ha realizado una simulación de la eficacia que tendría NFLX en cepas cuya CMI fuera igual a 0,06 y 0,12  $\mu\text{g/mL}$ , lo que podría ocurrir en cepas de campo procedentes de diferentes explotaciones. Por tanto, en el conejo y para cepas con CMI frente a NFLX de 0,06  $\mu\text{g/mL}$ , el ratio AUC/CMI calculado tras la administración intramuscular de una dosis de 10 mg/kg (AUC/CMI = 236.87), predice *a priori* el éxito clínico del tratamiento con este quimioterápico. Asimismo, el ratio  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  obtenido de 61.33 para esta vía de administración y dosis, señala, en principio, que prevendría la aparición de mutantes resistentes. Igualmente son favorables los índices AUC/CMI y  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  que se obtendrían frente a cepas cuya CMI fuera de 0,12  $\mu\text{g/mL}$  frente a NFLX (AUC/CMI = 118.44 y  $C_{m\acute{a}x}/CMI = 30.66$ ).

Para la vía subcutánea, también son favorables los índices AUC/CMI y  $C_{m\acute{a}x}/CMI$  obtenidos con las cepas cuyas CMI frente a NFLX fueran de 0.06  $\mu\text{g/mL}$  (AUC/CMI = 179 y  $C_{m\acute{a}x}/CMI = 71,33$ ) y 0,12  $\mu\text{g/mL}$  (AUC/CMI = 89,50 y  $C_{m\acute{a}x}/CMI = 35,66$ ).

## 6.- CONCLUSIONES





1.- El comportamiento de norfloxacin tras su administración intravenosa, intramuscular y subcutánea en conejo, a una dosis única de 10 mg/kg, se ajusta a dos modelos: tricompartmental abierto en la vía intravenosa y bicompartimental abierto en las vías extravasculares. Las ecuaciones representativas de los procesos son las siguientes (expresadas en  $\mu\text{g/L}$ ):

Administración intravenosa:

$$C = 14128,54 \cdot e^{-9,13 \cdot t} + 4791,16 \cdot e^{-0,90 \cdot t} + 1014,1 \cdot e^{-0,22 \cdot t} \mu\text{g/L}$$

Administración intramuscular:

$$C = -4805,85 \cdot e^{-4,78 \cdot t} + 2907,37 \cdot e^{-0,51 \cdot t} + 1206,08 \cdot e^{-0,16 \cdot t} \mu\text{g/L}$$

Administración subcutánea:

$$C = -6210,34 \cdot e^{-4,00 \cdot t} + 4577,71 \cdot e^{-0,70 \cdot t} + 1346,19 \cdot e^{-0,17 \cdot t} \mu\text{g/L}$$

2.- Los tiempos de vida media ( $t_{1/2\lambda_z}$ ) obtenidos para este antibiótico no difieren significativamente ( $p > 0,05$ ) entre la vía intravenosa ( $4,73 \pm 2,78$  h) y las extravasculares (intramuscular:  $4,92 \pm 2,49$  h; subcutánea:  $4,41 \pm 1,23$  h), existiendo diferencias significativas entre ambas vías extravasculares ( $p < 0,05$ ). Al contrario ocurre con el área bajo la curva (AUC), que adquiere, respectivamente, los siguientes valores:  $13016,12 \pm 2966,45 \mu\text{g} \cdot \text{h/L}$  (IV),  $14212,80 \pm 1440,07 \mu\text{g} \cdot \text{h/L}$  (IM),  $10735,82 \pm 1528,55 \mu\text{g} \cdot \text{h/L}$  (SC), existiendo diferencias significativas entre la vía intravenosa y las extravasculares, pero no existiendo entre las vías IM y SC. No difieren significativamente ( $p > 0,05$ ) los tiempos medios de residencia (MRT) que adquieren, respectivamente, los siguientes valores:  $2,14 \pm 0,37$  horas (IV),  $4,32 \pm 0,28$  horas (IM) y  $3,09 \pm 0,032$  horas (SC). Por ello, ambas administraciones extravasculares resultan ventajosas ya que permiten obtener concentraciones plasmáticas de norfloxacin duraderas, sin verse afectadas por el proceso de absorción.

3.- La depuración plasmática de norfloxacin en conejo medida por el aclaramiento corporal (Cl) adquiere un valor de  $0,80 \pm 0,20 \text{ L/kg} \cdot \text{h}$ , tras su administración intravenosa.

4.- Los valores del volumen de distribución aparente calculado en función del área bajo la curva ( $V_z = 4,92 \pm 1,65 \text{ L/kg}$ ) y en el estado estacionario ( $V_{ss} = 1,71 \pm 0,45 \text{ L/kg}$ ) de norfloxacin tras la administración por vía intravenosa, indican que existe una buena distribución del fármaco y un buen acceso a los tejidos y fluidos en esta especie.

5.- Las constantes de absorción obtenidas presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las distintas vías extravasculares: vía intramuscular ( $k_a = 4,78 \text{ h}^{-1} \pm 1,61$ ) y vía subcutánea ( $k_a = 4,00 \pm 0,75 \text{ h}^{-1}$ ), siendo ligeramente más lento el proceso de absorción en el caso de la vía subcutánea. Los tiempos de vida media de la fase de eliminación obtenidos no registran tales diferencias entre ambas vías extravasculares, adquiriendo, respectivamente, los siguientes valores:  $4,32 \pm 0,28$  horas (IM) y  $3,09 \pm 0,032$  horas (SC).

6.- La concentración plasmática máxima ( $C_{\text{máx}}$ ) obtenida por vía subcutánea ( $4277,53 \pm 643,05 \text{ } \mu\text{g/L}$ ) es aproximadamente 1,16 veces superior a la obtenida por vía intramuscular ( $3679,97 \pm 587,21 \text{ } \mu\text{g/L}$ ), detectándose diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre ambos valores. También existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para el tiempo en que se alcanza dicha concentración máxima ( $t_{\text{máx}}$ ) entre la vía subcutánea (0,50 h) e intramuscular (0,75 h). Por tanto, tras la administración intramuscular se obtiene una absorción de norfloxacino más extensa pero se prolonga más en el tiempo que tras la administración subcutánea.

7.- La biodisponibilidad (F) de norfloxacino, tras su administración intramuscular en conejo es elevada, con un valor del  $112,95 \pm 21,98 \%$ . Algo menor resulta la biodisponibilidad de este antibiótico cuando se administra por vía subcutánea ( $84,08 \pm 10,36 \%$ ), aunque no existieron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre ambos valores.

8.- A la vista de los resultados farmacocinéticos anteriores, ambas vías extravasculares resultan ventajosas. Sin embargo, para la valoración global de este antibiótico se han de tener en cuenta los datos derivados de la integración farmacocinética-farmacodinámica. El norfloxacino, según los parámetros farmacocinéticos obtenidos y los índices  $C_{\text{máx}}/\text{CMI}$  y  $\text{AUC}/\text{CMI}$ , presentaría éxito clínico y una baja capacidad de selección de cepas resistentes si se utiliza a la dosis de 10 mg/kg frente a cepas con CMI igual o inferior a  $0,12 \text{ } \mu\text{g/mL}$ .

## 7.- RESUMEN



Se ha estudiado el comportamiento farmacocinético de norfloxacino en conejos tras su administración por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea a la dosis de 10 mg/kg, con el fin de establecer los parámetros de disposición que caracterizan al fármaco en esta especie.

La determinación de este antibiótico en plasma se realizó mediante HPLC con detección fluorimétrica. Los datos de concentración plasmática-tiempo de norfloxacino se ajustaron a modelos farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales.

La evolución de las concentraciones plasmáticas de norfloxacino frente al tiempo tras la administración intravenosa se comportan según un modelo tricompartmental abierto, mientras que tras la administración intramuscular y subcutánea se distribuyen como un modelo bicompartmental abierto con absorción de primer orden.

Tras la administración intravenosa, la vida media obtenida ( $t_{1/2\lambda z}$ ) fue de  $4,73 \pm 2,78$  horas y el tiempo medio de residencia (MRT) de  $2,14 \pm 0,37$  horas. Los volúmenes aparentes de distribución de norfloxacino calculados en función del área bajo la curva ( $V_z$ ) y en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) resultaron ser de  $4,92 \pm 1,65$  L/kg y  $1,71 \pm 0,45$  L/kg respectivamente, indicando una amplia distribución orgánica. Por lo que respecta al aclaramiento plasmático (Cl), éste alcanzó un valor de  $0,80 \pm 0,20$  L/kg·h de lo que se infiere que la eliminación de norfloxacino desde el plasma es rápida.

Por vía extravascular, norfloxacino muestra una absorción extensa lo que se demuestra en los elevados valores de biodisponibilidad obtenidos  $112,95 \pm 21,98$  % y  $84,08 \pm 10,36$  % tras la administración intramuscular y subcutánea, respectivamente. Los tiempos de vida media de norfloxacina tras estas vías de administración fueron respectivamente  $4,92 \pm 2,49$  y  $4,41 \pm 1,23$  horas. La absorción desde el punto de inyección fue rápida en ambos casos presentándose las concentraciones máximas en tiempos inferiores o iguales a 45 minutos.



## 8.- SUMMARY





The pharmacokinetics of norfloxacin was studied following intravenous, intramuscular and subcutaneous administration of single doses of 10 mg/kg to healthy rabbits.

Plasma concentrations were determined by HPLC assay with fluorescence detection. The plasma concentration-time curves were analysed by compartmental and non-compartmental methods.

The norfloxacin plasma concentration *versus* time data after intravenous administration could best be described by a three compartment open model, whereas a two compartment open model with first order absorption best described the data after intramuscular and subcutaneous administration.

The terminal half-life ( $t_{1/2\lambda_z}$ ) was  $4,73 \pm 2,78$  h after intravenous administration and mean residence time (MRT) was  $2,14 \pm 0,37$  h. The apparent volumes of distribution of norfloxacin calculated by the area method ( $V_z$ ) and at steady-state ( $V_{ss}$ ) were  $4,92 \pm 1,65$  and  $1,71 \pm 0,45$  L/kg, respectively, indicating a wide body distribution. Total body clearance was  $0.80 \pm 0.20$  L/kg·h reflecting a rapid elimination of norfloxacin from plasma.

By extravascular routes, norfloxacin showed an extended absorption with high absolute bioavailability values of  $112,95 \pm 21,98$  % and  $84,08 \pm 10,36$  % after intramuscular and subcutaneous administration, respectively. Terminal half-lives after those routes of administration were  $4,92 \pm 2,49$  and  $4,41 \pm 1,23$  h, respectively. Absorption process from the injection site was rapid as times to reach peak concentrations in both extravascular cases were equal or less to 45 minutes.



## 9.- BIBLIOGRAFÍA



ABD EL-ATY A.M., GOUDAH, A., ISMAIL, M., SHIMODA, M., 2005: Disposition kinetics of difloxacin in rabbit after intravenous and intramuscular injection of Dicural. *Veterinary Research Communications*, 29 (4): 297-304.

ABELSON, M.B., HALLAS, S.J., 2003: The new antibiotics: The path of least resistance. *Ophthalmology*, 10: 47-49.

ABO-EL-SOUD & GOUDAH., K., 2009: Influence of *Pasterella multocida* infection on the pharmacokinetic behavior of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administration in rabbits. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 33: 63-68.

ABU-BASHA, E.A., GHARAIBEH S.M., ABUDABOS A.M., SHUNNAQ A.F., AL-MAJALI A.M., 2008: Pharmacokinetics and Bioequivalence of Two Norfloxacin Oral Dosage Forms (Vapcotril - 10% and Mycomas 10%) in Healthy Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science*, 7 (3): 289-293.

AESCHLIMANN, J.R., 2003: The role of multidrug efflux pumps in the antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative bacteria. *Pharmacotherapy*, 23(7): 916-924.

AGEMED, 2010. Información técnica acerca de marbofloxacino, danofloxacino, enrofloxacino, flumequina y ácido oxolínico proporcionada por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios y expuesta en su página web. [www.aged.es](http://www.aged.es)

#### CORREGIR

AIELLO, S.E., MAYS, A., MERCK & CO., 1998: *The Merck Veterinary Manual*. 8th Ed. Whitehouse Station, N.J. Merck & Co. In cooperation with Merial Ltd.

AKTIPIS, S. 2000. DNA I: Estructura y conformación. En: *Bioquímica*. Barcelona Ed: Devlin TM. 3ª ed. Reverté, S.A., 2: 592-595.

ALIABADI, F.S. & LEES, P., 2003: Pharmacokinetic-pharmacodynamic integration of danofloxacin in the calf. *Research in Veterinary Science*, 74: 247-259.

ALIABADI, F.S. & LEES, P. 2002: Pharmacokinetics and pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of marbofloxacin in calf serum, exudate and transudate. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 25: 161-174.

AMINIMANIZANI, A., BERINGER, P., JELLIFFE R., 2001: Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of the newer fluoroquinolone antibacterials. *Clinical Pharmacokinetics*, 40 (3): 169-187.

- AMBROS, L.A., MONTOYA, L., KREIL, V.E., ALBARELLOS, G.A., RODRIGUEZ FERNANDEZ, C., REBUELTO, M., HALLU, R.E., 2006: Efectos de la deshidratación y rehidratación sobre la farmacocinética de la norfloxacin en terneros. In. *Vet.*, 6, 8(1): 157-166.
- ANADON, A., LARRANAGA, M., VELEX, C., DIAZ, M.J., ANDBRINGAS, P., 1992: Pharmacokinetic of norfloxacin and its desethyl and oxometabolites in broiler chickens. *American Journal of Veterinary Research*, 53: 2084-2089.
- ANDES, D. & CRAIG, W.A., 2002a: Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 19:261-268.
- ANDES, D. & CRAIG, W. A., 2002b: Pharmacodynamics of the new fluoroquinolone gatifloxacin in murine thigh and lung infection models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46: 1665-1670.
- ANDERSON, M.I. & Y MACGOWAN, A.P., 2003: Development of the quinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51: 1-11.
- APPELBAUM, P.C. & HUNTER P.A., 2000: The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16(1): 5-15.
- ARAKI, H., N. OGAKE, S. MINAMI, Y. WATANABE, H. NARITA, I. TAMAI AND A. TSUJI, 1997: Application of muscle microdialysis to evaluate the concentrations of the fluoroquinolones pazufloxacin and ofloxacin in the tissue interstitial fluids of rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 49: 1141-1144.
- ATKINSON, A.J. & KUSHNER, W., 1979: Clinical pharmacokinetics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 19:105-27.
- AZANZA, J.R., SÁDABA, B., MEDIAVILLA, A., FLÓREZ, J., 2003: Quinolonas. Sulfamidas. Trimetoprima. Cotrimoxazol. Nitrofurantoína. Antisépticos. En: *Farmacología humana*. 4º ed. Ed: Flórez J. Masson, S.A. Barcelona. pp: 1169-1186.
- AZANZA, J.R., SÁDABA, B., GARCÍA, E., 2000: Perfil de seguridad de las fluoroquinolonas. *Revista Española de Quimioterapia*, 13 (3):246-256.
- BALL, P., 2000: Quinolone generations: natural history or natural selection?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46 (1): 17-24.
- BALL, P., MANDELL, L., NIKI, Y., TILLOTSON, G., 1999: Comparative tolerability of the newer fluoroquinolone antibacterials. *Drug Safety*, 21 (5): 407-21.

- BEARDEN, D.T. & DANZIGER, L.H., 2001: Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Pharmacotherapy*, 21(10): 224-232.
- BERGOGNE-BEREZIN, E., 2002: Clinical role of protein binding of quinolones. *Clinical Pharmacokinetics*, 44: 741-750.
- BEYER, R., PESTOVA, E., MILLICHAP, J.J., STOSOR, V., NOSKIN, G.A., PETERSON, L.R., 2000: A convenient assay for estimating the possible involvement of efflux of fluoroquinolones by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*: evidence for diminished moxifloxacin, sparfloxacin, and trovafloxacin efflux. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(3): 798-801.
- BILSKI, P., MARTINEZ, L.J., KOKER, E.B., CHIGNELL, C.F., 1996: Photosensitization by norfloxacin is a function of pH. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 64 (3): 496-500.
- BLANCO, J. E., BLANCO, M., MORA A., BLANCO J., 1997: Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, 35 (8): 2184-2185.
- BOSWELL, F.J., ANDREWS, J.M., WISE, R., DALHOFF, A., 1999: Bactericidal properties of moxifloxacin and post-antibiotic effect. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 43:43-49.
- BROOME, R.L., BROOKS, D.L., BABISH, J.G., COPELAND, D.D., CONZELMAN, G.M., 1991: Pharmacokinetic properties of enrofloxacin in rabbits. *American Journal of Veterinary Research*, 52(11): 1835-1841.
- BROWN, S.A., 1996: Fluoroquinolones in animal health. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19: 1-14.
- BROWN, S.A., COOPER, GAUZE, J.J, GRECO, D.S, WEISE, D.W, BUCK, J.M., 1990: Pharmacokinetic of norfloxacin in dogs after single intravenous and single and multiple oral administration of the drug. *American Journal of Veterinary Research*, 51: 1065-1070.
- BURGMANN, P., 2000: Antimicrobial Drug Use in Rodents, Rabbits, and Ferrets. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 3<sup>a</sup> ed. Ed: Prescott JF, Baggot JD y Walker RD, Blackwell Scientific Publications. Iowa. pp: 674-675.
- BUTTS, J.D., 1994: Intracellular concentrations of antibacterial agents and related clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics*, 27: 63-84.



- CÁRCELES, C.M., SERRANO, J.M., MARÍN, P., ESCUDERO, E., FERNANDEZ-VARÓN, E., 2006: Pharmacokinetics of moxifloxacin in rabbits after intravenous, subcutaneous and a long-acting poloxamer 407 gel formulation administration. *Journal of Veterinary Medicine*, 53: 300-304.
- CARRETERO, M., RODRIGUEZ, C., SAN ANDRÉS, M.I., FORÉS, P., DE LUCAS, J.J., NIETO, J., WAXMAN, S., SAN ANDRÉS, M.D., GONZÁLEZ, F., 2002: Pharmacokinetics of marbofloxacin in mature horses after single intravenous and intramuscular administration. *Equine Veterinary Journal*, 34(4): 360-365.
- CESTER, C.C., SCHNEIDER, M., TOUTAIN, P.L., 1996. Comparative kinetics of two orally administered fluoroquinolones in dog: Enrofloxacin versus Marbofloxacin. *Revue de Medecine Veterinaire*, 147 (10): 703-716.
- CHALUMEAU, M., TONNELIER, S., D'ATHIS, P., TRELUYER, J.M., GENDREL, D., BREART, G., PONS, G., 2003: Fluoroquinolone safety in pediatric patients: A prospective, multicenter, comparative cohort study in France. *Pediatrics*, 111: 714-719.
- CHANG, Z.Q, OH, B.C, KIM, J.C, JEONG, K.S, LEE, M.H, YUN, H.I., HWANG, M.H., PARK, S.C., 2007: Clinical pharmacokinetics of norfloxacin-glycine acetate after intravenous and oral administration in pigs. *Journal of Veterinary Science*, 8(4), 353-356.
- CHAPMAN, J. & GEORGOPAPADAKOU, N.H., 1988: Routes of quinolone permeation in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 4: 438-442.
- COHEN, J.S., 2001: Peripheral neuropathy associated with fluoroquinolones. *Annals of Pharmacotherapy*, 35(12): 1540-1547.
- COHEN, S.P., McMURRY, L.M., HOOPER, D.C., WOLFSON, J.S., LEVY, S.B., 1989: Cross-resistance to fluoroquinolones in multiple-antibiotic-resistant (MAR) *Escherichia coli* selected by tetracycline or chloramphenicol: decreased drug accumulation associated with membrane changes in addition to OmpF reduction. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33 (8): 1318-1325.
- CRAIG, W.A., 1998: Pharmacokinetic/Pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases*, 26: 1-12.
- CRAIG, W.A. & A. DALHOFF, 1998: Pharmacodynamics of fluoroquinolones in experimental animals. In: G.V.R. Born, P. Cuatrecas, D. Ganten, H. Herken, K.L. Melmon and K. Starke, Editors, *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer, Berlin, pp. 208-232.

- CRAIG, W.A. & EBERT, S.C., 1989 Protein binding and its significance in antibacterial therapy. *Infectious Disease Clinics of North America*, 3: 407- 414.
- CUÉ, M., MOREJÓN, M., SALUP, R., 2005: Actualidad de las quinolonas. *Revista Cubana de Farmacia*, 39(1).
- DAJCS, J.J., THIBODEAUX, B.A., MARQUART, M.E., GIRGIS, D.O., TRAUDEJ, M., O'CALLAGHAN, R.J., 2004: Effectiveness of ciprofloxacin, levofloxacin, or moxifloxacin for treatment of experimental *Staphylococcus aureus* keratitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48 (6): 1948-1952.
- DÁMASO, D., 1990: Antibacterianos. Ed. Marketing Pharm, S.A. Madrid. pp: 13-17 y 533-584.
- DE BACKER, P., 1985: Comparative neonatal pharmacokinetics. *Comparative Veterinary Pharmacology, Toxicology and Therapy*. Edited by: VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; BOGAERT, M.G. and DEBACKERE, M. MTP Press Limited. Lancaster. England.
- DE LA CAMPA A.G., BALSALOBRE, L., ARDANUY, C., FENOLL, A., PEREZ-TRALLERO, E., LIÑARES, J., THE SPANISH PNEUMOCOCCAL INFECTION STUDY NETWORK G03/103, 2004: Fluoroquinolone resistance in penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* clones. *Spain*. *Emerging Infectious Diseases*, 10 (10): 1751-1759.
- DELON, A., FRANC, HUGUET, O., COURTOIS, P., VIERFOND, J.M., BOUQUET, S., COUET, W., 1996: Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Contributions to the Convulsant Activity of Pefloxacin and Norfloxacin in Rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 280: 2.
- DE MEDEIROS, E.S, CHIRLES, A., FRANÇA, C. KREWER, D., PEIXOTO, R., JÚNIOR, A.F., CAVALCANTE, M.B., DA COSTA, M.M., MOTA, R.A., 2011: Antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. isolates from cases of mastitis in buffalo in Brazil. *Journal of Veterinary Diagnostic*, 23: 793
- DEZIEL, M.R., LOUIS, A., HEINE, H., BUSH, K., KAO, M., KELLEY, M., DRUSANO, G.L., 2001: Evaluation of levofloxacin in a hollow fiber infection model against *Bacillus anthracis* utilizing both human and Rhesus Monkey pharmacokinetic profiles. Abstracts of the 41st Annual Meeting of the Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Abstract. A-1157, Chicago, IL.

- DOMAGALA, J.M., 1994: Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 33: 685-706.
- DOUGHERTY, T.H., BEAULIEU, D., BARRETT, J.F., 2001: New quinolones and the impact on resistance. *DDT.*, 6 (10): 529-536 .
- DRUSANO, G.L., JOHNSON, D.E., ROSEN, M, STANDIFORD, H.C., 1993: Pharmacodynamics of a fluoroquinolone antimicrobial agent in a neutropenic rat model of *Pseudomonas sepsis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37: 483-490.
- DURHAM, E.J., AMYES, S.G.B., DALHOFF, A., THOMSON, C.J., 2000: Mecanismo de actividad de moxifloxacin frente a *Staphylococcus aureus* in vitro. En: Moxifloxacin en la práctica, Ed: Adam D y Finch R, Prous Science S.A. Barcelona, 1: 61-74.
- ELMADIENA, M.M., EL HUSSEIN, A.A., MUCKLE, C.A., COLE, L., WILKIE, E., MISTRY, K., PERETS, A., 2013: Antimicrobial susceptibility and multi-drug resistance of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovars in Sudan. *Tropical Animal Health and Production*, 45 (5): 1113-1118.
- ELMAS, M., ÜNEY, K., YAZAR, E., KARABACAK, A., TRAÇ, B., 2007: Pharmacokinetics of enrofloxacin following intravenous and intramuscular administration in Angora rabbits. *Research in Veterinary Science*, 82: 242-245.
- ELMAS, M., YAZAR, E., BAŞ, A.L., TRAŞ, B., BAYEZIT, M., YAPAR, K., 2002: Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and tissue concentrations of parent drug and ciprofloxacin after intramuscular administrations of free and liposome-encapsulated enrofloxacin in rabbits. *Research in Veterinary Science*, 49(10): 507-512.
- EL-SAYED, M., EL-KOMY, A., ABOUBAKR, M.H., 2011: Pharmacokinetics of Norfloxacin in Control Healthy and *E. coli* Infected Lactating Goats. *International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences*, 5(2): 123-137.
- EMEA, 2010. Información técnica acerca de difloxacin, ibafloxacin, sarafloxacin, enrofloxacin y flumequina, proporcionada por la Agencia Europea del Medicamento y expuesta en su página web. [www.emea.eu.int](http://www.emea.eu.int)
- EMMERSON, A.M. & JONES, A.M., 2003: The quinolones: decades of development and use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(1): 13-20.
- ELTOM, S.E., GUARD, C.L., SCHWARK, W.S., 1993: The effect of age on phenylbutazone pharmacokinetics, metabolism and plasma protein binding in goats. *Journal of Veterinary Pharmacology*, 16 (2): 141-51.

- ESPADA, M. & AVENDAÑO, C., 1993: Fármacos que actúan sobre receptores intracelulares (II). Fármacos que interaccionan con los ácidos nucleicos. En: Introducción a la química farmacéutica. 1º ed. Ed: Avendaño C, Interamericana-McGraw-Hill. Madrid, pp: 525-548.
- FERNÁNDEZ-VARÓN, E., CÁRCELES, C.M., MARÍN, P., VANCRAEYNEST, D., MONTES, A., SOTILLO, J., GARCÍA MARTÍNES, J.D., 2008: Disposition kinetics and pharmacodynamic integration of difloxacin against *Staphylococcus aureus* isolates from rabbits. *Research in Veterinary Science*, 84: 90-94.
- FERNÁNDEZ-VARÓN, E., MARÍN, P., ESCUDERO, E., VANCRAEYNEST, CÁRCELES, C.M., 2007: Pharmacokinetics-pharmacodynamic integration of danofloxacin after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration to rabbits. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30: 18-24.
- FERNANDEZ-VARON, E., BOVAIRA, M.J., ESPUNY, A., ESCUDERO, E., VANCRAEYNEST, D., CARCELES, C.M., 2005: Pharmacokinetics-pharmacodynamic integration of moxifloxacin in rabbits after intravenous, intramuscular and oral administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 28: 1-6.
- FISH, D.N., 2001: Fluoroquinolone adverse effects and drug interactions. *Pharmacotherapy*, 21: 253-272.
- FRIIS, C., 1991: Danofloxacin in calves: pharmacokinetics and penetration into tissue. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 87: 104-106.
- FORREST, A., CHODOSH, S., AMANTEA, M.A., COLLINS, D.A., SCHENTAG, J.J., 1997: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral grepafloxacin in patients with acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 40: 45-57.
- FORREST, A., NIX, D.E., BALLOW, C.H., GOSS, T.F., BIRMINGHAM, M.C., SCHENTAG J.J., 1993: Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37(5): 1073-1081.
- GARCÍA DEL BLANCO, N.; GUTIÉRREZ, C.B., DE LA PUENTE, V.A., RODRÍGUEZ E.F. 2004. In vitro susceptibility of field isolates of *Francisella tularensis* sbsp. *holarctica* recovered in Spain to several antimicrobial agents. *Research in Veterinary Science*, 76 (3): 195-198.

- GARCÍA, J.A., MUÑOZ, J.L., 2003. ¿Qué nuevas quinolonas podemos esperar?. Symposium 3. Rev. Española de Quimioterapia, 16 (1).
- GARGALLO-VIOLA, D., ESTEVE, M., LLOVERA, S., ROCA, X., GUINEA, J., 1991: In Vitro and in vivo antibacterial activities of E-4497, a new 3-amine-3-methyl-azetidiny tricyclic fluorquinolone. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 35: 442-447.
- GAYNES, R., RIMLAND, D., KILLUM, E., LOWERY, H.K., JOHNSON, T.M., KILLGORE, G., TENOVER, F.C., 2004: Outbreak of Clostridium difficile infection in a long-term care facility: association with gatifloxacin use. Clinical Infectious Diseases, 38(5): 64-645.
- GIBALDI, M. & PERRIER, P., 1982: Pharmacokinetics 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker. New York.
- GILES, C.J., MAGONIGLE, R.A., GRIMSHAW, W.T., TANNER, A.C., RISK, J.E., LYNCH, M.J., RICE, J.R., 1991: Clinical pharmacokinetics of parenterally administered danofloxacin in cattle. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 14 (4):400-410.
- GILFILLAN, E.C., PELAK, B.A., BLAND, J.A, MALATESTA, P.F., GADEBUSCH, H.H., 1984: Pharmacokinetic studies of norfloxacin in laboratory animals. Chemotherapy, 30 (5): 288-296.
- GIPS, M., SOBACK, S., 1999: Norfloxacin pharmacokinetics in lactating cows with subclinical and clinical mastitis. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 22: 202-208.
- GIPS, M., SOBACK, S., 1996: Norfloxacin nicotinate pharmacokinetics in unweaned and weaned calves. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 19: 130-134.
- GIRARD, A.E., GIRARD, D., ENGLISH, A.R., GOOTZ, T.D., CIMOCHOWSKI, C.R., FAIELLA, J.A., HASKELL, S.L., RETSEMA, J.A., 1987: Pharmacokinetic and in vivo studies with azithromycin (CP-62,993), a new macrolide with an extended half-life and excellent tissue distribution. Antimicrob Agents Chemother, 31(12):1948-1954.
- GOBERNADO, M. Y SANTOS, M., 2002.: Quinolonas En: Tratamiento antimicrobiano. 3º ed. Ed: Drobnic L.Ergon. Madrid. Pp: 323- 348.
- GOBERNADO, M., 2001: Farmacocinética y farmacodinamia de las fluoroquinolonas. Relación con la actividad y la selección de mutantes resistentes. Medicine Clinical, 2(2): 21-28.

- GOLDSTEIN, E.J., 1987: Norfloxacin, a fluoroquinolone antibacterial agent. Classification, mechanism of action, and in vitro activity. *The American Journal of Medicine*, 26, 82(6): 3-17.
- GONZÁLEZ, F., SAN ANDRÉS, M.I., NIETO, J., SAN ANDRÉS, M.D., WAXMAN, S., DE VICENTE, M.L., LUCAS, J.J., RODRÍGUEZ, C., 2001: Influence of ruminal distribution on norfloxacin pharmacokinetics in adult sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 24: 241-245.
- GONZÁLEZ, F., RODRÍGUEZ, C., NIETO, J., DE VICENTE, M.L., SAN ANDRÉS, M.D., SAN ANDRÉS, M.I., 1997: Age-related differences in norfloxacin pharmacokinetic behaviour following intravenous and oral administration in sheep. *The Veterinary Quarterly*, 19 (4): 145-150.
- GONZÁLEZ, F., 1994: Comportamiento farmacocinético de la norfloxacin en ovidos de diferentes edades. Cátedra de Farmacología. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.
- GREENE, C.E. & S.C. BUDSBERG, 1993: Veterinary use of quinolones. In: D.C. Hooper and J.S. Wolfson, Editors, *Quinolone Antimicrobial Agents*, American Society for Microbiology, Washington, DC. pp. 473-488.
- GROBBEL, M., LÜBKE-BECKER, A., WIELER, L.H., FROYMAN, R., FRIEDERICHS, S., FILIOS, S., 2007. Comparative quantification of the in vitro activity of veterinary fluoroquinolones. *Veterinary Microbiology*, 124: 73-81.
- GUTIÉRREZ, N., 2004: Relación entre estructura, actividad y efectos adversos de las quinolonas. *Revista Española de Quimioterapia*, 17(3): 232-243.
- HIASA, H., YOUSEF, D.O., MARIANS, K.J., 1996: DNA strand cleavage is required for replication fork arrest by a frozen topoisomerase-quinolone-DNA ternary complex. *Journal of Biological Chemistry*, 271(42): 26424-26429.
- HOOPER, D.C., 2002: Fluoroquinolone resistance among gram-positive cocci. *The Lancet Infectious Diseases*, 2 (9): 530-538.
- HOOPER, D.C., 2001: Mechanisms of action of antimicrobials: Focus on Fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*, 32 (1): 9-15.
- HOOPER, D.C., 2000b: New uses for new and old quinolones and the challenge of resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 30: 243-254.

- HOOPER, D.C., 2000a: Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*. Dis., 31(2): 24-28.
- IHRKE, P.J., PAPICH, M.G., DEMANUELLE, C., 1999: The use of fluoroquinolones in veterinary dermatology. *Veterinary Dermatology*, 10(3): 193-204.
- IBRAHIM, K.H., HOVDE, L.B, ROSS, G., GUNDERSON, B., WRIGHT, D.H., ROTSCHAFER, J.C., 2002: Microbiologic effectiveness of time- or concentration-based dosing strategies in *Streptococcus pneumoniae*. *Diagnostic Microbiology Infectious*
- Ismaeel, N.A., Tayeb, O.S., 1993: Comparative antimicrobial activity of lomefloxacin, norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin and enoxacin against > 500 bacterial isolates. *Microbios*, 74 (300): 147-54.
- ITO, A., HIRAI, K., INONE, M., 1980: In vitro activity of AM-715 a new nalidixic acid analog. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 17: 103-108.
- JACOBY G.A., CHOW, N., WAITES, K.B., 2003: Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(2): 559-562.
- JAVED, I., KHAN, F.H., MUHAMMAD, F., ASLAM, B., KHALIQ, T., ALI, L., IQBAL, Z., MUJIB, S., 2005: Renal clearance and urinary excretion of norfloxacin in sheep. Pakistan. *The Veterinary Journal*, 25 (2).
- JOIN-LAMBERT, O.F., MICHEA-HAMZEHPUR M., KOHLER, T., CHAU, F., FAURISSON, F., DAUTREY, S., VISSUZAINÉ, C., CARBON, C., PECHERE, J., 2001: Differential selection of multidrug efflux mutants by trovafloxacin and ciprofloxacin in an experimental model of *Pseudomonas aeruginosa* acute pneumonia in rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(2): 571-576.
- KARABLUT, N. & DRUSANO, G.L., 1993: Pharmacokinetics of the quinolone antimicrobial agents. In: D.C. Hooper and J.S. Wolfson, Editors, *Quinolone Antimicrobial Agents*, American Society for Microbiology, Washington, DC , pp. 195-223.
- KAWAKAMI, T., SHIBATA, S., MURAYAMA, N., NAGATA, M., NISHIFUJI, K., IWASAKI, T., FUKATA, T., 2010: Antimicrobial susceptibility and methicillin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* isolated from dogs with pyoderma in Japan. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 72(12): 1615-1619.
- KAWAKAMI, J., YAMAMOTO, K., ASANUMA, A., YANAGISAWA, K., SAWADA, Y., IGA, T., 1997: Inhibitory effect of new quinolones on GABA (A) receptor-mediated

response and its potentiation with felbinac in *Xenopus* oocytes injected with mouse-brain mRNA: correlation with convulsive potency in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol.* 145(2): 246-254.

KING, D. E., MALONE, R., LILLEY, S.H., 2000: New classification and update on the quinolone antibiotics. *Am.Fam.Physician*, 61:2741-2748.

KOVAR, A., DALLA, C.T., DERENDORF, H., (1997): Comparison of plasma and free tissue levels of ceftriaxone in rats by microdialysis, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 86: 52-56.

LACZAY, P., SEMJÉN, G., NAGY, G., LEHEL, J., 1998: Comparative studies on the pharmacokinetics of norfloxacin in chickens, turkeys and geese after a single oral administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 21: 161-164.

LAVY, E., ZIV, G., GLICKMAN, A., 1995: Intravenous disposition kinetics, oral and intramuscular bioavailability and urinary excretion of norfloxacin nicotinate in donkeys. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 18 (2): 101-107.

LEES, P. & ALIABADI, F.S., 2002a: Rational dosing of antimicrobial drugs: animals versus humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 19: 269-284.

LEES, P. & ALIABADI, F.S., 2002b: Antimicrobianos que inhiben la función de los ácidos nucleicos. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Eds: Botana LM, Landoni F, Martín-Jiménez T. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid. Pp: 484-488.

LESHER, G.Y., FROELICH, E.J., GRUETT, M.D., BAILEY, J.H., BRUNDAGE, R.P., 1964: 1,8-naphthyridene derivatives: a new class of chemotherapeutic agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. 5: 1063-1065.

LEWBART, G., VANDEN, S., DEEN, J., MANAUGH, C., WHITT, D., DOI, A., SMITH, T., FLAMMER, D., 1997: Pharmacokinetics of enrofloxacin in the red pacu (*Colossoma brachypomum*) after intramuscular, oral and bath administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20: 124-128.

LI X-Z. & NIKAIDO, H., 2004: Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 64 (2): 159-204.

LIA, L, SHENA, W., ZHANGB, K., TANGC, X., GUOD, N., SHENA, F., XINGA, M., LIUA, L., YUANA, P., SHIA, Q., LIANGA, J., YUA, L., 2012: In-vitro Antimycoplasmal Activity of Triclosan in Combination with Fluoroquinolones against Five mycoplasma Species . *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11 (4): 1111-1119



- LIU, W., LIU, Q.F. PERKINS, R., DRUSANO, G., LOUIE, A., MADU, A., MIAN, U., MAYERS, M. & MILLER, M.H., 1998: Pharmacokinetics of sparfloxacin in the serum and vitreous humor of rabbits: Physicochemical properties that regulate penetration of quinolone antimicrobials. *Antimicrob. Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42(6):1417-1423.
- LODE, H., BORNER, K., KOEPPE, P., 1998: Pharmacodynamics of fluoroquinolones, *Clinical Infectious Diseases*, 27: 33-39.
- LOMBARDO, M., 2012: Nuevas metodologías analíticas para La determinación de quinolonas y otros residuos em muestras alimentarias y ambientales. Ed. Universidad de Granada.
- LOWY, F D., 1998. *Staphylococcus aureus* infections. *NEJM*, 339:520-532.
- MACGOWAN, A.P., C.A., ROGERS, H.A., HOLT, M. WOOTON, BOWKER, K.E. 2001: Pharmacodynamics of gemifloxacin against *Streptococcus pneumoniae* in an in vitro pharmacokinetic model of infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45: 2916-2921.
- MACHIDA, M., KUSAJIMA, H., AIJIMA, H., MAEDA, A., ISHIDA, R., UCHIDA, H., 1990: Toxicokinetic study of norfloxacin-induced arthropathy in juvenile animals. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 15, 105 (3): 403-12.
- MANDELL, L.A., BALL, P., TILLOTSON, G., 2001: Antimicrobial safety and tolerability: differences and dilemmas. *Clinical Infectious Diseases*, 15; 32 (1): 72-9.
- MARANGOS, M.N., ZHU, Z., NICOLAU, D.P., KLEPSER, M.E., NIGHTINGALE, C.H., 1997: Disposition of ofloxacin in female New Zealand White rabbits. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20:17-20.
- MARÍN, P, ÁLAMO, L.F., ESCUDERO, E. FERNÁNDEZ-VARÓN, E., HERNANDIS, V., CÁRCELES, C.M., 2013: Pharmacokinetics of marbofloxacin in rabbit after intravenous, intramuscular, and subcutaneous administration. *Research in Veterinary Science*, 94: 698-700.
- MARÍN, P., FERNANDEZ-VARÓN, E., ESCUDERO, E., VANCRAEYNEST, D., CÁRCELES, C.M., 2008: Phamacokinetic-pharmacodynamic integration of orbifloxacin in rabbits after intravenous, subcutaneous and intramuscular administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 31: 77-82

- MARÍN, P., CÁRCELES, C.M., ESCUDERO, E., BERMEJO, R., FERNÁNDEZ-VARÓN, E., 2007: Development of a Method for the Determination of Ibafloracin in Plasma by HPLC with Fluorescence Detection and Its Application to a Pharmacokinetic Study. *Journal of Chromatographic Science*, 45.
- MARKOWSKA, D., URBANIAK, K., STEPNIEWSKA, K., PEJSAK, Z., 2013: Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from respiratory tract of pigs in Poland between 2004 and 2008. *Pol. Journal of Veterinary Science*, 13 (1): 29-36.
- MARTÍNEZ, M., McDERMOTT, P., WALKER, R., 2006: Pharmacology of the fluoroquinolones: A perspective for the use in domestic animals. *The Veterinary Journal*, 172(1): 10-28.
- McCUSKER, M.E., HARRIS, A.D., PERENCEVICH, E., ROGHMANN, M-C., 2003: Fluoroquinolone use and *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Emerging Infectious Disease*, 9(6): 730-733.
- MCKELLAR, Q., 1996: Clinical relevance of the pharmacologic properties of fluoroquinolones *Veterinary Science* 18: 14-21.
- MELLA, S., ACUÑA, G., MUÑOZ, M., PEREZ, C., LABARCA, J., GONZALEZ, G., BELLO, H., DOMINGUEZ, M., ZEMELMAN, R., 2000: Quinolonas: Aspectos generales sobre su estructura y clasificación. *Revista chilena de infectología*, 17 (1): 53-66
- MEVIUS, D.J.; BRENKINK, H.J.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; KESSELS, B.G.F.; JOHSE, A.S., SMIT, J.A.H., 1991: Effects of experimentally induced *Pasteurella haemolytica* infection in dairy calves on the pharmacokinetics of flumequine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 14: 174-184.
- MICHOT, J.M, SERAL, C, VAN BAMBEKE, F., MINGEOT-LECLERCQ, M.P., TULKENS, P.M., 2005: Influence of efflux transporters on the accumulation and efflux of four quinolones (ciprofloxacin, levofloxacin, garenoxacin, and moxifloxacin) in J1774 macrophages. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49 (6): 2429-2437.
- MOCHIZUKI, K., HIGASHIDE, T., TORISAKI, M., YAMASHITA, Y., KOMATSU, M., TANAHASHI, T., OHKUBO, S., OGATA, M., OHNISHI, Y., 1995: Effects of norfloxacin on the retina in rabbits. *Graefes' Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 233 (3): 173-80.
- NIGHTINGALE, C.H., GRANT, E.M., QUINTILIANI, R., 2000: Pharmacodynamics and pharmacokinetics of levofloxacin. *Chemotherapy*, 46 (1): 6-14.

- NIKAIDO, H & THANASSI, D.G., 1993: Penetration of lipophilic agents with multiple protonation sites into bacterial cells: tetracyclines and fluoroquinolones as examples. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37 (7): 1393-1399.
- NIX, D.E. & SCHENTAG, J.J., 1988: The quinolones: an overview and comparative appraisal of their pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Journal of Clinical Pharmacology*, 28: 169-178.
- NIX, D.E. & DE VITO, J.M., 1987: Ciprofloxacin and norfloxacin, two fluoroquinolone antimicrobials. *Clinical Pharmacokinetics*, 6 (2): 105-17.
- OKAZAKI, O., KOJIMA, C., HAKUSUI, H., NAKASHIMA, M., 1991: Enantioselective disposition of ofloxacin in humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35: 2106-2109.
- ORERO, A., CANTÓN, E., PEMÁN, J., GOBERNADO, M., 2002: Penetración de los antibióticos en los polimorfonucleares humanos, con especial referencia a las quinolonas. *Rev. Esp. Quimioterap.* 15(2).
- OTERO, J.L., MESTORINO, N., ERRECALDE, J.O., 2001a. Enrofloxacin: una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte I: Química, mecanismo de acción, actividad antimicrobiana y resistencia bacteriana. *Analecta Veterinaria* 21, 1:31-41.
- OTERO, J.L., MESTORINO, N., ERRECALDE, J.O., 2001b. Enrofloxacin: una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte II: Farmacocinética y toxicidad. *Analecta Veterinaria* 21, 1:42-49.
- OZAWA, M., BABA, K., SHIMIZU, Y., ASAI, T., 2010: Comparison of in vitro activities and pharmacokinetics/pharmacodynamics estimations of veterinary fluoroquinolones against avian pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Microb. Drug. Resist.*, 16 (4): 327-332.
- PARK, S.C. & YUN, H.I., 2003: Clinical pharmacokinetics of norfloxacin-glycine acetate after intravenous and intramuscular administration to horses. *Research in Veterinary Science*, 1: 79-83.
- PARK, S.C., YUN, H.I., OH, T.K., 1998: Comparative pharmacokinetic profiles of two norfloxacin formulations after oral administration in rabbits. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 60 (5): 661-663.
- PATERNA, A., SÁNCHEZ, A., GÓMEZ-MARTÍN, A., CORRALES, J.C., DE LA FE, C., CONTRERAS, A., AMORES, J., 2013: Short communication: In vitro antimicrobial

- susceptibility of *Mycoplasma agalactiae* strains isolated from dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 96 (11): 7073-7076.
- PAVITHRA, B.H., PRAKASH, N. JAYAKUMAR, K., 2010: PK-PD modelling of norfloxacin after oral administration in rabbits. *Veterinary World*, 3 (12): 546-548.
- PAVITHRA, B.H., PRAKASH, N. JAYAKUMAR, K., 2009: Modification of pharmacokinetics of norfloxacin following oral administration of curcumin in rabbits. *Journal of Veterinary Science*, 10 (4): 293-297.
- PÉREZ, S., SOLANS, C., BREGANTE, M.A., PINILLA, I., GARCÍA, M.A., HONRUBIA, F., 2002: Pharmacokinetics and ocular penetration of grepafloxacin in albino and pigmented rabbits. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50: 541-545.
- PÉREZ, E., FERNÁNDEZ-MAZARRASA, C., GARCÍA-REY, C., BOUZA, E., AGUILAR, L., GARCÍA-DE-LOMAS, J., BAQUERO, G., THE SPANISH SURVEILLANCE GROUP FOR RESPIRATORY PATHOGENS, 2001: Antimicrobial susceptibilities of 1684 *Streptococcus pneumoniae* and 2039 *Streptococcus pyogenes* isolates and their ecological relationships: results of a 1-year (1998-1999) multicenter surveillance study in Spain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(12): 3334-3340.
- PESTOVA, E., MILLICHAP, J.J., NOSKIN, G.A., PETERSON, L.R., 2000: Intracellular targets of moxifloxacin: a comparison with other fluoroquinolones. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 45: 583-590.
- PIDDOCK, L.J., 1999: Mechanisms of fluoroquinolone resistance: an update 1994-1998. *Drug*, 58 (2):11-18.
- PLA, J.M. & OBACH, R., 1982. *Perspectivas terapéuticas con su fundamento farmacológico*. Farmacología general. Fundación García Muñoz. Valencia. 7: 19-54.
- PLA, J.M. & POZO, A., 1974: *Manual de iniciación a la Biofarmacia (Farmacocinética aplicada)*. Romargraf. Barcelona.
- POOLE, K., 2000: Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44 (9): 2233-2241.
- PLUMB, D.C., 2010: Marbofloxacin. En: *Manual de farmacología veterinaria*. Buenos aires, Argentina. Ed. Inter-Médica. pp: 682-684.
- JOHN, F., PRESCOTT, YIELDING, K.M., 1990: SHORT COMMUNICATIONS: In vitro Susceptibility of Selected Veterinary Bacterial Pathogens to Ciprofloxacin, Enrofloxacin and Norfloxacin. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 54: 195-197

- PRESTON, S.L., DRUSANO, G.L., BERMAN, A.L., FOWLER, C.L., CHOW, A.T., DORNSEIF, B., REICHL, V., NATARAJAN, J., CORRADO, D.M., 1998: Pharmacodynamics of levofloxacin: a new paradigm for early clinical trials, *Journal of the American Medical Association*, 279: 125-129.
- REGMI, N.L., ABD EL-ATY, A.M., KUBOTA, R., TOMITA, A., SHIMODA, M., 2006: Effect of ofloxacin on theophylline pharmacokinetics at clinical dosage in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29 (5): 403-408.
- REHAN, C., 2004: Pharmacokinetics, Bioavailability, Urinary Excretion and Renal Clearance of Enrofloxacin and Norfloxacin after Oral and Intravenous Administration in Horses and Mules. University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.
- RESUMEN CIENTÍFICO ICAAC, 2006: 46<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). San Francisco: American Society of Medicine. Ed. García Rodríguez, J.
- RIEGELMAN, S. & COLLIER, P., 1980: the application of statistical moment theory to the evaluation of *in vivo* dissolution time and absorption time. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 8 (5): 509-534.
- RILEY, C.M., KINDBERG, C.G, STELLA, V.J., 1989: The physicochemical properties of quinolone antimicrobials variously substituted AT C-7. Implications in the development of liquid dosage forms. In: *International Symposium on Quinolones*. Ed. J.R. Prous Science Publishers. Barcelona. Spain. 21-36.
- ROBICSEK, A., STRAHILEVITZ, J., JACOBY, G.A., MACIELAG, M., ABBANAT, D., PARK, C.H.P., BUSH, K., HOOPER, D.C., 2006: Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase *Nat. Medicine*. 12(1):83-88.
- ROSENTHAL, K.L., 2001: Bacterial infectious disease treatment in ferrets and rabbits. Atlantic Coast Veterinary Conference.
- RUBINSTEIN, E., 2001: History of quinolones and their side effects. *Chemotherapy*, 47 (3): 3-8.
- RUIZ, J., 2003: Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 51: 1109-1117.
- SCHEDLETZKY, H., WIEDEMANN, B., HEISIG, P., 1999: The effect of moxifloxacin on its target topoisomerases from *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 43: 31-37.

- SCHENTAG, J.J., 2000: Clinical pharmacology of the fluoroquinolones: studies in human dynamic/kinetic models. *Clinical Infectious Diseases*, 31 (2): 40-44.
- SHARMA, P.C, SANEJA, A., JAIN, S., 2008: Norfloxacin: a therapeutic review. *International Journal of Chemical Sciences*, 6(4): 1702-1713.
- SHEN, L.L., BARANOWSKI, J., PERNET, A.G., 1989a: Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: specificity and cooperativity of drug binding to DNA. *Biochemistry*, 28(9): 3879-85.
- SHEN, L.L., PERNET, A.G., ODONNELL, T.J., ROSEN, T., CHU, D.W.T., SHARMA, P.N., MITSCHER, L.A., COOPER, C.S., 1989b: Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials. A cooperative drug-DNA binding model. *Biochemistry*, 28(9): 3886-3894.
- SHEM-TOV, M., ZIV, G., GIPS, M., 1994: Tissue distribution and binding to plasma proteins of norfloxacin nicotinate after intramuscular administration in pigs. *Zentralbl Veterinarmed B*, 41(4): 257-263.
- SHEM-TOV, M. & ZIV, G., 1994: Clinical pharmacokinetic characterization of norfloxacin nicotinate in swine following systemic administration. *Zentralbl Veterinarmed B*, 41(1): 60-70.
- Shepard, R.M., Falkner, F.C., 1990: Pharmacokinetics of azithromycin in rats and dogs. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 25: 49-60.
- SHIMIZU, M., TAKASE, Y., NAKAMURA, S., KATAE, H., MINAMI, A., 1975: Pipemidic acid, a new antibacterial agent active against *Pseudomonas aeruginosa*: in vitro properties. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 8: 132-138.
- SIEFERT, H.M., KOHLSDORFER, C., STEINKE, W., WITT, A., 1999: Pharmacokinetics of the 8-methoxyquinolone, moxifloxacin: tissue distribution in male rats. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 43: 61-67.
- SOBACK, S., GIPS, M. BIALER, BOR, M., 1994: Effect of lactation on single-dose pharmacokinetics of norfloxacin nicotinate in ewes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38: 2336-2339.
- SOMASUNDARAM, S. & MANIVANNAN, K., 2013: An Overview of Fluoroquinolones. *Annual Review & Research in Biology*, 3 (3): 296-313.
- SONG, Y. P. AND Z. L. CHEN, 1995. Pharmacokinetics of norfloxacin after intravenous, intramuscular and oral administration in broilers. *Acta Vet. Zootech. Sinica*, 1: 2336-2339.

- STEIN, G.E., 1987: Review of the bioavailability and pharmacokinetics of oral norfloxacin. *The American Journal of Medicine*, (6): 18-21.
- STOCKLEY, I.H. 2004. *Interacciones farmacológicas*. Pharma Editores S. L. Barcelona.
- TAKASAGI, N., NAKAMURA, K., HAYASHI, T., TSANAKAWA, M., TAKEYA, Y. 1968: Studies on gastrointestinal absorption of nalidixic acid. *Chin. Pharm. Bul.*, 16:13-16.
- TAKAHASHI, I., YOSHIDA, T., HIGASHIDE, Y., SANAKO, T., 1990: Susceptibilities of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* isolated from animals to ofloxacin and Commonly used antimicrobial agents. *Japanese Journal of Antibiotics*, 43 (1): 89-99.
- TALÉNS-VISCONTI, R., GARRIGUES, T.M., CANTÓN, E., 2002: Quinolonas y *Streptococcus pneumoniae*. Mecanismo de acción y resistencia. *Revista Española de Quimioterapia*, 15(4): 313-324.
- TANCHEV, S., LASHEV, L, HARITOVA, A., 2005: Pharmacokinetics of enrofloxacin in inbred and outbred rabbits. *Archives of Veterinary*, 75(6): 497-503.
- THOMAS, J.K., FORREST, A., BHAVNANI, S.M., HYATT, J.M., CHENG, A., BALLOW, C.H., SCHENTAG, J.J., 1998: Pharmacodynamic evaluation of factors associated with the development of bacterial resistance in acutely ill patients during therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42: 521-527.
- TILLOTSON G.S. & BLONDEAU J.M., 2000: Infecciones del tracto respiratorio en la comunidad: un reto asumible para moxifloxacino. En: *Moxifloxacino en la práctica*, volumen 1. Ed: Adam D y Finch R, Prous Science S.A. Barcelona. pp: 61-74.
- TOUTAIN, P.L. & LEES, P., 2004: Integration and modelling of pharmacokinetic and pharmacodynamic data to optimise dosage regimens in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27: 467-477.
- TOUTAIN, P.L., DEL CASTILLO, J.R.E., BOUSQUET-MÉLOU, A., 2002: The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Research in Veterinary Science*, 73: 105-114.
- TRAN, J.H. & JACOBY, A., 2002: Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99: 5638-5642.
- TSAI, H.J. & HSIANG, P.H., 2005: The prevalence and antimicrobial susceptibilities of *Salmonella* and *Campylobacter* in ducks in Taiwan. *Journal of Veterinary Medicine Journal of Veterinary Medicine Science*, 67(1): 7-12.

- TURNER, F.J., RINGEL, S.M., MARTIN, J.F., STORINO, P.J., DALY, J.M., 1968: Oxolinic acid, a new synthetic antimicrobial agent. I. In vitro and in vivo activity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 9(3): 387-392.
- TURNIDGE, J., 1999: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Drugs*, 58 (2): 29-36.
- USP Drug information, 2003: Fluoroquinolones veterinary-systemic. In United States Pharmacopeia Veterinary Pharmaceutical Information Monographs-Antibiotics. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 26(2):87-108.
- VANCUTSEM, P.M., BABISH, J.G., SCHWARK, W.S., 1990: The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Veterinaria*, 80: 173-186.
- VESGA, O., CONKLIN, R., STAMSTAD, T., CRAIG, W.A., 1996: Pharmacodynamic activity of Bay 12-0839 in animal infection models, Abstracts of the 36th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, New Orleans, LA, American Society for Microbiology, Washington, DC, p. 123 Abstract F22.
- VON KEUTZ, E. & SCHLUTER G., 1999: Preclinical safety evaluation of moxifloxacin, a novel fluoroquinolone. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 43: 91-100.
- WAGNER, J.G., 1968: Pharmacokinetics. *Am. Rev. Pharmacols.*, 8: 67-94.
- WAGNER, J.G., 1983: *Farmacocinética clínica*. Ed. Reverté. Barcelona.
- WAJEEHA, F. H. KHAN, JAVED I., 2006: Bioavailability and pharmacokinetics of norfloxacin after intramuscular administration in goats. *Pakistan Veterinary Journal*, 26(1): 14-16.
- WALKER, R.D., 2000: Fluoroquinolones. En: *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 3<sup>a</sup> ed. Ed: Prescott JF, Baggot JD y Walker RD, Blackwell Scientific Publications. Iowa. pp: 315-338.
- WALKER, R.D., STEIN, G.E., BUDSBERG, S.C., ROSSER, E.J.J, MACDONALD, K.H., 1989: Serum and tissue fluid norfloxacin concentrations after oral administration of the drug to healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 50(1): 154-157.
- WALLIS, S.C., CHARLES, B.G., GAHAN, L.R., FILIPPICH, L.J., BREDHAUER, M.G., DUCKWORTH, P.A., 1996: Interaction of norfloxacin with divalent and trivalent pharmaceutical cations. In vitro complexation and in vivo pharmacokinetic studies in the dog. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85: 803-809.



- WAMBERG, S., SANDGAARD, N.C.F., BIE, P., 2002: Simultaneous determination of total body water and plasma volume in conscious dogs by the indicator dilution principle, *Journal of Nutrition*, 132: 1711-1713.
- WAXMAN, S., RODRIGUEZ, C., GONZALEZ, F., DE VICENTE, M.L., SAN ANDRES, M.I., SAN ANDRES, M.D., 2001: Pharmacokinetic behaviour of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administration in adult goats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 24: 375-378.
- WETZSTEIN, H.G., SCHEMEER, N., KART. W., 1997: Degradation of the fluoroquinolone enrofloxacin by the brown rot fungus *Gloeophyllum striatum*: identification of metabolites. *Applied and Environmental Microbiology*. 63: 4272-4281.
- WETZSTEIN, H.G., DE JONG, A., 1996. In Vitro bactericidal activity and postantibiotic effect of fluorquinolones used in veterinary medicine. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 18 (2): 22-29.
- WILLIAMS, J.J, SALAZAR, M.R., RAMÍREZ, R, MOSQUEDA, Z., 2001: Sensibilidad in vitro de cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Pasteurella multocida* tipo "A" ante diferentes antimicrobianos. *Review of Biomedical*, 12: 172-179.
- WISE, R., 1999: A review of the clinical pharmacology of moxifloxacin, a new 8-methoxyquinolone, and its potential relation to therapeutic efficacy. *Clinical Drug Investigation*, 17(5): 365-388.
- WRIGHT, D.H., BROWN, G.H., PETERSON, M.L., Rotschafer, J.C., 2000: Application of fluoroquinolone pharmacodynamics, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46: 669-683.
- XUAN, D., ZHONG, M., MATTOES, H., BUI, K.Q., MCNABB, J., NICOLAU, D.P., QUINTILIANI, R., NIGHTINGALE, C.H., 2001: Streptococcus pneumoniae response to repeated moxifloxacin or levofloxacin exposure in a rabbit tissue cage model. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 45(3): 794-799.
- YAMAOKA, K., TAMIGAWARA, Y., UNO, J., 1981: A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputers. *J. Pharmacobio-Dyn.*, 4: 879-885.
- YAMAOKA, K., NAKAGAWA, T., UNO, T., 1978: Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 6: 165-175.

ZHANEL, G.G., WALTERS, M., LAING, N., HOBAN, D.J., 2001: In vitro pharmacodynamic modelling simulating free serum concentrations of fluoroquinolones against multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 47(4): 435-440.



## 10. - APÉNDICES



10.1.- TABLAS



Tiempo	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
0,083 h.	9601,90	10109,04	12307,61	12242,99	15371,31
0,16 h.	5997,28	7029,02	11887,64	10671,31	10039,26
0,25 h.	4405,05	5630,47	9650,69	7368,05	7678,22
0,50 h.	3555,17	4611,17	7720,77	5923,42	5093,02
0,75 h.	2721,93	3567,63	5967,97	3459,28	4302,57
1,00 h.	2241,26	3098,20	3949,52	2820,84	3045,98
1,50 h.	1506,92	2324,44	3144,55	2242,10	1971,87
2,00 h.	1081,36	1801,43	2159,91	1663,76	1502,38
4,00 h.	415,74	748,24	900,45	739,43	688,99
6,00 h.	194,79	262,40	402,28	294,81	189,96
8,00 h.	86,94	162,56	265,22	133,69	104,98
10,00 h.	47,29	92,40	106,21	71,87	47,42
12,00 h.	27,64	52,26	80,15	34,18	18,28
24,00 h.	5,54	24,91	9,58	5,37	5,43

TABLA 1.- Concentraciones plasmáticas experimentales de norfloxacino, en  $\mu\text{g/L}$ , en cada conejo tras la administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg.



Tiempo	N	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
0,083 h.	5	11926,57	2281,40	1020,27	19,13	0,948
0,16 h.	5	9124,90	2501,74	1118,81	27,42	0,930
0,25 h.	5	6946,50	2013,50	900,46	28,99	0,996
0,50 h.	5	5380,71	1563,49	699,21	29,06	0,998
0,75 h.	5	4003,88	1232,60	551,23	30,79	0,939
1,00 h.	5	3031,16	615,68	275,34	20,31	0,897
1,50 h.	5	2237,98	598,88	267,83	26,76	0,930
2,00 h.	5	1641,77	396,21	177,19	24,13	0,999
4,00 h.	5	698,57	176,76	79,05	25,30	0,833
6,00 h.	5	268,85	86,93	38,88	32,33	0,986
8,00 h.	5	150,68	70,18	31,38	46,58	0,949
10,00 h.	5	73,04	26,44	11,82	36,19	0,948
12,00 h.	5	42,50	24,44	10,93	57,50	0,948
24,00 h.	5	10,17	8,43	3,77	82,95	0,656

TABLA 2.- Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de norfloxacin, en  $\mu\text{g/L}$ , y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración de una dosis intravenosa de 10 mg/kg a conejos.

Parámetros	Unidades	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
$C_1$	$\mu\text{g/L}$	17285,56	11427,60	10024,42	11267,42	20637,69
$C_2$	$\mu\text{g/L}$	4004,75	5380,50	3865,61	3984,92	6720,00
$C_3$	$\mu\text{g/L}$	1406,40	208,04	210,01	45,77	3200,27
$\lambda_1$	$\text{h}^{-1}$	15,87	10,57	1,79	3,61	13,84
$\lambda_2$	$\text{h}^{-1}$	1,18	0,58	0,41	0,44	1,87
$\lambda_z$	$\text{h}^{-1}$	0,34	0,10	0,13	0,09	0,43
$t_{1/2\lambda_1}$	h	0,04	0,07	0,39	0,19	0,05
$t_{1/2\lambda_2}$	h	0,59	1,19	1,70	1,57	0,37
$t_{1/2\lambda_z}$	h	2,06	6,91	5,37	7,70	1,60
$k_{12}$	$\text{h}^{-1}$	8,78	5,72	0,49	1,53	5,97
$k_{21}$	$\text{h}^{-1}$	4,54	3,85	0,80	1,27	5,51
$k_{13}$	$\text{h}^{-1}$	0,91	0,19	0,05	0,03	1,38
$k_{31}$	$\text{h}^{-1}$	0,53	0,12	0,14	0,09	0,83
$k_{10}$	$\text{h}^{-1}$	2,62	1,38	0,84	1,21	2,45
$k_{20}$	$\text{h}^{-1}$	1,04	0,75	0,50	0,56	1,60
$k_{30}$	$\text{h}^{-1}$	0,39	0,10	0,13	0,09	0,53

TABLA 3.- Parámetros farmacocinéticos tricompartmentales deducidos tras la administración intravenosa de norfloxacin, a dosis de 10 mg/kg, a cada una de los conejos a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste.

Parámetros	Unidades	N	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
$C_1$	$\mu\text{g/L}$	5	14128,54	4600,56	2057,43	32,56	0,680
$C_2$	$\mu\text{g/L}$	5	4791,16	1244,27	556,46	25,97	0,624
$C_3$	$\mu\text{g/L}$	5	1014,10	1338,58	598,63	82,00	0,663
$\lambda_1$	$\text{h}^{-1}$	5	9,13	6,21	2,77	67,94	0,977
$\lambda_2$	$\text{h}^{-1}$	5	0,90	0,63	0,28	69,85	0,791
$\lambda_z$	$\text{h}^{-1}$	5	0,22	0,16	0,07	71,95	0,707
$t_{1/2\lambda_1}$	h	5	0,15	0,15	0,07	79,56	0,716
$t_{1/2\lambda_2}$	h	5	1,08	0,59	0,26	54,32	0,988
$t_{1/2\lambda_z}$	h	5	4,73	2,78	1,24	58,75	0,951
$k_{12}$	$\text{h}^{-1}$	5	4,50	3,42	1,53	76,11	0,936
$k_{21}$	$\text{h}^{-1}$	5	3,20	2,06	0,92	64,56	0,962
$k_{13}$	$\text{h}^{-1}$	5	0,51	0,61	0,27	78,16	0,738
$k_{31}$	$\text{h}^{-1}$	5	0,34	0,33	0,15	87,58	0,639
$k_{10}$	$\text{h}^{-1}$	5	1,70	0,79	0,35	46,38	0,891
$k_{20}$	$\text{h}^{-1}$	5	0,89	0,45	0,20	50,27	0,959
$k_{30}$	$\text{h}^{-1}$	5	0,25	0,20	0,09	80,08	0,676

TABLA 4.- Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos tricompartmentales deducidos de las ecuaciones de ajuste correspondientes a la administración intravenosa de norfloxacin, a la dosis de 10 mg/kg y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov.

Relación	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
$\lambda_1/\lambda_2$	13,42	18,08	4,39	8,15	7,40
$\lambda_1/\lambda_z$	47,18	105,38	13,85	40,04	32,01
$\lambda_2/\lambda_z$	3,52	5,83	3,15	4,91	4,32
$\lambda_z/k_{10}$	0,13	0,07	0,15	0,07	0,18
$k_{12}/k_{10}$	3,35	4,16	0,58	1,26	2,44
$k_{12}/k_{21}$	1,93	1,49	0,62	1,20	1,08
$k_{21}/k_{10}$	1,73	2,80	0,95	1,05	2,25
$k_{13}/k_{10}$	0,35	0,13	0,06	0,03	0,57
$k_{13}/k_{31}$	1,72	1,58	0,35	0,37	1,67
$k_{31}/k_{10}$	0,20	0,08	0,17	0,08	0,34
$k_{21}/k_{31}$	8,57	32,99	5,74	13,67	6,64

TABLA 5.- Relaciones entre constantes de disposición y microconstantes tricompartmentales obtenidas a partir de los valores en cada animal, correspondientes a norfloxacino tras su administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg en conejos.

Relación	Media	S.D.	S.E.	C.V	NS
$\lambda_1/\lambda_2$	10,29	5,44	2,43	52,83	0,906
$\lambda_1/\lambda_z$	47,69	34,56	15,46	72,48	0,765
$\lambda_2/\lambda_z$	4,35	1,08	0,48	24,76	0,997
$\lambda_z/k_{10}$	0,12	0,05	0,02	38,47	0,932
$k_{12}/k_{10}$	2,36	1,46	0,65	62,08	0,998
$k_{12}/k_{21}$	1,26	0,49	0,22	38,65	1,000
$k_{21}/k_{10}$	1,76	0,79	0,35	44,81	0,975
$k_{13}/k_{10}$	0,23	0,23	0,10	79,91	0,847
$k_{13}/k_{31}$	1,14	0,71	0,32	62,33	0,632
$k_{31}/k_{10}$	0,17	0,11	0,05	61,40	0,990
$k_{21}/k_{31}$	13,52	11,31	0,10	73,62	0,769

TABLA 6.- Estadísticos de las relaciones entre constantes de disposición y microconstantes obtenidas a partir de los valores en cada animal, y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov, correspondientes a norfloxacino tras su administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg en conejos.

Tiempo	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
0,083 h.	9630,00	10086,00	12587,00	12240,00	15387,00
0,16 h.	5862,00	7065,00	11269,00	9940,00	9982,00
0,25 h.	4600,00	5666,00	10107,00	8187,00	7733,00
0,50 h.	3412,00	4273,00	7452,00	5095,00	5238,00
0,75 h.	2743,00	3668,00	5663,00	3656,00	3969,00
1,00 h.	2232,00	3187,00	4436,00	2908,00	3114,00
1,50 h.	1529,00	2418,00	2959,00	2142,00	2080,00
2,00 h.	1094,00	1842,00	2156,00	1691,00	1508,00
4,00 h.	402,00	659,00	892,00	711,00	572,00
6,00 h.	190,00	275,00	433,00	307,00	239,00
8,00 h.	96,00	143,00	224,00	138,00	101,00
10,00 h.	49,00	92,00	124,00	66,00	42,00
12,00 h.	25,00	67,00	74,00	35,00	18,00
24,00 h.	-	19,00	10,00	5,00	-

TABLA 7.- Concentraciones teóricas de norfloxacin, en  $\mu\text{g/L}$ , en cada conejo obtenidas de su correspondiente ecuación, tras aplicar el modelo farmacocinético tricompartmental, obtenidas tras su administración intravenosa.

Tiempo	N	Media	S.D.	S.E.	C.V	NS
0,083 h.	5	11986,00	2299,63	1028,43	19,19	0,990
0,16 h.	5	8823,60	2260,09	1010,74	25,61	0,797
0,25 h.	5	7258,60	2168,23	969,66	29,87	0,995
0,50 h.	5	5094,00	1506,99	673,95	29,58	0,883
0,75 h.	5	3939,80	1067,36	477,34	27,09	0,798
1,00 h.	5	3175,40	799,14	357,39	25,17	0,780
1,50 h.	5	2225,60	521,62	233,27	23,44	0,994
2,00 h.	5	1658,20	394,82	176,57	23,81	1,000
4,00 h.	5	647,20	180,22	80,60	27,85	0,999
6,00 h.	5	288,80	91,59	40,96	31,71	0,967
8,00 h.	5	140,40	51,30	22,94	36,54	0,829
10,00 h.	5	74,60	33,67	15,06	45,14	0,988
12,00 h.	5	43,80	25,23	11,28	57,61	0,943
24,00 h.	5	11,33	7,09	3,17	62,60	0,986

TABLA 8.- Estadísticos de las concentraciones teóricas de norfloxacino en cada conejo, y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov, en mg/L, obtenidos tras su administración intravenosa.

CONEJOS	Correlación de Pearson	R <sup>2</sup>
C <sub>1</sub> experimental-C <sub>1</sub> teórico	0,9996	0,9992
C <sub>2</sub> experimental-C <sub>2</sub> teórico	0,9994	0,9988
C <sub>3</sub> experimental-C <sub>3</sub> teórico	0,9979	0,9959
C <sub>4</sub> experimental-C <sub>4</sub> teórico	0,9956	0,9913
C <sub>5</sub> experimental-C <sub>5</sub> teórico	0,9997	0,9994

TABLA 9.- Correlación de Pearson y regresión entre las concentraciones experimentales y teóricas en cada animal, obtenidas tras la administración intravenosa de norfloxacino.

Parámetros	Unidades	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
AUC	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$	8939,65	12744,67	17317,08	13105,78	12973,44
AUMC	$\mu\text{g h}^2/\text{L}$	18227,08	33919,40	40139,67	26389,56	21770,57
MRT	h	2,0389	2,6615	2,3179	2,0136	1,6781
Cl	L/kg/h	1,1186	0,7846	0,5775	0,7630	0,7708
$V_{ss}$	L/kg	2,28	2,09	1,34	1,53	1,29
$V_z$	L/kg	7,63	5,16	3,33	4,37	4,11

TABLA 10.- Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada animal tras la administración intravenosa de norfloxacino a dosis de 10 mg/kg.

Parámetros	N	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
AUC	5	13016,12	2966,45	1326,64	22,79	0,801
AUMC	5	28089,26	8934,21	3995,50	31,81	0,998
MRT	5	2,1420	0,3685	0,1648	17,20	0,980
Cl	5	0,8029	0,1959	0,0876	24,39	0,620
$V_{ss}$	5	1,7075	0,4501	0,2013	26,36	0,909
$V_z$	5	4,9207	1,6542	0,7398	33,62	0,931

TABLA 11.- Estadísticos de los parámetros no compartimentales obtenidos para cada animal y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración intravenosa de norfloxacino a dosis de 10 mg/kg.



Tiempo	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
0,083 h.	1687,78	1393,20	1491,40	1407,16	1379,25
0,16 h.	1973,03	2657,89	2429,60	3100,86	2214,92
0,25 h.	2635,33	3045,51	2908,79	3744,40	2346,63
0,50 h.	3670,13	3456,25	3527,54	4080,06	2536,42
0,75 h.	3729,88	3513,81	3585,83	4491,20	2832,44
1,00 h.	3046,70	3248,44	3181,19	3706,09	2790,79
1,50 h.	2329,57	2358,51	2348,86	2731,32	1985,69
2,00 h.	1900,36	2337,84	2192,01	2695,03	1980,65
4,00 h.	967,29	1249,82	1155,64	1358,23	1141,40
6,00 h.	533,43	664,38	620,73	676,04	652,71
8,00 h.	277,31	466,62	403,52	443,19	490,04
10,00 h.	184,89	295,24	258,46	303,21	287,27
12,00 h.	109,45	197,17	167,93	174,53	219,80
24,00 h	33,23	19,57	24,12	18,89	20,26

TABLA 12.- Concentraciones plasmáticas experimentales de norfloxacin, en  $\mu\text{g/L}$ , en cada conejo tras la administración intramuscular de una dosis de 10 mg/kg.

Tiempo	N	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
0,083 h.	5	1471,76	128,41	57,43	8,72	0,786
0,16 h.	5	2475,26	432,10	193,24	17,46	1,000
0,25 h.	5	2936,13	525,36	234,95	17,89	0,972
0,50 h.	5	3404,74	567,97	254,00	16,68	0,914
0,75 h.	5	3679,97	587,21	262,61	15,96	0,868
1,00 h.	5	3194,64	335,27	149,94	10,49	0,943
1,50 h.	5	2350,79	263,92	118,03	11,23	0,800
2,00 h.	5	2221,18	316,14	141,38	14,23	0,998
4,00 h.	5	1174,48	144,76	64,74	12,33	0,981
6,00 h.	5	629,46	57,51	25,72	9,14	0,896
8,00 h.	5	416,14	83,92	37,53	20,17	0,935
10,00 h.	5	265,81	48,29	21,60	18,17	0,854
12,00 h.	5	173,77	41,35	18,49	23,79	0,928
24,00 h.	5	23,21	5,96	2,66	25,66	0,794

TABLA 13.- Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de norfloxacin, en  $\mu\text{g/L}$ , y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración de una dosis intramuscular de 10 mg/kg a conejos.

Parámetros	Unidades	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
$C_a$	$\mu\text{g/L}$	-4375,16	-4797,54	-4568,64	-6849,80	-3273,16
$C_1$	$\mu\text{g/L}$	4180,49	2820,24	3509,22	3682,75	2994,47
$C_z$	$\mu\text{g/L}$	194,68	1977,30	1059,42	1701,05	278,69
$k_a$	$\text{h}^{-1}$	5,24	2,27	2,49	4,40	6,95
$\lambda_1$	$\text{h}^{-1}$	0,40	0,59	0,46	0,57	0,30
$\lambda_z$	$\text{h}^{-1}$	0,07	0,19	0,16	0,19	0,06
$t_{1/2\lambda_1}$	h	1,74	1,17	1,51	1,22	2,32
$t_{1/2\lambda_z}$	h	9,34	4,54	3,02	3,65	11,40
$t_{1/2k_a}$	h	0,13	0,14	0,13	0,16	0,10

TABLA 14.- Parámetros farmacocinéticos bicompartimentales, deducidos tras la administración intramuscular de norfloxacino, a dosis de 10 mg/kg, a cada uno de los conejos a partir de sus ecuaciones de ajuste.

Parámetros	N	MEDIA	S.D.	S.E.	C.V.	NS
$C_a$	5	-4805,85	1254,02	560,82	26,09	0,750
$C_1$	5	2907,37	938,33	419,63	32,27	0,976
$C_z$	5	1206,08	753,52	336,99	62,48	0,847
$k_a$	5	4,78	1,61	0,72	33,69	0,977
$\lambda_1$	5	0,51	0,08	0,04	15,85	0,998
$\lambda_z$	5	0,16	0,05	0,02	31,48	0,711
$t_{1/2\lambda_1}$	5	1,39	0,24	0,11	16,92	0,983
$t_{1/2\lambda_z}$	5	4,92	2,49	1,11	50,67	0,452
$t_{1/2k_a}$	5	0,13	0,02	0,01	14,25	0,944

TABLA 15.- Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos bicompartimentales y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov, deducidos tras la administración intramuscular de norfloxacino a la dosis de 10 mg/kg.

Tiempo	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
0,083 h.	1406,00	1494,00	1501,00	1614,00	1380,00
0,16 h.	2273,00	2420,00	2415,00	2676,00	2115,00
0,25 h.	2796,00	2981,00	2958,00	3363,00	2496,00
0,50 h.	3296,00	3521,00	3460,00	4132,00	2754,00
0,75 h.	3201,00	3415,00	3349,00	4080,00	2643,00
1,00 h.	2966,00	3160,00	3102,00	3790,00	2479,00
1,50 h.	2475,00	2637,00	2599,00	3130,00	2166,00
2,00 h.	2055,00	2205,00	2175,00	2570,00	1893,00
4,00 h.	997,00	1178,00	1124,00	1266,00	1123,00
6,00 h.	509,00	703,00	635,00	708,00	691,00
8,00 h.	281,00	449,00	389,00	434,00	445,00
10,00 h.	171,00	296,00	254,00	281,00	302,00
12,00 h.	115,00	199,00	174,00	187,00	217,00
24,00 h.	33,00	20,00	24,00	19,00	-

TABLA 16.- Concentraciones teóricas de norfloxacin, en  $\mu\text{g/L}$ , en cada conejo obtenidas de su correspondiente ecuación, tras aplicar el modelo farmacocinético bicompartmental.

Tiempo	N	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
0,083 h.	5	1479,00	92,28	41,27	6,24	0,984
0,16 h.	5	2379,80	207,43	92,77	8,72	0,965
0,25 h.	5	2918,80	314,86	140,81	10,79	0,967
0,50 h.	5	3432,60	494,19	221,01	14,40	0,956
0,75 h.	5	3337,60	514,39	230,04	15,41	0,935
1,00 h.	5	3099,40	469,92	210,15	15,16	0,917
1,50 h.	5	2601,40	348,65	155,92	13,40	0,890
2,00 h.	5	2179,60	250,37	111,97	11,49	0,889
4,00 h.	5	1137,60	97,83	43,75	8,60	0,934
6,00 h.	5	649,20	83,60	37,39	12,88	0,789
8,00 h.	5	399,60	70,47	31,51	17,63	0,804
10,00 h.	5	260,80	53,51	23,93	20,52	0,915
12,00 h.	5	178,40	38,82	17,36	21,76	0,901
24,00 h.	5	24,00	6,38	2,85	26,57	0,964

TABLA 17.- Estadísticos de las concentraciones teóricas de norfloxacino, en  $\mu\text{g/L}$ , y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración de una dosis intramuscular de 10 mg/kg a conejos.

CONEJOS	Correlación de Pearson	$R^2$
$C_1$ experimental- $C_1$ teórico	0,987	0,973
$C_2$ experimental- $C_2$ teórico	0,995	0,990
$C_3$ experimental- $C_3$ teórico	0,990	0,980
$C_4$ experimental- $C_4$ teórico	0,989	0,979
$C_5$ experimental- $C_5$ teórico	0,988	0,977

TABLA 18.- Correlación de Pearson y regresión entre las concentraciones experimentales y teóricas en cada animal, obtenidas tras la administración intramuscular.

Parámetros	Unidades	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
AUC	µg h/L	12452,84	14859,20	14038,68	16256,74	13456,53
AUMC	µg h <sup>2</sup> /L	54490,63	63775,89	59925,63	63931,33	63458,31
MRT	h	4,3758	4,2920	4,2686	3,9326	4,7158
MAT	h	2,3369	1,6305	1,9507	1,9190	3,0377
C <sub>max</sub>	µg/L	3729,88	3661,82	3684,51	4491,20	2832,44
t <sub>max</sub>	h	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
F	%	139,30	116,59	81,07	124,04	103,72

TABLA 19.- Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada animal tras la administración intramuscular de norfloxacino a dosis de 10 mg/kg.

Parámetros	Unidades	N	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
AUC	µg h/L	5	14212,80	1440,07	6440,21	10,13	1,000
AUMC	µg h <sup>2</sup> /L	5	61116,36	4055,86	1813,84	6,64	0,692
MRT	h	5	4,3170	0,2798	0,1251	6,48	0,952
MAT	h	5	2,1750	0,5438	0,2432	25,00	0,987
C <sub>max</sub>	µg/L	5	3679,97	587,21	262,61	15,96	0,802
t <sub>max</sub>	h	5	0,75	0	0	0	1.000
F	%	5	112,95	21,98	9,83	19,46	0,999

TABLA 20.- Estadísticos de los parámetros no compartimentales obtenidos para cada animal y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov, tras la administración intramuscular de norfloxacino a dosis de 10 mg/kg.

Tiempo	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
0,083 h.	1099,32	1397,70	1696,07	1409,70	1763,12
0,16 h.	1439,02	2051,56	2664,09	2063,56	3131,89
0,25 h.	1813,00	2493,91	3174,82	2505,91	3758,93
0,50 h.	3623,60	4014,95	4406,29	4026,95	5315,85
0,75 h.	3573,86	3597,28	3620,69	3609,28	4690,18
1,00 h.	3481,89	3545,43	3608,96	3557,43	3948,61
1,50 h.	2238,85	2763,42	3287,99	2775,42	2754,11
2,00 h.	1282,22	1373,62	1465,02	1385,62	1806,82
4,00 h.	371,70	652,34	932,99	664,34	747,29
6,00 h.	328,36	349,09	369,82	361,09	335,13
8,00 h.	162,99	202,56	242,14	214,56	189,43
10,00 h.	75,91	191,86	307,81	203,86	154,17
12,00 h.	28,88	55,83	82,77	67,83	64,61
24,00 h.	5,65	7,14	9,64	19,14	19,19

TABLA 21.- Concentraciones plasmáticas experimentales de norfloxacin, en  $\mu\text{g/L}$ , en cada conejo tras la administración subcutánea de una dosis de 10 mg/kg.

Tiempo	N	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
0,083 h.	5	1643,31	479,92	214,63	2,92	0,989
0,16 h.	5	2773,78	1363,24	609,66	4,91	0,962
0,25 h.	5	3339,26	1590,13	711,13	4,76	0,956
0,50 h.	5	4884,22	1593,50	712,63	3,26	0,910
0,75 h.	5	4327,88	1322,34	591,37	3,06	0,247
1,00 h.	5	3816,21	488,63	218,52	1,28	0,602
1,50 h.	5	2759,22	332,04	148,49	1,20	0,796
2,00 h.	5	1664,42	526,51	235,46	3,16	0,776
4,00 h.	5	717,64	210,83	94,28	2,94	0,893
6,00 h.	5	341,79	22,94	10,26	0,67	0,996
8,00 h.	5	195,81	30,75	13,75	1,57	1,000
10,00 h.	5	168,73	87,21	39,00	5,17	0,970
12,00 h.	5	63,69	19,99	8,94	3,14	0,972
24,00 h.	5	17,18	14,18	6,34	8,25	0,903

TABLA 22.- Estadísticos de las concentraciones plasmáticas experimentales de norfloxacin, en  $\mu\text{g/L}$  y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov, tras la administración de una dosis subcutánea de 10 mg/kg a conejos.



Parámetros	Unidades	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
$C_a$	$\mu\text{g/L}$	-6136,83	-6208,39	-6858,76	-5188,11	-6659,62
$C_1$	$\mu\text{g/L}$	4272,62	4281,52	4576,11	4182,78	5575,55
$C_z$	$\mu\text{g/L}$	342,44	792,59	9250,00	4182,78	292,48
$k_a$	$\text{h}^{-1}$	2,88	3,68	4,27	4,32	4,84
$\lambda_1$	$\text{h}^{-1}$	0,75	0,75	0,83	0,57	0,60
$\lambda_z$	$\text{h}^{-1}$	0,19	0,20	0,20	0,13	0,12
$t_{1/2\lambda_1}$	h	0,93	0,93	0,83	0,16	1,16
$t_{1/2\lambda_z}$	h	3,71	3,43	3,42	5,52	5,96
$t_{1/2k_a}$	h	0,24	0,19	0,16	0,16	0,14

TABLA 23.- Parámetros farmacocinéticos bicompartimentales deducidos tras la administración subcutánea de norfloxacin, a dosis de 10 mg/kg, a cada una de los conejos a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste.

Parámetros	N	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
$C_a$	5	-6210,34	646,66	289,19	10,41	0,902
$C_1$	5	4577,71	577,16	258,12	12,61	0,755
$C_z$	5	1346,19	1621,83	725,31	54,22	0,630
$k_a$	5	4,00	0,75	0,33	18,68	0,933
$\lambda_1$	5	0,70	0,11	0,05	15,84	0,864
$\lambda_z$	5	0,17	0,04	0,02	25,46	0,821
$t_{1/2\lambda_1}$	5	0,80	0,38	0,17	47,18	0,633
$t_{1/2\lambda_z}$	5	4,41	1,23	0,55	27,98	0,706
$t_{1/2k_a}$	5	0,18	0,03	0,01	21,20	0,860

TABLA 24.- Estadísticos de los parámetros farmacocinéticos bicompartimentales deducidos de las ecuaciones de ajuste correspondientes a la administración subcutánea de norfloxacin, a la dosis de 10 mg/kg y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov

TIEMPO	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
0,083 h.	952,00	1299,00	1648,00	1336,00	1893,00
0,16 h.	1648,00	2187,00	2711,00	2211,00	3072,00
0,25 h.	2149,00	2781,00	3375,00	2773,00	3784,00
0,50 h.	2850,00	3471,00	4002,00	3370,00	4409,00
0,75 h.	2904,00	3396,00	3779,00	3274,00	4163,00
1,00 h.	2691,00	3074,00	3340,00	2980,00	3715,00
1,50 h.	2075,00	2346,00	2491,00	2346,00	2845,00
2,00 h.	1526,00	1761,00	1862,00	1826,00	2164,00
4,00 h.	463,00	644,00	728,00	715,00	772,00
6,00 h.	184,00	310,00	388,00	331,00	326,00
8,00 h.	97,00	180,00	240,00	185,00	172,00
10,00 h.	60,00	114,00	157,00	121,00	110,00
12,00 h.	40,00	75,00	104,00	87,00	79,00
24,00 h.	4,00	7,00	9,00	18,00	18,00

TABLA 25.- Concentraciones teóricas de norfloxacin, en  $\mu\text{g/L}$ , en cada conejo obtenidas de su correspondiente ecuación, tras aplicar el modelo farmacocinético bicompartimental, tras administración subcutánea de norfloxacin en cada animal.

Tiempo	N	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
0,083 h.	5	1425,60	359,26	160,67	25,20	0,989
0,16 h.	5	2365,80	545,22	243,83	23,05	0,978
0,25 h.	5	2972,40	627,53	280,64	21,11	0,969
0,50 h.	5	3620,40	601,26	268,89	16,61	0,989
0,75 h.	5	3503,20	483,34	216,16	13,80	0,995
1,00 h.	5	3160,00	387,36	173,23	12,26	0,995
1,50 h.	5	2420,60	280,91	125,63	11,60	0,985
2,00 h.	5	1827,80	228,99	102,41	12,53	0,934
4,00 h.	5	664,40	121,62	54,39	18,30	0,884
6,00 h.	5	307,80	75,22	33,64	24,44	0,716
8,00 h.	5	174,80	51,10	22,85	29,23	0,834
10,00 h.	5	112,40	34,70	15,52	30,87	0,852
12,00 h.	5	77,00	23,48	10,50	30,50	0,871
24,00 h.	5	11,20	6,46	2,89	57,66	0,904

TABLA 26.- Estadísticos de las concentraciones teóricas de norfloxacin, en mg/L, tras la administración de una dosis subcutánea de 10 mg/kg a conejos, y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov.

Conejos	Correlación de Pearson	R <sup>2</sup>
C <sub>1</sub> experimental-C <sub>1</sub> teórico	0,975	0,951
C <sub>2</sub> experimental-C <sub>2</sub> teórico	0,985	0,971
C <sub>3</sub> experimental-C <sub>3</sub> teórico	0,983	0,967
C <sub>4</sub> experimental-C <sub>4</sub> teórico	0,981	0,963
C <sub>5</sub> experimental-C <sub>5</sub> teórico	0,990	9,81

TABLA 27.- Correlación de Pearson y regresión entre las concentraciones experimentales y teóricas en cada animal, obtenidas tras la administración subcutánea de norfloxacin.

Parámetros	Unidades	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3	Conejo 4	Conejo 5
AUC	$\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$	8465,26	10284,80	12108,78	10637,90	1218,23
AUMC	$\mu\text{g}\cdot\text{h}^2/\text{L}$	22000,85	31046,09	40224,28	36493,83	37470,11
MRT	h	2,5990	3,0186	3,3219	3,4305	3,0758
MAT	h	0,5601	0,3571	1,004	3,4169	1,3977
$C_{\text{max}}$	$\mu\text{g}/\text{L}$	3623,60	4014,95	4406,29	4026,95	5315,85
$t_{\text{max}}$	h	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
F	%	94,69	80,70	69,92	81,17	93,90

TABLA 28.- Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada animal tras la administración subcutánea de norfloxacino a dosis de 10 mg/kg.

Parámetros	Unidades	N	Media	S.D.	S.E.	C.V.	NS
AUC	$\mu\text{g h}/\text{L}$	5	10735,82	1528,55	683,59	14,24	0,974
AUMC	$\mu\text{g h}^2/\text{L}$	5	33447,03	7214,20	3226,29	21,57	0,878
MRT	h	5	3,0892	0,3226	0,1443	10,44	0,977
MAT	h	5	1,3472	1,2251	0,5479	75,94	0,816
$C_{\text{max}}$	$\mu\text{g}/\text{L}$	5	4277,53	643,05	287,58	15,03	0,910
$T_{\text{max}}$	h	5	0,5	0	0	0	1,000
F	%	5	84,08	10,36	4,63	12,32	0,957

TABLA 29.- Estadísticos de los parámetros no compartimentales obtenidos para cada animal y nivel de significación obtenido tras realizar el Test de Kolmogorov-Smirnov tras la administración subcutánea de norfloxacino a dosis de 10 mg/kg

Parámetros	Unidades	IV	IM	SC
$\lambda_z$	$h^{-1}$	0,22	0,16	0,17 <sup>b</sup>
$t_{1/2\lambda_z}$	h	4,73	4,92	4,41 <sup>b</sup>
$k_a$	$h^{-1}$	-	4,78	4,00 <sup>b</sup>
$t_{1/2k_a}$	h	-	0,13	0,39
AUC	$\mu g \cdot h/L$	13016,12	14212,80 <sup>a</sup>	10735,82 <sup>a</sup>
AUMC	$\mu g \cdot h^2/L$	28089,26	61116,36	33447,03 <sup>a</sup>
MRT	h	2,1420	4,3170	3,0892
MAT	h	-	2,1750	1,3472
$C_{max}$	$\mu g/L$	-	3679,97	4277,53 <sup>b</sup>
$t_{max}$	h	-	0,75	0,50 <sup>b</sup>
F	%	-	112,95	84,08

<sup>a</sup>Diferencias significativas con la administración IV ( $p < 0,05$ )

<sup>b</sup>Diferencias significativas con la administración IM ( $p < 0,05$ )

Tabla 30.- Estudio comparativo paramétrico (t-Student) y no paramétrico (test de Wilcoxon) entre los parámetros farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales entre la vía intravenosa y las dos vías extravasculares, intramuscular y subcutánea, tras la administración de norfloxacino a una dosis de 10 mg/kg.

## 10.2.- GRÁFICOS



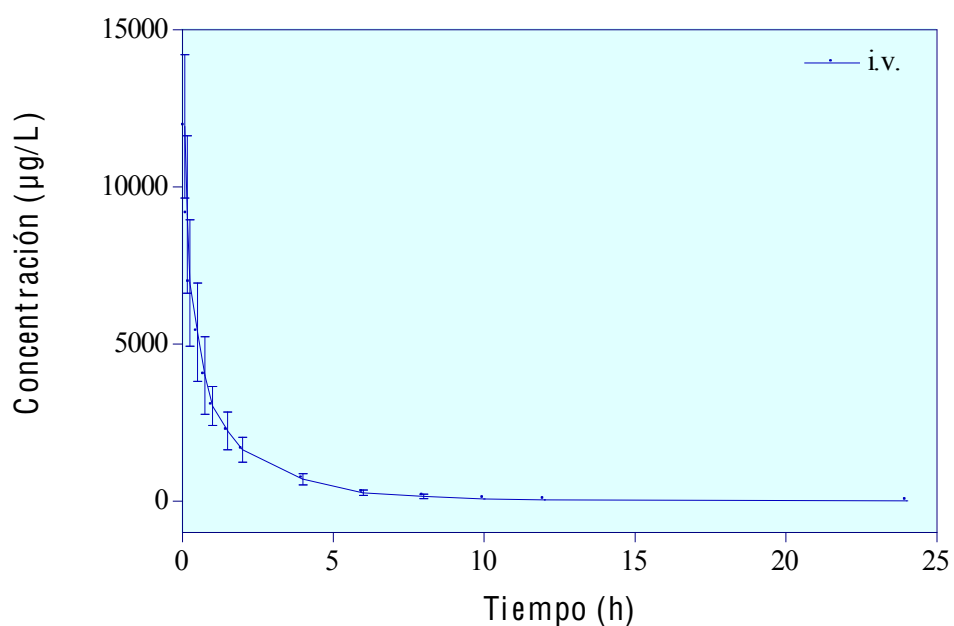


Gráfico 1.- Representación gráfica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de norfloxacino obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg.

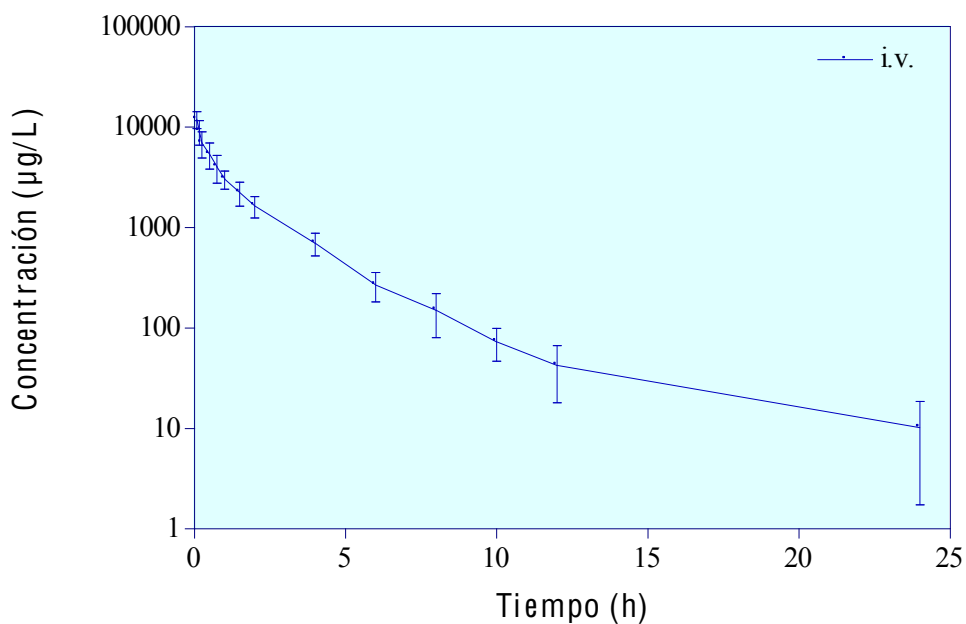


Gráfico 2.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de norfloxacino obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg.



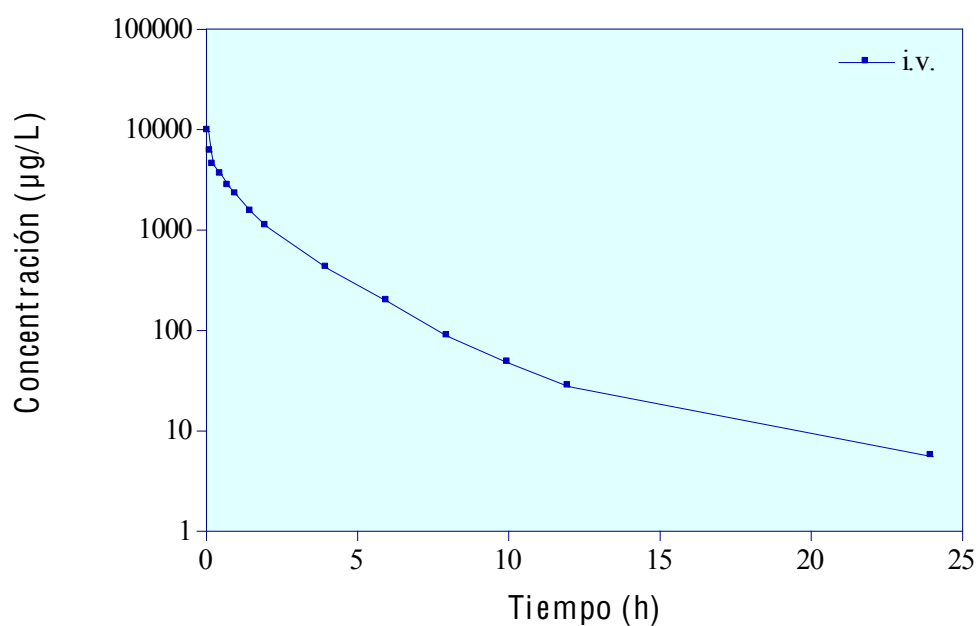


Gráfico 3.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg al conejo 1.

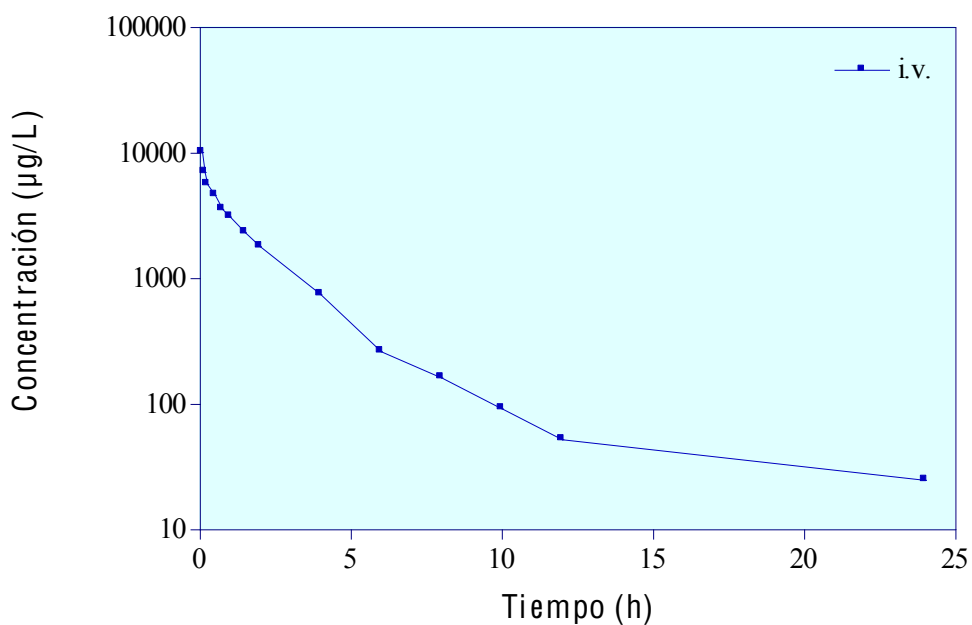


Gráfico 4.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg al conejo 2.

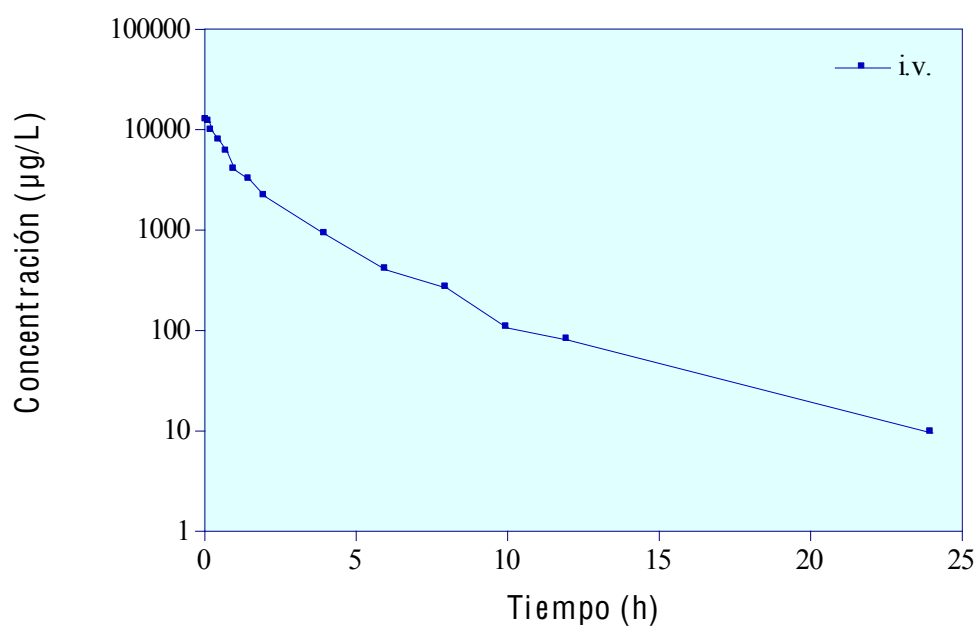


Gráfico 5.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg al conejo 3.

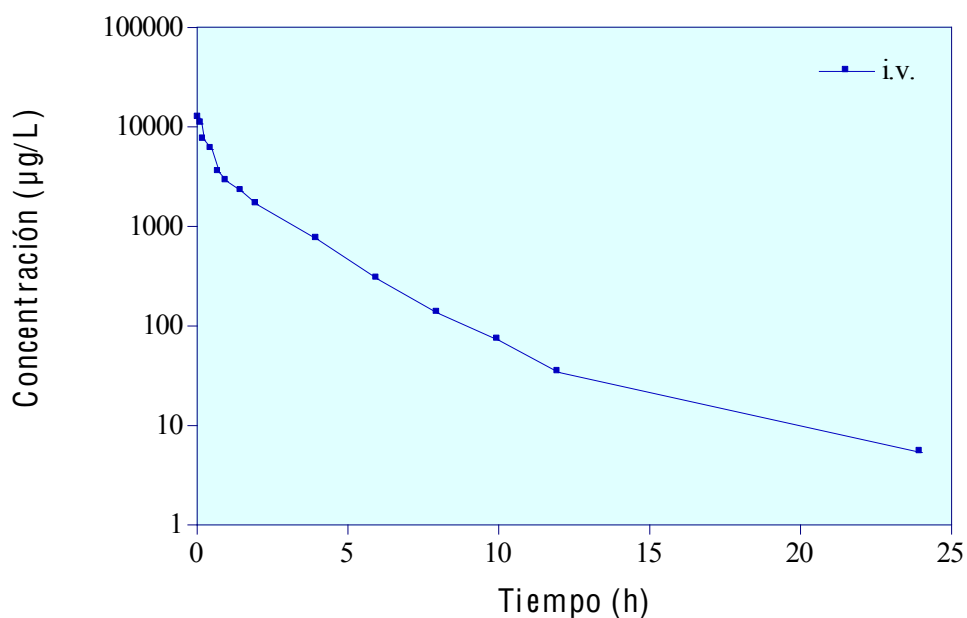


Gráfico 6.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg al conejo 4.

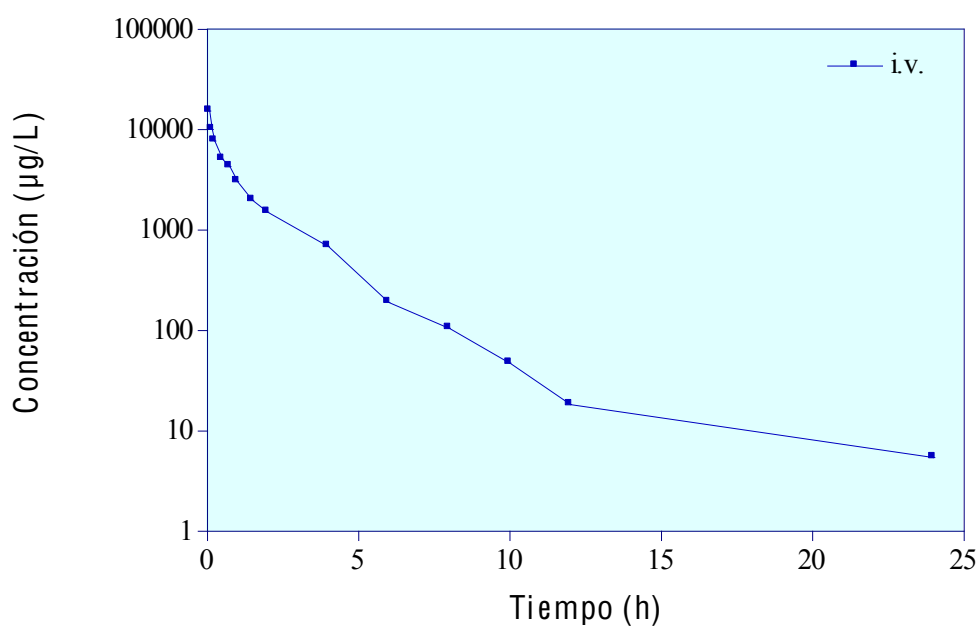


Gráfico 7.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg al conejo 5.

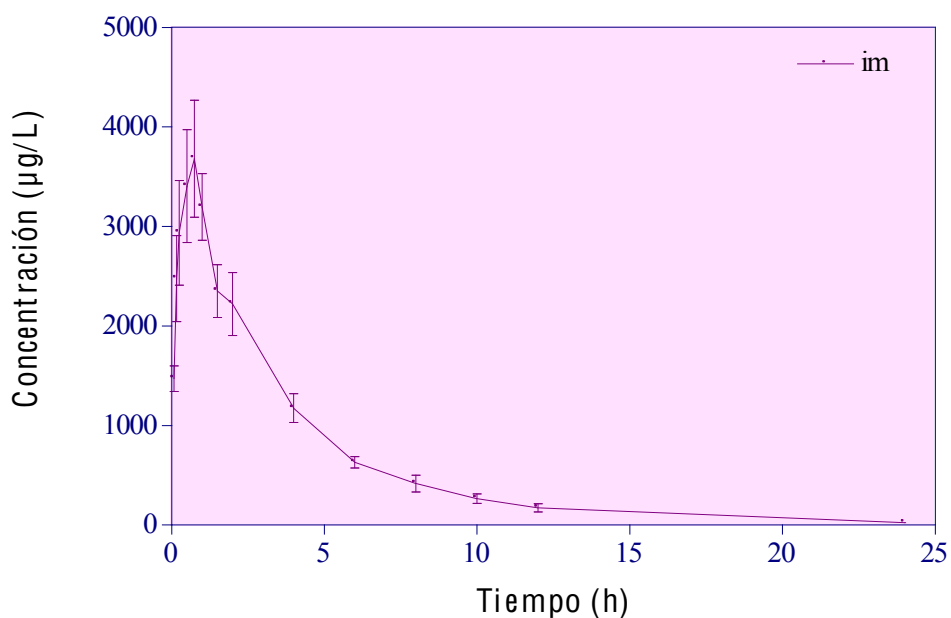


Gráfico 8.- Representación gráfica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de norfloxacino obtenidas tras la administración intramuscular de una dosis de 10 mg/kg.

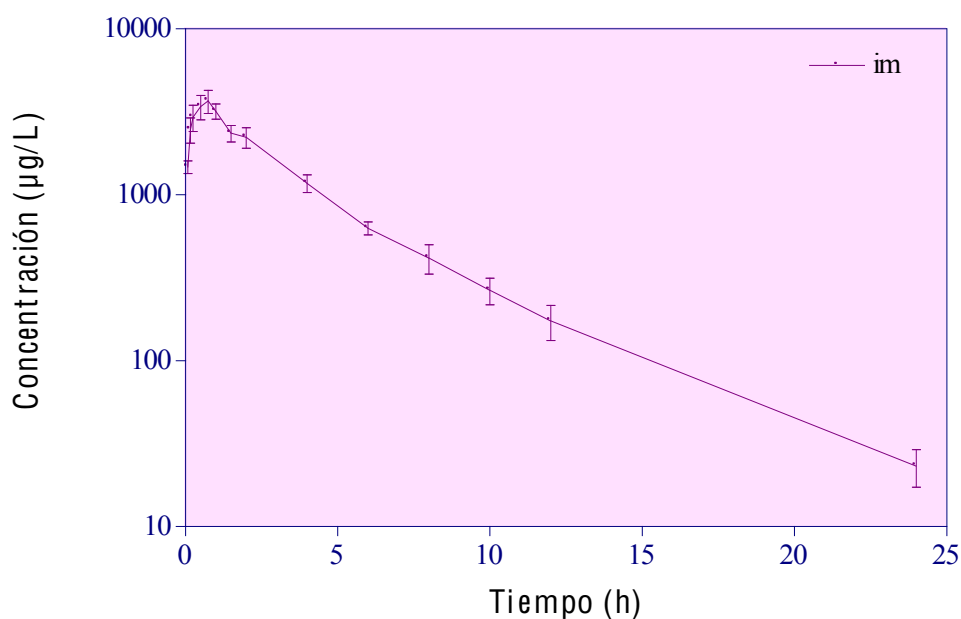


Gráfico 9.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de norfloxacino obtenidas tras la administración intramuscular de una dosis de 10 mg/kg.

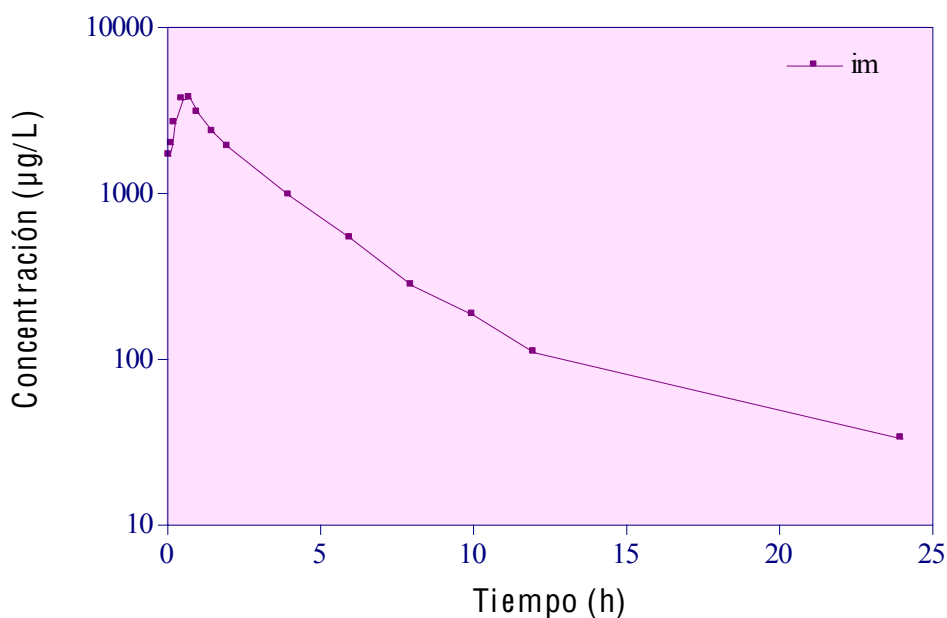


Gráfico 10.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración intramuscular de una dosis de 10 mg/kg al conejo 1.

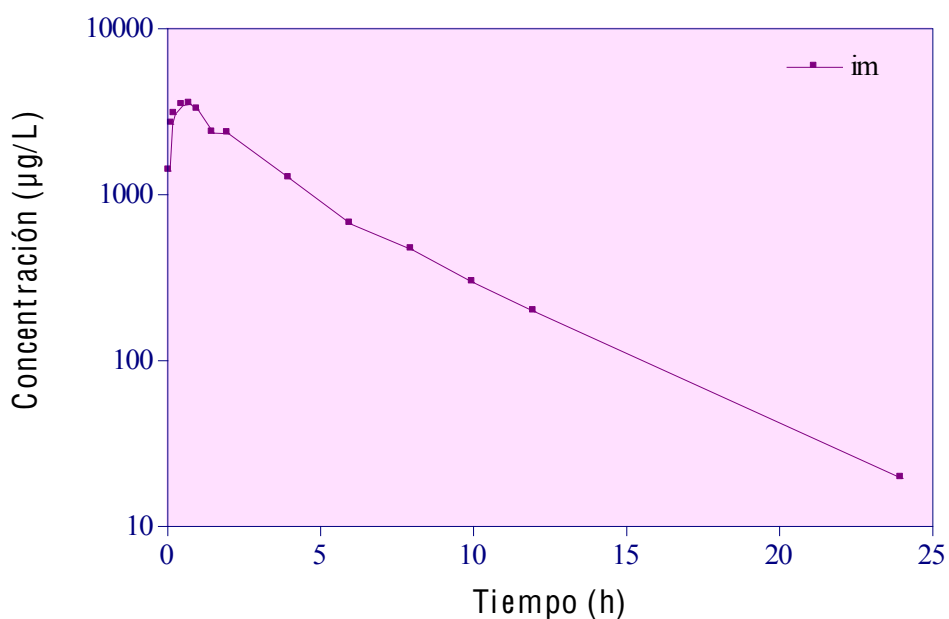


Gráfico 11.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración intramuscular de una dosis de 10 mg/kg al conejo 2.

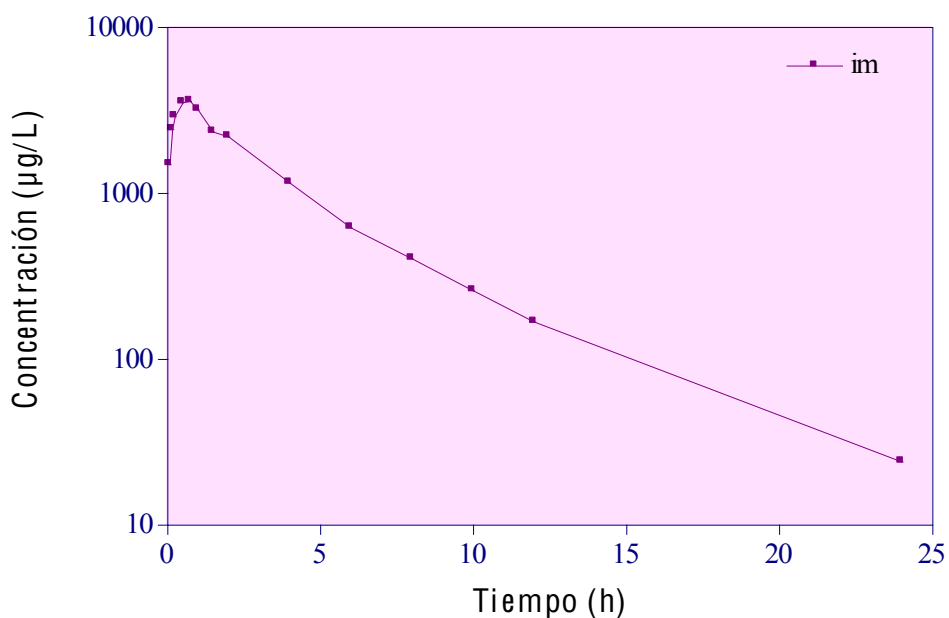


Gráfico 12.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración intramuscular de una dosis de 10 mg/kg al conejo 3.

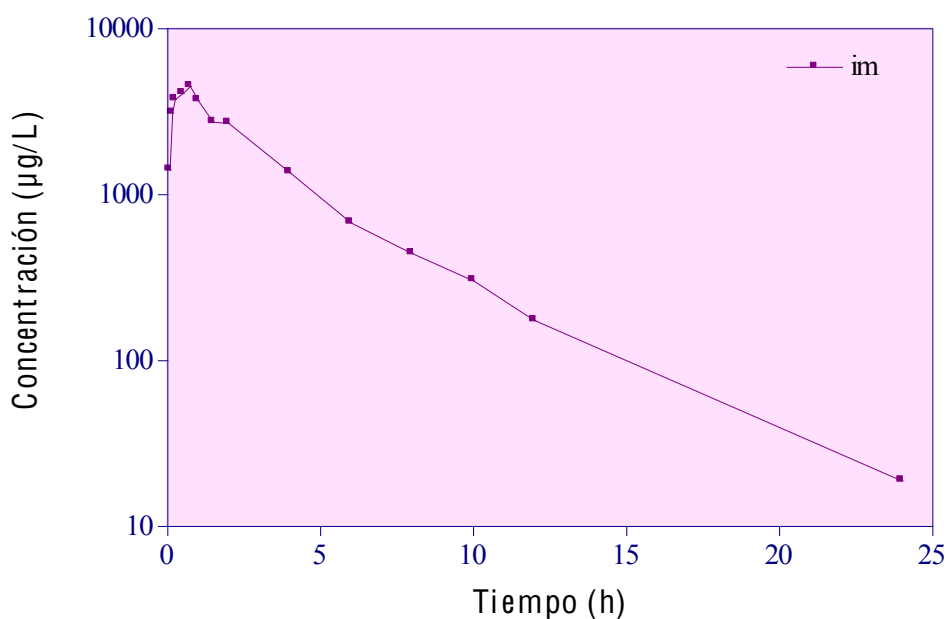


Gráfico 13.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración intramuscular de una dosis de 10 mg/kg al conejo 4.

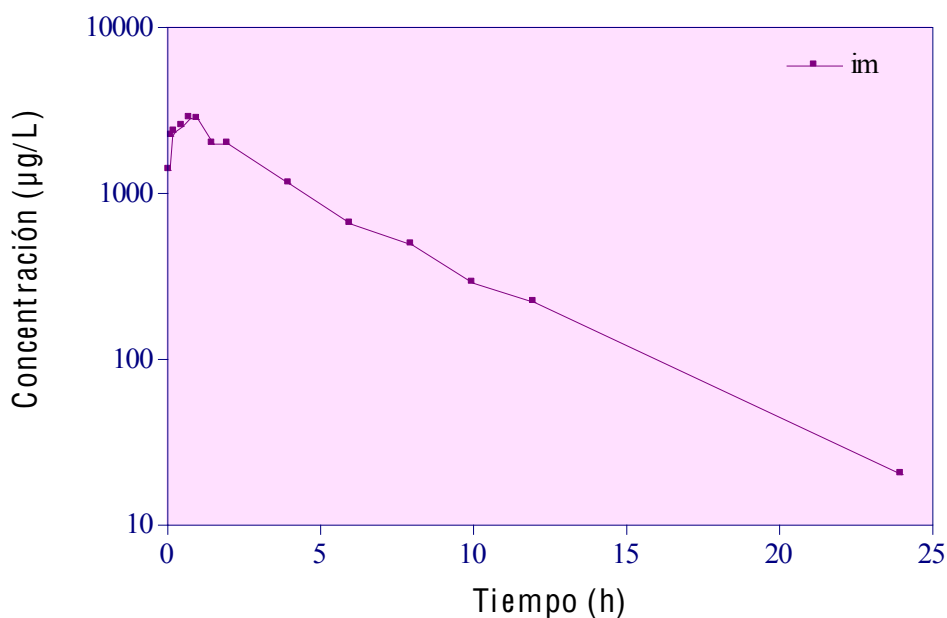


Gráfico 14.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración intramuscular de una dosis de 10 mg/kg al conejo 5.

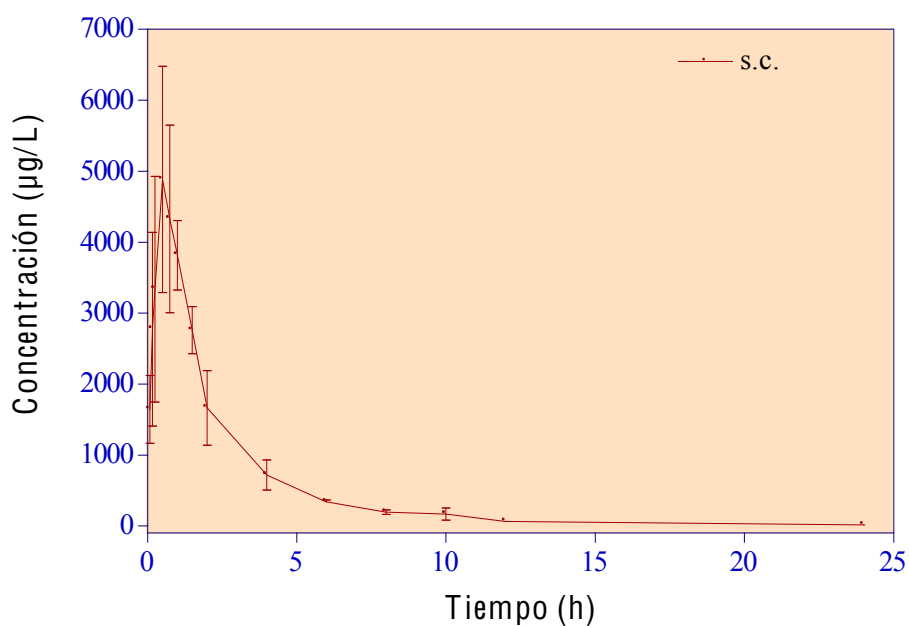


Gráfico 15.- Representación gráfica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de norfloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 10 mg/kg.

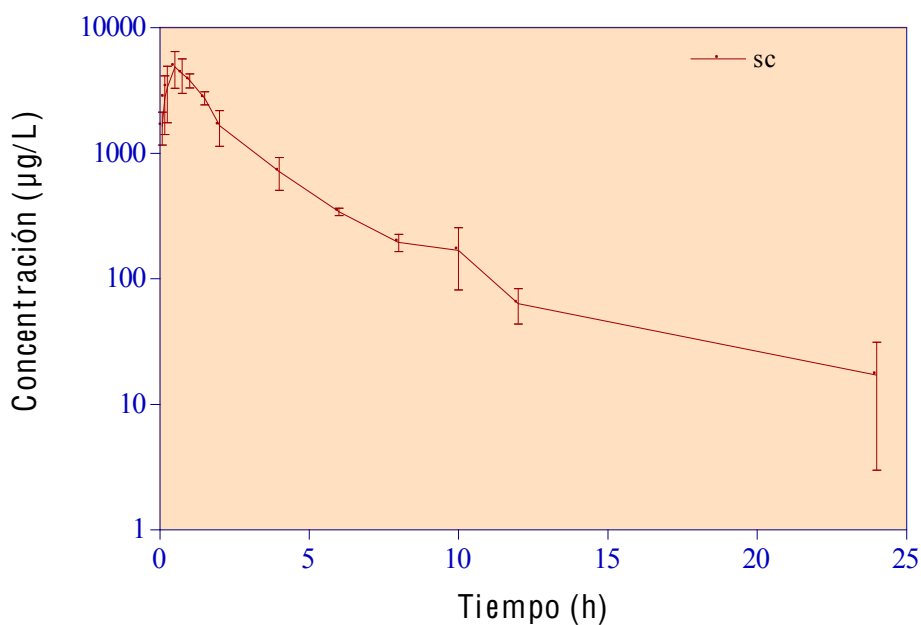


Gráfico 16.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de norfloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 10 mg/kg.

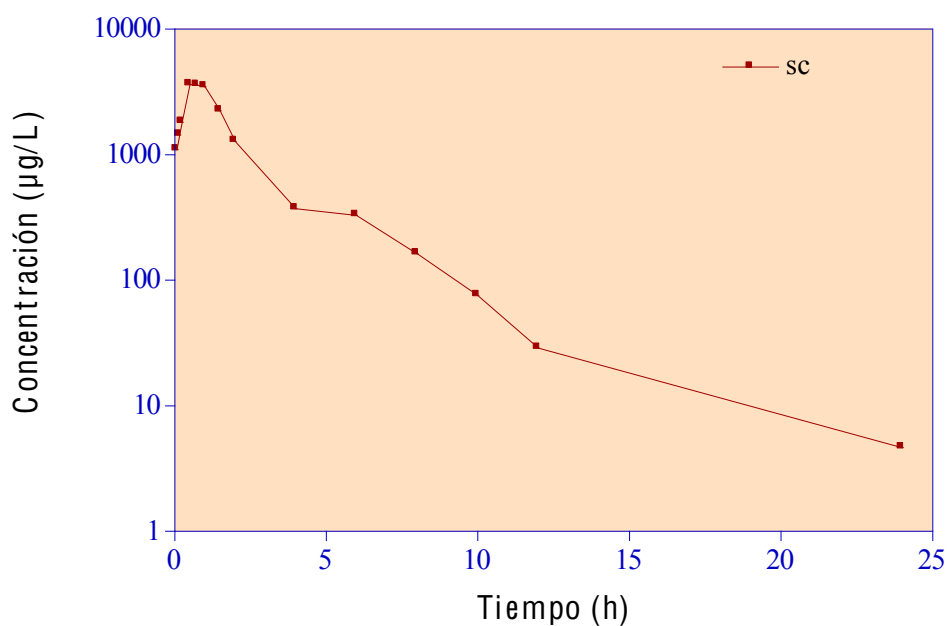


Gráfico 17.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 10 mg/kg al conejo 1.

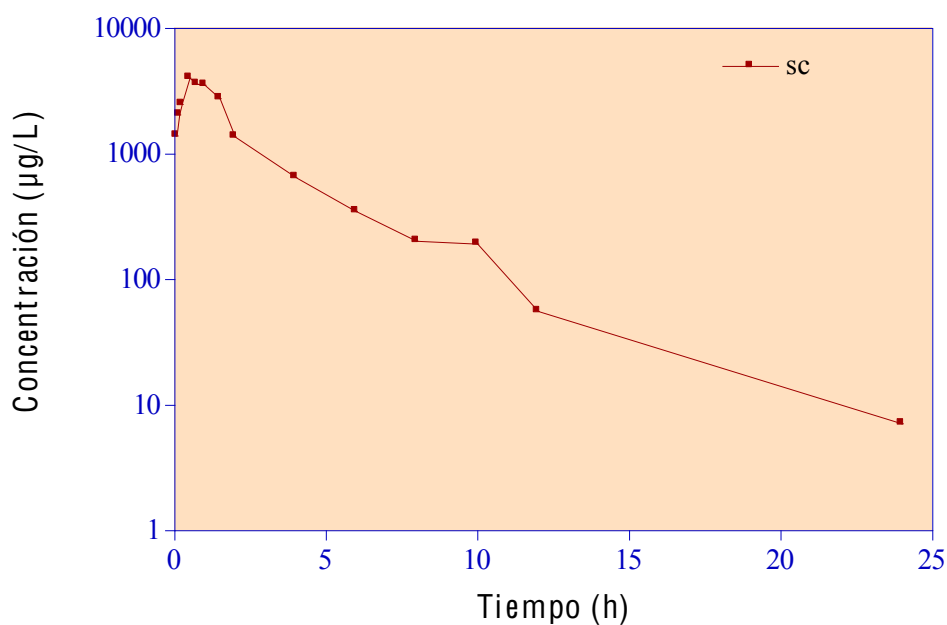


Gráfico 18.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 10 mg/kg al conejo 2.



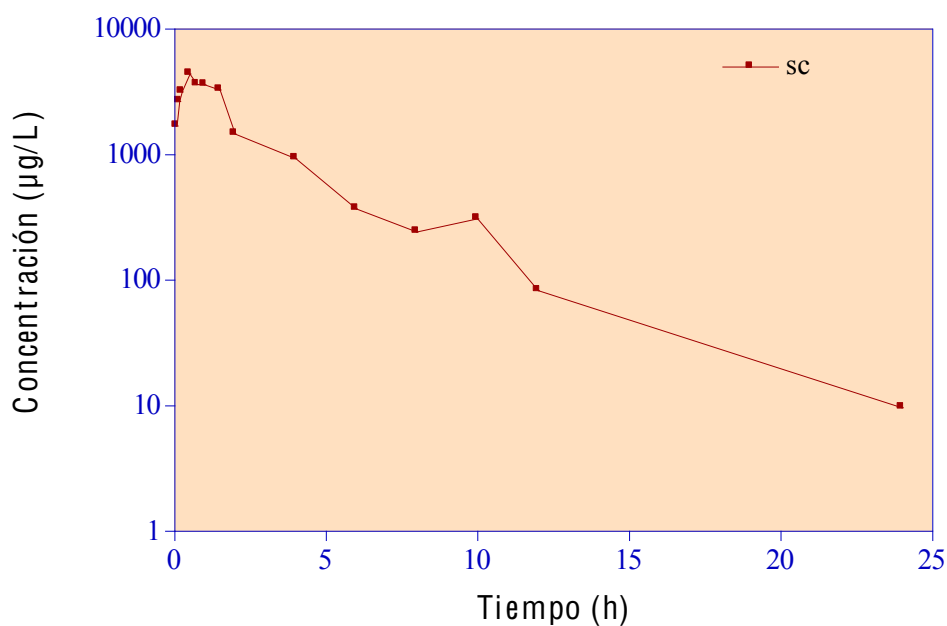


Gráfico 19.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 10 mg/kg al conejo 3.

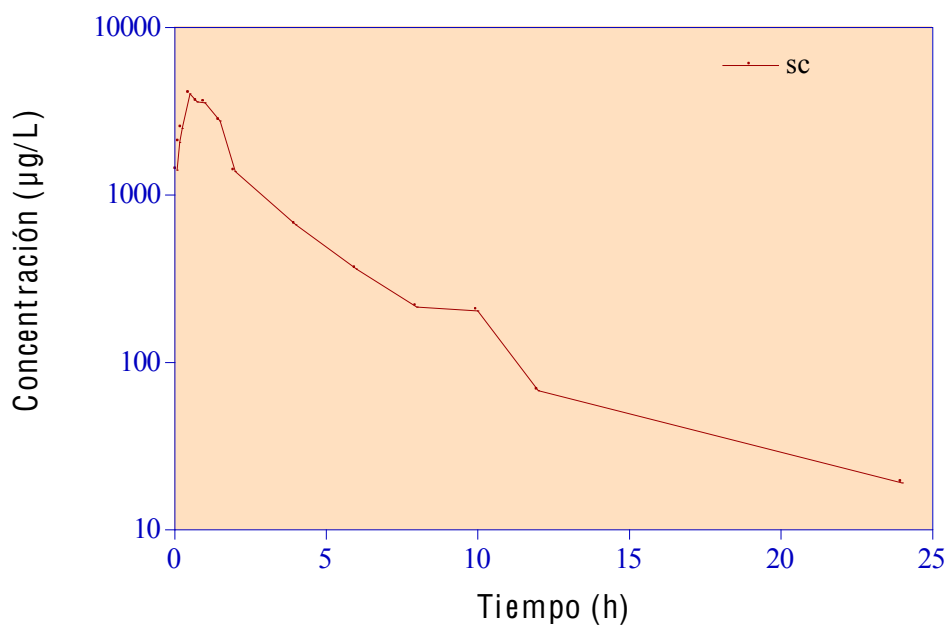


Gráfico 20.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 10 mg/kg al conejo 4.

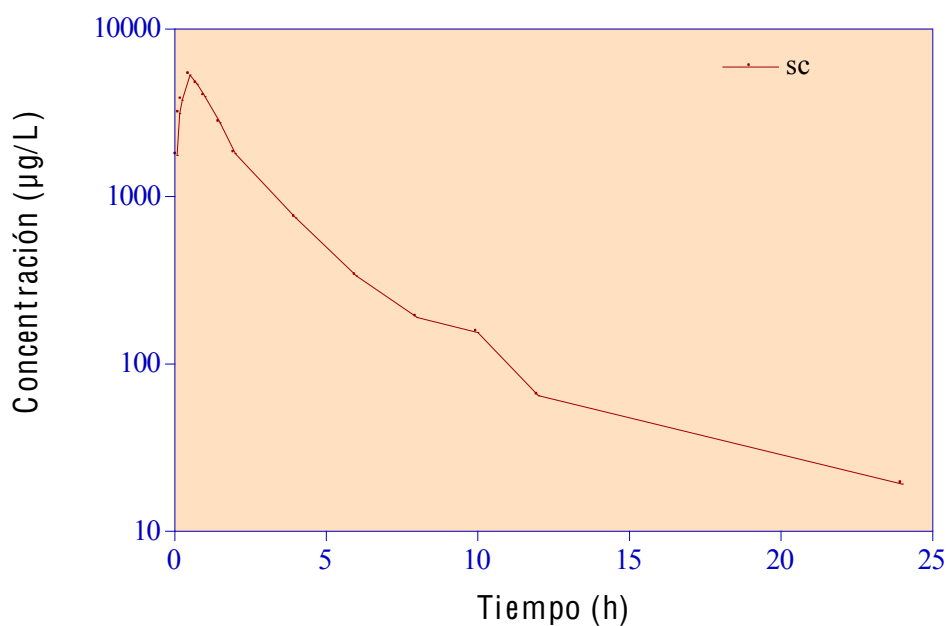


Gráfico 21.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de norfloxacino obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 10 mg/kg al conejo 5.

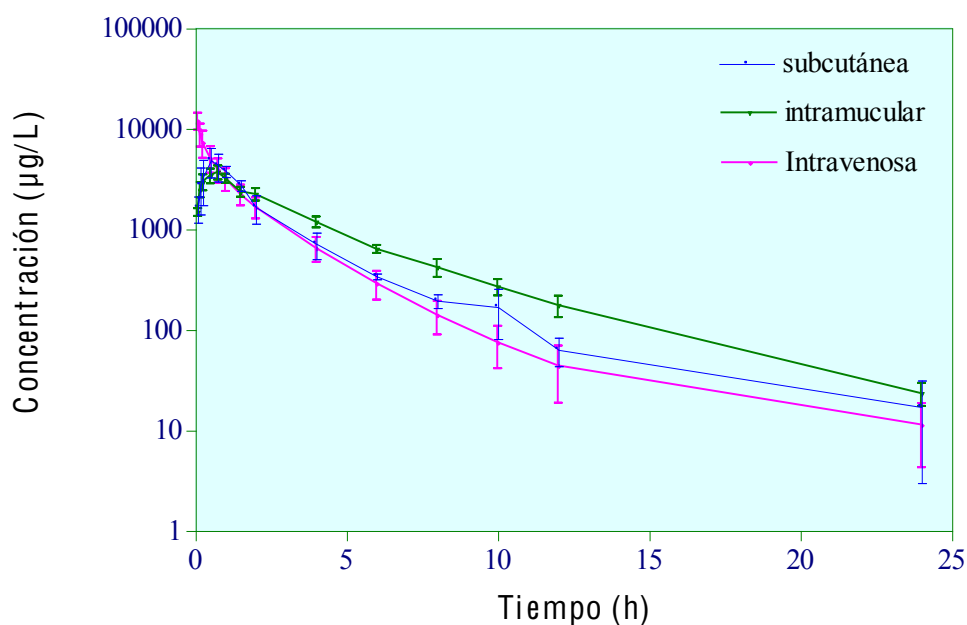


Gráfico 22.- Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales medias ( $\pm$  SD) de norfloxacino obtenidas tras la administración de una dosis de 10 mg/kg por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea.



## 10.3.- ABREVIATURAS



## A. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

- AIC: Criterio de información de AKAIKE.
- C.V.: Coeficiente de variación.
- N.S.: Nivel de significación.
- p: Probabilidad.
- R: coeficiente de correlación (r)
- R<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación
- RSD: desviación estándar relativa a una serie de repeticiones de concentraciones determinadas.
- S.D.: Desviación estándar.
- S.E.: Error estándar.
- W: Factor de ponderación.

## B. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

- AUC: Área bajo la curva, calculada según métodos no compartimentales.
- Cl: Aclaramiento plasmático calculado en función del área bajo la curva.
- C<sub>máx</sub>: Concentración periférica máxima (administración intravenosa), concentración plasmática máxima (administración intramuscular, oral y subcutánea).
- C<sub>z</sub>: Concentración plasmática extrapolada a tiempo cero de la fase de disposición lenta.
- C<sub>0</sub>: Concentración plasmática inicial teórica.
- C<sub>1</sub>: Concentración plasmática extrapolada a tiempo cero de la fase de disposición rápida.
- D: Dosis.
- F: Biodisponibilidad.
- fu: Fracción libre de fármaco, no unido a proteínas plasmáticas.
- k<sub>a</sub>: Constante aparente de absorción.
- k<sub>10</sub>: Constante de eliminación.
- k<sub>12</sub>: Constante de transferencia al compartimento periférico.
- k<sub>21</sub>: Constante de retorno desde el compartimento periférico.
- k<sub>31</sub>: Constante de retorno desde el compartimento periférico.
- k<sub>13</sub>: Constante de transferencia desde el compartimento periférico.

- $\lambda_1$ : Constante híbrida de disposición rápida.
- $\lambda_2$ : Constante híbrida de disposición intermedia.
- $\lambda_z$ : Constante híbrida de disposición lenta.
- MAT: Tiempo medio de absorción.
- MRT: Tiempo medio de residencia.
- $t_{m\acute{a}x}$ : Tiempo en el que se alcanza la concentración periférica máxima (administración intravenosa), tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima (administración intramuscular).
- $t_{max}$ : tiempo en el que se alcanza la concentración periférica máxima
- $t_{1/2}$ : Tiempo de vida media o vida media del fármaco.
- $t_{1/2\lambda 1}$ : Tiempo de vida media de la fase de disposición rápida.
- $t_{1/2\lambda 2}$ : Tiempo de vida media de la fase de disposición intermedia (modelo tricompartmental).
- $t_{1/2z}$ : Tiempo de vida media de la fase de disposición lenta.
- $\tau$ : Intervalo de dosificación.
- UPP: Unión a proteínas plasmáticas.
- $V_{ss}$ : Volumen de distribución aparente en estado estacionario.
- $V_z$ : Volumen de distribución aparente en función del área bajo la curva.

### C. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS-FARMACODINÁMICOS

- AUC/CMI: Relación del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo y la concentración mínima inhibitoria para un microorganismo dado. Cuando no se especifica, se asume que el AUC corresponde a un periodo de 24 horas.
- $C_{m\acute{a}x}/CMI$ : Relación entre la concentración plasmática máxima tras la administración de un antimicrobiano y la concentración mínima inhibitoria.
- CMI: Concentración mínima inhibitoria.
- CPM: Concentración preventiva de mutantes.
- PK-PD: Farmacocinético-farmacodinámico.
- VSM: Ventana de selección de mutaciones.

## D. OTRAS ABREVIATURAS EMPLEADAS EN EL PRESENTE MANUSCRITO

- CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute.
- DACD: Diarrea asociada a *Clostridium difficile*.
- EPA: efecto postantibiótico.
- F: Biodisponibilidad
- FDA: Food and Drug Administration.
- g: gramo.
- $g$ : Constante gravitatoria ( $980 \text{ cm/s}^2$ ).
- GABA: receptor del ácido gamma-aminobutírico.
- h: hora.
- ICAAC: Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy.
- IM: intramuscular.
- IV: intravenosa.
- kg: kilogramo.
- $\mu\text{g/L}$ : microgramo por litro.
- NFLX: norfloxacino
- p.o: por vía oral.
- QRDR: *quinolone resistance-determining regions*, regiones del cromosoma bacteriano determinantes de la resistencia a las quinolonas.
- rpm: revoluciones por minuto.
- SC: subcutáneo.