



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**FARMACOCINETICA DE LA DANOFLOXACINA
EN CABALLOS SANOS**

T E S I S

Que para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

Gabriel Gaspar Ramírez Ramírez



ASESORES: M. V. Z. Héctor Sumano López

M. V. Z. María Masri Dabba

M. V. Z. Cristina Escalante

México, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA LE CRIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
HIPOTESIS	6
OBJETIVO	6
MATERIAL Y METODOS	7
I. Obtención de las muestras	7
II Determinación de la concentración del quimioterapéu <u>t</u> co	8
III Determinación de la Cinética del quimioterapéutico.	10
RESULTADOS	12
DISCUSION	13
LITERATURA CITADA	15
CUADROS	17
FIGURAS	22

Farmacocinética de la danofloxacin en caballos sanos.

RESUMEN.

El presente estudio se realizó con un total de 11 caballos, a los cuales se les realizó un examen clínico y se les realizaron biometrías hemáticas y químicas sanguíneas para corroborar que se trataban de caballos sanos, el número total de caballos se dividió en tres grupos: grupo A con cinco individuos a los cuales se les administró una sola dosis (1.25 mg/kg) de danofloxacin I.U., según la recomendación del laboratorio (Pfizer Lab.) y se obtuvieron de estas muestras sanguíneas a los 15, 30, 45 minutos, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 horas, grupo B se dosificaron a la misma dosis durante tres días con intervalo de 24 hs I.M. y se obtuvieron muestras sanguíneas 1 hr y 8 hs después de la aplicación del medicamento y se siguió muestreando 48 hs después de la última aplicación con el mismo intervalo, grupo C se dosificaron a la misma dosis en dos ocasiones I.U. y se obtuvo un patron de muestreo igual al grupo A. Se obtuvo la concentración del quimioterapéutico en plasma por medio de una modificación de la prueba de Bennett et. al. Con estas concentraciones se obtuvo la cinética del quimioterapéutico con los siguientes resultados: grupo A vida media distribución 31 min, vida media distribución-eliminación 4 hs 15 min, volumen de distribución aparente considerando Area bajo la curva 1.06 l/kg, volumen de distribución central 514 min, y depuración total sanguínea 56.8 ml/kg/h, concentración máxima al tiempo cero extrapolado .16 µg/ml

INTRODUCCION.

El ácido nalidixico se sintetiza y se pone a disposición de la comunidad médica en el año de 1962, siendo el primero de una clase de antimicrobianos sintéticos derivados de la 1-8 naftiridina, también conocida como quinolona (4, 10) (figura 1).

Inicialmente, el medicamento mostró eficacia considerable para el tratamiento de las enfermedades infecciosas causadas por E. coli, Proteus mirabilis y otras enterobacterias, en especial de aquellas que afectan al aparato urinario (4, 15). Pronto se detectó que el compuesto favorecía la aparición de cepas resistentes, hecho que limitó su uso. Es probable, sin embargo, que el efecto de resistencia haya sido confundido con el comportamiento paradójico que muestra este antibacteriano, el cual a dosis terapéuticas tiene un efecto bactericida, mientras que a dosis mayores pierde casi toda su acción antibacteriana (10, 13). Esto se ha explicado en función de que el ácido nalidixico induce la producción de proteínas tóxicas por la misma bacteria que la hacen autodestruirse. Al elevarse la dosis, se inhibe además del ADN, el ARN por lo que se bloquea la síntesis proteica y con ello el efecto autolítico referido (13). Es posible que en mayor o menor grado, otras quinolonas de primera generación tengan este mismo comportamiento.

Es sabido que el sitio de acción tanto del ácido nalidixico como de las quinolonas es la ADN-girasa o topoisomerasa II. Esta es una enzima esencial para la replicación, transcripción, reparación y recombinación del material genético bacteriano. De tal suerte, la inhibición de estos procesos dará lugar al bloqueo de múltiples funciones celulares, y de ahí el carácter bactericida de las quinolonas (4, 10, 13).

Tanto por las características peculiares de la eficacia antibacteriana del ácido nalidixico, como por la prolificidad del núcleo de las quinolonas se ha manipulado la molécula y se ha logrado la síntesis de otros medicamentos de gran impacto clínico en la última década. El núcleo básico se presenta en la figura 1, en la que se señalan los sitios en donde es posible añadir algún otro radical en busca de nuevas acciones antibacterianas (15).

Con la manipulación de esta molécula básica se logró la síntesis de otros medicamentos como el ácido oxolinico y pipemidico (figura 2), denominados quinolonas de primera generación (13).

En 1978, se genera una nueva clase de quinolonas mediante la sustitución de una serie de compuestos en la posición número 6. De todas las sustituciones a este nivel

con hidrógeno, fluor, cloro, bromo, metano, cianuro o nitrito, indudablemente el fluor representó el avance más importante de las quinolonas de primera generación, haciéndolas de segunda generación. Si se quiere hacer una división de las quinolonas, esta sustitución es una verdadera marca ya que con ella se mejora la unión a la ADN-girasa en 2 a 17 veces más y la penetración celular de 1 a 70 veces más con respecto a quinolonas que no tienen F en la posición número 6 (13). Todas las fluoroquinolonas de mayor potencia y utilidad clínica en la actualidad tienen una molécula de F en la posición 6.

La primera de estas quinolonas de importancia veterinaria fué la flumequina (figura 3) y recientemente se han incorporado al quehacer médico otras quinolonas como la norfloxacina, la enoxacina y la ciprofloxacina (figura 3).

Algunos estudios recientes han logrado añadir eficacia a las fluoroquinolonas de segunda generación incorporando ciertos radicales en la posición número 7, dando lugar a quinolonas de tercera generación. En esta posición se han intentado con mayor o menor éxito numerosas manipulaciones. En síntesis se ha visto que la afinidad por la ADN-girasa aumenta en forma directamente proporcional al volumen del sustituyente. Esto es, moléculas lineales en este radical muestran menor potencia que radicales cíclicos como el de la enrofloxacin y la danofloxacin, siendo esta última muy voluminosa y liposoluble en función de su grupo diazabicycloalquilo en dicha posición (13) (figura 4).

En general las quinolonas de primera generación tienen una actividad limitada y suelen ser activas únicamente contra algunas bacterias gram-negativas. El espectro de acción antimicrobiana se aumenta en las de segunda generación, siendo la flumequina la más débil in vitro y sin efecto sobre micoplasmas y quizá la ciprofloxacina la más potente con efecto importante antimicoplásmico in vitro.

En el caso de las quinolonas de segunda generación hay actividad considerable contra Pseudomonas spp, Chlamydia spp, Mycoplasma spp, Ureaplasma spp, Legionella spp, Pasteurella spp, Haemophilus spp, Campylobacter spp, Mycobacterium spp, Staphylococcus spp.

En la medicina veterinaria actual las quinolonas más potentes son las de tercera generación. Estas son activas contra todas las bacterias mencionadas anteriormente y contra Brucella spp, Rickettsias, Coxiella burnetii, así como contra el protozoario Plasmodium falciparum. Su actividad es menor contra Streptococcus y Nocardia y casi nula contra anaerobios.

Entre estas fluoroquinolonas (3ª generación) destaca la

danofloxacin en la práctica de la medicina veterinaria, que de manera global presenta las siguientes ventajas con respecto a otras quinolonas y fluoroquinolonas:

Tiene rápida absorción intestinal y parenteral, elevada biodisponibilidad sistémica y en órganos clave como en pulmón, intestino, vías urinarias, aparato genital y huesos. La vida media prolongada permite intervalos de dosificación espaciados, tiene un alto volumen de distribución, poca biotransformación y, por lo tanto, poca participación metabólica del individuo; su excreción es rápida (24 horas); existe poca o nula resistencia bacteriana; tiene amplio espectro de acción (4, 10, 13, 15, 16).

En la actualidad se sabe poco acerca de la toxicidad potencial de las quinolonas de segunda y tercera generación en animales domésticos. Como dato curioso se puede comentar que se necesitan más de cinco frascos de 100 ml de las presentaciones comerciales de la enrofloxacin o danofloxacin para inducir efectos tóxicos en un cerdo de 10 kg.**

Tampoco se ha detectado que alguna asociación de medicamentos aumente la toxicidad de las quinolonas en condiciones prácticas en medicina veterinaria. En todo caso los antiácidos disminuyen la absorción de estos compuestos por quelación, limitando su eficacia.

Dado que la principal vía de eliminación es por la orina se ha especulado que pueden inducir un daño ulterior en un riñón previamente insuficiente manifestándose como cristaluria, nefritis intersticial y sangre oculta en orina. El daño es generalmente leve y sólo ocurre a grandes dosis, no utilizadas en la clínica. Debido a sus altas concentraciones en orina (De 100-300 veces mayor que la concentración en el suero)(10) estos medicamentos se usan para el tratamiento de infecciones del sistema urinario.

Se han reportado en el sistema nervioso central efectos colaterales de las quinolonas en seres humanos, tales como: desorientación, alteraciones motoras y convulsiones, sobre todo si se asocia con el uso de analgésicos como el fenbufeno.(13)

La primera generación de quinolonas y la naftiridina también inducen numerosos efectos gastrointestinales y dermatológicos, incluyendo náusea, vómito, diarrea y dermatitis por fotosensibilización.(3, 12).

Se ha reportado que en caballos las quinolonas producen

**Información Técnica Pfizer de México (1992).

artropatías, principalmente en animales jóvenes, (15) la cual se caracteriza por producir pequeñas vejigas en el cartilago articular y erosión del mismo. Sin embargo, Specht *et. al.*, (12) sugiere que se lleven a cabo estudios de farmacocinética de las quinolonas de tercera generación antes de afirmar que pueden inducir este efecto tóxico. Es posible pensar que su propuesta obedece a la importancia terapéutica que tendría el poder incorporar a las fluoroquinolonas de tercera generación a la clínica equina.

A la fecha no existen datos en la literatura veterinaria al respecto, por lo que es de gran utilidad el llevar a cabo un ensayo para determinar los valores farmacocinéticos básicos de una de las quinolonas de mayor importancia en la actualidad: la danofloxacin.

HIPOTESIS.

Se sugiere que la danofloxacin se comportaria en el organismo de los equinos sanos y adultos con una cinetica de dos compartimientos, un volumen de distribucion elevada, una vida media prolongada, una alta biodisponibilidad, con una cinetica de primer orden y una depuracion organica casi total en 24 hrs

OBJETIVO.

Evaluar la farmacocinetica de la danofloxacin en caballos adultos y sanos que incluye el volumen de distribucion, vida media por dos vias de administracion (Im., Iv.) a la dosis recomendada por la compania que proporciona el medicamento, su biodisponibilidad y su depuracion.

MATERIAL Y METODOS

1. Obtención de las muestras.

Se utilizaron nueve caballos criollos, machos castrados, pertenecientes a la Policía Montada del Departamento del Distrito Federal, localizados en el agrupamiento San Andrés, en la carretera libre al Ajusco, así como un caballo criollo y un caballo Pura Sangre Inglés, ambos machos castrados, pertenecientes a la clínica para caballos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMUZ) de la U.N.A.M.; situados en las caballerizas de la institución en Ciudad Universitaria.

Se les realizó un examen físico de acuerdo con la "Guía de principios en el cuidado de los animales de la Sociedad Americana de Fisiología". Se obtuvieron muestras sanguíneas de cada uno para realizar biometrías hemáticas y químicas sanguíneas y determinar que se trataba de animales clínicamente sanos. Estas muestras se trabajaron en el Laboratorio Clínico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M.

Su peso se determinó por medio de hipometría, la cual consiste en medir el perímetro de su caja torácica. La medición se lleva a cabo con una cinta métrica de tres metros de longitud, tomando como referencia la cruz y la parte posterior de los codos. La tabla de equivalencia está representada en el Cuadro 1.

El número de animales se dividió en tres grupos al azar: grupo A conformado por 5 animales de la Policía Montada, grupo B formado por 4 animales de la Policía Montada y grupo C integrado por los dos animales de la Facultad de Medicina Veterinaria.

Al grupo A se le administró una sola dosis de 1.25 mg/kg de Danofloxacina por vía endovenosa de acuerdo con la dosis recomendada por el laboratorio, (Pfizer Lab.) y a partir de este momento se obtuvieron muestras de sangre seriadas a los 15, 30, 45 minutos, 1 hora, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 24 horas, en tubos al vacío (Vacutainer Rutlerford con anticoagulante EDTA).

El grupo B recibió por vía intramuscular, en la tabla del cuello, una dosis de 1.25 mg/kg de danofloxacina durante 3 días, con un intervalo de 24 horas entre cada aplicación. De este grupo se obtuvieron 2 muestras por aplicación, las que se obtenían 1 hora y 8 horas después de haberse administrado el medicamento, con intervalo de 24 horas durante 3 días. Los animales se siguieron muestreando con el mismo patrón de muestreo dos días más sin la aplicación del medicamento con el objeto de demostrar que este no se almacena en el organismo.

Al grupo C se le administró una dosis de 1.25 mg/kg de danofloxacina por vía endovenosa en 2 ocasiones con un intervalo de 24 horas. Con estos animales se siguió tras cada aplicación el patrón de muestreo que se utilizó en los animales del grupo A.

Para todos los grupos, 30 minutos después de la obtención de cada muestra se centrifugó en una centrifuga portátil a 4.000 rpm durante 10 minutos, el suero se obtuvo por decantación y se mantuvo a una temperatura de 4°C, para su transportación al laboratorio en donde se congeló a -20°C para su posterior análisis.

2. Determinación de la concentración del quimioterapéutico

La determinación de la concentración de la danofloxacina en el suero se realizó mediante pruebas de difusión en agar de acuerdo a una adaptación del procedimiento establecido por Bennett et al. (1).

A. Obtención de la cepa estándar

Se utilizó una cepa de E. coli sensible a la danofloxacina donada por el Departamento de Bacteriología de la FMUZ. Esta cepa fue propagada en agar verde brillante (VB) con la técnica de aislamiento en cultivo puro siendo incubadas a 37°C durante 24 hrs. A partir de este cultivo se procedió a sembrar con la técnica de estria continua con la finalidad de tener en reserva un número adecuado de bacterias siendo incubadas bajo las mismas condiciones antes mencionadas.

Las bacterias utilizadas a lo largo de la prueba provienen de cultivos jóvenes de 24 hrs. Todos las siembras se realizaron en agar verde brillante.

B. Estandarización de la prueba.

i. Preparación del material.

Se utilizó un recipiente refractario tipo Pyrex convencional, con las siguientes medidas: 22 cm de ancho, 22 cm de longitud, 0.5 cm de longitud, 0.5 cm de grosor y !

El refractario se lavó con agua y jabón poniéndose a secar a temperatura ambiente y después se desengrasó con una solución de alcohol etílico y posteriormente se flameó. Se utilizó un plástico de silicon (ega-pac) para tapar el refractario. Una vez tapado el refractario con dos capas de este plástico se envolvió en papel periódico y se metió a esterilizar en un autoclave a una temperatura de 121°C, 15 libras de presión durante 15-20 minutos.

Se prepararon caldo infusión cerebro corazón y agar Muller -Hilton de acuerdo con las indicaciones del producto, los cuales se esterilizaron en el autoclave con las constantes utilizadas anteriormente.

ii. Preparación de las placas de agar.

Una vez esterilizados los medios de cultivo y los refractarios se procedió a preparar una suspensión de bacterias en el caldo infusión cerebro-corazón a 0.45 de absorbancia con el espectrofotómetro (Boush & Lomb Co) utilizando un filtro de 530 nm.

Se calibró con un tubo de ensave con caldo infusión cerebro-corazón libre de bacterias a cero de absorbancia.

Esta absorbancia corresponde a 0.0 UFC/ml*.

Una vez obtenida esta suspensión de bacterias se procedió a inocular con 1.6 ml de la misma el agar Muller Hilton previamente preparado (200 ml/refractorio) cuando este se encontraba tibio (temperatura de cachete) obteniéndose así una concentración bacteriana final de UFC/ml. Se mezcló homogéneamente y se usó en un refractorio dejándose solidificar sobre una superficie plana. Posteriormente, se realizaron 20 perforaciones equidistantes una de otra a 4.5 cm con un sacabocados estéril de 0.5 cm de diámetro sobre un mapa puesto en el fondo del Pirex con la distribución deseada. Todo esto se realizó bajo un ambiente estéril brindado por un mechero Bunsen.

iii. Preparación del fármaco.

Se utilizó danofloxacin de laboratorios Pfizer*** que viene a una concentración de 25 mg/ml de danofloxacin. Se realizó una dilución inicial en agua destilada a una concentración de 31.24 µg/ml.

Se realizaron diluciones dobles seriadas en agua destilada estéril (previamente en una microplaca estéril se adicionaron 100 µl de agua destilada estéril en un total de 11 pozos) partir de la solución inicial, obteniéndose una dilución final de 0.015 µg/ml.

iv Aplicación y lectura de las preparaciones del fármaco.

De cada una de estas diluciones seriadas se obtuvieron 90 µl y se depositaron en los pozos del agar previamente preparado iniciando con una concentración de 15.62 µg/ml hasta 0.015 µg/ml. Todo esto con ayuda de una micropipeta y "puntas" estériles.

Se incubó a una temperatura de 37°C durante 24 horas. Después de este tiempo se procedió a medir los halos de inhibición del crecimiento bacteriano de cada uno de los pozos en cada Pyrex, para lo cual se utilizó un vernier.

El procedimiento anterior se realizó por cuadruplicado, y con los resultados promedio obtenidos en las mediciones, se trazó una gráfica concentración de quimioterapéutico contra medida de halo de inhibición en papel semilogarítmico, para obtener la línea estándar a utilizar durante el análisis de las muestras. (figura 5)

E. Análisis de las muestras

Para el análisis de las muestras se realizaron los mismos pozos que se utilizaron en la estandarización de la prueba (inciso A) con la diferencia que en lugar de utilizarse diluciones seriadas del fármaco se usaron las

* Nefelómetro de McFarland al 0.5% equivalente a 5×10^8 UFC/ml corresponde a una absorbancia de 0.45 nm

** Rivocin, Lab. Pfizer

muestras directas obtenidas de los animales en los diferentes grupos las cuales se trabajaron por duplicado. De este procedimiento se obtuvieron los halos de inhibición de nuestras muestras cuyo diámetro fue cotejado contra la gráfica estandar para poder determinar la concentración del quimioterápico presente en cada suero.

D. Lectura de los halos de inhibición.

Esta lectura se llevó a cabo, como se explicó anteriormente, con la ayuda de un vernier en la misma forma que durante la estandarización.

3. Determinación de la cinética del quimioterápico.

Los datos referentes a la cinética por vía endovenosa e intramuscular incluyen los siguientes, mismos que fueron determinados por métodos convencionales:

- Sexo
- Edad. Aproximada por evaluación de la dentadura
- Peso. Peso aproximado por hipometría
- Concentración Plasmática Máxima (Cp mg/ml)
- Vida Media Distribución (T 1/2)
- Vida Media Distribución-Eliminación
- Volumen de Distribución (área l/kg)
- Depuración Orgánica (l/kg/h)
- Área Bajo la Curva intramuscular (mg/ml/h).
- Área Bajo la Curva intravenosa (mg/ml/h)

Independientemente de la vía de administración utilizada (i.m. o i.v.) se hicieron seguimientos de concentración plasmática máxima de la danofloxacina, así como niveles medios a lo largo de todo el tratamiento.

Para realizar el análisis de la cinética de distribución y eliminación de este medicamento se utilizaron una serie de fórmulas que se describen a continuación.

El volumen de distribución del compartimento central (Vc) se obtiene con la siguiente fórmula:

$$V_c = \frac{\text{Dosis total i. v.}}{C_0}$$

donde:

C₀ = concentración al tiempo cero extrapolado.

El volumen de distribución en el área (Vd área) se obtiene con la siguiente fórmula:

$$V_d \text{ área} = \frac{\text{Log } C_0}{(\text{Log } A/a - \text{Log } B/b)}$$

Donde:

A y B = intersección a tiempo cero con el eje de las fases de distribución y eliminación respectivamente.

La depuración (Cl) se obtiene con la siguiente fórmula

$$Cl = V_d \text{ área} \times b$$

a y b = constante de declinación inicial y terminal en

las concentraciones séricas.

Los valores de los ángulos a y b se obtienen con la fórmula:

$$\frac{\log \text{cateto opuesto}}{\text{cateto adyacente}}$$

La vida media de distribución y distribución-eliminación ($T_{1/2}$) posterior a la administración, se obtiene en forma gráfica.

Las constantes de paso de un compartimiento a otro (K_{12} u K_{21}) se obtienen con las siguientes fórmulas:

$$k_{12} = a - t - b - k_{21} - k_{el}$$

$$k_{21} = \frac{(\log A - x - b) - t - (\log b - x - a)}{\log B - t - \log A}$$

La constante de eliminación central (k_{el}) se obtiene de la siguiente manera:

$$\frac{a - x - b}{k_{21}}$$

Gráficas: las curvas fueron establecidas y graficadas conforme al programa "Harvard graphics".

RESULTADOS.

El número total de caballos se dividió en tres grupos al azar. Del grupo A, conformado por cinco caballos a los que se les administró una sola dosis por vía endovenosa de danofloxacina, se obtuvieron un total de 55 muestras de sangre (11 muestras por animal). Los pesos obtenidos por medio de hipometría y las dosis totales administradas los podemos observar en el Cuadro 2.

Del grupo B, conformado por cuatro caballos a los que se les administró el quimioterapéutico por vía endovenosa, se obtuvo un total de 40 muestras (10 muestras por animal). El peso aproximado y dosis total de quimioterapéutico administrado se muestran en el Cuadro 3.

Del grupo C conformado por dos caballos a los cuales se les administró el antimicrobiano por vía endovenosa en dos ocasiones, se obtuvieron 44 muestras de sangre en total (22 por animal). Alazán, con un peso de 450 Kg y una dosis total de 562 mg y Bavo con un peso de 430 Kg con una dosis total de 400 mg.

La gráfica estándar de la relación concentración del quimioterapéutico y halo de inhibición bacteriana obtenida, y mediante la cual se determinan las concentraciones séricas de la danofloxacina en las muestras se representa en la figura 5 habiendo sido el límite mínimo detectable por la prueba de 0.12 µg/ml.

Las concentraciones del quimioterapéutico determinadas en el suero en cada uno de los grupos establecidos, A, B y C, se muestran en los cuadros 4, 5 y 6, respectivamente. De acuerdo a las mismas se trazaron en cada caso relaciones de concentración sérica vs. tiempo en papel semilogarítmico en donde "Y" representa la concentración en suero y "X" representa intervalos de tiempo de obtención de la muestra. Las gráficas se ajustaron en los grupos A y C a un modelo de dos compartimentos que se presentan en las figuras 6-10 para el grupo A. En la figura 11 se presenta una curva similar con los promedios de los valores plasmáticos obtenidos. La cinética del quimioterapéutico en los animales del grupo A se muestra en el cuadro 7.

Para el grupo B se trazó una gráfica de igual manera, concentración contra tiempo, que se representa en las figuras 12-15.

Para el grupo C se trazaron gráficas de la misma manera que para el grupo A, las cuales se representan en las figuras 16-17, obteniéndose los resultados listados de la cinética en el cuadro 8.

DISCUSION.

La determinación de las concentraciones de danofloxacin en plasma presenta ciertas dificultades metodológicas como son el aislamiento en cultivo puro de la cepa de *E. coli* sensible a utilizar en el transcurso de la prueba, obtener un espacio que proporcione la esterilidad en el ambiente adecuada, estandarizar las diluciones del antibiótico y las concentraciones bacterianas para obtener los halos de inhibición bacteriana que correspondan a las concentraciones plasmáticas requeridas para obtener una muestra lineal estandar que se utiliza durante la prueba. Una vez obtenida esta línea estandar se repitió la prueba con resultados similares por lo menos en cuatro ocasiones para confirmar la linealidad del método. Una vez vencidos estos obstáculos se obtiene una linealidad aceptable del método entre 16 µg/ml y 0.12 µg/ml. El método de Bennett et. al (1) es, sin embargo, poco sensible para determinar niveles inferiores a 0.012 µg/kg no obstante por extensión de la curva se pueden inferir rangos inferiores. Por otro lado, el hecho de que no existen diferencias significativas entre los caballos en cuanto a la cinética del fármaco añade validez al método cuantitativo de estos autores. Por añadidura, los niveles plasmáticos vistos aisladamente son congruentes con la tendencia de la curva en los 7 casos.

Es importante añadir, que con este método solo se determina la fracción libre de quinolona bacteriológicamente activa y quizá por ello los niveles plasmáticos se perciben inferiores a los niveles reportados en la literatura en los que para la determinación de la concentración del quimioterapéutico se utilizan otras técnicas tales como cromatografía y donde fluctúan entre 2.0 y 0.02 µg/ml (5) para bovinos. No obstante, el valor determinado en este trabajo tiene un significado especial dado que se obtiene no solo la concentración sino también la viabilidad del fármaco a nivel plasmático.

De acuerdo con los resultados anteriores podemos asumir que la cinética de este quimioterapéutico se ajusta mejor a un modelo de dos compartimentos (abierto) en el que el plasma corresponde al compartimento central y de aquí se distribuye al compartimento periférico que se refiere al resto de los tejidos como se esquematiza en la figura 18.

Al parecer, los datos obtenidos del grupo C indican que el ángulo β no varía por lo tanto, la velocidad de distribución-eliminación permanece constante a pesar de que se aplica una segunda dosis. Sin embargo, esto no puede ser conclusivo dado que la eliminación de la danofloxacin llega a niveles inferiores de 0.001 µg/ml aproximadamente a las 18-20 horas y la re-dosificación se realizó a las 24 hs por lo que es poco lo que se añade a la concentración de la segunda dosificación. De cualquier manera, se comporta con una cinética no acumulativa a la dosis usada pero sería de utilidad evaluar datos cinéticos a intervalos de 8 horas; dato este, que emana del presente estudio.

Podemos clasificar a este fármaco como un medicamento con un volumen de distribución bueno (Vd), según una clasificación que manifiesta que los volúmenes de distribución menores a 0.5 l/kg son malos, un Vd de .6 a 1.5 l/kg (es en este rango en

donde encontramos a la danofloxacin) son buenos, los Vd de 1.6 a 3 L/kg son muy buenos y los que sobrepasen los 3 L/kg son excelentes o implican un secuestro (Sumano-Ocampo). No obstante, se sabe que entre mayor es la talla del individuo, mayor será la cantidad de plasma y proporcionalmente se requerirá un volumen más abundante para diluir el fármaco a la misma concentración que la que se haya en el plasma (definición de volumen de distribución). Por lo tanto, se ha postulado que en animales de talla grande un Vd excelente puede ser a 1 l/kg (Baggott). La cinética de la danofloxacin en caballos se aproxima en lo que respecta al plasma a lo reportado en bovinos, en los que también desaparece de la sangre aproximadamente 20 horas posteriores a la administración.

Una observación interesante en este ensayo es que a los animales que se les administró danofloxacin por vía I.V. mostraron cierto grado de incoordinación y cierta relajación muscular que se hacía más evidente por su imposibilidad de mantener la cabeza levantada, pudiendo estar esto relacionado con cierto grado de sedación. Este efecto se puede deber al radical diazabicioamina que se ha informado tiene efectos en el sistema nervioso central (13). Por otra parte si bien es cierto que se presenta una sedación, no se presentaron otros signos de toxicidad aguda ni alteraciones del comportamiento por lo que es probable que esta peculiaridad no represente un impedimento para el tratamiento de enfermedades infecciosas. En contraste en los animales que se aplicó el medicamento tres días seguidos I.M. no se observaron signos de sedación ni se presentaron alteraciones en locomoción, como pudiera observarse en cartilagos articulares como menciona Neer, M.(10).

Para que este medicamento pueda ser incorporado a la clínica equina se recomienda su redosificación cada 8 hs a la dosis recomendada y llevar a cabo estudios de toxicidad renal y hepática, pruebas clínicas controladas que nos permitan evaluar su eficacia. Para un estudio cinético adicional se recomienda el estudio de niveles pulmonares, articulares y de fluido peritoneal de este producto; no obstante, se tiene la primera serie de datos de este fármaco en equinos.

LITERATURA CITADA.

- 1.- Bennett, J.V., Brodie, J.L., Brenner, E.J. and Kirby, W.M.: Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. Appl. Microbiol.: **14**: 170-177 (1966).
- 2.- Björklund, H.V., Eriksson, A. and Bylund, G.: Temperature related absorption and excretion of oxolinic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture.: **102**: 17-27 (1991).
- 3.- Christ, W., Lehnert, T. and Ulbrich, B.: Specific toxicologic aspects of the quinolones: Proceeding of the international symposium on new quinolones. Geneva: Switzerland: S141-S146 (1986).
- 4.- Chu, D.T. and Fernández, P.B.: Structure-activity relationships of the fluoroquinolones. Antimicrob. Agents. Chemoter.: **33**: 131-135 (1989).
- 5.- Giles, C.J., Magonigle, R.A., Grimshaw, W.T., Tanner, A.C., Risk, J.E., Lynch, M.J. and Rice, J.R.: Clinical pharmacokinetics of parenterally administered danofloxacin in cattle. J. Vet. Pharmacol. Therap.: **14**: 400-410 (1991).
- 6.- Goldstein, E.J., Citron, D.M. and Corrado, M.L.: Effect of inoculum size on in vitro activity of norfloxacin against fecal anaerobic bacteria. Am. J. Med.: **82**: 84-87 (1987).
- 7.- Ishida, N.: Tissue levels of oxolinic acid after oral intramuscular administration to freshwater and seawater rainbow trout. Aquaculture.: **102**: 9-15 (1992).
- 8.- Limon, L.: Ciprofloxacin: A fluoroquinolone antimicrobial. American Pharmacy.: **29**: 42-45 (1990).
- 9.- Moellering, R.C.: Norfloxacin: A fluoroquinolone carboxylic acid antimicrobial agent. Am. J. Med.: **82**: 1-2 (1987).
- 10.- Neer, T.M.: Clinical pharmacologic features of fluoroquinolone antimicrobial drugs. J.A.V.M.A.: **193**: 577-580 (1988).
- 11.- Schroder, J.: Enrofloxacin: A new antimicrobial agent. J. S. Afr. Vet. Ass.: **61**: 122-124 (1989).
- 12.- Specht, T.E.: Quinolone-induced arthropathy in immature equidae. J.A.V.M.A.: **516**: (1991).
- 13.- Sumano, H.: Quinilonas y fluoroquinolonas en Medicina Veterinaria. Departamento de Farmacología, F.M.U.Z., U.N.A.M.: (1992).
- 14.- Stein, G.E.: Review of the bioavailability and pharmacokinetics of oral norfloxacin. Am. J. Med.: **82**: 18-21 (1987).
- 15.- Vancustem, P.M., Babish, J.G. and Schowork, W.S.: The fluoroquinolone antimicrobial: Structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical

- use in domestic animals and toxicity. Cornell Vet. 80: 173-184 (1989).
- 16.- Wolfson, J.S. and Hooper, D.C.: The fluoroquinolones: Structure, mechanisms of action and resistance and spectra of activity in vitro. Antimicrob. agents. Chemother. 284: 581-586 (1985).
- 17.- Ziv, G., Soback, S., Saran, A., Kurtz, B., Glikman, A. and Winkler, I.: Concentration of antibacterial quinolones in blood and milk. Isr. J. Vet. Med. 45: 209-210 (1990).

Cuadro 1.
Equivalencias de peso/circunferencia torácica.

Longitud Torácica cm	Peso en kg
76	45.5
102	91
116	136.5
128	182
140	227
146	261
148	273
156	318
162	352
164	364
170	401
171	409
175	435
177	449
178	455
185	500
192	545
197	591

Cuadro 2.
Relación de peso y dosis total de danofloxacin administrada en los caballos usados para la dosificación única por vía I.U. (1.25 mg/kg)

Número de caballo	Peso en kg	Dosis total
274	350	437 mg
70	400	500 mg
625	435	543 mg
190	320	400 mg
120	450	562 mg

Cuadro 3.
Relación de peso y dosis total de danofloxacin administrada en los caballos usados para la dosificación triple a intervalos de 24 hs por vía I.M. (1.25 mg/kg)

Número de caballo	Peso en kg	Dosis total
105	260	325 mg
395	320	400 mg
192	350	437 mg
85	450	562 mg

Cuadro 4. Relación de las concentraciones de denofloxacina en suero dentro de las 24 horas posteriores a la aplicación única del producto (1.25 mg/kg) por vía I. V.

Caballo No. 274			70		625		190		120		X	D.E.
I.T.M.	T.H.	µg/ml	T.H.	µg/ml	T.H.	µg/ml	T.H.	µg/ml	T.H.	µg/ml	µg/ml	
15min	1.33	0.086	1.21	0.072	1.17	0.066	1.69	0.18	1.38	0.078	.10	0.046
30min	1.48	0.125	1.43	0.105	1.20	0.070	1.52	0.13	1.20	0.070	.10	0.029
45min	1.42	0.11	1.20	0.08	0.845	0.035	1.24	0.076	1.14	0.064	.073	0.027
1 h	1.79	0.22	1.1	0.058	0.65	0.026	0.94	0.044	0.88	0.035	.076	0.081
2 hs	1.25	0.076	1.29	0.08	0.60	0.023	0.94	0.044	0.84	0.033	.051	0.025
4 hs	0.91	0.04	0.91	0.04	SHI		0.88	0.035	0.60	0.021	.034	0.008
6 hs	0.70	0.026	SHI		SHI		0.80	0.033	SHI		.029	0.009
8 hs	0.66	0.023	0.89	0.036	SHI		SHI		SHI		.029	0.009
10 hs	SHI		0.65	0.028	SHI		SHI		SHI		.028	
12 hs	SHI		SHI		SHI		SHI		SHI			
24 hs	SHI		SHI		SHI		SHI		SHI			

En donde:

I.T.M. = Intervalos de muestreo a partir de la dosificación

T. H. = Tamaño del halo de inhibición en cm.

X = Promedio de las muestras

D.E = Desviación estándar.

SHI = Sin Halo de Inhibición

Cuadro 5. Relacion de la concentración de danofloxacin en plasma 24, 48, 72, 96 u 120 hs posterior a la aplicación de 1.25 mg/kg del producto durante las primeras 72 hs a intervalos de 24 hs por via intramuscular.

Caballo No. 495			105		192		85		X	D.E.
T.H.	$\mu\text{g/ml}$		T.H.	$\mu\text{g/ml}$	T.H.	$\mu\text{g/ml}$	T.H.	$\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{g/ml}$	
dia 1										
1 hora	0.65	0.024	0.93	0.042	0.93	0.042	0.67	0.024	0.033	0.010
8 hs	SHI		0.72	0.028	0.66	0.028	0.84	0.035	0.030	0.004
dia 2										
1 hora	0.74	0.029	0.87	0.037	0.78	0.031	0.66	0.024	0.030	0.005
8 hs	0.63	0.023	0.82	0.035	0.78	0.031	0.72	0.029	0.029	0.005
dia 3										
1 hora	0.63	0.023	0.90	0.040	0.76	0.030	0.73	0.028	0.030	0.007
8 hs	0.70	0.026	0.65	0.028	0.94	0.042	0.91	0.040	0.034	0.008
dia 4										
1 hora	SHI		SHI		SHI		0.65	0.023		
8 hs	SHI		SHI		SHI		SHI			
dia 5										
1 hora	SHI		SHI		SHI		SHI			
8 hs	SHI		SHI		SHI		SHI			

En donde:

T. H. = Tamaño del halo de inhibición en cm.

X = Promedio de las muestras.

D.E. = Desviación Estandar.

SHI = Sin Halo de Inhibición

Cuadro 6.

Relación de la concentración de Relación de la concentración de danofloxacin en plasma en 48 hs con d $\mu\text{g}/\text{kg}$ del producto con intervalo de 24 hs por vía I.V.

Bayo			Alazán			X	D.E.
Primer día							
I.T.M.*	T.H.	$\mu\text{g}/\text{ml}$	T.H.	$\mu\text{g}/\text{ml}$	$\mu\text{g}/\text{ml}$		
15	1.0	0.046	0.88	0.038	0.042	0.005	
30	0.91	0.040	0.79	0.031	0.035	0.006	
45	0.82	0.035	0.74	0.028	0.031	0.004	
1hr	0.80	0.032	0.70	0.026	0.029	0.004	
2hrs	0.72	0.027					
Segundo día							
I.T.M.*	T.H.	$\mu\text{g}/\text{ml}$	T.H.	$\mu\text{g}/\text{ml}$	$\mu\text{g}/\text{ml}$		
15	1.1	0.058	1.0	0.046	0.052	0.004	
30	0.92	0.041	0.77	0.029	0.043	0.012	
45	0.83	0.035	0.77	0.029	0.032	0.004	
1hr	0.76	0.029	0.74	0.027	0.028	0.001	
2hrs	0.58	0.021	0.61	0.022	0.021	0.0007	

En donde:

I. H. = Tamaño del halo de inhibición.

X = Promedio de las muestras

D.E. = Desviación Estándar.

I.T.M. = Intervalo de muestreo a partir de dosificación

* En estos animales obtuvieron muestras sanguíneas hasta las 24 hrs según el patron de muestreo pero partir de la segunda hora en cada animal no se obtuvieron halos de inhibición de crecimiento bacteriano por lo que no se expresan las muestras subsiguientes en el cuadro.

Cuadro 7.

Cinética del quimioterapéutico en los animales del grupo A.

Caballo	Co. µg/ml	A µg/ml	B µg/ml	T1/2d minutos	T1/2d-e horas	Vd ml/kg	Vd (AUC) l/kg	C1bd ml/kg/h
70	.16	.105	.058	32min	5h30min	588	1.07L	40.6
190	.24	.13	.071	25	3 36	476	.952	49.5
274	.18	.088	.081	44	3 36	572	1.27	59.6
120	.12	.056	.037	30	4 46	575	.92	53.3
625	.10	.066	.034	24	3 48	360	1.1	81.0
X	.16	.089	.056	31	4 15	514	1.06	56.8
D.E.	.054	.029	.020	8	50 min	97.1	.138	15.17

En donde:

Co.= Concentración máxima al tiempo cero extrapolado.

A= Proyección de la curva de recíprocos al eje de las Y. Nivel máximo teórico antes de distribución.

B= Proyección de la curva de distribución-eliminación al eje de las Y. Nivel máximo teórico después de distribución.

T1/2d= Vida media distribución

T1/2d-e= Vida media distribución eliminación.

Vd= Volumen de distribución central.

Vd (AUC)= Volumen de distribución aparente considerando Área bajo la curva (AUC).

C1bd= Depuración total sanguínea.

Cuadro U.
 Cinética del quimioterapéutico de los animales del grupo C.

Blazán

primer día							
Co. $\mu\text{m/ml}$	A $\mu\text{m/ml}$	B $\mu\text{m/ml}$	T1/2d	T1/2d-e	Vd	Vd (AUC)	Cl ml/kg/h
0.047	0.024	0.020	37min	4h 24min	683ml	0.936L	82.36
segundo día							
0.059	0.030	0.027	18min	4h 30min	743ml	1.01L	77.72

Bayo

primer día							
Co. $\mu\text{m/ml}$	A $\mu\text{m/ml}$	B $\mu\text{g/ml}$	T1/2d	T1/2d-e	Vd	Vd (AUC)	Cl ml/kg/h
0.056	0.041	0.028	20min	4h 6min	726ml	1.08L	81
segundo día							
0.070	0.038	0.028	24min	4hs	672ml	0.958L	76.64

Cl: $\text{cl/m}^2/\text{h}$

Co: Concentración máxima al tiempo cero extrapolado.

T1/2d: Vida media distribución.

T1/2d-e: Vida media distribución eliminación.

Vd: Volumen de distribución central.

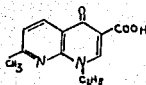
Vd (AUC): Volumen de distribución aparente considerando Área bajo la curva. (AUC)

Cl: Depuración total sanguínea.

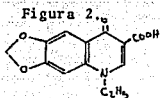
Figura 1. Fórmulas químicas estructurales del anillo 4-quinolínico



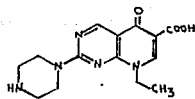
Anillo 4-quinolínico



Acido nalidixico

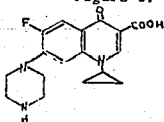


Acido oxolínico



Acido pipemídico

Figura 3.



Ciprofloxacina

Enoxacina

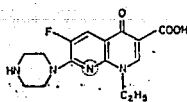
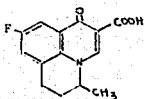
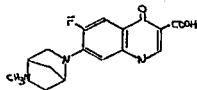


Figura 4.



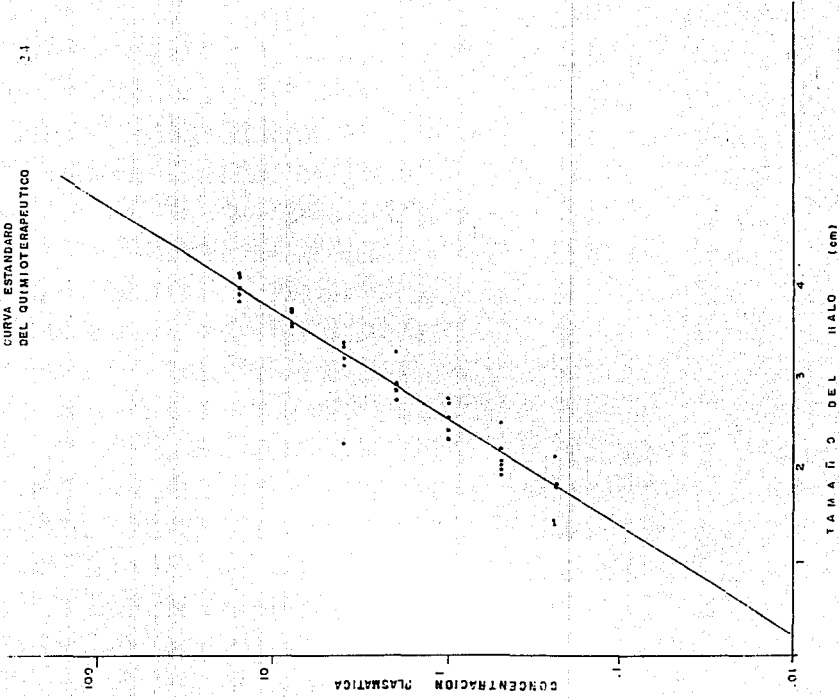
Flumequina



Danofloxacina

FIGURA 5
CURVA ESTANDARO
DEL QUIMIOTERAPEUTICO

24



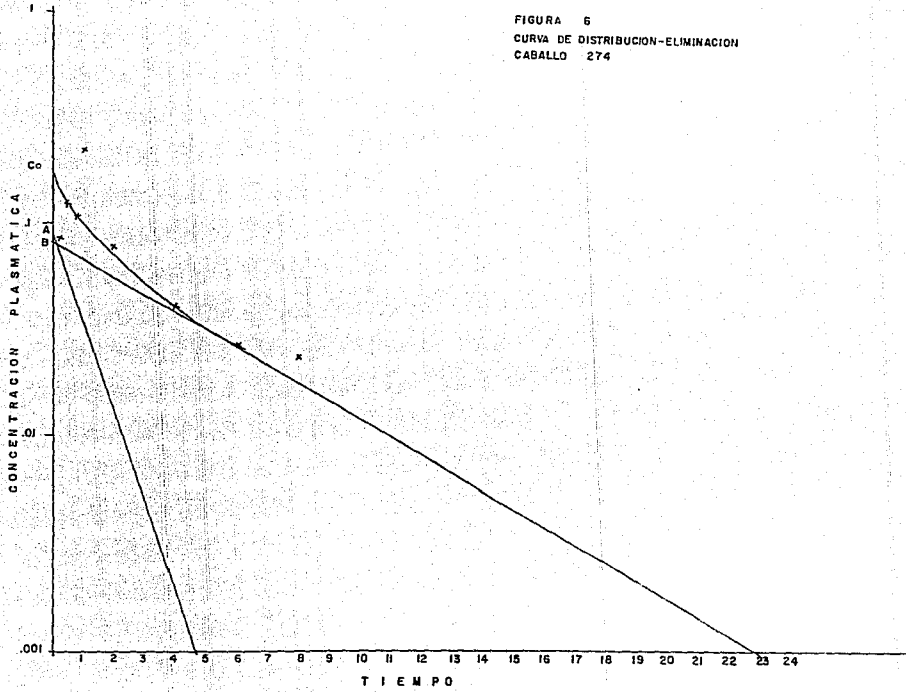


FIGURA 6
CURVA DE DISTRIBUCION-ELIMINACION
CABALLO 274

FIGURA 7
CURVA DE DISTRIBUCION-ELIMINACION
CABALLO 70

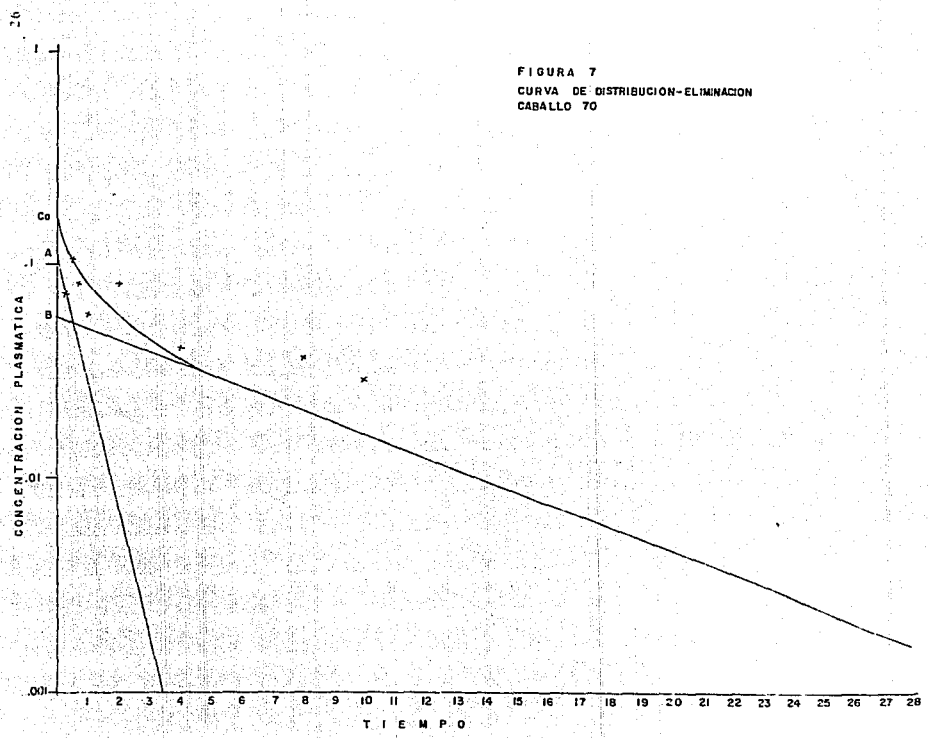
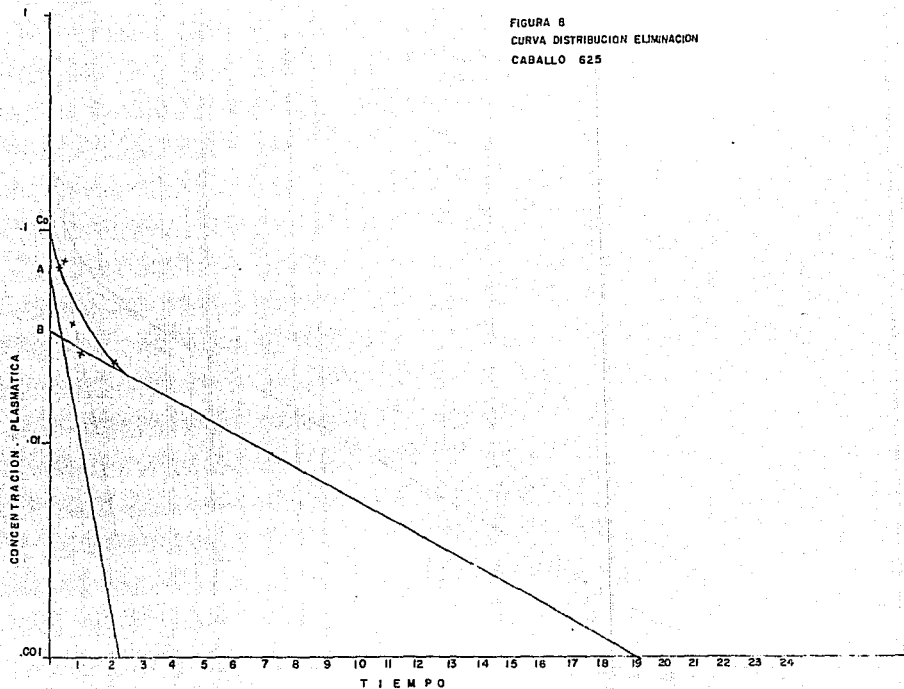
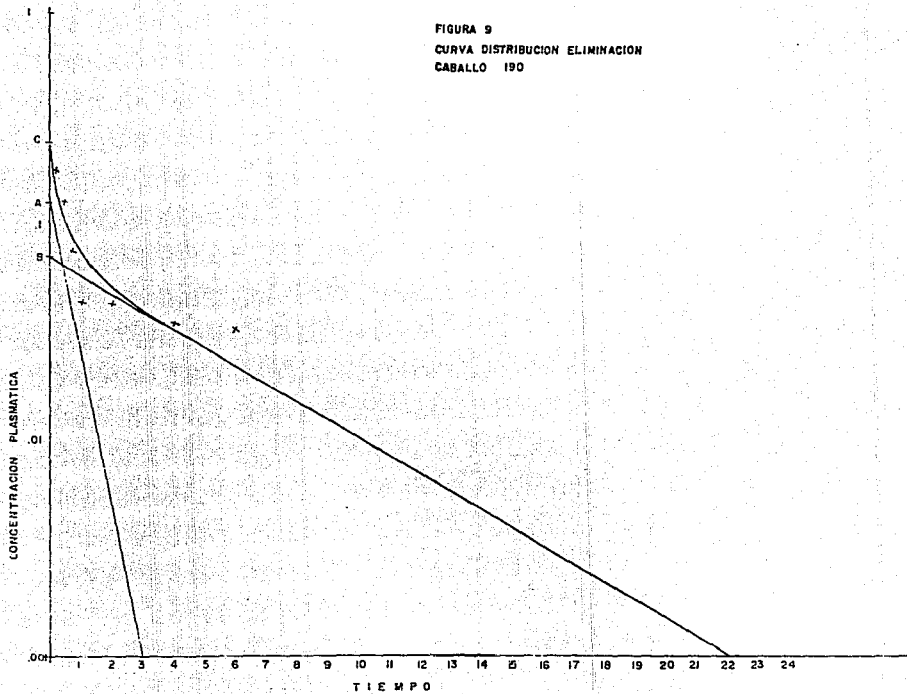
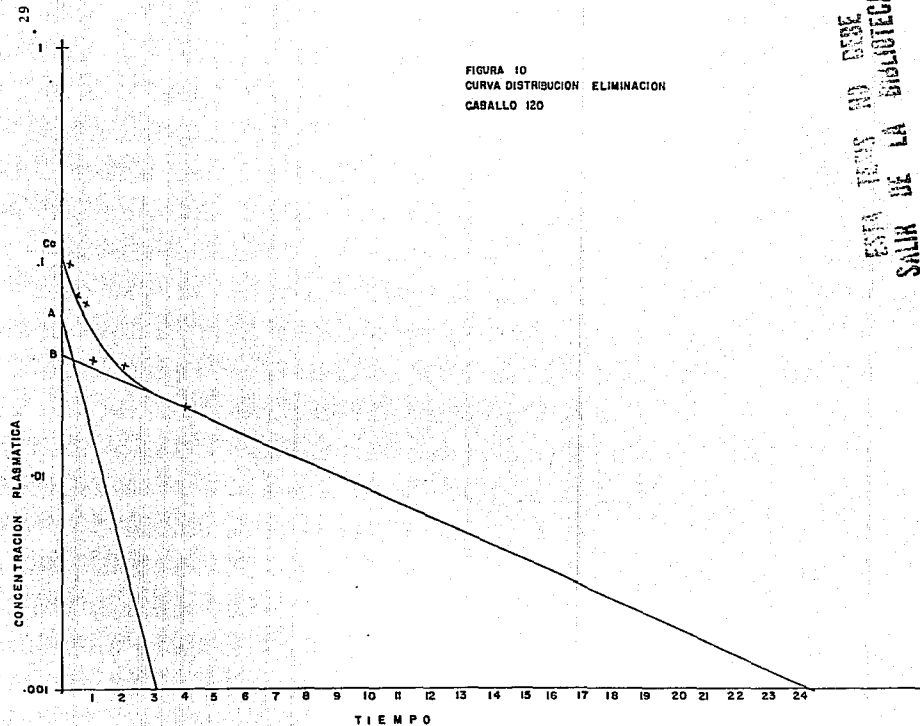


FIGURA 8
CURVA DISTRIBUCION ELIMINACION
CABALLO 625



28





ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

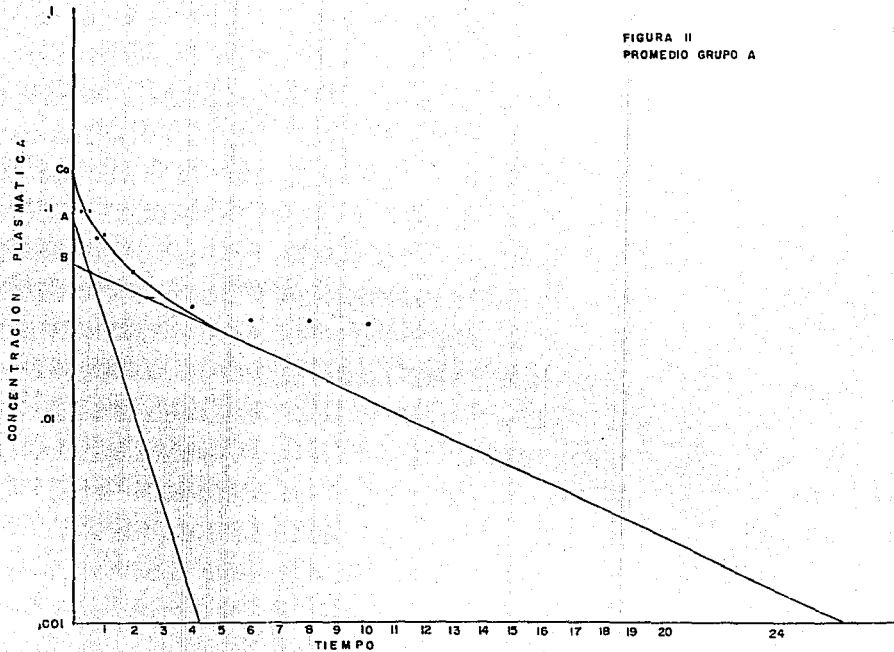


FIGURA II
PROMEDIO GRUPO A

FIGURA 12
CURVA DE DISTRIBUCION
CABALLO No. 85

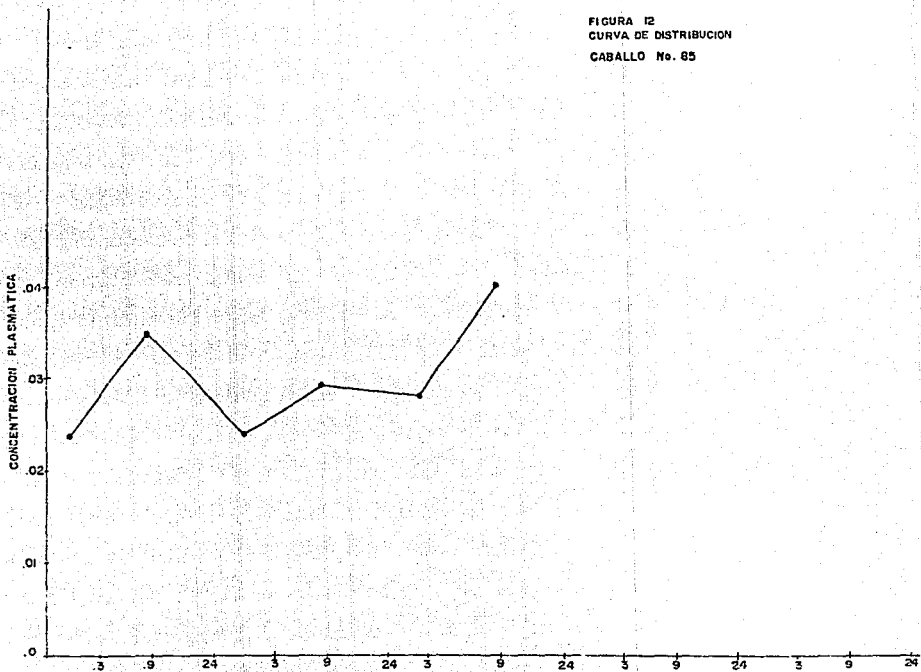


FIGURA 13
CURVA DE DISTRIBUCION
CABALLO No. 192

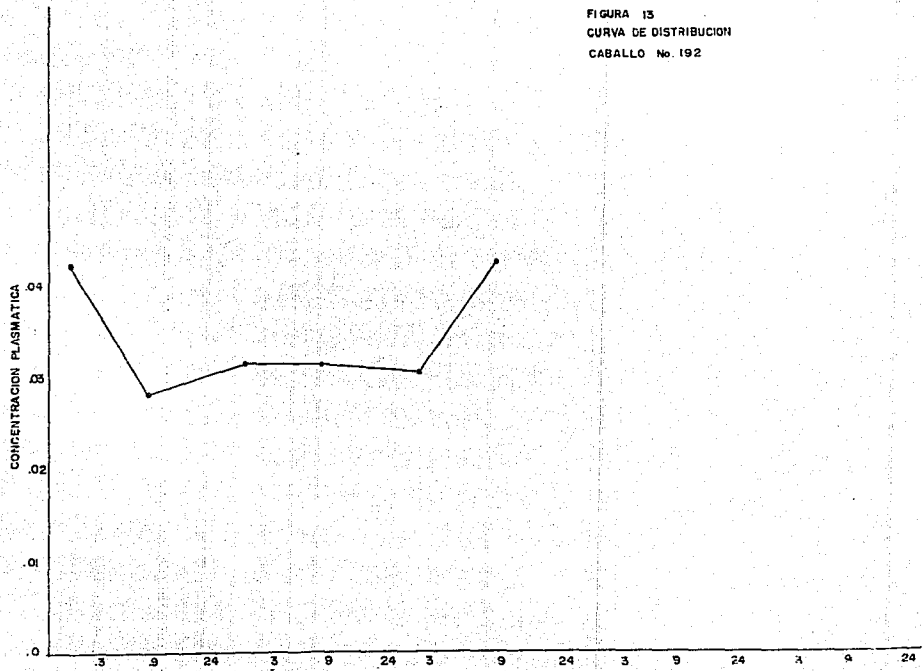
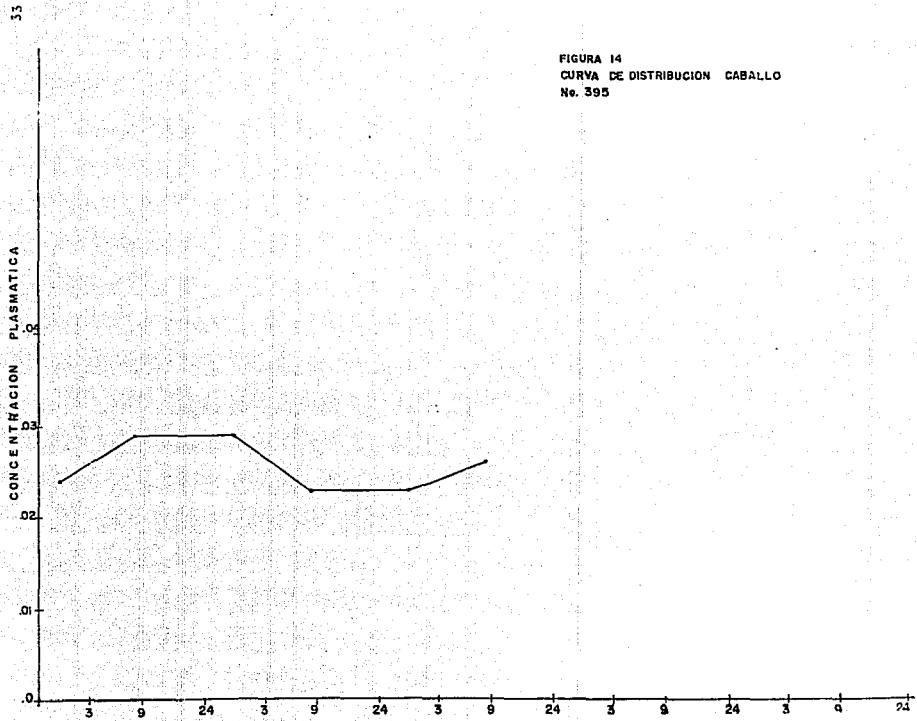


FIGURA 14
CURVA DE DISTRIBUCION CABALLO
No. 395



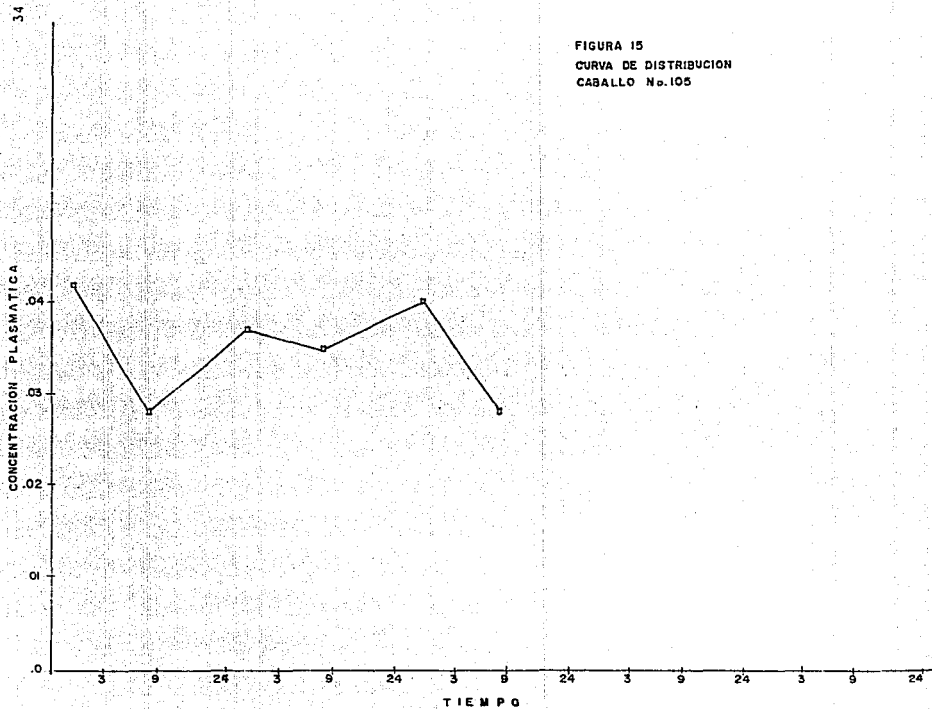


FIGURA 15
CURVA DE DISTRIBUCION
CABALLO No. 105

FIGURA 16
CURVA DE DISTRIBUCION-ELIMINACION
CABALLO PAMPERO

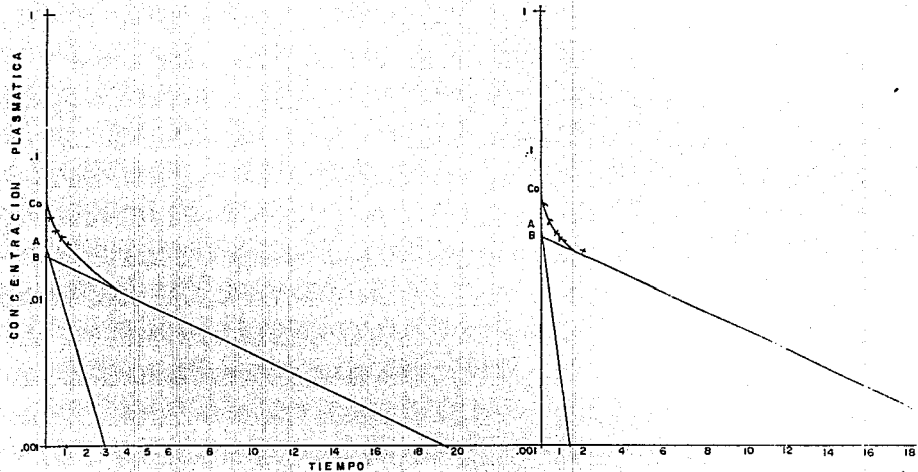


FIGURA 17
CURVA DISTRIBUCION-ELIMINACION
CABALLO AS DE OROS

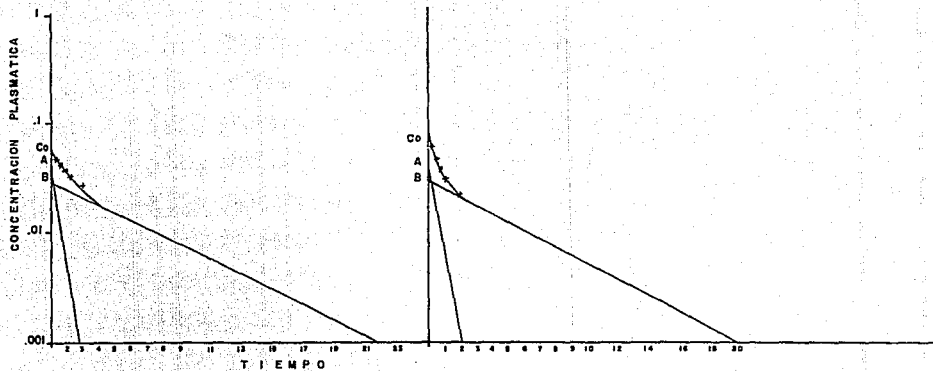


Figura 18.

