



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**

Estudio Farmacocinético y  
Excreción en Leche de  
Cefquinome en Ovino

D. Pablo Selvi Sabater

**2015**



El presente trabajo para acceder al grado de Doctor se ha realizado dentro del proyecto Séneca titulado:

**Optimización del uso de cefalosporinas (ceftiofur y cefquinome) mediante nuevas formulaciones de liberación sostenida parenterales en caprino.**

Entidad financiadora:

Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia-Fundación Séneca.

Proyecto: 11850/PI/09





UNIVERSIDAD  
DE MURCIA

---

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA  
FACULTAD DE VETERINARIA

D. Carlos M. Cárceles Rodríguez, Catedrático de Universidad del área de Farmacología, en el Departamento de Farmacología de La Universidad de Murcia, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Estudio farmacocinético y excreción en leche de cefquinome en Ovino", realizada por D. Pablo Selvi Sabater, bajo mi inmediata dirección y supervisión, en el Departamento de Farmacología y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 22 de abril de 2015





UNIVERSIDAD  
DE MURCIA

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA  
FACULTAD DE VETERINARIA

D. Alberto Espuny Miró, Profesor Asociado del área de Farmacología, en el Departamento de Farmacología de La Universidad de Murcia, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Estudio farmacocinético y excreción en leche de cefquinome en Ovino", realizada por D. Pablo Selvi Sabater, bajo mi inmediata dirección y supervisión, en el Departamento de Farmacología y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 22 de abril de 2015



# **DEDICATORIA**



Este trabajo se lo dedico a mis padres, Jose y Josefa, por el amor recibido y por la educación que me han brindado y los valores inculcados, que me ha hecho posible llegar hasta aquí. Muchas gracias por todo.

A mi hermano Jose, por haber cuidado siempre de mi, y por los buenos ratos que hemos pasado y seguiremos pasando juntos. A mi cuñada Eva, y a mi sobrina Leyre, por todas esas risas en estos últimos años.

A mis amigos Jonatan, Nacho, Pablo y Vicente, por todos esos buenos momentos que pasamos desde que éramos unos críos. También a mis amigos Gonzalo, Laura, Andrea, Maria, Angela, Amparo M., Amparo B., Blanca, Iria, Nacho G., Noemi, Nuria, Pilar, Manuel, Mamen, Mar, Teresa y Titos.

Y por supuesto, a Judit, mi alma gemela. Por todo el cariño que me has dado, por todo el amor, por toda la paciencia, por todo el tiempo que hemos pasado juntos y por toda la vida que nos queda aún por recorrer juntos. Sin ti, todo esto no sería posible.



# **AGRADECIMIENTOS**



Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna manera han participado en este trabajo.

En especial mención a los directores de esta tesis:

- Al Dr. Alberto Espuny Miró, por su guía durante estos años, por los consejos, por todas las horas dedicadas para que este proyecto haya podido realizarse. Por el apoyo y por poder considerarte, además de mi tutor, un amigo.
- Al Dr. Carlos Cárcelos Rodríguez, por su profesionalidad y su entusiasmo en la docencia, que motiva a cuantos hay a su alrededor.

Al Dr. Emilio Fernández-Varón por la ayuda prestada y por ser uno de los principales pilares que sostiene este gran equipo docente e investigador.

A Veronica, por toda la ayuda recibida, paciencia y trabajo realizado para que este proyecto haya podido realizarse.

Al Director de la Granja Cuarto Perea de Villarrobledo (Albacete) y a su equipo de trabajo, en especial a Miguel Angel Fernández, veterinario de la explotación, por su disposición a ayudarnos en todo momento, y poner a nuestra disposición los animales empleados en el presente trabajo.

A los Laboratorios Exopol por cedernos de forma desinteresada las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en rumiantes utilizadas en el presente estudio.



# ÍNDICE



<b>1.- INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>4</b>
2.1.- Introducción histórica	5
2.2. - Estructura química y clasificación	6
1.2.1.- Estructura química	6
1.2.2.- Clasificación	7
2.3.- Relación estructura y actividad	12
2.4.- Mecanismo de acción	15
2.5.- Integración farmacocinética-farmacodinámica	20
2.6.- Espectro antibacteriano	22
2.6.1.- Espectro antibacteriano cefalosporinas primera generación	22
2.6.2.- Espectro antibacteriano cefalosporinas segunda generación	23
2.6.3.- Espectro antibacteriano cefalosporinas tercera generación	24
2.6.4.- Espectro antibacteriano cefalosporinas cuarta generación	25
2.6.5.- Espectro antibacteriano cefalosporinas quinta generación	25
2.7.- Mecanismos de resistencias bacterianas	26
2.7.1.- Modificaciones de las dianas de acción	27
2.7.2.- Producción de b-lactamasas	28
2.7.2.1.- Clasificación de b-lactamasas	28
2.7.2.2.- B-lactamasas de espectro extendido	32

2.8.- Propiedades farmacocinéticas	33
2.8.1.- Absorción y biodisponibilidad	33
2.8.2.- Distribución	34
2.8.3.- Metabolismo y excreción	36
2.9.- Interacciones	37
2.10.- Toxicidad y efectos adversos	38
2.10.1.- Reacciones adversas gastrointestinales	39
2.10.2.- Reacciones adversas hematológicas	39
2.10.3.- Reacciones adversas hepáticas	40
2.10.4.- Reacciones adversas renales	40
2.10.5.- Reacciones adversas sobre el sistema nervioso central	41
2.10.6.- Reacciones alérgicas	41
2.10.7.- Reacciones adversas cardíacas	43
2.11.- Aplicaciones terapéuticas de las cefalosporinas	43
2.12.- Cefquinoma	45
2.12.1.- Estructura química y relación estructura-actividad	45
2.12.2.- Propiedades físicas y químicas	46
2.12.3.- Espectro antibacteriano	46
2.12.4.- Indicaciones clínicas	46
2.12.5.- Posológica, forma de administración y duración del tratamiento	47
2.12.6.- Tiempo de espera	47
2.12.7.- Toxicidad y efectos adversos	47
2.12.8.- Interacciones con medicamentos	48

2.12.9.- Propiedades farmacocinéticas	48
2.12.9.1.- Absorción y biodisponibilidad	48
2.12.9.1.- Distribución y eliminación	50
<b>3.- MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>52</b>
3.1.- Material	53
3.1.1.- Material fungible	53
3.1.2.- Productos y reactivos	53
3.1.3.- Aparataje	54
3.1.4.- Software informático	55
3.2.- Animales	55
3.3.- Protocolo experimental	55
3.4.- Técnicas analíticas	58
3.5.- Validación de la técnica	59
3.5.1.- Linealidad	59
3.5.2.- Recuperación	59
3.5.3.- Precisión	60
3.6.- Análisis farmacocinético	61
3.6.1.- Análisis compartimental de datos plasmáticos	61
3.6.2.- Análisis no compartimental de datos plasmáticos	62
3.7.- Métodos estadísticos	62
3.8.- Cálculo de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)	63
<b>4.- RESULTADOS</b>	<b>65</b>
4.1.- Administración intravenosa de cefquinoma	66
4.2.- Administración intramuscular de cefquinoma	72

4.3.- Administración subcutánea de cefquinoma.	80
4.4.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos de cefquinoma tras su administración intravenosa, intramuscular y subcutánea.	88
4.5.- Excreción en leche de cefquinoma tras su administración intravenosa, intramuscular y subcutánea	95
4.6.- Parámetros farmacodinámicos (CMI) obtenidos frente a cepas de staphylococcus aureus	99
<b>5.- DISCUSIÓN</b>	<b>100</b>
5.1.- Administración intravenosa de cefquinoma	101
5.1.1.- Modelo Farmacocinético	101
5.1.2.- Parametros Farmacocinéticos	103
5.1.2.1.- Constantes híbridas de disposición rápida y lenta	103
5.1.2.2.- Microconstantes	104
5.1.2.3.- Tiempo de vida media y tiempo medio de residencia	106
5.1.2.4.- Volmenés de distribución aparente	107
5.1.2.5.- Área bajo la curva	109
5.1.2.6.- Aclaramiento plasmático	109

5.2.- Administración intramuscular de cefquinoma	110
5.2.1.- Modelo Farmacocinético	110
5.2.2.- Parametros Farmacocinéticos	112
5.2.2.1.- Tiempo de vida media, tiempo medio de residencia y tiempo medio de absorción	112
5.2.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	114
5.2.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	115
5.2.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	116
5.2.2.5.- Volúmenes de distribución aparente	117
5.2.2.6.- Aclaramiento plasmático	118
5.3.- Administración subcutánea de cefquinoma	118
5.3.1.- Modelo Farmacocinético	118
5.3.2.- Parametros Farmacocinéticos	120
5.3.2.1.- Tiempo de vida media, tiempo medio de residencia y tiempo medio de absorción	120
5.3.2.2.- Tiempo máximo y concentración máxima	121
5.3.2.3.- Constante de absorción y semivida de absorción	123
5.3.2.4.- Área bajo la curva y biodisponibilidad	123
5.3.2.5.- Volúmenes de distribución aparente	124
5.3.2.6.- Aclaramiento plasmático	124
5.4.- Comparación entre vías de administración	125
5.4.1.- Tiempo de vida media	125

5.4.2.- Tiempo medio de residencia	127
5.4.3.- Constante de absorción	127
5.4.4.- Tiempo máximo y concentración máxima	128
5.4.5.- Tiempo medio de absorción	130
5.4.6.- Área bajo la curva	130
5.4.7.- Biodisponibilidad	132
5.5.- Integración farmacocinética/farmacodinamia	132
<b>6.- CONCLUSIONES</b>	<b>135</b>
<b>7.- RESUMEN</b>	<b>138</b>
<b>8.- SUMMARY</b>	<b>143</b>
<b>9.- BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>148</b>
<b>10.- ABREVIATURAS</b>	<b>166</b>

# **1.-INTRODUCCIÓN**



El objetivo de la farmacocinética consiste en estudiar la evolución temporal de las concentraciones, 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.

El comportamiento farmacocinético de un determinado fármaco varía en las diversas especies animales, incluso muy cercanas filogenéticamente, debido a diferencias morfológicas y fisiológicas: aparato digestivo, funcionalidad hepática, funcionalidad renal, ritmo cardíaco, etc. Ello obliga a evitar las extrapolaciones de posologías de una especie a otra, en la medida de lo posible. Por ello es importante estudiar el comportamiento farmacocinético de cada fármaco en las especies en las que se pretende aplicar.

En las especies animales de producción de alimentos, los antibióticos y antiparasitarios son, sin duda, medicamentos usados con mucha frecuencia, casi sistemáticamente. 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, hemos de procurar que estos gastos sean mínimos, 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.

- Otro de los aspectos de mayor relevancia, es evitar la presencia de residuos en los productos alimenticios de origen animal destinados al consumo humano.

## **OBJETIVOS**

1. Determinación de los parámetros farmacocinéticos de cefquinoma tras la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, en ovejas.
2. La determinación, y cuantificación, de la eliminación de cefquinoma en la leche, dependiendo de la vía de administración.
3. Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de cefquinoma frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de ovejas procedentes de granjas comerciales, como germen representativo de procesos infecciosos.
4. Establecimiento de los parámetros farmacocinéticos-farmacodinámicos de cefquinoma y utilizando las CMI calculadas en el objetivo anterior, para la proposición de un régimen posológico que optimice la eficacia de este antibiótico frente a *Staphylococcus aureus*.

## **2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**



## 2.1.- INTRODUCCIÓN HISTÓRICA

El grupo farmacológico denominado Beta-Lactámicos se remonta a 1928 cuando Fleming descubrió un hongo del género denominado *Penicillium* que producía una sustancia que más tarde fue denominada como Penicilina, que era capaz de inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* (Flórez, 1998).

La Cefalosporina C fue descubierta por Giuseppe Brotzu en 1948, profesor del instituto de Cagliari en la isla de Sardinia, el cual aisló un hongo del agua del mar en una zona donde desembocaban aguas residuales. Este hongo fue inicialmente identificado como *Cephalosporium acremonium* y más tarde reclasificado como *Acremonium chrysogenum*, para finalmente volver a reclasificarlo como *Acremonium strictum* (Onions y Brady, 1987).

La estructura química de la Cefalosporina C fue propuesta por primera vez por Abraham y Newton en 1961 y confirmada por análisis de rayos-X por Hodgkin y Maslen (1961). El compuesto consta de un anillo de dihidrotiazina de 6 miembros, a diferencia de las penicilinas en las cuales este anillo de dihidrotiazina es de 5 miembros. En el caso de las cefalosporinas el anillo de 6 miembros está fusionado a un anillo  $\beta$ -lactámico, la unión de los dos anillos da como resultado un grupo llamado "Cefem". La cefalosporina C tiene unida mediante un enlace amido al C7 una cadena lateral alifática (d-aminoadipil) y en el C3 tiene unido un éster metílico del ácido acético (Guiguére, 2006). Dada la inestabilidad química de esta cefalosporina, se desarrollaron una serie de modificaciones en la Cefalosporina C, sobre todo modificando los grupos unidos al C3 y C7 del grupo "Cefem", dando lugar a las cefalosporinas semi-sintéticas. Estos nuevos derivados cefalosporánicos incrementan su actividad antibiótica frente a las bacterias y también su estabilidad a la hidrólisis ácida en el estómago lo que les permite ser administrados oralmente.

Para la síntesis de la mayoría de las cefalosporinas semi-sintéticas se parte de un núcleo cefalosporánico, 7-ACA o 7-ADCA cuya única diferencia está en el C3 (Figura 1). La combinación de estos dos núcleos con diferentes modificaciones en sus respectivos carbonos 3 y 7 permite obtener una gama muy amplia de derivados cefalosporánicos

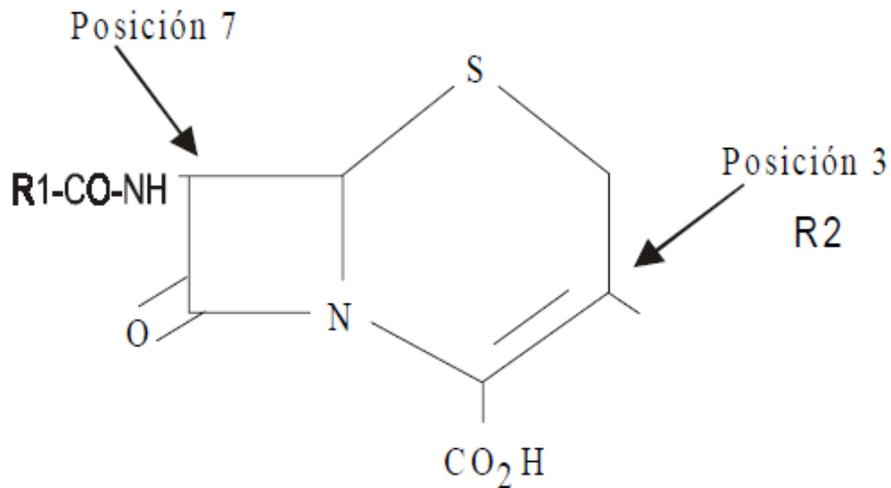
con actividad frente a diferentes microorganismos, generando un espectro muy amplio que permite combatir a un número muy grande de agentes infecciosos.

## **2.2.- ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN**

### **2.2.1.- ESTRUCTURA QUÍMICA**

La familia de las cefalosporinas se inició en 1948 cuando Botzu obtuvo, a partir del hongo *Cephalosporium acremonium*, material activo frente a *Staphylococcus aureus*. Del *Cephalosporium* se obtuvieron las cefalosporinas C, N y P, siendo la C la base de las nuevas cefalosporinas.

Las cefalosporinas están formadas por la unión de un anillo beta-lactámico con un anillo dihidrotiazidínico de seis componentes, formando así el núcleo fundamental de las cefalosporinas, el ácido 7-aminocefalosporánico (7-ACA), biológicamente activo. A este núcleo (cefem) se unen dos cadenas laterales que modifican la actividad antibacteriana y las características farmacocinéticas (Figura 1). Las variaciones introducidas en C7 del 7-ACA modifican la actividad antibacteriana, la sustitución en posición 3 del anillo dihidrotiazínico origina modificaciones de carácter farmacocinético, y la presencia del grupo metiltiotetrazol en esta posición está relacionado con efectos adversos concretos: alteraciones de la coagulación e intolerancia al alcohol. Las moléculas con un grupo metoxi en posición 7 del 7-ACA constituyen el grupo de las cefamicinas (Flórez, 1998)



**Figura 1.-** Núcleo básico de las cefalosporinas

### 2.2.2.- CLASIFICACIÓN

Existen distintos tipos de clasificaciones para las cefalosporinas. Una clasificación de carácter biológico de O'Callaghan que subdivide a las cefalosporinas en 7 grupos en base a su metabolismo y estabilidad a la degradación por beta-lactamasas (O'Callaghan, 1979). Otra clasificación de carácter químico clasifica las cefalosporinas de acuerdo a los sustituyentes presentes en el carbono de la cadena lateral de C7, dando cuatro grupos: cefalosporinas sustituidas y no sustituidas a este nivel;  $\alpha$ - amino cefalosporinas y aril-oxi-imino cefalosporinas. Otra clasificación de carácter farmacocinético, de acuerdo al tiempo de vida media y aplicada fundamentalmente a las cefalosporinas de uso parenteral, dispone las cefalosporinas en tres grupos, incluyéndose en el grupo 1 las cefalosporinas de vidas medias menores de 1 hora (cefalotina, cefradina, cefapirina, cefoxitina); en el grupo 2 las de vidas medias entre 1 y 3 horas (cefazolina, cefmetazol, cefuroxima, cefotaxima, ceftioxizima, moxalactam, cefmenoxima, cefoperazona, ceftazidima, cefpiroma, cefepime) y en el grupo 3 aquellas cefalosporinas con tiempos de vida media mayores a 3 horas (cefpiramide, ceftriaxona, cefodizima) (Karchmer, 2000). Además, dentro de cada uno de estos grupos se realiza una subdivisión en base a la vía de eliminación principal (renal y biliar). Otra clasificación de carácter microbiológico, elaborada por J.D. Williams, agrupa las

cefalosporinas en base a su espectro antibacteriano, su actividad sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas, *Pseudomonas aeruginosa* y anaerobias. El grupo I incluye las cefalosporinas de mayor actividad sobre Gram positivos (cefradina, cefradoxilo, cefalexina, cefalotina); el grupo II, a cefalosporinas con mayor actividad sobre Gram negativos (cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, ceftizoxima); el grupo III a las que poseen actividad sobre *P. aeruginosa* (ceftazidima, cefoperazona) y el grupo IV a las que presentan actividad sobre bacterias anaerobias (cefoxitina, cefotetan, moxalactam) (Mella, 2001).

La clasificación más utilizada, desde una perspectiva clínica, agrupa a las cefalosporinas en generaciones, de acuerdo al desarrollo histórico y algunas características microbiológicas y estructurales en común (Mella, 2001).

1. Primera generación:

- a. Oral: Cefadroxilo, Cefalexina, Cefradina. Cefacetil, cefaloglycin, cefalonium y cefaloridina.
- b. Parenteral: Cefalotina, Cefazolina, Cefapirina, Cefradina. Cefaloridina, cefatrizina, cefazaflur, cefazedona, cefroxadine y ceftazol.

2. Segunda generación:

- a. Oral: Cefaclor, Cefuroxima axetilo, Cefprozil y Loracarbef.
- b. Parenteral: Cefonicida, Cefoxitina, Cefuroxima, Cefamandol, Cefmetazol, Cefotetan, Cefamicina, Cefoxitina, Cefmetazol, cefminox, cefotetan, cefbuperazona y Cefuzonam.

3. Tercera generación:

- a. Oral: Cefixima, Cefpodoxima proxetilo, Ceftibuteno, Cefditoreno, Cefetamet, Cefdinir y Latamoxef o Moxalactam.
- b. Parenteral: Cefminox, Cefotaxima, Ceftazidima, Ceftriaxona, Cefoperazona, Ceftizoxima, Moxalactam, Cefpiroma, Cefodizima,

Cefmenoxima, Cefsulodina, Ceftiofur, cefpodoxima. Cefcapene, cefdaloxima, cefovecin, cefpimizol, cefteram y ceftiole.

4. Cuarta generación:

- a. Parenteral: Cefepima, Cefaclidina, Cefoselis, Cefelidina. Cefluprenam, ceftazopran, cefpirome, cefquinom y flomoxef.

5. Quinta generación:

- a. Parenteral: Ceftarolina, ceftobiprol.

Cada generación presenta una serie de características:

Las **cefalosporinas de primera generación** presentan buena actividad sobre cocos Gram positivos como *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina, *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*, sin embargo, carecen de actividad contra *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Staphylococcus epidermidis* y neumococos resistentes a penicilina. También presentan actividad sobre algunos bacilos Gram negativos, como *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Moraxella catarrhalis* y *Proteus mirabilis* (no productoras de  $\beta$ -lactamasas). No poseen actividad sobre *Haemophilus influenzae*. No son útiles para el tratamiento de infecciones producidas por *Salmonella spp.* y *Shigella spp.* Atendiendo a sus características farmacocinéticas, las cefalosporinas de primera generación presentan vía de administración oral y parenteral según el compuesto, presentan un tiempo de vida media o semivida corto (aunque cefazolina y cefadroxilo presentan tiempos de eliminación más prolongados que el resto), atraviesan débilmente la barrera hematoencefálica (BHE) con bajos niveles en líquido cefalorraquídeo (LCR) y excreción por vía urinaria. Son útiles en el tratamiento de infecciones urinarias por especies sensibles (Flórez, 1998; Mella, 2001; Rivas 2002).

Las **cefalosporinas de segunda generación** presentan mayor cobertura frente a bacterias Gram negativas que las de primera generación. Su actividad se extiende sobre *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae*. En esta generación de cefalosporinas, también se incluyen otras

moléculas que técnicamente corresponden a cefamicina y carbacefems: (Flórez, 1998; Mella, 2001; Rivas 2002):

- Cefamicinas: Presentan un grupo metoxi en posición 7 del 7-ACA (7-alfa-metoxi-cefalosporinas). Poseen actividad sobre *Bacteroides fragilis*. Las cefamicinas son una familia de antibióticos producidos por diversas especies de *Streptomyces*. Se han aislado las cefamicinas A, B y C. La cefoxitina es la sal sódica de un antibiótico semisintético derivado de la cefamicina C (R=NH<sub>2</sub>). Dentro del subgrupo de las cefamicinas se encuentran cefoxitina, cefmetazol, cefminox, cefotetan, cefbuperazona. La cefoxitina tiene un grupo tienil igual que la cefalotina y la cefaloridina, a las que se parece por su espectro de actividad. Estudios clínicos sugieren que la cefoxitina puede ser útil en el tratamiento de infecciones graves, en particular de vías biliares y renales y de cavidad peritoneal. (Bowman y Rand, 1980).
- Carbacefems: El azufre del anillo dihidrotiazínico del núcleo fundamental (7-ACA o grupo cefem) está sustituido por un carbono (carba) de un grupo metileno (CH<sub>2</sub>). Dentro de este subgrupo disponemos de Loracarbef.

Las cefalosporinas de segunda generación carecen de actividad sobre *Pseudomonas aeruginosa*. Son menos activas que las cefalosporinas de primera generación sobre cepas de *S. aureus* sensibles a oxacilina, con la excepción de cefamandol. Las cefalosporinas de segunda generación pueden administrarse por vía oral o parenteral según el compuesto, tienen una semivida corta, atraviesan la barrera hematoencefálica (BHE) mejor que las de primera generación, sin embargo, no se consideran agentes de elección en el tratamiento de meningitis bacteriana aguda, y se eliminan vía renal (Flórez, 1998; Mella, 2001; Rivas 2002).

Las cefalosporinas de segunda generación pueden ser útiles en el tratamiento de otitis, sinusitis y de infecciones del tracto respiratorio.

Las **cefalosporinas de tercera generación** representan uno de los grupos de antibióticos de mayor uso actualmente. En su estructura química presentan un anillo 2-aminotiazolil como cadena lateral en C-7 del núcleo 7-ACA. Moxalactam, cefotaxima,

ceftizoxima, cefmenoxima y ceftriaxona son aminotiazolil-iminometoxi-cefalosporinas. Poseen un amplio espectro de actividad, siendo más eficaces *in vitro* contra bacilos Gram negativos y coco Gram positivos, presentando una elevada actividad contra *Enterobacteriaceae* (excepto sobre cepas hiperproductoras de cefalosporinasas y/o de beta-lactamasas de espectro extendido (extended-spectrum beta-lactamase (BLEA), *Serratia marcescens*, *H. influenzae* (incluyendo cepas productoras de beta-lactamasas), *M. catarrhalis*, *Neisseria spp.*, *S. pyogenes* y *S. pneumoniae*. Cefotaxima y cefoperazona poseen actividad frente a *P. aeruginosa*. Las cefalosporinas de tercera generación tienen poca actividad frente a la mayoría de cepas de *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Citrobacter*, *P. aeruginosa* (a excepción de ceftazidima y cefoperazona), y las bacterias anaerobias. Existen cefalosporinas de tercera generación de administración oral y parenteral según la molécula. Algunos de los componentes de esta generación, como ceftriaxona, presentan una semivida prolongada; la cefotaxima se metaboliza a una forma biológicamente activa, la desacetilcefotaxima. Alcanzan concentraciones eficaces en una amplia variedad de tejidos y parénquimas, entre ellos sangre, orina, bilis (particularmente cefoperazona y ceftriaxona), pulmones, líquido peritoneal y meninges (Flórez, 1998; Mella, 2001; Rivas 2002).

Las cefalosporinas de tercera generación son útiles en el tratamiento de la otitis media, de infecciones del tracto respiratorio superior e inferior, infecciones del tracto urinario (cefixima, cefpodoxima y cefdinir) y de la meningitis bacteriana aguda (ceftriaxona y cefotaxima), si bien, la aparición creciente de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina y cefalosporinas ha limitado su uso como monoterapia empírica para el tratamiento de infecciones meníngeas en algunos centros (Flórez, 1998; Mella, 2001; Rivas 2002).

Las **cefalosporinas de cuarta generación** presentan en su estructura química un grupo metoxi-imino aminotiazolil en R1 del núcleo 7-ACA, excepto cefclidín (previamente E 1040) que presenta un grupo aminotiadiazolil y un nitrógeno cuaternario en R2. La asociación de una carga neta positiva con una carga negativa en el núcleo 7-ACA convierte a estas cefalosporinas en moléculas zwitteriónicas, es decir, moléculas con un balance entre sus cargas positivas y negativas en los rangos de pH encontrados *in vivo*. Esta característica químico-estructural proporciona a estas

cefalosporinas una capacidad de penetración a través de las porinas (de manera selectiva a través de la porina *Omp F*), superior a las de tercera generación, lo que le permite alcanzar altas concentraciones en el espacio periplásmico de los bacilos Gram negativos. Además presentan una gran estabilidad contra beta-lactamasas mediadas por cromosomas, plásmidos bacterianos y afinidad por las proteínas de unión a penicilinas (Flórez, 1998; Mella, 2001; Rivas 2002).

Poseen una actividad superior con respecto a las cefalosporinas de tercera generación frente a bacilos Gram negativos multirresistentes (*Serratia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Providencia* y cepas de *Proteus* indol negativo hiperproductoras de cefalosporinasas, y cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de BLEA) y equivalente frente cepas de bacterias Gram negativos susceptibles y *S. pneumoniae*. Presentan una actividad antibacteriana sobre *P. aeruginosa* comparable, pero no superior, a la de ceftazidima, y tienen mejor actividad contra algunos Gram-positivos en comparación con las cefalosporinas de tercera generación (Flórez, 1998; Mella, 2001; Rivas 2002).

**Cefalosporinas de quinta generación.** La ceftarolina posee un metabolito activo cuyo espectro de actividad *in vitro* es similar a ceftriaxona pero con una mejor actividad frente a Gram-positivos. Ceftarolina tiene una mayor afinidad por las PBP2a de los estafilococos oxacilin-resistentes y tiene actividad también contra *S. aureus* meticilin-resistente (MRSA) y contra *S. aureus* con resistencia intermedia y heterogénea a vancomicina (VISA). También presenta actividad frente a *Streptococcus pneumoniae* resistente a la penicilina o ceftriaxona. La ceftarolina no es activa contra *Enterobacteriaceae* sobre productoras de AmpC o productoras de BLEA, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* o *Bacteroides fragilis* (Sader, 2015).

## 2.3.- RELACIÓN ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD

Las cefalosporinas son agentes antibacterianos que poseen un anillo beta-lactámico unido a un anillo dihidrotiazínico formando así el ácido 7-aminocefalosporánico (7-ACA), el núcleo fundamental de las cefalosporinas.

Características del núcleo 7-ACA (Flórez, 1998):

- Presenta resistencia a diversas penicilinasas, lo que proporciona un amplio espectro de actividad a las cefalosporinas.
- Presencia constante de un grupo carboxílico en C4 y una cadena lateral  $\beta$ -acilamínica en C7 (-R1); sin embargo, este núcleo también permite la adición de distintos sustituyentes en C3 (-R2).

Las cefalosporinas poseen una actividad bactericida que depende del inóculo bacteriano, de la fase de crecimiento bacteriana y del tiempo, obteniendo su máximo efecto bactericida cuando en una proporción importante del intervalo interdosis la concentración plasmática del antibacteriano se encuentra por encima de la concentración inhibitoria mínima (CMI).

Al ácido 7-aminocefalosporánico le han unido por semisíntesis diversos grupos químicos especialmente en los carbonos 7 y 3 (radicales R1 y R2, respectivamente Figura 1) que conforman sus cadenas laterales.

**Sustitución a nivel de R1.** En general, las variaciones a nivel de R1 (C7) modifican la actividad antibacteriana. Dichas variaciones producen habitualmente moléculas con mayor afinidad por PBPs, particularmente de bacilos Gram negativos, y mayor estabilidad frente a  $\beta$ -lactamasas, obteniendo compuestos con mayor espectro de actividad y potencia; así, el grupo 2-aminotiazolil en el carbono 7 (R1), presente en cefotiam, permitió el desarrollo de moléculas con elevada afinidad sobre PBPs de bacterias Gram negativas, particularmente por PBP 1A y PBP 3, pero inestables frente a  $\beta$ -lactamasas. Posteriormente se desarrollaron nuevas moléculas resistentes a la degradación por  $\beta$ -lactamasas manteniendo la capacidad de unión a PBPs. La introducción del radical metoxi-imino sobre el carbono  $\alpha$  originó las metoxi-iminocefalosporinas, que se caracterizan por su estabilidad frente a  $\beta$ -lactamasas. Las cefalosporinas de tercera generación, incorporaron simultáneamente el grupo aminotiazolil y el radical metoxi-imino, consiguiendo una elevada actividad de estos compuestos sobre *Enterobacteriaceae* (Flórez, 1998; Mella, 2001; Rivas 2002).

**Sustitución a nivel de R2.** Las variaciones a nivel de R2 originan modificaciones en las propiedades farmacocinéticas de estas moléculas. Los compuestos con radical acetiloximetil, (como cefalotina y cefotaxima) presentan una vida media muy corta, siendo rápidamente metabolizados en el organismo por esterases plasmáticas y hepáticas, dando origen a compuestos desacetilados que, en general, son menos activos como anti-infecciosos que la molécula original. Además, la presencia de sustituyentes pequeños y exentos de carga en R2 es una característica general de las cefalosporinas de primera generación de uso oral; así cefalexina, cefradina y cefadroxilo, disponen de un grupo metilo a este nivel, mientras que cefaclor presenta un cloro en R2. Las cefalosporinas de uso parenteral tienden a presentar vidas medias más prolongadas en relación a la presencia de radicales acídicos y de mayor tamaño en R2, como en ceftriaxona que presenta un anillo heterocíclico de carácter ácido (1,2,5,6- tetrahidro- 2-metil- 5,6-dioxo- 1,2,4- triazin -3-il) que permite explicar niveles plasmáticos más elevados y tiempos de vida media más prolongado que el resto de las aminotiazolil metoxi-imino cefalosporinas. La cefazolina (cefalosporina con un anillo heterocíclico en R2) presenta concentraciones plasmáticas más elevadas y vida media más prolongada que cefalotina (acetiloximetilo cefalosporina). El radical N-metiltetrazol, presente en: moxalactam, cefamandol, cefoperazona, cefmenoxima, cefpiramida, cefmetazol, cefotetan y cefbuperazona, explica la aparición de efectos adversos con el uso de estas moléculas, principalmente de tipo hematológico con prolongación del tiempo de protrombina, por alteración en la síntesis de vitamina K en el intestino, y efecto "de tipo disulfiram", por inhibición del metabolismo del alcohol. El radical 3'mercaptotiazida está presente en cefodizima, otorgándole parámetros farmacocinéticos más favorables y una peculiar actividad inmunomoduladora. (Flórez, 1998; Mella, 2001; Rivas 2002)

## 2.4.- MECANISMO DE ACCIÓN

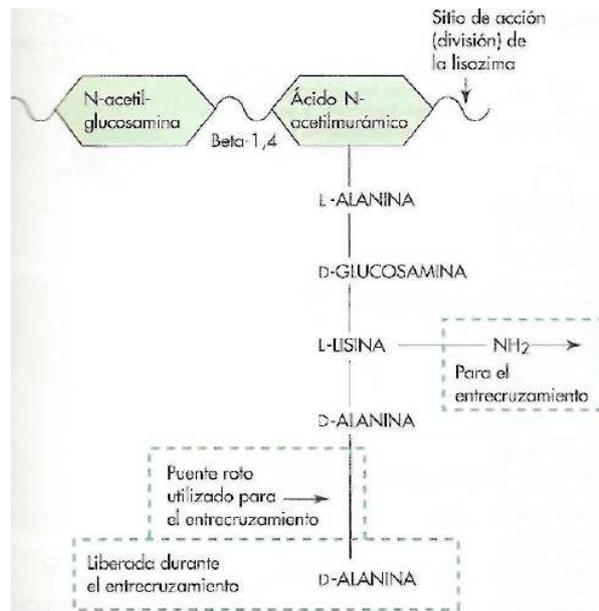
La acción de los beta-lactámicos se desarrolla mediante la inhibición de las etapas finales de la síntesis del peptidoglicano o mureína que es un polímero esencial en la pared celular de casi todas las bacterias (las clamidias carecen de peptidoglicano y son, por lo tanto, resistentes a los beta-lactámicos).

El peptidoglicano es un polímero de naturaleza glucopeptídica cuya estructura está bastante conservada en todas las bacterias, aunque haya cambios en la composición química y la naturaleza de los monómeros constituyentes entre bacterias Gram positivas y Gram negativas. (Flórez, 1998).

El peptidoglicano está formado por cadenas en las que se alternan N-acetilglucosamina (NAG) y el ácido N-acetilmurámico (NAM) unidos mediante enlaces B1-4 glucosídicos.

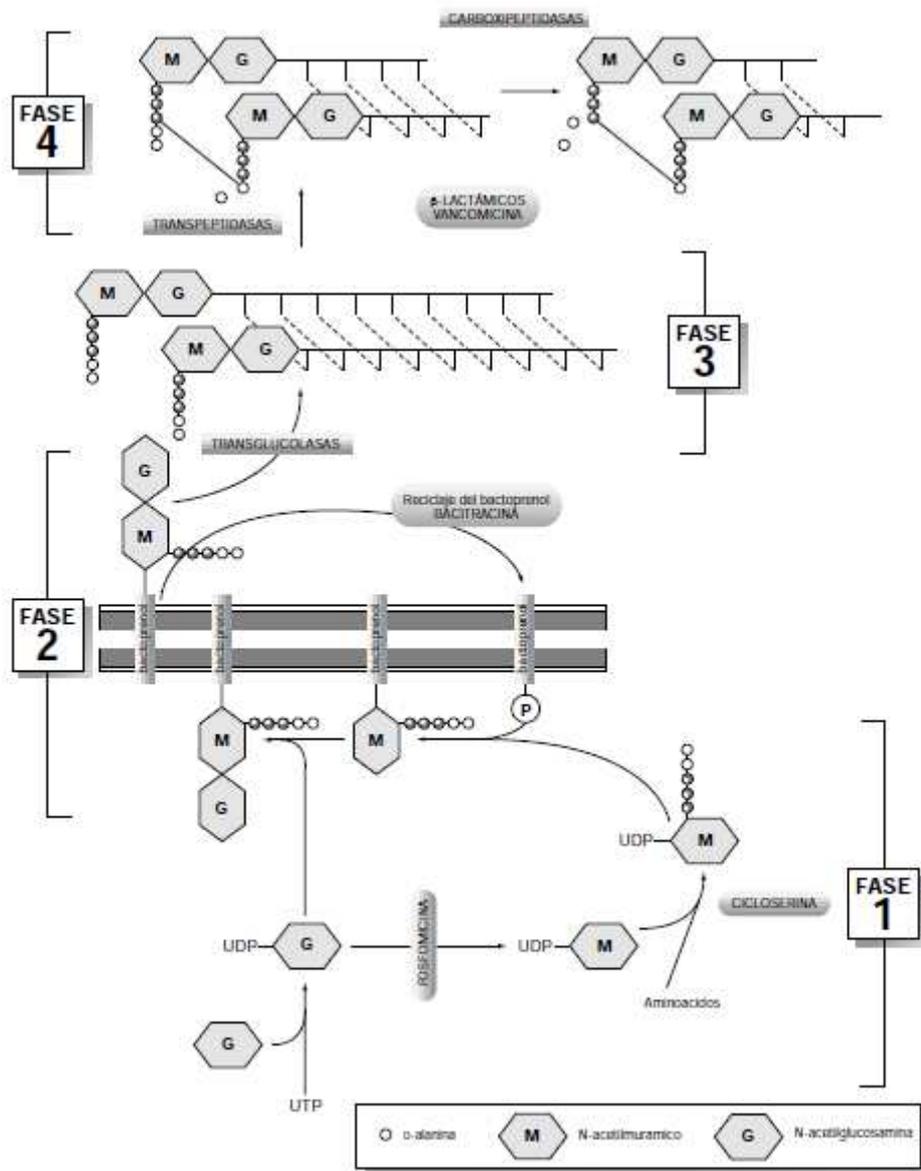
Estas cadenas de heteropolímeros son rectas y no ramificadas, constituyendo la estructura básica (Schlegel, 1997). Generalmente el grupo ácido del NAM está esterificado por el pentapéptido L-ala-D-glu-DAP-(ácido diaminopimérico)-D-ala-D-ala en el caso de las bacterias Gram negativas. En las bacterias Gram positivas el pentapéptido es L-ala-D-glu-L-lys-D-ala-D-ala.

Los pentapéptidos son unidos mediante enlaces peptídicos con otros pentapéptidos, donde el último péptido de D-ala es liberado. En las bacterias Gram negativas el enlace peptídico es directo entre el D-Ala en 4ª posición de una cadena con el m-DAP de la cadena siguiente (liberándose el D-Ala en 5ª posición). En las bacterias Gram positivas el enlace que se forma es mediante unión indirecta a través de una pentapéptido de glicina entre la D-Ala en 4ª posición y L-Lys de la cadena siguiente (Murray, 2006)



**Figura 2.-** Estructura peptidoglicano

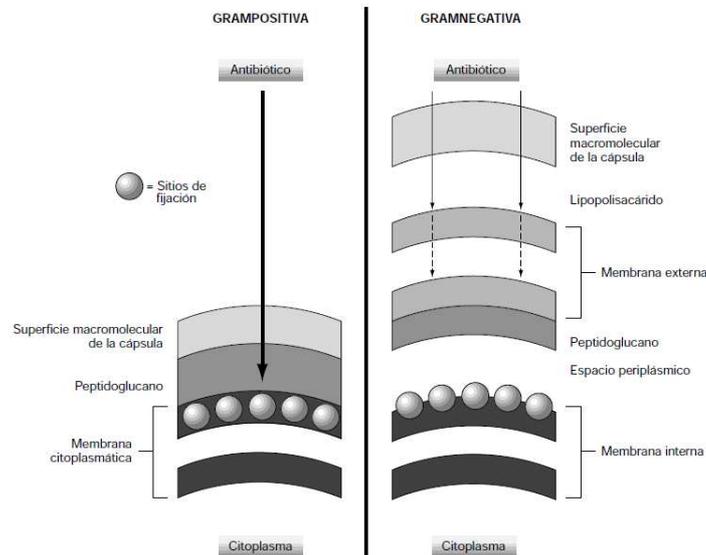
La síntesis de peptidoglicano ocurre en 4 fases con distintas localizaciones. La 1ª fase tiene lugar en el citoplasma donde el UDP-NAM se obtiene a partir del UDP-NAG (por la enzima fosfoenol piruvato) y los 5 aminoácidos se unen de forma secuencial al UDP-NAM excepto los dos últimos que son unidos en forma de dipéptido (D-Ala-D-Ala). La 2ª fase ocurre en el interior de la membrana citoplasmática, el UDP-NAM unido al pentapéptido se une a un lípido llamado bactoprenol que actúa como transportador y se forma la unión NAM<sub>pentapéptido</sub>-NAG y el bactoprenol difunde a la cara externa de la membrana. La 3ª fase es la fase de polimerización, donde la cadena de peptidoglicano crece por acción de la enzima transglucolasa que formará los enlaces glucosídicos B1-4. La 4ª, y última fase, es la formación de enlaces cruzados entre las cadenas lineales del peptidoglicano. Estos enlaces se establecen entre los aminoácidos del pentapéptido, concretamente entre el aminoácido en posición 3 (que siempre es dibásico y tiene un grupo amino libre) y el residuo D-ala en posición 4. Esto hace que se desplace el resto de D-ala en posición 5. Las enzimas que catalizan esta etapa se llaman transpeptidasas. No todos los pentapéptidos participan en reacciones de entrecruzamiento. Una segunda enzima, la D-ala-carboxipeptidasa, elimina los restos D-ala terminales de cualquier pentapéptido que no se halle comprometido en el entrecruzamiento (Flórez, 1998; Murray, 2006).



**Figura 3.- Síntesis peptidoglicano**

Existen diferencias notables entre la estructura de la pared bacteriana en organismos Gram positivos y Gram negativos. La más notable es la presencia en los Gram negativos de una segunda membrana, la membrana externa, creándose un espacio entre ambas, el espacio periplásmico, en el que se encuentra el peptidoglicano. El peptidoglicano en las bacterias Gram negativas se ve al microscopio electrónico como una capa fina, posiblemente constituida por una única molécula bidimensional, que conserva la forma de la bacteria, y a la que normalmente se denomina «sáculo de mureína». En las Gram positivas no existe la membrana externa y el peptidoglicano aparece como una capa más gruesa (150 a 500 Å), lo que

posiblemente indica mayor incidencia de malla tridimensional en ella. (Flórez, 1998; Murray, 2006).



**Figura 4.-** Estructura de pared bacteriana de Gram positivas y Gram negativas

Las cefalosporinas (así como el resto de los betalactámicos) inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana al impedir la biosíntesis del peptidoglucano, por competición con las enzimas transpeptidasas y carboxipeptidasas encargadas de la formación de los puentes entre los pentapéptidos. Al contrario que ocurre con el sustrato natural, los beta-lactámicos se unen a la transglucolasa formando un enlace covalente con una serina de su centro activo, lo que produce la inactivación irreversible de la enzima. (Dámaso, 1990; Flórez, 1998).

Las transpeptidasas y carboxipeptidasas que reconocen como sustratos a las cefalosporinas se denominan “proteínas fijadoras de penicilina” (PBP). Esta unión es debida a la similitud estructural de las cefalosporinas por los dos últimos aminoácidos del pentapéptido (Dalanina-D-alanina) que une las moléculas de peptidoglucano de la pared bacteriana. Se han descrito distintos tipos, entre los más importantes cabe destacar las PBP 1, PBP 2 y PBP 3, ya que se consideran necesarias para la formación de la pared celular. La PBP 1a y la 1b presentan actividad transglucosidasa y su inhibición trae consigo la detención del crecimiento celular y la lisis de la bacteria. La PBP 2, también llamado factor de conformación, confiere forma alargada a la célula y

su inhibición origina formas esféricas u ovoides a la bacteria. La PBP 3 es llamada factor de segmentación y su papel consiste en la formación de septos y su inhibición trae consigo el alargamiento incontrolado de la célula y su muerte. (Damaso 1990). En líneas generales los beta-lactámicos son afines a las PBP-1, -2 o -3, y en especial para cefalosporinas los grupos de PBP-2 y -3 (Riviere, 2009).

Dado que las PBP se encuentran en la parte externa de la membrana celular, la actividad antibacteriana dependerá de la accesibilidad de la cefalosporina a la PBP. En las bacterias Gram positivas su acceso es más fácil, pero en las bacterias Gram negativas, que poseen una membrana externa, para que la cefalosporina alcance su diana debe hacerlo a través de las porinas (canales proteicos para la entrada de nutrientes que permiten la difusión a través de la membrana de moléculas hidrófilas de menos de 700 Da) de la membrana externa. (Murray, 2006).

Para que las cefalosporinas tengan actividad bactericida, es necesario que las bacterias estén creciendo activamente. En estas condiciones, la falta de transpeptidación y la actividad normal de las mureína-hidrolasas (autolisinas), hace que la mureína se debilite y en consecuencia la bacteria se destruye por lisis osmótica. Si las bacterias no están en crecimiento, son insensibles a la acción de las penicilinas. En una población bacteriana susceptible a los beta-lactámicos siempre existen algunas células que por diferentes razones no son lisadas. Este fenómeno se denomina tolerancia y puede producir el fracaso del tratamiento. (Flórez, 1998)

En resumen, el mecanismo de acción de las cefalosporinas es la inhibición de la síntesis del peptidoglicano por inhibición de la actividad de las transpeptidasas y carboxipeptidasas por unión a las PBP. Por todo esto, la actividad antibacteriana dependerá de tres factores: accesibilidad a las PBP, afinidad por las PBP y resistencias bacterianas.

Cefquinoma presenta dichos mecanismos de acción, alterando la síntesis de la pared bacteriana con una acción bactericida tiempo-dependiente. La unión a la pared bacteriana es debido a la similitud estructural de cefquinoma a los dos últimos aminoácidos del pentapéptido que une las moléculas del peptidoglicano. Además, induce activación de autolisinas bacterianas que destruyen el peptidoglicano (Mella, 2001)

## 2.5.- INTEGRACIÓN FARMACOCINÉTICA-FARMACODINÁMICA

Existen múltiples factores que pueden incidir directa o indirectamente en el éxito terapéutico de los antibióticos, y que clásicamente se agrupan en una tríada conformada por la interacción entre el agente infeccioso (microorganismo), el fármaco y las características del sujeto infectado y que es tratado (Davis y cols., 1968).

Por tanto, para poder evaluar la eficacia de los antibacterianos, actualmente, se aceptan una serie de principios farmacocinéticos y farmacodinámicos que ayudan a predecir su potencia y el régimen de administración más adecuado y que tienen en consideración el factor concentración y el factor tiempo (Quintiliani, 2004). Así, los antibacterianos pueden dividirse principalmente en dos grupos (Craig, 1998; Andes y Craig, 2002):

1. Aquellos que producen la muerte bacteriana de forma dependiente del tiempo de exposición.
2. Aquellos en los que la actividad es dependiente de la concentración alcanzada en el lugar de acción.

Las cefalosporinas pertenecen al grupo de antibacterianos tiempo dependiente. El objetivo farmacodinámico al utilizar estos antimicrobianos es por lo tanto lograr tiempos sobre la CMI ( $T > CMI$ ) prolongados, lo que también se asocia a mayores valores de la ratio AUC/CMI. En general se recomienda el uso de dosis fraccionadas ajustadas a la vida media de cada antibacteriano (Beltrán, 2004).

Por ejemplo, para la mayoría de las infecciones se considera suficiente un tiempo en el que las concentraciones son mayores que la CMI superior al 40 o al 50% del intervalo entre dosis. Sin embargo, en sujetos neutropénicos, con meningitis o con microorganismos intrínsecamente resistentes (como *Pseudomonas aeruginosa*) se recomiendan valores superiores al 60% e incluso cercanos al 100%. Las cefalosporinas tienen un efecto post-antibiótico (EPA) frente a Gram positivos de tan sólo 2 h, y mucho menor frente a Gram negativos (Odenholt, 2001; Suárez y Gudíol, 2009).

Esta característica, propia de los antibióticos con acción preferentemente dependiente del tiempo, junto con la corta semivida de eliminación de la mayoría de las cefalosporinas, condicionan su posología, lo que hace que se precise su administración varias veces al día para conseguir un T>CMI óptimo (Suárez y Gudiol, 2009)

Por tanto, la integración PK/PD es una guía para obtener estimaciones iniciales de dosis, que son *a priori* 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 los 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 plasmática 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 (MacGowan y Bowker, 2002).

Dado que las cefalosporinas ejercen su acción mientras el microorganismo está en fase de crecimiento, su actividad bactericida es menor en el tratamiento de abscesos, en los que gran parte de los microorganismos pueden estar en fase quiescente (aunque también puede influir la penetración del fármaco). En infecciones con gran inóculo bacteriano, especialmente las causadas por algunos Gram negativos (el ejemplo clásico es la neumonía nosocomial por Gram negativos), el efecto de las cefalosporinas también puede ser inferior (Wright, 1999).

En la integración PK/PD hay que tener en cuenta varias limitaciones (Andes y Craig, 2002; Toutain y cols., 2002; McKellar y cols., 2004):

1. Los parámetros farmacodinámicos (CMI) se obtienen *in vitro*. Por tanto, el pH, la presencia de oxígeno y el número de microorganismos no van a ser iguales en el medio de cultivo que en el ambiente donde crece el microorganismo *in vivo*: sangre, leche, líquido extracelular e intracelular, etc. Y que, además, se va a subestimar la duración del efecto post-antibiótico, que suele ser superior *in vivo*.

2. Los parámetros farmacocinéticos se deben obtener de la concentración en la biofase, lo cual resulta complicado. Si no existen barreras que impidan la difusión del fármaco, la concentración del fármaco libre en plasma, se aproxima a la concentración del fármaco en el espacio extracelular. Por tanto, la concentración del antibacteriano no unido a proteínas plasmáticas es el mejor predictor del éxito clínico, incluso para las infecciones en tejidos. En aquellos fármacos con más de un 20% de unión a proteínas plasmáticas, es conveniente utilizar un factor de corrección.

## **2.6.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO**

Las cefalosporinas actúan específicamente sobre la pared bacteriana y presentan actividad bactericida en aquellas bacterias que están creciendo activamente. Durante los test de antimicrobianos *in vitro*, se comprobó que al retirar el medicamento existe una demora para que el microorganismo reentre en el periodo logarítmico de crecimiento, este fenómeno se denomina efecto post-antibiótico (EPA). Las cefalosporinas, al contrario que los fármacos que inhiben la síntesis proteica, no presentan efecto post-antibiótico en bacterias Gram negativas, pero si presentan un ligero efecto post-antibiótico en bacterias Gram positivas (Noda y Vidal, 2010). Actúan como antibióticos tiempo dependiente, por lo que su actividad viene definida por el tiempo en el que la concentración sobrepasa la CMI ( $T > CMI$ ), lo que también se asocia a mayores ratios de AUC/CMI (Beltrán, 2004). Se considera que la concentración debe ser superior a la CMI al menos un 40-50% del tiempo, y se considera ideal que alcance el 80% (Craig, 1998).

### **2.6.1.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO CEFALOSPORINAS PRIMERA GENERACIÓN**

La cefalotina es la cefalosporina de primera generación más antigua y fue utilizada como el prototipo de este grupo. Cefalotina es activa contra la mayoría cocos Gram positivos (incluyendo los estafilococos productores de penicilinas), pero no tiene actividad clínica contra los enterococos, *Listeria*, estafilococos resistentes a

oxacilina (Mulligan y cols., 1993), o resistente a la penicilina neumococos (Friedland y Mccracken, 1994; Tomasz, 1997; Whitney y cols., 2000).

Cefalotina es activo contra la mayoría de cepas de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Klebsiella pneumoniae*, pero presenta poca actividad frente a otras especies de *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia* y los bacilos Gram negativos no entéricos como *Acinetobacter spp* y *Pseudomonas aeruginosa*. Cocos Gram negativos (tales como el gonococo y meningococo) y *Haemophilus influenzae* son generalmente resistentes. Cefalotina también es activa contra la mayoría de los patógenos anaerobios comunes, con algunas excepciones, como los Bacteroides, particularmente *B. fragilis* (Friedland y Mccracken, 1994; Tomasz, 1997; Whitney y cols., 2000).

La cefazolina tiene un espectro de actividad similar a cefalotina. Alcanza niveles plasmáticos más altos que cefalotina, y tiene una vida media de eliminación más prolongada. La cefazolina es menos estable que cefalotina *in vitro* frente algunas penicilinasas de estafilococos; aunque su relevancia clínica no está demostrada (Sabath, 1989).

## **2.6.2.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO CEFALOSPORINAS SEGUNDA GENERACIÓN**

Las cefalosporinas de segunda generación son algo menos activas contra cocos Gram positivos que las de primera generación, pero son más activas contra bacilos Gram negativos. Esta generación de compuestos se puede dividir en dos subgrupos.

En el primer subgrupo por su importancia clínica, cabe destacara la cefuroxima es más activa que la cefazolina *in vitro* frente a cepas de *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter* y algunas subespecies de *Proteus*. Sin embargo, algunos de estos microorganismos desarrollan resistencia de tipo cromosómica (Pitout y cols., 1997).

El segundo subgrupo de las cefalosporinas de segunda generación con estructura de cefamicina incluye a cefoxitina y cefotetan. Este subgrupo es activo contra la mayoría de cepas de *E. coli*, *P. mirabilis* y *Klebsiella*, como las cefalosporinas de primera generación. Los cefamicinas son bastante estables frente a muchas beta-lactamasas mediadas por plásmidos, pero la actividad de este grupo contra *Enterobacter* y algunas subespecies de *Proteus* está limitada por la inducción de la

cefalosporinas cromosómicas de estas especies y la selección de mutantes (Pitout y cols., 1997).

A diferencia de las cefalosporinas de primera generación, los cefamicinas son activas contra muchas cepas de *Bacteroides*. La combinación de actividad contra bacilos aerobios facultativos y Gram negativos y *Bacteroides* ha llevado a la utilización de las cefamicinas en la profilaxis y terapia de infecciones en las cavidades abdominales y pélvicas (donde predominan estos organismos) aunque el *Bacteroides fragilis*, presenta unas altas tasas de resistencia (Bohnen y cols., 1992; Snyderman y cols., 1996).

### **2.6.3.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO CEFALOSPORINAS TERCERA GENERACIÓN**

Las cefalosporinas de tercera generación se caracterizan por ser estables frente a las beta-lactamasas comunes de bacilos Gram negativos, y son muy activas frente a enterobacterias (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*), *Neisseria*, y *Haemophilus influenzae* (Klein y Cunha, 1995; Rivas y cols., 2002). Son el tratamiento de elección para meningitis producidas por bacterias Gram negativas. Sin embargo, algunos mutantes de enterobacterias, *Serratia*, *Citrobacter*, son resistentes a estos antibióticos (Pitout y cols., 1997).

Las cefalosporinas de tercera generación son menos activas contra la mayoría de los microorganismos Gram positivos que las cefalosporinas de primera generación y son inactivas contra los enterococos, *Listeria*, estafilococos resistentes a oxacilina, y *Acinetobacter*. La cefotaxima y ceftriaxona suelen ser activas contra neumococo con sensibilidad intermedia a la penicilina, pero las cepas totalmente resistentes a la penicilina a menudo son resistentes a las cefalosporinas de tercera generación también (Whitney y cols., 2000).

Algunas cefalosporinas de tercera generación, incluyendo cefotaxima y ceftriaxona, tienen poca actividad frente a *P. aeruginosa*. Sin embargo, otras como cefoperazona y ceftazidima, tienen actividad contra *P. aeruginosa*. Cefoperazona fue el primer fármaco disponible en este subgrupo, pero actualmente su uso es escaso debido a la disminución de la estabilidad a las beta-lactamasas mediadas por

plásmidos de bacilos Gram negativos que la hacen menos activa contra enterobacterias que otras cefalosporinas de tercera generación. La ceftazidima, es bastante estable a las beta-lactamasas mediadas por plásmidos y es altamente activa contra enterobacterias, *Neisseria*, y *Haemophilus influenzae*. La ceftazidima también es activa contra *P. aeruginosa* y es una terapia eficaz para las infecciones graves por *P. aeruginosa* cuando el microorganismo es resistente a las penicilinas antipseudomonas o el paciente es alérgico a la penicilina. Además, es eficaz en el tratamiento de las meningitis causadas por *P. aeruginosa*, aunque tiene poca actividad frente a microorganismos Gram positivos. La ceftazidima generalmente debe administrarse en combinación con un aminoglucósido para el tratamiento de infecciones graves por *P. aeruginosa* (Mella y cols., 2001).

#### **2.6.4.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO CEFALOSPORINAS CUARTA GENERACIÓN**

Las cefalosporinas de cuarta generación se caracterizan por incorporar en su estructura un amonio cuaternario cargado positivamente unido al anillo de dihidrotiazina, que se traduce en una mejor penetración a través de la membrana externa de las bacterias Gram negativas y una menor afinidad para algunas beta-lactamasas producidas por bacilos Gram negativos respecto a las cefalosporinas de tercera generación (Mella y cols., 2001).

De forma general y práctica puede señalarse que estos agentes despliegan una actividad superior a la ceftriaxona y cefotaxima sobre bacilos Gram negativos multirresistentes (*Serratia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Providencia* y cepas de *Proteus* indol negativo hiperproductoras de cefalosporinasas y/o sobre de cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de BLEE ) y equivalente al de estos compuestos de tercera generación sobre cepas de bacterias Gram negativas susceptibles y *S. pneumoniae* (Mella y cols., 2001; Gómez y cols., 2015).

#### **2.6.5.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO CEFALOSPORINAS QUINTA GENERACIÓN**

El Ceftobiprol es una cefalosporina activa tanto frente a *Staphylococcus aureus* como estafilococos coagulasa negativos, sensibles y resistentes a meticilina, así como frente a las cepas resistentes a vancomicina (VRSA). Este compuesto se une e inhibe a

la mutada enzima PBP2a y de esta forma inactiva MRSA. Su espectro es similar al de las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima, cefpiroma), muy activo frente a *E. coli* y *K. pneumoniae* no productores de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE), *Proteus mirabilis*, *Providencia spp.*, *Haemophilus Influenzae*, *Morganella morganii*, *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae* y *Moraxella catarrhalis*. No es activo frente a los bacilos no fermentadores: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter spp.*, *Burkholderia cepacia* y *Pseudomonas aeruginosa*, ni frente a gérmenes anaerobios como *Bacteroides fragilis* (Morejón, 2011).

La Ceftarolina es también una cefalosporina activa tanto frente a *Staphylococcus aureus* como estafilococos coagulasa negativos sensibles y resistentes a meticilina (MRSA); así como, frente a las recientes cepas resistentes a vancomicina (VRSA) y daptomicin. También incluye en su espectro a *Streptococcus pneumoniae* (incluyendo las cepas penicillin-resistentes), *Haemophilus influenza* (incluyendo las cepas productoras de beta-lactamasas), *Moraxella catarrhalis*, *Enterococcus faecalis*, incluyendo cepas resistentes a vancomicina e inactiva frente *Enterococcus faecium* (File y cols., 2012).

## 2.7.- MECANISMOS DE RESISTENCIA

Los beta-lactámicos deben alcanzar sus puntos de fijación (PBP) en la cara externa de la membrana citoplásmica, lo que se consigue fácilmente en las bacterias Gram positivas y, por difusión a través de las porinas, en las Gram negativas. La pérdida de las porinas constituye un mecanismo inespecífico de resistencia que muy a menudo produce resistencia cruzada para todos los compuestos que usan las porinas como vía de entrada a las bacterias. Las mutantes son resistentes simultáneamente a penicilinas, cefalosporinas, cloranfenicol y tetraciclinas; sin embargo, el nivel de resistencia alcanzado por esta vía no es muy alto y sólo suele tener significado clínico cuando se asocia con otros mecanismos de resistencia. Mutantes que carecen de la porina OmpC son resistentes a los beta-lactámicos. Esta forma de resistencia es frecuente en enterobacterias como *Salmonella*, *Enterobacter* y en *Pseudomonas* y puede ser reversible (Tafur y cols., 2008; Galdiero, 2012).

### 2.7.1.- MODIFICACIONES DE LAS DIANAS DE ACCIÓN

Un mecanismo habitual de resistencia a los beta-lactámicos, frecuente en bacterias Gram positivas, es la producción de PBP con una afinidad disminuida por los beta-lactámicos. El caso más característico de resistencia por este mecanismo es la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. La meticilina se une con gran afinidad a la PBP2 de *S. aureus* produciendo la lisis de la bacteria. Son frecuentes los aislamientos de cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina que, además de su PBP2 normal, presentan una forma nueva de esta proteína llamada PBP2a o PBP2' que tiene afinidad muy baja por la meticilina, siendo, por lo tanto, resistentes a este antibiótico (Brown y Reynolds, 1980; Hartman y Tomasz, 1984; Ubakata y cols., 1985). La unión de baja afinidad se puede atribuir, al menos en parte, a una reacción de acilación energéticamente desfavorable de la serina del sitio activo (Lim y Strynadka, 2002). La PBP2a presenta actividad transglucosidasa y transpeptidasa y realiza las funciones de las PBP1, PBP2, y PBP3, bloqueadas por los beta-lactámicos, manteniéndose de esta forma la integridad de la pared (Ausina, 2006). La proteína PBP2a es producto de un gen *mecA* presente sólo en el cromosoma de *S. aureus* resistentes a meticilina, que se supone que lo ha adquirido de otra especie bacteriana (Tress e Iandolo, 1988). Además de los mutantes resistentes a meticilina que llevan un gen *mecA*, se han aislado otras variantes de *S. aureus*, resistentes a diversos beta-lactámicos, que producen una PBP2a con afinidad alterada por la penicilina o una gran cantidad de PBP4, una de las PBP de bajo peso molecular (Henze y Berger-Bachi, 1996; Memmi y cols.; 2008).

Algunos derivados de la cefalosporina se unen a la PBP 2a con afinidades superiores a otros beta-lactámicos y son activos contra los estafilococos resistentes a la meticilina (Entenza y cols., 2002; Fung-Tomc y cols., 2002; Jonshon y cols., 2002). Estos compuestos tienen en común una cadena lateral relativamente prolongada unido al anillo  $\alpha$  del núcleo compuesto beta-lactámico (Chambers, 2003).

Los enterococos presentan una resistencia natural a muchos antibióticos beta-lactámicos, especialmente cefalosporinas, debido a la baja afinidad de una de sus PBP (PBP5) que es capaz de sustituir la actividad de las otras PBP cuando son inhibidas por

estos antibióticos (Canepari y cols., 1986; Sifaoui y cols., 2001). Se han aislado mutantes de enterococos con resistencia ampliada, que incluye penicilina y ampicilina, que producen mayor cantidad de PBP5 con afinidad disminuida para estos antibióticos (Fontana y cols., 1985 y 1994).

En el caso de neumococo puede adquirir fragmentos de los genes que codifican PBP de microorganismos resistentes a beta-lactámicos (probablemente de estreptococos viridans), e insertarlos por recombinación entre los genes que codifican PBP. Esto puede ocurrir hasta en 3 de sus PBP (la 1, 2b y 2x) (Chambers, 1999)

## **2.7.2.- PRODUCCIÓN DE BETA-LACTAMASAS**

### **2.7.2.1- CLASIFICACIÓN DE BETA-LACTAMASAS**

La producción de beta-lactamasas por las bacterias es el mecanismo más importante de resistencia a los beta-lactámicos (Ambler, 1980). El anillo beta-lactámico es hidrolizado por las beta-lactamasas y convertidos en compuestos biológicamente inactivos (Goodman, 1991). En organismos Gram positivos, la síntesis de beta-lactamasas suele ser inducible por la presencia de antibiótico y las enzimas se secretan al medio externo en gran cantidad, con lo que la resistencia tiene un efecto poblacional (Medeiros, 1997). En bacterias Gram negativas, las beta-lactamasas se sintetizan de forma constitutiva y en pequeña cantidad, secretándose posteriormente al periplasma.

La TEM-1 de *E.coli* fue la primera beta-lactamasa aislada en el año de 1963 y posteriormente se aislaron la SHV-1 y la PSE-1 (Bishop y Weiner, 1992; Medeiros, 1997; Spratt, 1975). Se han descrito más de 190 enzimas de tipo beta-lactamasa, y constituyen la mayor causa de resistencia bacteriana hacia los antibióticos con anillos betalactámicos (Kobayashi y cols., 1982)

La clasificación de beta-lactamasas en función de su estructura molecular en cuatro clases (de la A a la D) fue propuesta por Ambler en 1980. En esta clasificación las beta-lactamasas de las clases A, C y D tienen en su centro activo serina mientras la clase B son metaloenzimas (Ambler, 1980). Bush en 1989, propone una modificación del esquema de Richmon y Sykes, intentando relacionar el sustrato y los perfiles de

inhibición con la estructura molecular, lo que ha constituido la base de la clasificación actual basada en características bioquímicas, físicas, espectro de hidrólisis y espectro de inhibición (Bush y cols, 1995)

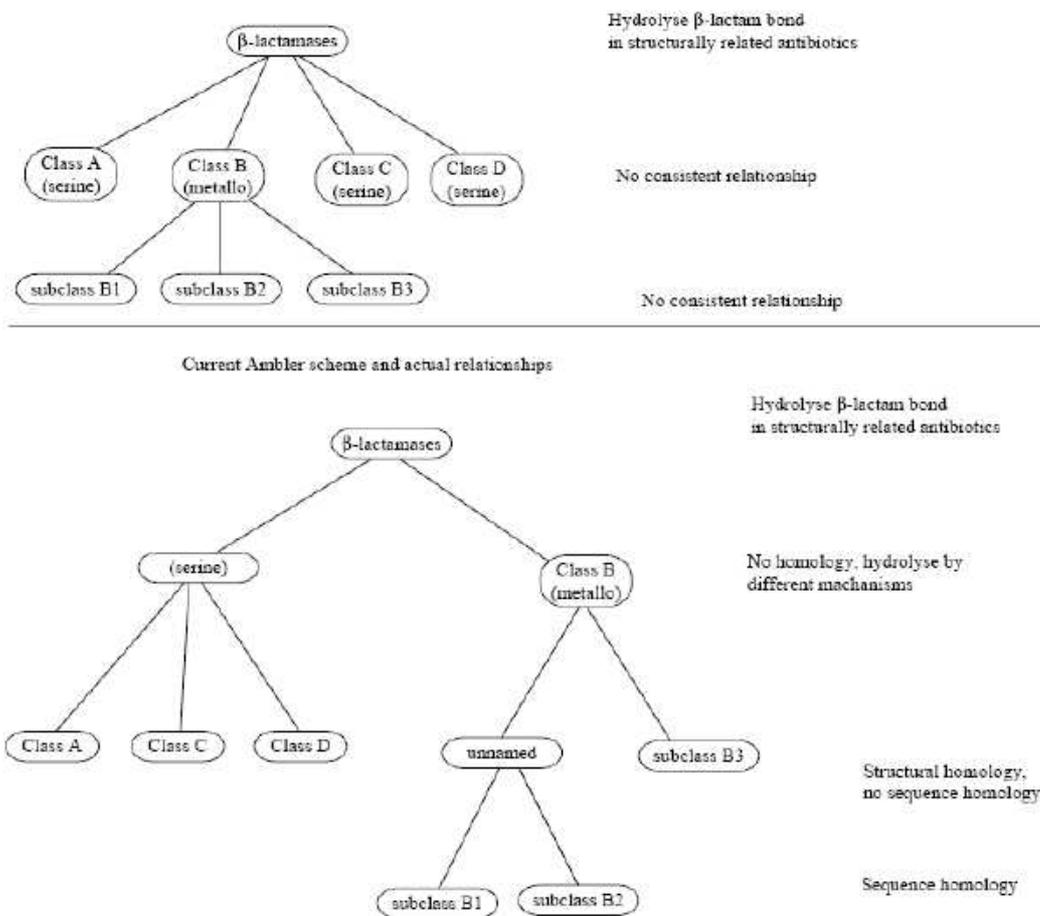
#### 2.7.2.1.1 Clasificación molecular de Ambler (Ambler, 1980)

Las penicilinasas clase A (serin-penicilinasas) se pueden encontrar tanto en bacterias Gram positivas como Gram negativas y pueden ser de origen cromosómico o plasmídico. El peso molecular de estas enzimas esta entorno a los 29.000 daltons.

Las de clase C (serin-cefalosporinasa) constituyen el principal mecanismo de resistencia de las bacterias Gram negativas. A este grupo pertenece la enzima ampC. Estas enzimas confieren resistencia a las oximinocefaloporinas,  $\alpha$  metoxicefalosporinas y no son afectadas por los inhibidores (Gupta, 2007) que además de la serina contienen en el centro activo DD-transpeptidasas/carboxypeptidasas. Son proteínas de gran peso molecular, cercano a los 36.000 daltons (Gundstorm y cols., 1980; Jaurin y Gundstrom, 1981).

Las de clase D (serin-oxacilinasas) presentan una gran actividad hidrolítica frente a oxacilinas y una sensibilidad frente al ácido clavulánico. Su peso molecular es entorno a los 29.000 daltons (Giulani y cols., 2005)

Las de clase B (metaloenzimas), para unir el residuo histidina o cisteína con el grupo carboxilo de la unión amida de la mayoría de las penicilinas, cefalosporinas y carbapenemas lo realizan mediante el ión zinc a diferencia de las otras beta-lactamasas (Gupta, 2007). Podemos distinguir 3 tipos de metalo-beta-lactamasas, B1, B2 y B3. Los subtipos B1 y B3 englobarían enzimas con amplio espectro de acción que actuarían frente a la mayoría de los betalactámicos excepto monobactamas, y presentan su máxima actividad cuando tienen dos átomos de zinc mientras que B2 son carbapenemasas las cuales, presentan poca acción frente a penicilinas y cefalosporinas y se inactivan cuando incorpora otro átomo de zinc (Frere y cols., 2005).



Fuente: (Frene, Golleni et al. 2005)

**Figura 5.-** Clasificación de Amber de beta-lactamasas

**2.7.2.1.2 Clasificación funcional de Bush, Jacoby y Medeiros (Bush y cols., 1995)**

Esta clasificación considera los inhibidores de beta-lactamasas y los sustratos de los beta-lactámicos, y los clasifica en 4 grupos.

Las enzimas del grupo 1 se correlacionan con la clase molecular C. En este grupo se engloban cefalosporinasas que no son inhibidas por el ácido clavulánico o sulbactam ni por el EDTA, pero son inhibidas por el aztreonam y cloxacilina. Su peso molecular suele ser de 30,000 daltons. La mayor parte de ellas son de origen cromosómico e hidrolizan fundamentalmente a cefaloridina y cefalotina.

Las del grupo 2 se correlacionan con la clase molecular A o D y son penicilinasas, cefalosporinasas y beta-lactamasas de amplio espectro que son sensibles a la acción de los inhibidores de betalactamasa. Dado el enorme número de sustratos podemos distinguir varios subgrupos. Los subgrupos se muestran en la figura 6.

Las beta-lactamasas del grupo 3 se correlacionan con la clase molecular B. Son metalo-beta-lactamasas que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y carbapenemas. Son pobremente inhibidas por los inhibidores clásicos excepto EDTA. Algunas de las beta-lactamasas incluidas en este grupo son la beta-lactamasa L1 de *P.maltophilia* con fuerte acción hidrolítica frente a Imipenem y la beta-lactamasa II de *Bacillus cereus*.

Las del grupo 4 son penicilinasas que no son inhibidas por el ácido clavulánico. Hasta el momento no se han podido englobar en ninguna clase molecular.

Grupo	Clase	Substrato preferido	Inhibido por ácido clavulánico	Inhibido por EDTA	Genes	Enzimas	Microorganismo
1	C	Cefalosporinas	-	-	Crom Plas	Amp C MIR-1, MOX-1, FOX-1	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i> <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i>
2a	A	Penicilinas	+	-	Crom / Plas	<i>S. aureus</i> (A, B, C, D)	<i>S. aureus</i>
2b	A	Penicilinas Cefalosporinas 1ª	+	-	Plas	TEM-1, TEM-2, SHV-1	Enterobacterias <i>H. influenzae</i> <i>N. gonorrhoeae</i> <i>P. aeruginosa</i>
2be	A	Penicilinas Cefalosporinas 1ª a 3ª Monobactámicos	+	-	Plas Crom	TEM 3-29, 43, 44, 50, 51, 52 SHV-2 a 10, 12  SHV-1 K1 <i>K. oxytoca</i>	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i>  <i>K. pneumoniae</i> <i>K. oxytoca</i>
2br	A	Penicilinas Inhibidores betalactamasas	+/-	-	Plas	TEM-30 a 42, 45	Enterobacterias
2c	A	Penicilinas Carbencilina	+	-	Plas	PSE-1, 3, 4	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i>
2d	D	Penicilinas Cloxacilina	+/-	-	Plas	OXA-1 a 10	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i>
2de	D	Penicilinas Cloxacilina Cefalosporinas 1ª a 3ª	+/-	-	Plas	OXA 11 a 21	<i>P. aeruginosa</i>
2e	A	Cefalosporinas 1ª a 3ª	+	-	Crom	Cefuroxanasa	<i>P. vulgaris</i>
2f	A	Penicilinas Cefalosporinas 1ª a 3ª Carbapenemas	+	-	Crom	NMC-A Sme-1 DMI-1	<i>E. cloacae</i> <i>S. marcescens</i>
3	B	Penicilinas Cefalosporinas 1ª a 3ª Carbapenemas	-	+	Crom Crom / Plas Plas	L-1 CcrA IMP-1	<i>S. maltophilia</i> <i>B. fragilis</i> Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i>
4		Penicilinas	-	?	Crom Plas	Nd SAR-2	<i>B. cepacia</i> <i>E. coli</i>

Figura 6.- Beta-lactamasas: clasificación funcional de Bush, Jacoby y Medeiros.

### 2.7.2.2- BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

Las beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que hidrolizan a las cefalosporinas de espectro extendido que contienen una cadena lateral oximino entre las que están incluidas la ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima y también el aztreonam. No actúan sobre cefamicinas ni carbapenemas. Son inhibidas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de beta-lactamasas como el sulbactam o tazobactam (Patterson, 2003).

Con el uso excesivo de las cefalosporinas de amplio espectro, en los últimos años, ha aparecido una nueva problemática en el tratamiento de las infecciones ya que numerosas cepas se vuelven productoras de BLEE a causa de este uso excesivo (Gobernado, 2005). Dada la alta prevalencia de microorganismos productores de beta-lactamasas, durante los años 80 se desarrollaron las cefalosporinas de tercera generación, estas cefalosporinas presentan menor nefrotoxicidad que los aminoglucósidos y las polimixinas, lo que condujo a su uso excesivo y, como consecuencia la aparición de las BLEE (Paterson y Bonomo, 2005).

Se presentan principalmente en enterobacterias, en concreto *E.coli* y *Klebsiella pneumoniae*, pero también pueden aparecer en bacilos no fermentadores y otras enterobacterias. Son enzimas de configuración plasmídica producidas por bacilos Gram-negativos.

Derivan de las beta-lactamasas de amplio espectro (TEM-1, TEM-2, SHV-1), pertenecientes al grupo 2b de la clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros; cuando estas sufren mutaciones.

Cefquinoma resiste a la mayoría de las beta-lactamasas, puede resultar susceptible a las denominadas beta-lactamasas de espectro extendido. Las BLEE (TEM, SHV y CTX-M entre otras) son secretadas por bacterias Gram negativas como las pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, y los géneros *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (Jacoby y Muñoz, 2005)

## **2.8.- PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS**

### **2.8.1.- ABSORCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD**

Las cefalosporinas son, en general, moléculas con carácter polar e hidrosoluble, lo que condiciona su absorción a nivel del tracto gastrointestinal. La incorporación de grupos electronegativos en las moléculas mejora la estabilidad en el medio ácido y permite la absorción entérica (entre el 50 y 95 %) de cefalexina, cefadroxilo, cefradina y cefaclor en pequeños animales (Waterman y Scharfenberger 1978; Lavy y cols., 1997; Campbell y Rosin, 1998), aunque no lo hacen con tanta eficiencia en grandes animales, siendo la biodisponibilidad oral entorno al 50-75% en perros y gatos (Lavy y cols., 1997; Wackowicz y cols., 1997; Carli y cols., 1999) e inferior al 10% para cefalexina en equinos (Davis y cols., 2005).

Las cefalosporinas formuladas en forma de éster mejoran la liposolubilidad, aumentando así su biodisponibilidad oral. Es lo que sucede en el caso de cefpodoxima proxetilo (Campbell y Rosin, 1998) o de la cefuroxima, formulada como cefuroxima axetilo, un profármaco que se activa tras su hidrólisis en la mucosa intestinal e hígado (Giguère, 2006) y de gran uso en clínica humana.

También existen otros factores, que pueden condicionar la absorción de las cefalosporinas, como es la presencia de alimentos (Campbell y Rosin, 1998) o la edad, como se observa con la administración oral de cefadroxilo en equinos, con mejor biodisponibilidad en potro que en adultos (Wilson y cols., 1985; Duffee y cols., 1989), probablemente influenciado por las diferencias de pH en el tubo digestivo, ya que los primeros son animales lactantes con predominio de un medio ácido, a diferencia de los segundos cuyo pH es más alcalino.

El conjunto de cefalosporinas inyectables difiere escasamente en la absorción parenteral, aunque la estabilidad y unión a las proteínas tisulares son variables condicionando a la misma. Tras la administración intramuscular y/o subcutánea la absorción varía entre un 60 y 100%, con picos de concentración plasmática máximos entre 30 y 60 minutos postadministración. Así, por ejemplo, tras la administración intramuscular de cefotaxima (Atef y cols., 1990), cefuroxima (El-Sooud y cols., 2000) y ceftriaxona (Ismail, 2005) a cabras se observó una biodisponibilidad del 100, 90 y 85 %,

respectivamente. En bovinos, la cefalexina se absorbió en un 68 % por la misma vía (Soback y cols., 1988), mientras que en equinos la cefapirina (Brown y cols., 1987) y la cefoxitina (Brown y cols., 1986), lo hicieron en un 95 y 77 %, respectivamente.

### **2.8.2.- DISTRIBUCIÓN**

Las cefalosporinas son moléculas ácidas por lo que en el organismo se comportan como moléculas polares. Son muy poco liposolubles y poseen una capacidad deficiente para penetrar las células. El volumen de distribución generalmente se encuentra entorno 0,2 - 0,5 L/kg (Guerrini y cols., 1985; Limbert y cols., 1991; Swati y cols., 2010; Patel y cols., 2010). Por otro lado, las cefalosporinas tienen una muy buena distribución en los líquidos extracelulares, debido a su baja unión a proteínas plasmáticas en animales. A diferencia de lo que sucede en animales, existen evidencias que la unión a las proteínas plasmáticas de muchas cefalosporinas es elevada en seres humanos. La ceftriaxona, posee un 90 a 95 % de unión a proteínas plasmáticas en personas mientras que en perros posee sólo un 25 % de unión a bajas concentraciones y un 2 % a elevadas concentraciones (Popick y cols., 1987; Papich y cols., 2010). La cefazolina posee un elevado porcentaje de unión en personas (85 %), pero es bajo en perros (19 %) favoreciendo una rápida distribución desde el plasma al líquido intersticial (Rosin y cols., 1993). El mayor porcentaje de unión a proteínas del plasma en animales ocurre con cefovecina, el cual se une un 99 % en perros y gatos (Stegemann y cols., 2006a y 2006b).

La distribución de las cefalosporinas en el líquido cefalorraquídeo (LCR) es limitada y las concentraciones en este líquido corresponden entre un 0,5 y 2 % de las concentraciones máximas logradas en sangre. Esto es debido a las características físico-químicas de las cefalosporinas y, si logran alcanzar el LCR, son transportadas activamente fuera del sistema nervioso central. Sin embargo, este mecanismo se interrumpe en el caso de inflamación meníngea. Además la meningitis, altera las uniones celulares estrechas, el transporte de vesículas, y por lo tanto el pasaje de moléculas beta-lactámicas a través de la barrera hematoencefálica (BHE) se ve favorecida, logrando concentraciones del 55 % respecto al pico de concentración plasmática (Guiguére, 2006). A pesar de ello, consiguen alcanzar concentraciones

significativas en LCR: cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, ceftizoxima, cefmenoxima, moxalactam y ceftazidima (Flórez, 2003).

En los huesos, articulaciones y músculo, la distribución es aceptable para todo el grupo, aunque es inferior con agentes de tercera generación. La cefazolina penetra en el hueso normal y osteomielítico, y las concentraciones son similares a las plasmáticas (Daly y cols., 1982). Esto determina el uso efectivo de cefazolina para la prevención y tratamiento de osteomielitis y es el antibiótico de uso más común para procedimientos ortopédicos (Rosin y cols., 1993).

La cefapirina y el ceftiofur, experimentan gran disposición en los líquidos intraperitoneal y sinovial (Schurman y cols., 1976; Meyer y cols., 2009). La ceftazidima, ceftizoxima y cefuroxima generan niveles terapéuticos en el ojo (Barza y cols., 1993) y la cefotaxima y cefradina en el oído medio (Aslam y cols., 2004). En la piel, la disposición es adecuada para la cefalexina y cefadroxilo (Frank y Kunkle, 1993).

En los aparatos digestivo y urinario todo el grupo genera concentraciones terapéuticas, especialmente en orina, debido a que es la principal vía de excreción (Flórez, 2003)

La distribución de cefalosporinas hacia la glándula mamaria y el consecuente acceso a la leche es limitada, esto se debe a que la cantidad de fármaco secretado a la leche aumenta en la medida que lo hace su liposolubilidad y disminuye su peso molecular, su afinidad por proteínas plasmáticas y su grado de ionización. En lo referente a este último aspecto, la proporción de fármaco ionizado/no ionizado es una función de la interacción entre el pKa que posea y el pH del medio donde se encuentre. Como el pH normal de la leche ( $\approx 6,5 - 6,7$ ) es menor que el pH del plasma ( $\approx 7,4$ ), las moléculas bases débiles, que en sangre se encuentran mayoritariamente como no ionizadas, difundirán con mayor facilidad hacia la leche que las moléculas ácidas, y una vez, en ese medio, el equilibrio virará hacia la fracción ionizada (Ito y Lee, 2003; Martínez y Modric, 2010; Rule y cols., 2011).

### 2.8.3.- METABOLISMO Y EXCRECIÓN

Las cefalosporinas son mínimamente metabolizadas en el hígado, dependiendo del fármaco (Flórez, 2003). Agentes como la cefotaxima, cefacetrilo, cefalotina y cefapirina se metabolizan por esterasas que escinden grupos 3-acetoximetil del anillo dihidrotiazínico, convirtiéndolas en lactonas inactivas. Los compuestos desacetilados se eliminan principalmente por orina, conservando cierta actividad antibacteriana (Mella y cols., 2001).

En bovinos y porcinos, el ceftiofur primero es degradado por esterasas y luego conjugado, generando los metabolitos: desfuroil-ceftiofur-glutation-disulfuro (hígado), 3-3-desfuroilceftiofur-disulfuro (orina) y desfuroil-ceftiofur-cisteína-disulfuro (plasma, tejidos y orina) (Jones, 1989; Hornish y Kotarski, 2002).

Las cefalosporinas son rápidamente eliminadas tras su administración sistémica. El órgano principal de excreción es el riñón, y las concentraciones urinarias de estas moléculas son elevadas. La filtración glomerular y la secreción tubular conforman los principales mecanismos de eliminación de cefalosporinas (Riviere, 2009). En general, poseen semividas de 1 a 2 horas, pero algunas (particularmente de tercera generación), pueden tener una semivida más prolongada posiblemente por la limitada secreción tubular, elevada afinidad por las proteínas plasmáticas y mínima degradación. Por ejemplo, el ceftiofur se metaboliza en un metabolito activo y tiene una semivida de 3 a 4 h en bovinos, 4 h en perros y 2,5 h en caballos. Otras cefalosporinas de tercera generación con semividas más prolongadas se comprueba que incorporan en el C3 del anillo beta-lactámico estructuras de 3 ó 4 átomos de nitrógeno, como ceftriaxona, cefoperazona, ceftazidima y latamoxef (Hornish y Kotarski, 2002; Riviere, 2009).

La reducción de la función renal impone un ajuste en el régimen de dosificación, debido a la importancia de la eliminación urinaria, excepto para compuestos que se metabolizan o eliminan principalmente por bilis. En general aquellos compuestos de elevado peso molecular y gran afinidad proteica, como la cefoperazona, son excretados por la bilis en gran medida (75%). Otros compuestos que se eliminan por esta vía en gran proporción son la ceftriaxona y el latamoxef, motivo por el cual están contraindicados en el equino y otros herbívoros con intestino grueso

expandido. La alteración hepática no requiere el ajuste de dosis, puesto que la menor excreción biliar se compensa con mayor eliminación urinaria; el ajuste sólo es indispensable cuando coexisten ambas patologías (Guiguére, 2006; Errecalde y cols., 2007).

## **2.9.- INTERACCIONES**

Las cefalosporinas no presentan muchas interacciones en comparación con otros fármacos, en especial aquellos que son inhibidores o inductores del citocromo P450.

A nivel estructural, la principal interacción producida por las cefalosporinas, se produce en aquellas que presentan en su estructura una cadena lateral en posición 3 con un núcleo del metil-tiotetrazol. Este núcleo puede producir una intolerancia a la ingesta de alcohol etílico, produciendo una reacción llamada "reacción tipo disulfiram". En un metabolismo normal, el alcohol se metaboliza en el hígado por la enzima alcohol deshidrogenasa, la cual lo transforma en acetaldehído, el cual es procesado por la acetaldehído deshidrogenasa para dar ácido acético inocuo. El disulfiram bloquea ésta última reacción, previniendo que se metabolice el acetaldehído y provocando por tanto que sus concentraciones plasmáticas aumenten de 5 a 10 veces. Ya que el acetaldehído es el responsable de la "resaca" alcohólica, el ingerir alcohol bajo los efectos del disulfiram produce una rápida e intensa resaca, mucho más grave e incluso peligrosa en pacientes con problemas cardiacos o hepáticos si no están asistidos, desde 5-10 minutos tras la ingestión del alcohol hasta un período que varía entre 30 minutos y varias horas. Los síntomas típicos de este exceso de acetaldehído incluyen rash cutáneo, taquicardia, respiración entrecortada, náuseas y vómitos, y en algunos casos puede llegar a causar la muerte (Mcmahon, 1980; Dámaso, 1990; Nakamura y cols., 1984; Kamei y cols., 1987; Dong y cols., 2013).

Aunque en general, las cefalosporinas de administración oral que contienen grupos ester suelen aumentar su absorción con su administración conjunta con alimentos (Lode y cols., 1994), como en el caso de cefuroxima donde la biodisponibilidad aumenta del 30 al 40%, existen otros casos en la que los alimentos disminuyen la biodisponibilidad, como por ejemplo en el caso del ceftibuteno (Gómez y cols., 2015).

Las cefalosporinas, por ser fármacos de amplio espectro, pueden alterar la flora bacteriana del intestino, y de ese modo, interferir en procesos de absorción de otros fármacos mediante ciclos enterohepáticos, como ocurre con el caso de algunos anticonceptivos orales (Rivas y cols., 2002).

Como ocurre con otros antibacterianos con actividad bactericida, su uso concomitante con antibióticos bacteriostáticos, pueden resultar en una disminución de la actividad de estos fármacos, debido a que, para que las cefalosporinas puedan ejercer su efecto bactericida, es necesario que las bacterias se encuentren en crecimiento, ejemplo que puede verse al usar tetraciclinas junto con cefalosporinas (Cordies y cols., 1998). También puede sufrir sinergismo con otros antibióticos, principalmente, aquellos bactericidas que actúan a nivel de la estructura bacteriana, como pueden ser los aminoglucósidos (Allan y Machado, 1998).

En cuanto a su eliminación, el probencid un agente uricosúrico que aumenta la excreción del ácido úrico en orina por inhibición del transportador de aniones, que también produce una disminución del aclaramiento renal de las cefalosporinas, aumentando las concentraciones máximas y el AUC. Aunque la mayoría de las cefalosporinas se ven afectadas en menor o mayor medida, existen algunas en las que el probencid no parece tener ningún efecto, y son ceforanida, ceftazidima y ceftriaxona (Brown, 1993).

Merece la pena destacar, más que una interacción, la incompatibilidad de algunas cefalosporinas, principalmente estudiado con ceftriaxona, con el calcio, que producen precipitados, y nunca dejen coadministrarse por la misma vía (Steadman y cols., 2010).

## **2.10.- TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS**

En conjunto, las cefalosporinas son fármacos seguros. Los efectos secundarios son infrecuentes y habitualmente leves. Existen una serie de reacciones adversas comunes a prácticamente todas las cefalosporinas, mientras que otras afectan solo a algunos grupos en función de la presencia de determinadas estructuras químicas en su moléculas o de su actividad y espectro (García-Sánchez y cols., 1999).

### **2.10.1.- REACCIONES ADVERSAS GASTROINTESTINALES**

Las alteraciones gastrointestinales son más comunes en las cefalosporinas administradas por vía oral. Algunas cefalosporinas administradas por vía IV que se eliminan en gran cantidad por bilis, como cefoperazona, producen más frecuentemente náuseas y diarrea (Carlberg y cols., 1982) llegando a presentarse en un 5% en una serie de pacientes estadounidenses (Brogden y cols., 1981). Entre las reacciones adversas gastrointestinales se han descrito: diarrea, náuseas, vómitos, anorexia, dolor abdominal, aerofagia, meteorismo, gastralgia, epigastralgia, estreñimiento etc...

Aunque de manera infrecuente, también se han notificado casos de colitis pseudomembranosa (Dámaso, 1990), producida habitualmente por toxinas de *Clostridium difficile*.

### **2.10.2.- REACCIONES ADVERSAS HEMATOLÓGICAS**

El uso de cefalosporinas ha sido asociado a anomalías hematológicas como leucopenia, neutropenia, trombocitopenia, linfopenia, trombocitosis, leucocitosis, linfocitosis, eosinofilia, disminución del hematocrito y de la hemoglobina. Estas reacciones solo se producen en raras ocasiones (Dámaso, 1990).

Otro fenómeno relacionado con grandes dosis de estos antibióticos es una reacción de Coombs positiva y aunque la hemólisis no suele asociarse con este fenómeno, esta se ha publicado en algunas ocasiones, particularmente asociado a ceftriaxona y en pacientes con déficit de 6-Fosfato deshidrogenasa (Leaf y cols., 2010).

También se ha relacionado a las cefalosporinas de segunda y tercera generación, principalmente Cefotetan, con anemia hemolítica grave (Shariatmadar y cols., 2004).

Asimismo, se han descrito alteraciones de la coagulación por bloqueo de la síntesis de protrombina y de otros factores dependientes de la vitamina K, además de alteración de la función plaquetaria, tras el uso de cefalosporinas a altas dosis (Rivas y cols., 2002).

En un 4% de los pacientes tratados con cefalosporinas se observó eosinofilia (Fass y cols., 1970; Mouallem, 1976) aunque no se ha identificado si esto es debido al propio fármaco o es debido a una reacción fisiológica al tratamiento de la infección.

La neutropenia es una reacción bastante rara en relación con las cefalosporinas, suele aparecer en menos del 0,5% de los pacientes, y rara vez los recuentos descienden de 1000 neutrofilos/mm<sup>3</sup>, aunque se han descrito algunos casos de neutropenias por debajo de 500 neutrofilos/mm<sup>3</sup> (Homatouni y cols., 1979; Norrby, 1987), aunque su recuperación suele ser rápida tras la suspensión del tratamiento.

### **2.10.3.- REACCIONES ADVERSAS HEPÁTICAS**

Aunque no es habitual, también se ha relacionado a las cefalosporinas con elevación de transaminasas, fosfatasa alcalina, lactatodeshidrogenasa y bilirrubina (Dámaso, 1990). La incidencia varía en función de las características de los pacientes estudiados, en un estudio la incidencia alteraciones hepáticas en pacientes en tratamiento con cefuroxima fue del 24% pero el porcentaje que se relacionó con el uso del fármaco, y no por otros factores de riesgo, fue menor (Norrby y cols., 1977). Este tipo de reacciones adversas se relacionan principalmente con moxolactam (Rivas y cols., 2002).

Dado que las cefalosporinas son de los antibacterianos más usados en todo el mundo, el número reacciones adversas de tipo hepático notificadas es elevado, pero su incidencia asociada al uso cefalosporinas es baja (Kwon y cols., 2012)

### **2.10.4.- REACCIONES ADVERSAS RENALES**

En general, con todas las cefalosporinas se han descrito aumentos ligeros y transitorios de las cifras de urea y creatinina séricas y disminución del aclaramiento de creatinina, en enfermos con alteración previa de la función renal (Dámaso, 1990)

Algunas cefalosporinas como la cefaloridina son potencialmente nefrotóxicas, se acumulan en el túbulo proximal (Silverblatt y cols., 1970) y pueden producir proteinuria o incluso ocasionar una nefritis intersticial o una necrosis tubular aguda, cuando se administran dosis diarias mayores de 4g (Simpson, 1971).

Otra cefalosporina como la cefalotina, se ha relacionado con nefrotoxicidad aguda en pacientes que recibían dosis usuales (8g – 12g/día) en pacientes con enfermedad renal preexistente o cuando se asocia a fármacos nefrotóxicos, como aminoglucósidos y en pacientes ancianos (Rivas y cols., 2002).

#### **2.10.5.- REACCIONES ADVERSAS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL**

Son infrecuentes y en general, cuando se presentan, de escasa relevancia. Entre ellas encontramos cefaleas, alucinaciones, vértigo, confusión mental, ansiedad etc. (Dámaso, 1990).

Con cefemas, cuya cadena lateral en posición 3 es un núcleo del metiltiotetrazol, se ha descrito un tipo de toxicidad que consiste en una intolerancia aguda al alcohol etílico semejante a la que ocurre con el disulfiram (Nakamura y cols., 1984), se piensa que puede ser debida a la inhibición, por parte del antibiótico, de la enzima deshidrogenasa (Kamei y cols., 1987), del acetaldehído, lo que origina un incremento notable de la concentración sanguínea del mismo. El cuadro se caracteriza, pocos minutos después de la ingesta de alcohol, por enrojecimiento y sensación de calor en cara, conjuntivas, hombros, tórax y espalda, acompañados de náuseas, vómitos, sudoración, taquicardia y cefalea y más raramente de hipertensión o hipotensión, mareo, vértigo, síncope, dolor torácico y exantema macular en cara y pecho (McMahon, 1980). Su duración suele ser corta, desapareciendo los síntomas en unos minutos o pocas horas (Dámaso, 1990)

#### **2.10.6.- REACCIONES ALÉRGICAS**

Los beta-lactámicos son uno de los grupos de fármacos que más reacciones de hipersensibilidad producen (Sánchez-Sancho y cols., 2003; Weiss y Adkinson, 1988). Las cefalosporinas son los segundos beta-lactámicos, después de las penicilinas, que producen más reacciones de hipersensibilidad mediadas por IgE (Blanca y cols., 1994).

El riesgo relativo de sufrir una de estas reacciones se encuentra entre 1:1.000 y 1.100.000 (Gadde y cols., 1993; Kelkar y Li, 2001), aumentando en pacientes alérgicos a penicilinas en un uno de cada cuatro pacientes (Campagna y cols., 2012).

Las penicilinas son capaces de actuar como haptenos para combinarse con proteínas humanas. Una vez sensibilizado con un complejo hapteno-portador, el paciente puede manifestar una reacción alérgica a la penicilina. Peniciloil y ácido penicilánico son productos que se forman cuando el anillo beta-lactámico se abre y son considerados como los principales factores determinantes de la alergia a la penicilina (Lockey y Bukantz, 1999; Vervloet, 2003). Las cefalosporinas también son sospechosas de formar haptenos, aunque se desconocen los productos químicos específicos, además las cefalosporinas son más inestables y experimentan un metabolismo más intenso que las penicilinas, dando origen a nuevos antígenos (Silviu y cols., 1993; Baldo, 1999). Las cadenas laterales también son inmunogénicas y al igual que en el caso de las aminopenicilinas, pueden ser responsables de monosensibilizaciones o de sensibilizaciones cruzadas entre fármacos que comparten la misma cadena lateral.

En los primeros estudios que comparaban la reactividad cruzada entre penicilinas y cefalosporinas, las cifras se encuentran sobreestimadas debido a que en las primeras cefalosporinas sintetizadas había trazas de penicilinas (Kelkar y Li, 2001). En un estudio 15.987 pacientes que fueron tratados con cefaloridina, cefalexina, cefalotina, cefazolina, o cefamandol, 8.1% de aquellos con una historia de alergia a la penicilina presentaron reacción alérgica a estas cefalosporinas, en comparación con 1,9% de los que no presentaban historial de alergia a penicilinas. Por lo tanto, el riesgo de sufrir una reacción alérgica fue cuatro veces superior en los pacientes alérgicos a la penicilina (Lin, 1992). Dado que el hapteno de las cefalosporinas aun no esta totalmente claro, no es posible saber exactamente el mecanismo de acción de esta reactividad cruzada.

Las reacciones de hipersensibilidad pueden manifestarse con urticarias, exantemas, angioedemas, e incluso shock anafiláctico. Se han descrito casos de síndrome de Stevens-Johnson con algunas cefalosporinas como es el caso de la cefoxitina (Mcarthur y Dymet 1975; Kannangara y cols., 1982).

### **2.10.7.- REACCIONES ADVERSAS CARDIACAS**

En general, las cefalosporinas son fármacos seguros desde el punto de vista cardiológico. A pesar de eso, se ha descrito, en rara ocasión, algún caso de miocarditis que fue diagnosticada post-mortem (Chikwava y cols., 2006)

### **2.11.- APLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LAS CEFALOSPORINAS**

Las cefalosporinas fueron originalmente introducidas en clínica para el tratamiento de infecciones producidas por estafilococos resistentes (productores de penicilinasas), con la ventaja que estos fármacos poseían también un espectro de actividad similar contra Gram negativos, tal como las aminobenzilpenicilinas de espectro ampliado. Las alteraciones (variaciones) de las cadenas laterales del núcleo del ácido 7-aminocefalosporánico y el descubrimiento de las cefamicinas condujeron a una creciente estabilidad frente a las beta-lactamasas de las bacterias Gram negativas, incluyendo *Bacteroides fragilis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Este incremento en la estabilidad por lo usual es a expensas de reducir la actividad contra Gram positivas y variaciones en la farmacocinética (Guiguére, 2006).

En veterinaria, las cefalosporinas de primera generación son utilizadas principalmente en perros, para el tratamiento de infecciones de piel, urinarias y respiratorias, usándose algunas por vía oral como cefalexina y cefradoxilo (Chatfield y cols., 1984; Barsanti y cols., 1985; McDonald, 1989). Las de segunda y tercera generación son usadas para tratar microorganismos resistentes a las cefalosporinas de primera generación (Petersen y Rosin, 1993; Guiguére, 2006).

En humanos las cefalosporinas de primera generación se emplean de forma segura y efectiva en la profilaxis de intervenciones quirúrgicas. Una dosis única de cefazolina justo antes de la cirugía es la profilaxis recomendada para procedimientos en los cuales la flora de la piel sean los probables patógenos implicados. Dependiendo de su vida media y la duración de la operación se empleará uno u otro fármaco. Los que poseen una vida media corta -cefapirina, cefalotina- se eliminan de los tejidos en aproximadamente dos horas y aquellos que tienen una vida media más larga -cefazolina- se eliminan en unas seis horas. Se recomienda que la primera dosis sea administrada más o menos 30 minutos antes de la incisión de la piel (excepto en las

cesáreas en que la primera dosis se debe administrar inmediatamente después de ligar el cordón umbilical). Si la intervención dura más de dos horas, se debe administrar una segunda dosis, si la cefalosporina que se usó es de acción corta se administrará una tercera dosis a las 4, 6 horas después de finalizar la intervención (Rivas y cols., 2002).

Las cefalosporinas, con o sin la adición de un aminoglicósido, son consideradas como los agentes terapéuticos de elección en infecciones severas causadas por *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia* y especies de *Haemophilus*.

Las de primera generación deben ser empleadas para el tratamiento o la prevención de infecciones por microorganismos Gram-positivos y particularmente como profilácticos en intervenciones quirúrgicas de colocación de prótesis óseas y osteo-articulares. Asimismo, se ha publicado que el uso de cefazolina es de gran utilidad en emergencias ginecológicas (cesárea) (Rouzzi y cols., 2000).

Las cefalosporinas de segunda generación se deben utilizar para el tratamiento o prevención de infecciones por gérmenes Gram negativos, especialmente las producidas por *Enterobacteriaceae*, debido a que son activas en altos porcentajes y a que estos gérmenes habitualmente son resistentes a las primeras cefalosporinas. Existen diferencias entre cefalosporinas de esta generación. Cefoxitina es muy activa contra *B. fragilis* por lo que se usa en el tratamiento o profilaxis de sepsis intraabdominales. Cefamandol tiene mayor actividad contra *H. influenzae*. Cefuroxima, al igual que algunas cefalosporinas de tercera generación, es excelente para el tratamiento de neumonías adquiridas en la comunidad, por ejemplo, aquellas causadas por *Streptococcus pneumoniae* (incluyendo las cepas resistentes a penicilinas), *H. Influenzae*. Cefoxitina y cefotetan tienen buena actividad para las terapias combinadas bajo ciertas condiciones (Rivas y cols., 2002).

Las cefalosporinas de tercera generación cubren enterobacterias poco habituales (*Citrobacter*, *Providencia*) e inhiben a las más comunes a concentraciones mucho más bajas. Son eficaces sobre un 50-75% de especies de *Pseudomonas aeruginosa* pero no deben ser usadas solas en el tratamiento de infecciones producidas por estos microorganismos, debido a la rápida presentación de resistencia.

Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* pueden ser tratadas eficazmente con una terapia combinada entre una cefalosporina de tercera generación (ejemplo: ceftazidima) y una fluoroquinolona o un aminoglicósido (Harvey, 1992; Tessier y cols., 1999).

## 2.12.- CEFQUINOMA

### 2.12.1.- ESTRUCTURA QUÍMICA Y RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD

Los grupos químicos involucrados en la actividad de la cefquinoma son el aminotiazol y el grupo ciclohexenopiridina. La presencia de un nitrógeno cuaternario mantiene la carga positiva, independientemente del pH del medio. La asociación de esta carga neta con una carga negativa en el C4 del núcleo cefem permite que cefquinoma presente una penetración a través de las porinas bacterianas superior a las cefalosporinas de tercera generación, alcanzando altas concentraciones en el espacio periplasmático de las bacterias Gram negativas (Mella y cols., 2001; Al-Jundy y cols., 2009).

Otro aspecto relevante, es la mayor resistencia de cefquinoma frente a beta-lactamasas (Mella y cols., 2001).

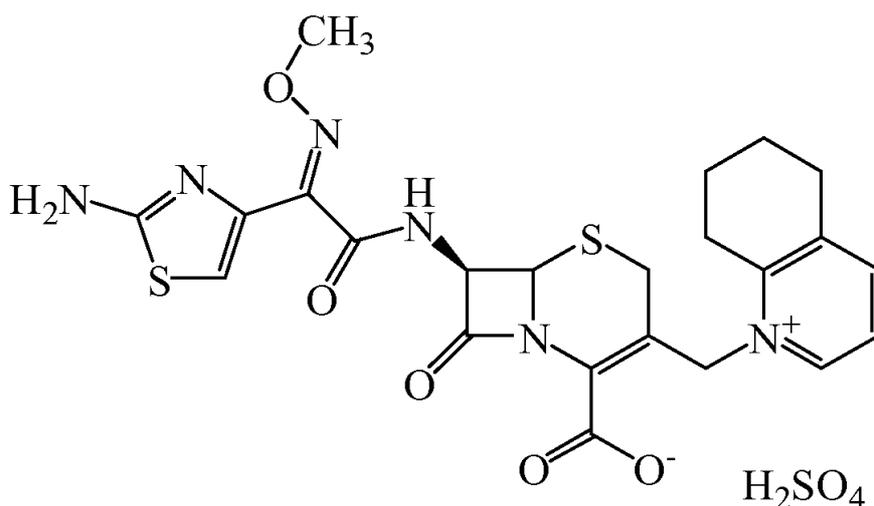


Figura 6.- Estructura química de Cefquinoma.

### **2.12.2.- PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS**

Cefquinoma es un ácido orgánico con valores de pKa de  $2,71 \pm 0,2$  y su solubilidad en disolventes orgánicos es baja. Se trata de un polvo cristalino blanco o amarillento e inodoro (Litterio, 2013)

### **2.12.3.- ESPECTRO ANTIBACTERIANO**

El espectro de actividad antimicrobiana de cefquinoma es muy amplio, incluyendo bacterias Gram positivas como *Streptococcus spp*, *Staphylococcus aureus* (meticilin sensibles) y aun mayor actividad sobre bacilos Gram negativos como *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacteriaceae spp*, *Pasteurella spp*, *Citrobacter spp*, *Serratia marcescens* etc.). Por otro lado, *Pseudomonas aeruginosa* y *S. aureus* (meticilin resistente) presentan una sensibilidad intermedia frente a cefquinoma. (Limbert y cols., 1991; Sheldon y cols., 2004, Thomas y cols., 2006; Melnikow y cols., 2008; Zonca y cols., 2011) (Ficha técnica AEMPS de Cobactan 2,5% suspensión inyectable)

### **2.12.4.- INDICACIONES CLÍNICAS**

Según la ficha técnica, cefquinoma, está autorizado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitario (AEMPS) para el tratamiento de infecciones bacterianas en bovino y porcino causadas por microorganismos Gram positivos y Gram negativos sensibles.

Bovino: Enfermedades respiratorias causadas por *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica*. Dermatitis interdigital, necrosis bulbar infecciosa, necrobacilosis interdigital aguda (panadizo) y mamitis aguda por *E.coli* con sintomatología sistémica.

Porcino: Infecciones bacterianas pulmonares y del tracto respiratorio producidas por *Pasteurella multocida*, *Haemophilus parasuis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis* y otros microorganismos sensibles a cefquinoma. Síndrome de Mamitis-Metritis-Agalaxia (MMA) en el que se encuentren involucrados *E.coli*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* y otros microorganismos sensibles.

Lechones: Reducción de la mortalidad en casos de meningitis producida por *Streptococcus suis*. Tratamiento de artritis producida por *Streptococcus spp.*, *E.coli* y otros microorganismos sensibles a cefquinoma. Epidermitis (lesiones medias o moderadas) producidas por *Staphylococcus hyicus*.

Ternero: Septicemia por *E.coli*

### **2.12.5.- POSOLOGÍA, FORMA DE ADMINISTRACIÓN Y DURACIÓN DEL TRATAMIENTO**

Según la ficha técnica del medicamento de la AEMPS, la posología, forma de administración y duración del tratamiento de cefquinoma es:

Para Cobactan 2,5% p/v suspensión inyectable en bovino se administrará por vía intramuscular una dosis de 1mg/kg una vez al día (1mL por cada 25kg) durante 3 o 5 días consecutivos. En caso de mamitis aguda causada por *E.coli* con sintomatología sistémica se administrará la dosis de 1mg/kg una vez al día, durante 2 días consecutivos. En ternero y porcino, la dosis es de 2mg/kg (2mL por cada 25kg) durante 3 o 5 días consecutivos.

### **2.12.6.- TIEMPO DE ESPERA**

Para Cobactan 2,5% p/v suspensión inyectable para bovino y porcino®, la AEMPS recomienda esperar 5 días para carne de bovino, 3 días para carne de porcino y 24 horas para la leche.

### **2.12.7 TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS**

Cefquinoma esta contraindicada en animales con peso inferior a 1,25 Kg y en animales con hipersensibilidad a antibióticos beta-lactámicos (Ficha técnica AEMPS de Cobactan 2,5% suspensión inyectable). No se conoce mucho sobre su perfil de seguridad, pero en general se consideran fármacos seguros (Kumil Uney y cols., 2011; El-Hewaity y cols., 2014). Su uso se ha relacionado con aumento de fosfatasa alcalina y alanino aminotransferasa en un estudio donde la cefquinoma fue administrada a perros (22-28 Kg) tratados con una dosis de 1mg/kg. En este mismo estudio también se

detecto un aumento de  $\text{HCO}_3$  y la  $\text{tCO}_2$  en los días 7 y 10, respectivamente y un aumento del exceso de bases en el día 7 (Maden y cols., 2001).

### **2.12.8.- INTERACCIONES CON MEDICAMENTOS**

No se han detectados interacciones de cefquinoma con otros fármacos, pero debido a interacciones farmacodinámicas, no se debe administrar simultáneamente con medicamentos bacteriostáticos.

### **2.12.9.- PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS**

#### **2.12.9.1.- ABSORCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD**

##### ○ OVINO

En los estudios realizados con cefquinoma por vía intramuscular en ganado ovino a 2 mg/kg se alcanzaron concentraciones máximas de 2600 y 1800  $\mu\text{g/L}$  a los tiempos de 0,5 y 2,6 h (Kumil Uney y cols., 2011; El-Hewaity y cols., 2014). En otro estudio por vía intramuscular en el que la dosis fue de 1 mg/kg y 10 mg/kg se alcanzaron concentraciones máximas de 1205 y 4576  $\mu\text{g/L}$  a los tiempos de 2,17 y 3,1 h (Tohamy, 2011). Sólo en el estudio de Kumil Uney y cols. (2011) se evaluó la biodisponibilidad, que fue del 89%.

##### ○ CAPRINO

En los estudios realizados con cefquinoma por vía intramuscular a dosis de 2 mg/kg en ganado caprino se alcanzaron concentraciones máximas de 2480 y 1880  $\mu\text{g/L}$  a los tiempos de 0,96 y 2,62 h (Litterio, 2013; El-Hewaity y cols., 2014). La biodisponibilidad fue similar a la observada en ovino, siendo del 92% (Litterio, 2013).

##### ○ PORCINO

En los estudios realizados con cefquinoma por vía intramuscular en ganado porcino a dosis de 2 mg/kg (a excepción de Lim y cols, en el que la dosis usada fue de 1 mg/kg) se alcanzaron concentraciones máximas entre 3890 y 6230  $\mu\text{g/L}$  a tiempos entre 0,28-2.33 h (Li y cols., 2008; Lim y cols., 2011; Song y cols., 2012; Liu y cols., 2012; Zhang y cols., 2013). La biodisponibilidad es muy alta y se encuentra entre

valores del 80-116% (Li y cols., 2008; Song y cols., 2012; Liu y cols., 2012; Zhang y cols., 2013).

En cuanto a la administración por vía subcutánea en el estudio de Limbert y cols. (1991) a dosis de 10 mg/kg se alcanzaron concentraciones máximas de 26100 µg/L a un tiempo de 0,8 h, y con una biodisponibilidad del 93%.

- BOVINO

Se ha encontrado un estudio, realizado con cefquinoma por vía intramuscular, en ganado bovino a dosis de 1 mg/kg en el que se alcanzó una concentración máxima de 3190 µg/L a un tiempo de 0,85 h (Errecalde y cols., 2002). En otro estudio se administró cefquinoma por vía intramuscular y subcutánea a dosis de 10 mg/kg en el se alcanzaron concentraciones máximas de 4500 y 3600 µg/L a unos tiempos de 2 y 1,8 h, respectivamente (Limbert y cols., 1991).

- AVES

En los estudios realizados con cefquinoma por vía intramuscular en pollos y patos a dosis de 2 mg/kg y 5 mg/kg, respectivamente, se alcanzaron concentraciones máximas de 3040 µg/L y 9380 µg/L a unos tiempos de 0,25 y 0,38 h. En cuanto a la biodisponibilidad fue muy elevada en ambas especies de animales, con valores entre 93-95% (Yuan, 2011; Xie, 2013)

- OTRAS ESPECIES

En ratones, la administración de cefquinoma por vía subcutánea alcanzó valores de concentración máxima entre 7500-13600 µg/L a dosis de 10 mg/kg, entre y 26000-49500 µg/L a dosis de 40 mg/kg (Limbert y cols., 1991; Wang y cols., 2012; Shan y cols., 2014), 152210-164000 µg/L 276670-598000 µg/L a dosis de 160 mg/kg, y 320 mg/kg, respectivamente (Wang y cols., 2012; Shan y cols., 2014). Estas concentraciones máximas se alcanzaron en un tiempo entre 0,27-0,45 h tras la administración. En cuanto la biodisponibilidad no se realizó ningún estudio que incluyera dicho dato.

En los estudios realizados en perros tras la administración de 2 mg/kg de cefquinoma por vía intramuscular y subcutánea se alcanzaron concentraciones

máximas de 2530 y 4830 µg/L por vía intramuscular a un tiempo de 0,71 y 0,43 h, y 3880 µg/L para la vía subcutánea, a un tiempo de 0,72. En cuanto a la biodisponibilidad se encuentra entre 89% y el 97% para la vía intramuscular y del 107% para la vía subcutánea (Zhang y cols., 2014; Zhou y col., 2015).

En un estudio realizado en cebú tras la administración de 1 mg/kg de cefquinoma por vía intramuscular se alcanzó una concentración máxima de 2340 µg/L a un tiempo de 0,78 h (Shan y cols., 2013). En otro estudio realizado en camellos la administración de 1 mg/kg de cefquinoma por vía intramuscular produjo una concentración máxima de 1230 µg/L a un tiempo de 4,25 h (Al-Taher, 2010).

Hwang y cols. (2011) estudiaron la administración de 2 mg/kg por vía intramuscular de cefquinoma en conejos, donde se alcanzó una concentración máxima de 8870 µg/L a un tiempo de 0,25 h y con una biodisponibilidad del 95%.

#### **2.12.9.2 DISTRIBUCIÓN Y ELIMINACIÓN**

Cefquinoma se une a proteínas en menos del 5% y se excreta inalterada en orina (90% de la dosis administrada) (Ficha técnica AEMPS de Cobactan 2,5% suspensión inyectable).

- OVINO

Únicamente se ha encontrado un estudio con cefquinoma que da resultados del volumen de distribución en ovejas, cuyo valor es 0,36 L/kg y con un aclaramiento plasmático total de 0,34 L/kg·h (Kumil Uney y cols., 2011).

- CAPRINO

En un estudio realizado con cefquinoma en ganado caprino se encontró un valor de volumen de distribución de 0,37 L/kg con un aclaramiento plasmático total de 0,25 L/kg·h (Litterio, 2013).

- PORCINO

En los estudios realizados con cefquinoma en ganado porcino se alcanzaron valores de volumen de distribución entre 0,2 y 0,46 L/kg con aclaramientos plasmáticos totales entre 0,1 y 0,32 L/kg·h (Limbert y cols., 1991; Li y cols., 2008; Lim y cols., 2011; Song y cols., 2012; Liu y cols., 2012; Zhang y cols., 2013)

- BOVINO

En los estudios realizados con cefquinoma en ganado bovino se encontraron valores de volumen de distribución entre 0,19 y 0,23 L/kg con aclaramientos plasmáticos totales entre 0,07 y 0,13 L/kg·h (Limbert y cols., 1991; Errecalde y cols., 2002).

En los estudios realizados en búfalos se describieron volúmenes de distribución entre 0,17 y 0,26 L/kg con aclaramientos plasmáticos totales entre 0,06 y 0,07 L/kg·h (Dinakaran y cols., 2013 y 2015).

También se han publicado datos de la administración intramamaria de cefquinoma a dosis de 75 mg en vacas en la que cefquinoma apenas fue detectada en plasma, alcanzando una concentración plasmática máxima de 100 µg/L a un tiempo de 30 h (Zonca y cols., 2011).

- AVES

En los estudios realizados con cefquinoma en aves se han descrito valores de volúmenes de distribución entre 0,41 y 0,49 L/kg con aclaramientos plasmáticos totales entre 0,22 y 0,35 L/kg·h (Yuan y cols., 2011; Xie y cols., 2013).

- OTRAS ESPECIES

En los estudios realizados en perros se alcanzaron valores de volumen de distribución entre 0,30 y 0,81 L/kg con aclaramientos plasmáticos totales entre 0,24 y 0,49 L/kg·h (Zhang y cols., 2014; Zhou y cols., 2015).

En un estudio realizado en cebú se encontró un valor de volumen de distribución de 0,34 L/kg con un aclaramiento plasmático total de 0,11 L/kg·h (Shan y cols., 2013)

Hwang y cols. (2011) estudiaron la administración de cefquinoma en conejos y describen un volumen de distribución de 0,21 L/kg con un aclaramiento plasmático total de 0,18 L/kg·h.



### **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**

- Agujas hipodérmicas.
- Tubos de extracción con heparina sódica.
- Sistema Vacutainer®
- Tubos de ensayo de varias capacidades.
- Micropipetas de varias capacidades Gilson®.
- Puntas para micropipetas de varias capacidades
- Pipeta repetidora HandyStep®.
- Puntas de desplazamiento directo codificadas de varias capacidades Plastibrand®.
- Matraces aforados de varias capacidades.
- Matraces Erlenmeyer de varias capacidades.
- Placas de Petri de 10 cm de diámetro.
- Placas de poli-estireno de 96 celdillas.
- Vasos de precipitado de varias capacidades.
- Viales con tapón para autoinyector 8 x 40, 1 mL, Wheaton, USA.
- Filtros Millipore® tipo HV 0.45 µm de diámetro de poro.
- Tubos Eppendorf 1,5 y 2 mL.

#### **3.1.2.- PRODUCTOS Y REACTIVOS**

- Agua bidestilada.
- Ácido trifluoroacético (Lote: 0000457268, Panreac Química, Barcelona).
- Acetonitrilo HPLC (Lote: SZBE017SV, Sigma-Aldrich, Madrid).
- Agua para HPLC (Lote: BCBN4854V, Sigma-Aldrich, Madrid).

- Metanol para HPLC (Lote: SZBD0145SV, Sigma-Aldrich, Madrid).
- Cefquinoma experimental: Vetranal® (Lote: 9147403, Sigma-Aldrich, Madrid).

### **3.1.3.- APARATAJE**

- Agitador magnético SBS A-06.
- Agitador de tubos Heidolph Reax 2000.
- Balanza de precisión Mettler Toledo AB135-5/FACT, pesada entre 0.0001 y 120 g.
- Campana de flujo laminar vertical micro-V (Telstar).
- Centrífuga MIKRO modelo 120.
- Congelador Sanyo MDF (- 45 °C).
- Replicador de inóculos Steers (Craft Machine, Inc, Cherter, Pa).
- Estufa Selecta.
- Frigorífico Electrolux® modelo ER 3818C.
- Neveras portátiles isotérmicas.
- Mechero Bunsen.
- Ordenador personal Intel core i5.
- pHmetro Crison Digit 501.
- Termómetro de mercurio.
- HPLC modelo JASCO, compuesto de:
  - Bomba cuaternaria modelo PV-1585.
  - Detector de fluorescencia de modelo FP-920 .
  - Autoinyector modelo AS-950.
  - Desgasificador DG-1580-53.
  - Módulo mezclador LG-2080-04.
  - Horno para columnas Peltier JetStream.
  - PC con el programa ChromPass Chromatography Data System.
  - Columnas ULTRABASE 100 Å 5µm, 250 mm x 4,6 mm.

- Precolumnas Tracer Excel ODS (C18) TECNOKROMA 10 x 3.2 mm.

### **3.1.4.- SOFTWARE INFORMÁTICO**

- Programa de análisis farmacocinético Winnonlin Professional<sup>®</sup> versión 5.0.
- Paquete de análisis estadístico SPSS<sup>®</sup> versión 19.0.
- Programa de gráficos SIGMAPLOT<sup>®</sup> versión 12.3.
- Procesador de textos Microsoft<sup>®</sup> Word 2007 y Hoja de cálculo Microsoft<sup>®</sup> Excel 2007.

## **3.2.- ANIMALES**

El estudio se realizó en 5 ovejas, Todas ellas sanas, adultas y de raza Lacaume cuyos pesos oscilaban entre los 61 y 93 Kg. Entre 2,5 y 3,5 años de edad y procedentes de la explotación ovina Cuarto Perea de Villarrobledo en Albacete. Durante el período de estudio se controló el estado sanitario para asegurar la ausencia de enfermedades infecciosas y/o parasitarias y no recibieron ningún fármaco durante, al menos, 15 días antes del inicio de la experiencia. Los animales seleccionados fueron separados del resto del grupo en un corral contiguo, para facilitar su manejo y se identificaron asignándoles su letra en el collar. Se alimentaron a base de pienso y heno de alfalfa y tuvieron acceso al agua de bebida *ad libitum*.

## **3.3.- PROTOCOLO EXPERIMENTAL**

El antibiótico utilizado fue cefquinoma. Se administró una dosis de 2 mg/kg en solución acuosa por vía intravenosa (IV), vía subcutánea (SC) y vía intramuscular (IM).

El estudio fue de tipo cruzado en 3 fases, con intervalos entre cada fase de 15 días para asegurar la ausencia de interferencias entre cada uno de los estudios. Así, el esquema utilizado para la administración del antibiótico a los animales fue:

ANIMAL	IV*	SC*	IM*
Ovejas	A,B	C,D	E
Ovejas	E	A,B	C,D
Ovejas	C,D	E	A,B

La dosis de antibiótico utilizada según el peso de cada animal se detalla en la tabla siguiente:

ANIMAL	IV*	SC*	IM*
Oveja A (85 kg)	170 mg	170 mg	170 mg
Oveja B (71 kg)	142 mg	142 mg	142 mg
Oveja C (61 kg)	122 mg	122 mg	122 mg
Oveja D (76 kg)	152 mg	152 mg	152 mg
Oveja E (92.5 kg)	185 mg	185 mg	185 mg

\* Vía intravenosa (IV), vía subcutánea (SC), vía intramuscular (IM)

**TABLA 1.-** Dosis de antibiótico utilizada según el peso de cada animal.

- **Administración intravenosa:**

La solución acuosa de cefquinoma se administró a cada uno de los animales objetos de estudio en la vena yugular derecha. La dosis administrada fue de 2 mg/kg como dosis única.

Las muestras de sangre se recogieron de la vena yugular izquierda a los siguientes tiempos (desde la administración IV del fármaco) expresados en horas:

0 (blanco)	0,083	0,167	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	12	24	36	48
---------------	-------	-------	------	-----	------	---	-----	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

Se centrifugaron inmediatamente a 1500g durante 10 minutos para separar el plasma. Una vez separado, éste se congeló por duplicado a - 45°C, dentro de los

treinta minutos siguientes a la extracción, hasta el momento de realizar las determinaciones analíticas.

- **Administración subcutánea:**

La administración subcutánea de la solución acuosa de cefquinoma se realizó a nivel escapular, a una dosis de 2 mg/kg todas como dosis única.

Las muestras de sangre se recogieron de la vena yugular a los siguientes tiempos (tras la administración subcutánea) expresados en horas:

0 (blanco)	0,083	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	12	24	36	48
---------------	-------	------	-----	------	---	-----	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

Las muestras recibieron el mismo tratamiento que con la administración intravenosa, es decir, fueron centrifugadas inmediatamente a 1500g durante 10 minutos para separar el plasma. Una vez separado, éste se congeló por duplicado a -45°C, dentro de los treinta minutos siguientes a la extracción, hasta el momento de realizar las determinaciones analíticas.

Se evaluó el daño de la administración SC, en el punto de administración (previamente, convenientemente depilado), mediante la observación de signos de dolor por parte del animal, cojera, control de la temperatura dérmica en el punto de la administración, reacciones inflamatorias, formación de induraciones, etc.

- **Administración intramuscular:**

La administración intramuscular de la solución acuosa de cefquinoma se realizó a nivel del glúteo, a una dosis de 2 mg/kg todas como dosis única.

Las muestras de sangre se recogieron de la vena yugular a los siguientes tiempos (tras la administración intramuscular) expresados en horas:

0 (blanco)	0,083	0,167	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	12	24	36	48
---------------	-------	-------	------	-----	------	---	-----	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

Las muestras recibieron el mismo tratamiento que con las otras vías, es decir, fueron centrifugadas inmediatamente a 1500g durante 10 minutos para separar el plasma. Una vez separado, éste se congeló por duplicado a -45°C, dentro de los

treinta minutos siguientes a la extracción, hasta el momento de realizar las determinaciones analíticas.

- **Recogida de muestras de leche:**

Se estudió la eliminación del cefquinoma y su paso a leche en el grupo de ovejas estudiadas. La toma de muestras de leche fue realizada previa la administración del fármaco y a los siguientes tiempos (tras la administración del fármaco tanto por vía intravenosa como subcutánea e intramuscular, mediante evacuación completa de ambas ubres) expresado en horas:

0 (blanco)	1	2	4	6	8	12	24	36	48	72
---------------	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

La producción total de leche recogida fue refrigerada a 4-6 °C antes de congelar dos alícuotas a - 45 °C hasta su posterior procesamiento.

### **3.4.- TÉCNICAS ANALÍTICAS**

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección por fluorescencia es el método que se ha utilizado para determinar la concentración de cefquinoma en plasma y leche de oveja. Este método sigue el procedimiento descrito por Uney y cols. (2010) y Zaho y cols. (2012) para cefquinoma modificado.

El procesamiento de las muestras fue el que se detalla a continuación: en un tubo Eppendorf con 200 µL de plasma o leche se añaden 100 µL de metanol y 100 µL de una disolución de ácido trifluoroacético/metanol (1:2), que hace que las proteínas precipiten. Posteriormente, son sometidas a agitación y se sónica con ultrasonidos 5 minutos seguido de centrifugación durante 10 min a 10000 rpm (14000 en caso de la leche). Del sobrenadante se extraen 300 µL y se transfiere a los viales del autoinyector del HPLC. De estos se inyectan 100 µL.

La separación se llevó a cabo utilizando una columna de fase reversa ULTRABASE 100 Å 5µm, 250 mm x 4,6 mm y precolumnas ODS (C18) TECNOKROMA 10 x 3.2 mm. Tanto las muestras dentro del autoinyector (sistema Peltier), como la

columna fueron termostatzadas a 25°C. La fase móvil estaba compuesta por acetonitrilo (16%) y ácido trifluoroacético en solución 0,1% (86%). La velocidad de flujo de la misma fue de 1 mL/min y el volumen de muestra inyectado al HPLC fue de 100 µL. La detección se realizó a una longitud de onda de 268 nm.

### **3.5.-VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA**

#### **3.5.1-LINEALIDAD**

Las curvas de calibrado se prepararon con 7 concentraciones diferentes de cefquinoma entre 100 y 10000 µg/L (100, 250, 500, 1000, 2000, 5000, 10000) usando blancos de plasma o leche de las oveja. Las curvas estándar o patrón se obtuvieron por representación de concentraciones conocidas de cefquinoma. Cada punto se estableció a partir de un promedio de tres determinaciones. El coeficiente de correlación (r) fue siempre > 0,999% para todas las curvas de calibrado. Al igual que las muestras experimentales, las alícuotas de plasma y leche se almacenaron a - 45 °C hasta su procesamiento.

Las alícuotas de los controles fueron procesadas como se describió anteriormente.

#### **3.5.2- RECUPERACIÓN**

Los porcentajes de recuperación se determinaron comparando las áreas de los picos de los controles con distintas concentraciones conocidas de fármaco (concretamente a 250, 1000 y 5000 µg/L, tanto para le leche como para el plasma), con las áreas de los picos de los estándares a las concentraciones correspondientes preparados con agua. Cada punto se estableció a partir de un promedio de tres determinaciones. Los porcentajes de recuperación de cefquinoma tanto en plasma como en leche, se muestran en la Tabla 2:

CONCENTRACIÓN (µg/L)	RECUPERACIÓN (%) CEFQUINOMA	
	PLASMA	LECHE
250	100	93,33
1000	107,27	103,39
5000	95,24	104,10

**TABLA 2.-** Porcentajes de recuperación de cefquinoma en plasma y en leche.

### 3.5.3- 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 tres muestras (de plasma y leche) repetidas de tres concentraciones estándar (250, 1000 y 5000 µg/L) usadas para las curvas de calibrado, obteniéndose valores de RSD: en plasma, < 10%, y en leche, < 14%. La precisión inter-día se estimó mediante el análisis de tres concentraciones estándar (250, 1000 y 5000 µg/L) durante tres días consecutivos. Los resultados de precisión expresados como RSD fueron los siguientes: en plasma, < 12%, y en leche, < 14%.

CONCENTRACIÓN (µg/L)	PRECISION (%) CEFQUINOMA (DESVIACION ESTANDAR RELATIVA)			
	INTRA-DIA		INTER-DIA	
	PLASMA	LECHE	PLASMA	LECHE
250	9,11	13,32	12,37	13,32
1000	2,79	5,59	5	3,15
5000	6,65	0	2,62	0,61

**TABLA 3.-** Porcentajes de desviación estándar relativa de cefquinoma en plasma y en leche intra-día e inter-día.

- **Límite de cuantificación y detección**

El límite de detección de cefquinoma en plasma y leche se ha establecido como la concentración más baja que se ha podido detectar diferenciándola del ruido de

fondo del aparato. El límite de detección tanto para plasma como para leche fue de 50 µg/L de cefquinoma.

El límite de cuantificación se ha establecido para el nivel de concentración más bajo utilizado en las curvas de calibrado y para el que la desviación relativa estándar es menor al 20%. El límite de cuantificación fue de 50 µg/L tanto para plasma como la leche.

### 3.6- ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

#### 3.6.1.- ANÁLISIS COMPARTIMENTAL DE DATOS PLASMATICOS.

Una vez obtenidas las concentraciones de cefquinoma en plasma a los diferentes tiempos de extracción, se han ajustado los datos a las ecuaciones mono y bicompartimental mediante el programa WinNonlin Professional<sup>®</sup> (versión 5.0). Los ajustes se han realizado empleando varios tipos de ponderación:

- 1- Inversa de las concentraciones experimentales.
- 2- Inversa de las concentraciones teóricas.
- 3- Inversa de las concentraciones experimentales al cuadrado.
- 4- Inversa de las concentraciones teóricas al cuadrado.

Una vez realizados los ajustes a los diferentes modelos farmacocinéticos, el criterio utilizado para determinar cuál 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:

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

Donde  $N$  es el número de puntos experimentales y  $p$  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, 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.

### **3.6.2.- ANÁLISIS NO COMPARTIMENTAL DE DATOS PLASMATICOS.**

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® (versión 5.0).

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

$$F(\%) = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \cdot 100$$

El tiempo medio de absorción (MAT) se ha calculado mediante la diferencia entre los tiempos medio de residencia (MRT) de la vía extravascular y la vía intravenosa.

$$MAT = MRT_{ev} - MRT_{iv}$$

### **3.7.- MÉTODOS ESTADÍSTICOS.**

Con el fin de evaluar la homogeneidad de los datos utilizados se ha realizado un análisis estadístico mediante el programa SPSS 19.0

Para el análisis general de las variables se han empleado los métodos descriptivos básicos para las variables cuantitativas, obteniendo la media, desviación estándar, el coeficiente de variación y el error estándar.

Para comprobar la homogeneidad de los datos, se ha realizado la prueba de Kruskal-Wallis. Esta prueba realiza un test de hipótesis para comprobar si existe o no igualdad entre las varianzas. Para ello se han establecido como hipótesis nulas, que las

concentraciones de cefquinoma no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos). De esta forma, si se demuestra la no existencia de diferencias significativas entre los animales, la única fuente de variación es el tiempo, por lo que se manifiesta homogeneidad a un tiempo determinado en las concentraciones.

Por otra parte, se han utilizado dos test estadísticos no paramétricos para comprobar si existen o no diferencias significativas de los parámetros farmacocinéticos obtenidos entre las diferentes vías de administración del fármaco, y los animales utilizados. El primero de ellos es la prueba de Kruskal-Wallis para contrastar si los valores para cada parámetro farmacocinético son iguales o diferentes entre todas las vías de administración (IV, SC, IM).

Se realizó un segundo análisis no paramétrico, la prueba U de Mann-Whitney para dos muestras independientes, con el fin de determinar entre qué vías se presentan las diferencias.

Las diferencias consideradas estadísticamente significativas son aquellas cuya  $p$  obtenida es menor de 0,05.

### **3.8.- ANÁLISIS BACTERIANOS Y CONCENTRACIONES MÍNIMAS INHIBITORIAS (CMI).**

Se estudiaron diez cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de oveja con infecciones en España durante 2012. Se obtuvieron las concentraciones mínimas inhibitorias de cefquinoma para cada una de estas cepas.

Las concentraciones mínimas inhibitorias se determinaron mediante el método de microdilución en placas de microtitulación NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards; NCCLS, 2000). Tras incubar a +37°C durante un máximo de 24h, el inóculo fue suspendido en solución salina al 0,9% hasta obtener una suspensión estándar de 0,5 según la escala de McFarland en el colorímetro, que corresponde a un rango de entre cien y doscientos millones de Unidades formadoras de Colonias (CFU)

por mililitro ( $1-2 \times 10^8$  CFU/mL). Se cogieron 200  $\mu\text{g}$  de esta suspensión y se diluyeron con 3,8 mL de diluyente Mueller-Hinton, hasta una concentración aproximada de  $5 \times 10^6$  CFU/mL, unos 15 minutos antes de su análisis. Las pruebas de CMI fueron realizadas en placas de poli-estireno que contienen 96 celdillas con fondo en U. Las placas contenían diluciones de antimicrobiano (13 concentraciones de cefquinoma comprendidas entre 0,03 y 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) con 100  $\mu\text{L}/\text{celda}$  de agar Mueller-Hinton que fueron inoculadas con 10  $\mu\text{L}$  de las diferentes cepas. Las placas fueron incubadas a  $+37^\circ\text{C}$  y se observaron a las 24 horas. Se procedió a su lectura mediante una lámpara de fluorescencia y una lupa. Para evitar diferencias de temperatura en la incubación de bloques de placas de microtitulación, se depositaron las placas individualmente, sin apilar y tapadas para evitar la evaporación. Se consideró positivo el crecimiento si había un botón de 2 mm de diámetro de crecimiento del microorganismo. La interpretación de los resultados se facilitó tomando siempre como referencia el crecimiento observado en el pocillo usado como control positivo (sin fármaco). Las cepas utilizadas como control positivo y negativo fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) y *Escherichia coli* (ATCC 25922), respectivamente.

Se calculó la concentración mínima inhibitoria (MIC) de cada cepa como la concentración más baja de cefquinoma que inhibía el crecimiento bacteriano. Se obtuvieron las denominadas  $\text{MIC}_{50}$  y  $\text{MIC}_{90}$ , que se definen como aquellas concentraciones de antibacteriano que producen la inhibición del crecimiento bacteriano en el 50% de las cepas y en el 90% de las cepas estudiadas respectivamente.

## **4.- RESULTADOS**



#### 4.1.- ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE CEFQUINOMA

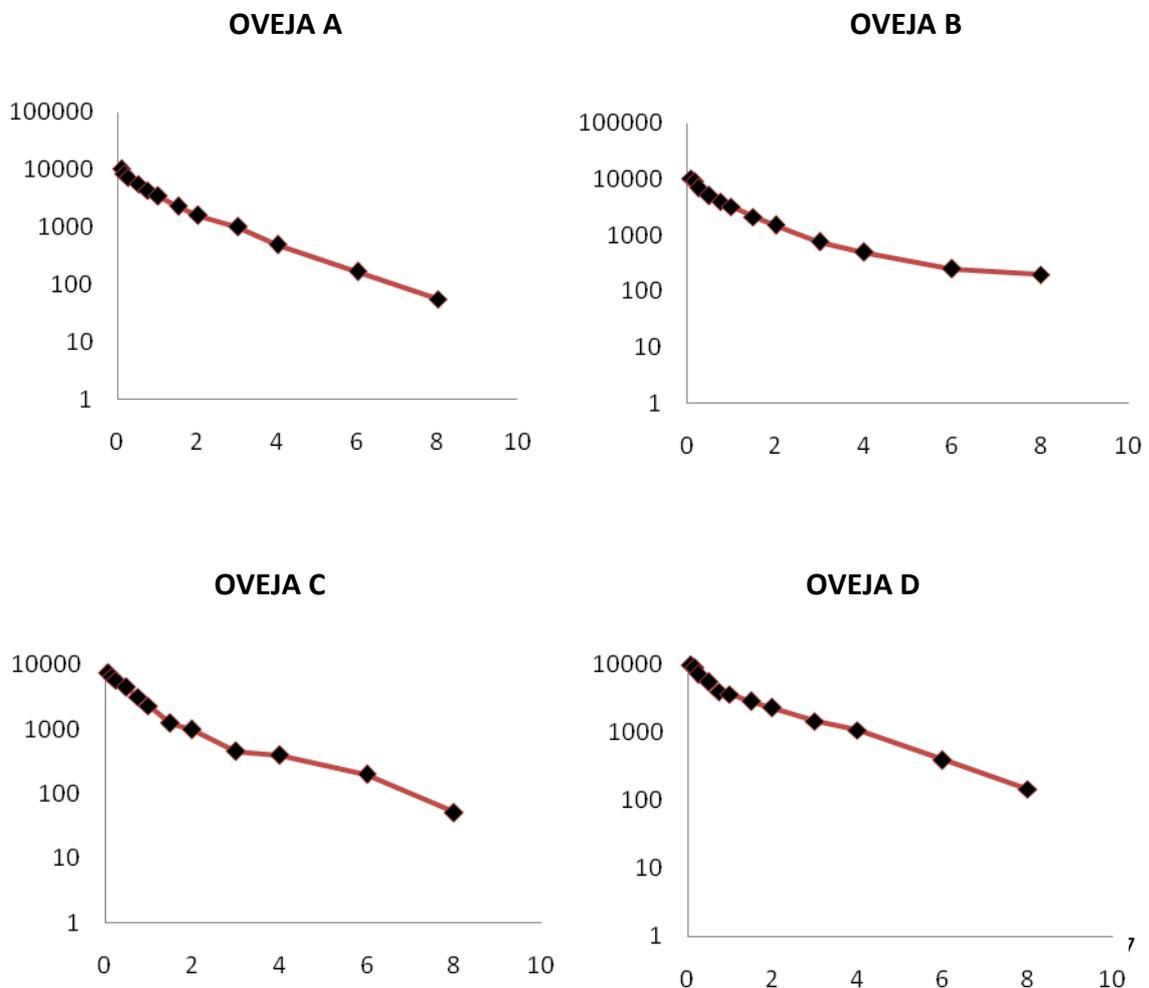
Los valores de concentración plasmática de cefquinoma, obtenidos a los distintos tiempos de extracción tras la administración intravenosa de 2 mg/kg de cefquinoma a ovejas, se muestran en la Tabla 1 y 2. En todos los animales, se observa un descenso rápido de las concentraciones durante la primera hora tras la administración. Posteriormente, el descenso es más moderado, como puede observarse, además, en los gráficos 1 (representaciones semilogarítmicas correspondientes a cada animal) y 2 (representación semilogarítmica de las concentraciones medias).

Tiempo (h)	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
0,083	10153	10446	7379	9825	9301
0,167	8499	9389	6587	8880	7996
0,25	7310	7043	5778	7175	5617
0,5	5598	5148	4459	5557	4505
0,75	4406	4011	3150	3991	3733
1	3503	3253	2302	3642	3206
1,5	2303	2108	1241	2899	2511
2	1610	1507	981	2326	1956
3	1003	752	449	1490	1330
4	500	506	395	1099	978
6	167	251	200	397	311
8	56	199	51	148	150

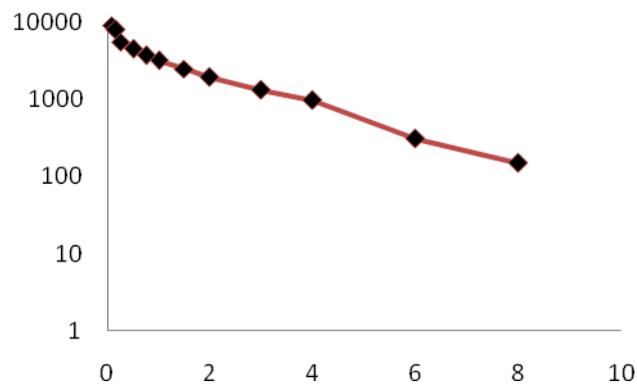
**TABLA 1.-** Concentraciones plasmáticas experimentales de cefquinoma en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$ , en cada oveja tras la administración intravenosa de una dosis de 2 mg/kg junto con los parámetros estadísticos asociados

Tiempo (h)	n	Media	SD	SE	CV(%)
0,083	5	9420,64	1217,93	544,68	12,93
0,167	5	8270,04	1070,70	478,83	12,95
0,25	5	6584,80	817,12	365,427	12,41
0,5	5	5053,34	550,59	246,23	10,90
0,75	5	3858,44	463,19	207,14	12,00
1	5	3181,46	523,23	234,00	16,45
1,5	5	2212,32	617,10	275,98	27,89
2	5	1675,90	504,16	225,47	30,08
3	5	1004,58	422,29	188,86	42,04
4	5	695,43	318,98	142,65	45,87
6	5	264,99	91,76	41,04	34,63
8	5	120,70	64,64	28,71	53,55

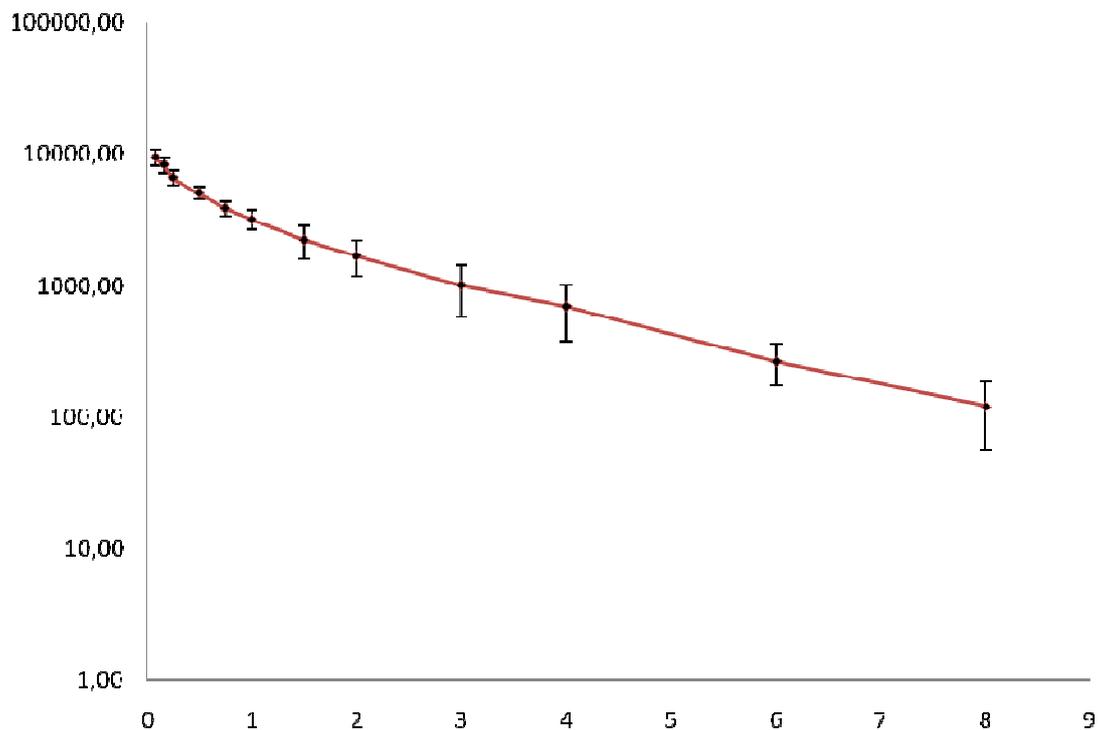
**TABLA 2.-** Concentraciones medias plasmáticas experimentales de cefquinoma en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$ , tras la administración intravenosa de una dosis de 2 mg/kg junto a su desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.



### OVEJA E



**Gráfico 1.-** Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de cefquinoma obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 2 mg/kg a cada oveja (A, B, C, D y E).



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

Para comprobar la homogeneidad de los datos experimentales, se ha realizado un análisis de la varianza mediante el test de Kruskal-Wallis, en el que se han establecido como hipótesis nulas, que las concentraciones de cefquinoma no varían entre animales, y que no varían entre tiempos. Se debe de aceptar la primera hipótesis nula (igualdad entre animales) y rechazar la segunda (no igualdad entre tiempos).

<b>Pruebas de homogeneidad de Varianzas para la Concentración</b>		
<b>Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo</b>	<b>Valor-P</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales</b>	<b>Valor-P</b>	<b>0,905</b>

**TABLA 3.-** Test de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas tras la administración intravenosa de cefquinoma a dosis de 2mg/kg.

Una vez estudiada la homogeneidad de los datos experimentales, se llevó a cabo el ajuste de los mismos a modelos compartimentales utilizando el programa de análisis farmacocinético WINNONLIN Professional® (versión 5.0), sin ponderación y con ponderación de los datos.

Utilizando el Criterio de Información de Akaike AIC (Yamaoka y cols., 1978) se obtiene que los datos experimentales se ajustan mejor a un modelo bicompartimental en el que las concentraciones se ponderan respecto a su inverso al cuadrado. Los valores de AIC se detallan a continuación (Tabla 4).

<b>Valores de AIC Oveja A. Vía IV. Modelo Monocompartimental</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	154
<b>AIC 1/Yat</b>	86
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	116
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-6

<b>Valores de AIC Oveja B. Vía IV. Modelo Monocompartimental</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	180
<b>AIC 1/Yat</b>	112
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	160
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	13

<b>Valores de AIC Oveja A. Vía IV. Modelo Bicompartimental</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	127
<b>AIC 1/Yat</b>	54
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	83
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-41

<b>Valores de AIC Oveja B. Vía IV. Modelo Bicompartimental</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	161
<b>AIC 1/Yat</b>	79
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	125
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-23

<b>Valores de AIC Oveja C. Vía IV. Modelo Monocompartimental</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	152
<b>AIC 1/Yat</b>	92
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	131
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	6

<b>Valores de AIC Oveja C. Vía IV. Modelo Bicompartimental</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	131
<b>AIC 1/Yat</b>	59
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	111
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-10

<b>Valores de AIC Oveja D. Vía IV. Modelo Monocompartimental</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	174
<b>AIC 1/Yat</b>	93
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	138
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-7

<b>Valores de AIC Oveja E. Vía IV. Modelo Monocompartimental</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	175
<b>AIC 1/Yat</b>	95
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	139
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-3

<b>Valores de AIC Oveja D. Vía IV. Modelo Bicompartimental</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	142
<b>AIC 1/Yat</b>	60
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	116
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-30

<b>Valores de AIC Oveja E. Vía IV. Modelo Bicompartimental</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	147
<b>AIC 1/Yat</b>	66
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	119
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-27

**TABLA 4.-** Valores de AIC obtenidos tras ajustar las concentraciones plasmáticas experimentales de cefquinoma a una dosis de 2 mg/kg por vía intravenosa, a los distintos modelos farmacocinéticos compartimentales y con diferentes métodos de ponderación.

Los parámetros farmacocinéticos bicompartimentales junto con sus estadísticos se muestran, respectivamente, en las Tablas 5 y 6, mientras que en las Tablas 7 y 8 están representados los resultados del estudio farmacocinético no compartimental.

Parámetros	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
$C_0$ (ug/L)	11034	10440	8825	12435	12661
$t_{1/2} \lambda_1$ (h) *	0,29	0,51	0,34	0,15	0,11
$t_{1/2} \lambda_z$ (h) *	1,22	2,81	1,62	1,54	1,57
A (ug/L)	5961	9175	6807	6644	7666
$\lambda_1$ (h <sup>-1</sup> )	2,39	1,36	2,04	4,62	6,30
B (ug/L)	5072	1266	2018	5792	4995
$\lambda_z$ (h <sup>-1</sup> )	0,57	0,25	0,43	0,45	0,44
$k_{10}$ (h <sup>-1</sup> )	0,96	0,88	1,10	0,87	1,01
$k_{12}$ (h <sup>-1</sup> )	0,59	0,35	0,58	1,78	2,87
$k_{21}$ (h <sup>-1</sup> )	1,40	0,38	0,80	2,36	2,68
V <sub>ss</sub> (L/Kg)	0,26	0,37	0,39	0,28	0,33
Cl (L/h/Kg)	0,18	0,18	0,25	0,14	0,16

**TABLA 5.-** Parámetros farmacocinéticos bicompartmentales deducidos tras la administración intravenosa de cefquinoma, a dosis de 2 mg/kg, a cada una de las ovejas a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
$C_0$ (ug/L)	5	11079	1175,20	525,56	10,61
$t_{1/2} \lambda_1$ (h) *	5	0,28	0,12	0,05	42,86
$t_{1/2} \lambda_z$ (h) *	5	1,75	0,42	0,19	24,16
A (ug/L)	5	7250,60	935,92	418,56	12,91
$\lambda_1$ (h <sup>-1</sup> )	5	3,34	1,69	0,76	50,73
B (ug/L)	5	3828,60	1749,28	782,30	45,69
$\lambda_z$ (h <sup>-1</sup> )	5	0,43	0,07	0,03	16,88
$k_{10}$ (h <sup>-1</sup> )	5	0,96	0,07	0,03	7,55
$k_{12}$ (h <sup>-1</sup> )	5	1,23	0,87	0,39	70,73
$k_{21}$ (h <sup>-1</sup> )	5	1,52	0,80	0,36	52,28
V <sub>ss</sub> (L/Kg)	5	0,33	0,04	0,02	13,74
Cl (L/h/Kg)	5	0,18	0,03	0,01	14,95

**TABLA 6.-** Media de los parámetros farmacocinéticos bicompartmentales deducidos tras la administración intravenosa de cefquinoma, a dosis de 2 mg/kg, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

Parámetros	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\times\text{h/L}$ )	11973	11894	8195	14527	12719
MRT (h)	1,67	2,07	1,52	1,99	2,04
Cl (L/kg/h)	0,17	0,17	0,24	0,14	0,16
Vss (L/kg)	0,28	0,35	0,37	0,27	0,32
Vz (L/kg)	0,32	0,62	0,53	0,27	0,35

**TABLA 7.-** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada oveja tras la administración intravenosa de cefquinoma a dosis de 2 mg/kg.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\times\text{h/L}$ )	5	11861,60	1466,64	655,90	12,36
MRT (h)	5	1,86	0,21	0,09	11,32
Cl (L/kg/h)	5	0,18	0,03	0,01	14,55
Vss (L/kg)	5	0,32	0,03	0,015	10,82
Vz (L/kg)	5	0,42	0,13	0,06	30,05

**TABLA 8.-** Media de parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos tras la administración intravenosa de cefquinoma a dosis de 2 mg/kg, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

## 4.2.- ADMINISTRACIÓN INTRAMUSCULAR DE CEFQUINOMA

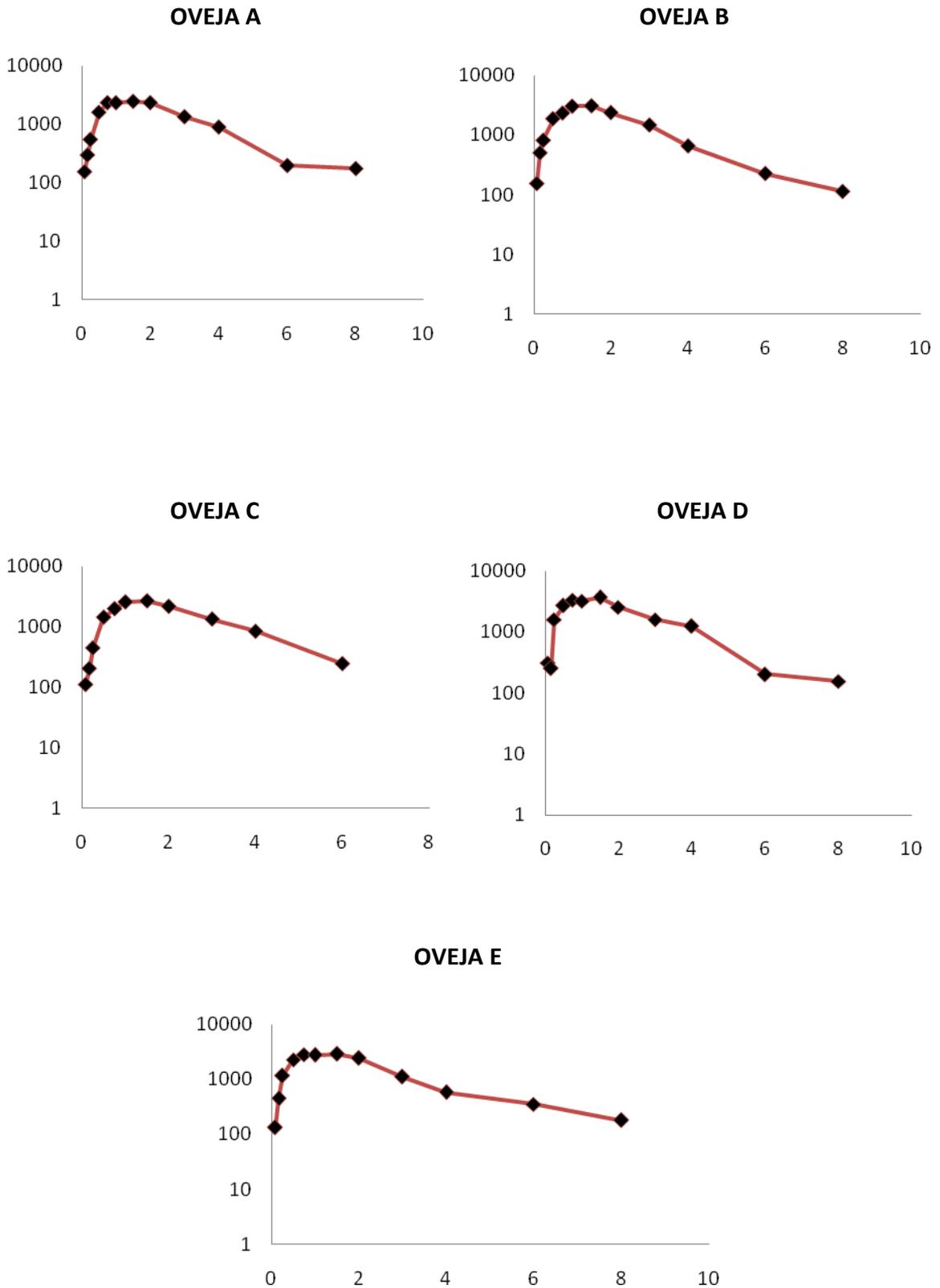
Los valores de concentración plasmática de cefquinoma, obtenidos tras la administración intramuscular de 2 mg/kg a ovejas, se muestran en las Tablas 9 y 10. En todos los animales, se observa un aumento de los niveles plasmáticos hasta aproximadamente 1,5 h, y transcurrido este tiempo descienden de manera constante hasta las 8 h. En el Gráfico 3 se muestra la representación semilogarítmica individual para cada una de las cinco ovejas, y en el Gráfico 4 los valores promedio de estos.

Tiempo (h)	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
0,083	155	153	113	312	133
0,167	299	499	207	254	444
0,25	551	808	452	1605	1156
0,5	1611	1856	1457	2706	2267
0,75	2353	2309	2012	3351	2844
1	2349	3008	2604	3208	2756
1,5	2478	3053	2707	3710	2890
2	2354	2355	2202	2552	2411
3	1352	1457	1358	1604	1121
4	899	651	851	1250	578
6	198	225	249	203	356
8	175	113	-	156	178

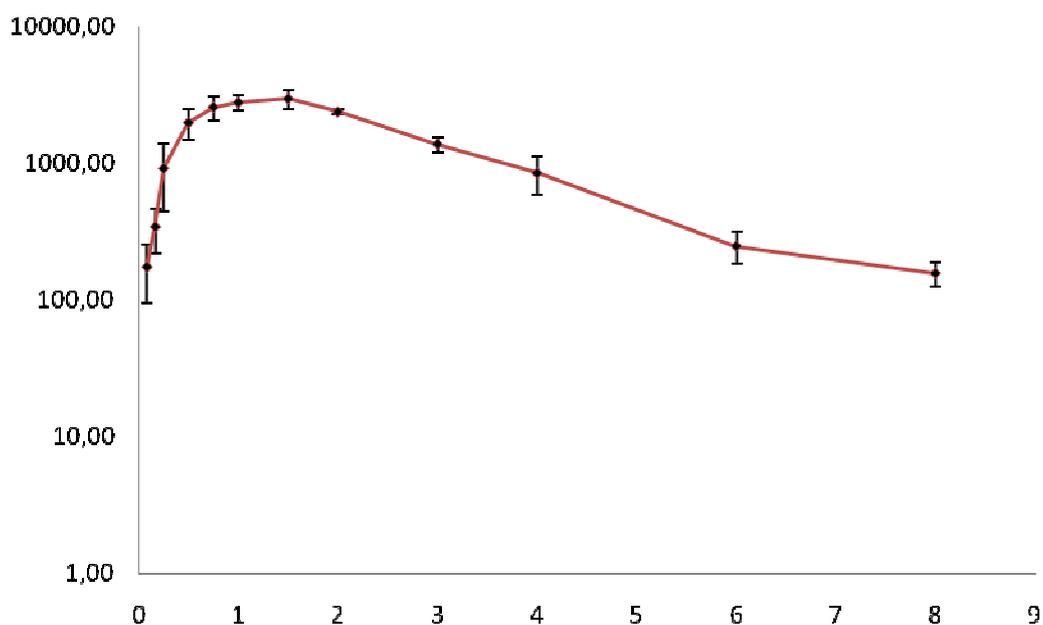
**TABLA 9.-** Concentraciones plasmáticas experimentales de cefquinoma en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$ , en cada oveja tras la administración intramuscular de una dosis de 2 mg/kg.

Tiempo (h)	n	Media	SD	SE	CV(%)
0,083	5	173,08	79,71	35,65	46,05
0,167	5	340,68	125,34	56,06	36,79
0,25	5	914,60	472,30	211,22	51,64
0,5	5	1979,46	508,63	227,46	25,70
0,75	5	2573,62	527,25	235,79	20,49
1	5	2784,76	336,45	150,47	12,08
1,5	5	2967,58	466,61	208,68	15,72
2	5	2374,80	125,88	56,39	5,30
3	5	1378,44	176,23	78,81	12,78
4	5	845,84	262,69	117,48	31,06
6	5	245,92	64,59	28,89	26,26
8	4	155,50	30,27	15,13	19,46

**TABLA 10.-** Media de Concentraciones plasmáticas experimentales de cefquinoma en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$ , tras la administración intramuscular de una dosis de 2 mg/kg junto con la desviación estándar y coeficiente de variación.



**Gráfico 3.-** Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de cefquinoma obtenidas tras la administración intramuscular de una dosis de 2 mg/kg a cada oveja (A, B, C, D y E).



**Gráfico 4.-** Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de cefquinoma obtenidas en oveja tras la administración intramuscular de una dosis de 2 mg/kg.

Al igual que para la vía intravenosa, se ha realizado un análisis de Kruskal-Wallis para comprobar la homogeneidad de los datos (Tabla 11).

<b>Pruebas de homogeneidad de Varianzas para la Concentración</b>		
<b>Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo</b>	<b>Valor-P</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales</b>	<b>Valor-P</b>	<b>0,845</b>

**TABLA 11.-** Test de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas tras la administración intramuscular de cefquinoma a dosis de 2mg/kg

Las concentraciones experimentales de cada animal se han ajustado a modelos compartimentales.

A continuación, en la Tabla 12, se muestra los distintos valores de AIC obtenidos.

**OVEJA A**

**Valores de AIC Oveja A. Vía IM. Modelo Monocompartimental sin Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	163
<b>AIC 1/Yat</b>	85
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	150
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-

**Valores de AIC Oveja A. Vía IM. Modelo Bicompartimental sin Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	167
<b>AIC 1/Yat</b>	89
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	154
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	12

**Valores de AIC Oveja A. Vía IM. Modelo Monocompartimental con Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	150
<b>AIC 1/Yat</b>	64
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	151
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-5,6

**Valores de AIC Oveja A. Vía IM. Modelo Bicompartimental con Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	63
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	153
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-3

**OVEJA B**

**Valores de AIC Oveja B. Vía IM. Modelo Monocompartimental sin Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	162
<b>AIC 1/Yat</b>	85
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	146
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	5,3

**Valores de AIC Oveja B. Vía IM. Modelo Bicompartimental sin Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	89
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	-
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	9,4

**Valores de AIC Oveja B. Vía IM. Modelo Monocompartimental con Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	150
<b>AIC 1/Yat</b>	65
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	146
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-8,6

**Valores de AIC Oveja B. Vía IM. Modelo Bicompartimental con Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	65
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	148
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-14

**OVEJA C**

**Valores de AIC Oveja C. Vía IM. Modelo Monocompartimental sin Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	154
AIC 1/Yat	71
AIC 1/Y <sup>2</sup>	138
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	9

**Valores de AIC Oveja C. Vía IM. Modelo Bicompartimental sin Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	-
AIC 1/Yat	-
AIC 1/Y <sup>2</sup>	-
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-

**Valores de AIC Oveja C. Vía IM. Modelo Monocompartimental con Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	141
AIC 1/Yat	41
AIC 1/Y <sup>2</sup>	140
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-27

**Valores de AIC Oveja C. Vía IM. Modelo Bicompartimental con Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	-
AIC 1/Yat	-
AIC 1/Y <sup>2</sup>	-
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-

**OVEJA D**

**Valores de AIC Oveja D. Vía IM. Modelo Monocompartimental sin Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	175
AIC 1/Yat	90
AIC 1/Y <sup>2</sup>	160
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	8,5

**Valores de AIC Oveja D. Vía IM. Modelo Bicompartimental sin Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	-
AIC 1/Yat	93
AIC 1/Y <sup>2</sup>	164
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	12

**Valores de AIC Oveja D. Vía IM. Modelo Monocompartimental con Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	162
AIC 1/Yat	174
AIC 1/Y <sup>2</sup>	154
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-1,5

**Valores de AIC Oveja D. Vía IM. Modelo Bicompartimental con Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	166
AIC 1/Yat	78
AIC 1/Y <sup>2</sup>	156
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	2,1

**OVEJA E**

<b>Valores de AIC Oveja E. Vía IM. Modelo Monocompartimental sin Tiempo de Latencia</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	169
<b>AIC 1/Yat</b>	88
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	154
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	8

<b>Valores de AIC Oveja E. Vía IM. Modelo Bicompartimental sin Tiempo de Latencia</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	90
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	158
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	11

<b>Valores de AIC Oveja E. Vía IM. Modelo Monocompartimental con Tiempo de Latencia</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	153
<b>AIC 1/Yat</b>	67
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	150
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-8

<b>Valores de AIC Oveja E. Vía IM. Modelo Bicompartimental con Tiempo de Latencia</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	-
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	152
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-15

**TABLA 12.-** Valores de AIC obtenidos tras ajustar las concentraciones plasmáticas experimentales de cefquinoma a una dosis de 2 mg/kg por vía intramuscular, a los distintos modelos farmacocinéticos, con y sin tiempo de latencia, y con diferentes métodos de ponderación.

Las concentraciones ajustadas a un modelo monocompartimental con tiempo de latencia y ponderadas a su inverso al cuadrado es la que presenta un AIC menor, y por tanto la que mejor se ajusta.

Los parámetros farmacocinéticos monocompartimentales junto con los estadísticos se muestran en las Tablas 13 y 14, mientras que en las Tablas 15 y 16 se presentan los parámetros farmacocinéticos tras el estudio no compartimental.

Parámetros	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
<b>Cmax (ug/L)</b>	2359	2728	2551	3768	2818
<b>Tmax (h)</b>	1,21	1,11	1,29	0,89	0,88
<b>t½ K<sub>10</sub> (h) *</b>	1,48	1,27	1,05	1,39	1,64
<b>t½ Ka (h) *</b>	0,44	0,43	0,59	0,24	0,23
<b>K10(h<sup>-1</sup>)</b>	0,47	0,55	0,66	0,50	0,42
<b>Ka (h<sup>-1</sup>)</b>	1,58	1,61	1,17	2,89	3,01
<b>Vz (L/Kg)</b>	0,51	0,42	0,38	0,37	0,52
<b>Cl/F (L/h/Kg)</b>	0,24	0,23	0,25	0,18	0,22

**TABLA 13.-** Parámetros farmacocinéticos monocompartimentales deducidos tras la administración intramuscular de cefquinoma, a dosis de 2 mg/kg, a cada una de las ovejas a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
<b>Cmax (ug/L)</b>	5	2844,80	369,28	165,15	12,98
<b>Tmax (h)</b>	5	1,08	0,15	0,07	14,20
<b>t½ K<sub>10</sub> (h) *</b>	5	1,37	0,16	0,07	12,06
<b>t½ Ka (h) *</b>	5	0,39	0,12	0,05	31,30
<b>K10(h<sup>-1</sup>)</b>	5	0,52	0,07	0,03	12,92
<b>Ka (h<sup>-1</sup>)</b>	5	2,05	0,72	0,32	35,00
<b>Vz (L/Kg)</b>	5	0,44	0,06	0,03	13,64
<b>Cl/F (L/h/Kg)</b>	5	0,22	0,02	0,01	8,57

**TABLA 14.-** Media de parámetros farmacocinéticos monocompartimentales deducidos tras la administración intramuscular de cefquinoma, a dosis de 2 mg/kg, a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

Parámetros	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\times\text{h/L}$ )	8657	8861	8289	11139	9289
MRT (h)	2,78	2,44	2,55	2,5	2,92
MAT (h)	1,11	0,33	1,03	0,51	0,88
Cl/F (L/kg/h)	0,23	0,23	0,24	0,18	0,22
$V_z/F$ (L/kg)	0,5	0,43	0,44	0,35	0,73
F (%)	72,3	74,5	101,14	76,68	73,07

**TABLA 15.-** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada oveja tras la administración intramuscular de cefquinoma a dosis de 2 mg/kg.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\times\text{h/L}$ )	5	9247,00	773,60	345,96	8,37
MRT (h)	5	2,64	0,17	0,08	6,43
MAT (h)	5	0,77	0,28	0,13	36,48
Cl/F (L/kg/h)	5	0,22	0,02	0,01	7,27
$V_z/F$ (L/kg)	5	0,49	0,10	0,04	20,41
F (%)	5	79,54	8,64	3,86	10,86

**TABLA 16.-** Media de parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos tras la administración intramuscular de cefquinoma a dosis de 2 mg/kg, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

### 4.3.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE CEFQUINOMA

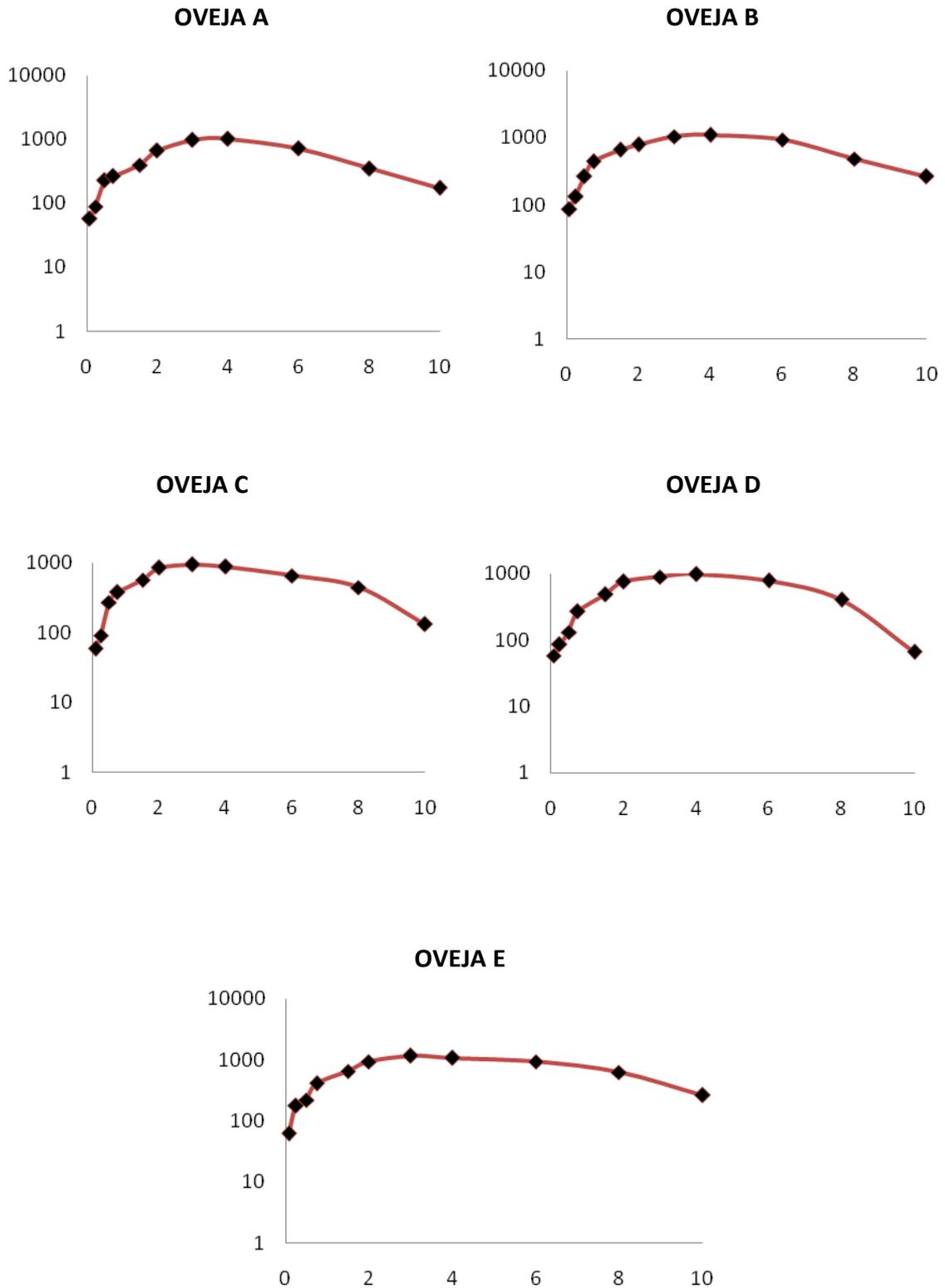
Los valores de concentración plasmática de cefquinoma, obtenidos tras la administración subcutánea de 2 mg/kg a ovejas, se muestran en las Tablas 17 y 18. En todos los animales, se observa un aumento de los niveles plasmáticos hasta aproximadamente 3 h, y trascurrido este tiempo descienden de manera constante hasta las 10 h. En el Gráfico 5 se muestra la representación semilogarítmica individual para las cinco ovejas, y en el Gráfico 6 el promedio de estos.

Tiempo (h)	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
0,083	57	86	59	58	63
0,25	89	133	92	86	179
0,5	226	265	270	132	220
0,75	267	443	378	268	412
1	310	523	447	343	515
1,5	399	659	569	489	649
2	667	791	846	756	935
3	977	1036	937	888	1157
4	1018	1099	880	981	1077
6	722	934	656	790	932
8	351	481	447	404	624
10	173	265	133	66	262

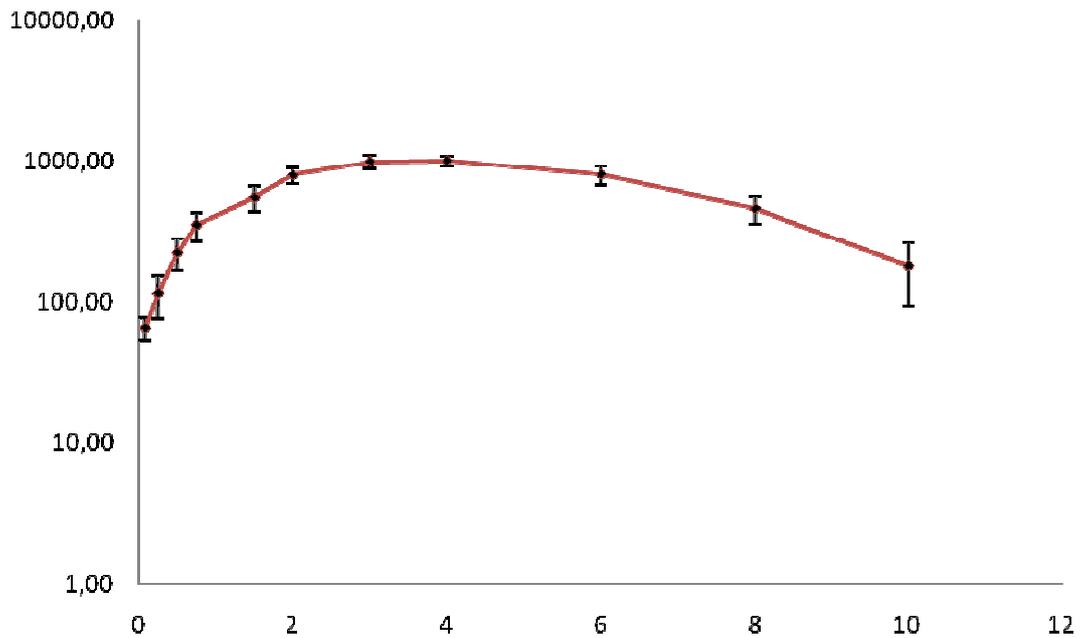
**TABLA 17.-** Concentraciones plasmáticas experimentales de cefquinoma en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$ , en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 2 mg/kg.

Tiempo (h)	n	Media	SD	SE	CV(%)
0,083	5	64,60	11,96	5,35	18,51
0,25	5	115,66	40,17	17,96	34,73
0,5	5	222,60	55,60	24,86	24,98
0,75	5	353,70	82,07	36,71	23,20
1	5	427,60	97,60	43,65	22,83
1,5	5	552,90	110,14	49,25	19,92
2	5	798,86	100,23	44,82	12,55
3	5	998,94	103,58	46,32	10,37
4	5	1010,98	87,08	38,95	8,61
6	5	806,60	124,41	55,64	15,42
8	5	461,48	103,10	46,11	22,34
10	5	179,80	85,43	38,21	47,51

**TABLA 18.-** Media de concentraciones plasmáticas experimentales de cefquinoma en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$ , tras la administración subcutánea de una dosis de 2 mg/kg junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.



**Gráfico 5.-** Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones experimentales de cefquinoma obtenidas tras la administración subcutánea de una dosis de 2 mg/kg a cada oveja (A, B, C, D y E).



**Gráfico 6.-** Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de cefquinoma obtenidas en oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 2 mg/kg.

Al igual que para la vía intravenosa e intramuscular, se ha realizado un test de Kruskal-Wallis para comprobar la homogeneidad de los datos (tabla 19).

<b>Pruebas de homogeneidad de Varianzas para la Concentración</b>		
<b>Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Tiempo</b>	<b>Valor-P</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Prueba de Kruskal-Wallis para Concentración por Animales</b>	<b>Valor-P</b>	<b>0,817</b>

**TABLA 19.-** Test de Kruskal-Wallis para las concentraciones plasmáticas tras la administración subcutánea de cefquinome a dosis de 2mg/kg

Las concentraciones experimentales de cada animal se han ajustado a distintos modelos compartimentales.

A continuación, en la Tabla 20, se muestra los distintos valores de AIC obtenidos.

**OVEJA A****Valores de AIC Oveja A. Vía SC. Modelo Monocompartimental sin Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	130
AIC 1/Yat	71
AIC 1/Y <sup>2</sup>	113
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	5

**Valores de AIC Oveja A. Vía SC. Modelo Bicompartimental sin Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	-
AIC 1/Yat	-
AIC 1/Y <sup>2</sup>	-
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-

**Valores de AIC Oveja A. Vía SC. Modelo Monocompartimental con Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	138
AIC 1/Yat	28
AIC 1/Y <sup>2</sup>	132
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-17

**Valores de AIC Oveja A. Vía SC. Modelo Bicompartimental con Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	-
AIC 1/Yat	-
AIC 1/Y <sup>2</sup>	-
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-

**OVEJA B****Valores de AIC Oveja B. Vía SC. Modelo Monocompartimental sin Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	125
AIC 1/Yat	62
AIC 1/Y <sup>2</sup>	114
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-3

**Valores de AIC Oveja B. Vía SC. Modelo Bicompartimental sin Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	-
AIC 1/Yat	-
AIC 1/Y <sup>2</sup>	-
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-

**Valores de AIC Oveja B. Vía SC. Modelo Monocompartimental con Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	129
AIC 1/Yat	51
AIC 1/Y <sup>2</sup>	128
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-4

**Valores de AIC Oveja B. Vía SC. Modelo Bicompartimental con Tiempo de Latencia**

AIC 1/Y	-
AIC 1/Yat	-
AIC 1/Y <sup>2</sup>	-
AIC 1/Yat <sup>2</sup>	-

**OVEJA C**

**Valores de AIC Oveja C. Vía SC. Modelo Monocompartimental sin Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	126
<b>AIC 1/Yat</b>	63
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	115
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	1

**Valores de AIC Oveja C. Vía SC. Modelo Bicompartimental sin Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	-
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	-
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-

**Valores de AIC Oveja C. Vía SC. Modelo Monocompartimental con Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	125
<b>AIC 1/Yat</b>	54
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	121
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-4

**Valores de AIC Oveja C. Vía SC. Modelo Bicompartimental con Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	-
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	-
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-

**OVEJA D**

**Valores de AIC Oveja D. Vía SC. Modelo Monocompartimental sin Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	136
<b>AIC 1/Yat</b>	74
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	120
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	12

**Valores de AIC Oveja D. Vía SC. Modelo Bicompartimental sin Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	-
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	-
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-

**Valores de AIC Oveja D. Vía SC. Modelo Monocompartimental con Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	134
<b>AIC 1/Yat</b>	58
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	126
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-6

**Valores de AIC Oveja D. Vía SC. Modelo Bicompartimental con Tiempo de Latencia**

<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	-
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	-
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-

**OVEJA E**

<b>Valores de AIC Oveja E. Vía SC. Modelo Monocompartimental sin Tiempo de Latencia</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	128
<b>AIC 1/Yat</b>	64
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	112
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-4

<b>Valores de AIC Oveja E. Vía SC. Modelo Bicompartimental sin Tiempo de Latencia</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	-
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	-
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-

<b>Valores de AIC Oveja E. Vía SC. Modelo Monocompartimental con Tiempo de Latencia</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	134
<b>AIC 1/Yat</b>	48
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	131
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-9

<b>Valores de AIC Oveja E. Vía SC. Modelo Bicompartimental con Tiempo de Latencia</b>	
<b>AIC 1/Y</b>	-
<b>AIC 1/Yat</b>	-
<b>AIC 1/Y<sup>2</sup></b>	-
<b>AIC 1/Yat<sup>2</sup></b>	-

**TABLA 20.-** Valores de AIC obtenidos tras ajustar las concentraciones plasmáticas experimentales de cefquinoma a una dosis de 2 mg/kg por vía subcutánea, a los distintos modelos farmacocinéticos, con y sin tiempo de latencia, y con distintos métodos de ponderación.

El ajuste de las concentraciones ajustadas a un modelo monocompartimental con tiempo de latencia y ponderadas a su inverso al cuadrado es el que presenta un AIC menor y, por tanto, resulta éste el modelo más adecuado. Como puede verse, existe mayor variabilidad en los AIC y no ajusta a diversos modelos, principalmente bicompartimentales.

Los parámetros farmacocinéticos del modelo monocompartimental con tiempo de latencia junto con los parámetros estadísticos se muestran en las Tablas 21 y 22, mientras que en las Tablas 23 y 24 están representados los resultados de los parámetros del análisis no compartimental.

Parámetros	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
<b>C<sub>max</sub> (ug/L)</b>	1016	983	845	858	1084
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	3,29	3,21	2,85	3,04	3,18
<b>t<sub>½</sub> K<sub>10</sub> (h) *</b>	1,49	1,99	1,9	1,71	2,09
<b>t<sub>½</sub> K<sub>a</sub> (h) *</b>	1,47	2,12	1,86	2,01	1,97
<b>K<sub>10</sub>(h<sup>-1</sup>)</b>	0,47	0,35	0,36	0,41	0,33
<b>K<sub>a</sub> (h<sup>-1</sup>)</b>	0,47	0,33	0,37	0,34	0,35
<b>V<sub>z</sub> (L/Kg)</b>	0,73	1	0,88	0,79	0,7
<b>Cl/F (L/h/Kg)</b>	0,34	0,25	0,32	0,32	0,23

**TABLA 21.-** Parámetros farmacocinéticos monocompartimentales deducidos tras la administración subcutánea de cefquinoma, a dosis de 2 mg/kg, a cada una de las ovejas a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
<b>C<sub>max</sub> (ug/L)</b>	5	957,20	84,56	37,82	8,83
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	5	3,11	0,14	0,06	4,34
<b>t<sub>½</sub> K<sub>10</sub> (h) *</b>	5	1,84	0,19	0,08	10,28
<b>t<sub>½</sub> K<sub>a</sub> (h) *</b>	5	1,89	0,18	0,08	9,37
<b>K<sub>10</sub>(h<sup>-1</sup>)</b>	5	0,38	0,04	0,02	10,90
<b>K<sub>a</sub> (h<sup>-1</sup>)</b>	5	0,37	0,04	0,02	10,49
<b>V<sub>z</sub> (L/Kg)</b>	5	0,82	0,10	0,04	11,71
<b>Cl/F (L/h/Kg)</b>	5	0,29	0,04	0,02	14,25

**TABLA 22.-** Media de parámetros farmacocinéticos monocompartimentales deducidos tras la administración subcutánea de cefquinoma, a dosis de 2 mg/kg, a partir de sus correspondientes ecuaciones de ajuste, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

Parámetros	Oveja A	Oveja B	Oveja C	Oveja D	Oveja E
AUC <sub>0-∞</sub> (μg×h/L)	6273	7950	6201	5984	8386
MRT (h)	5,22	5,58	4,93	4,7	5,58
MAT (h)	3,55	3,51	3,41	2,71	3,54
Cl/F (L/kg/h)	0,32	0,25	0,32	0,33	0,24
Vz/F (L/kg)	0,89	0,8	0,81	0,54	0,75
F (%)	52,39	66,84	75,67	41,19	65,93

**TABLA 23.-** Parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos para cada oveja tras la administración subcutánea de cefquinoma a dosis de 2 mg/kg.

Parámetros	n	Media	SD	SE	CV (%)
AUC <sub>0-∞</sub> (μg×h/L)	5	6958,80	967,36	432,62	13,90
MRT (h)	5	5,20	0,31	0,14	5,95
MAT (h)	5	3,34	0,25	0,11	7,58
Cl/F (L/kg/h)	5	0,29	0,04	0,02	12,88
Vz/F (L/kg)	5	0,76	0,09	0,04	11,93
F (%)	5	60,40	10,89	4,87	18,03

**TABLA 24.-** Media de los parámetros farmacocinéticos no compartimentales obtenidos tras la administración subcutánea de cefquinoma a dosis de 2 mg/kg, junto con la desviación estándar y coeficiente de variación.

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

Los valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos, compartimentales y no compartimentales de cefquinoma para las tres vías, se resumen en la Tabla 25.

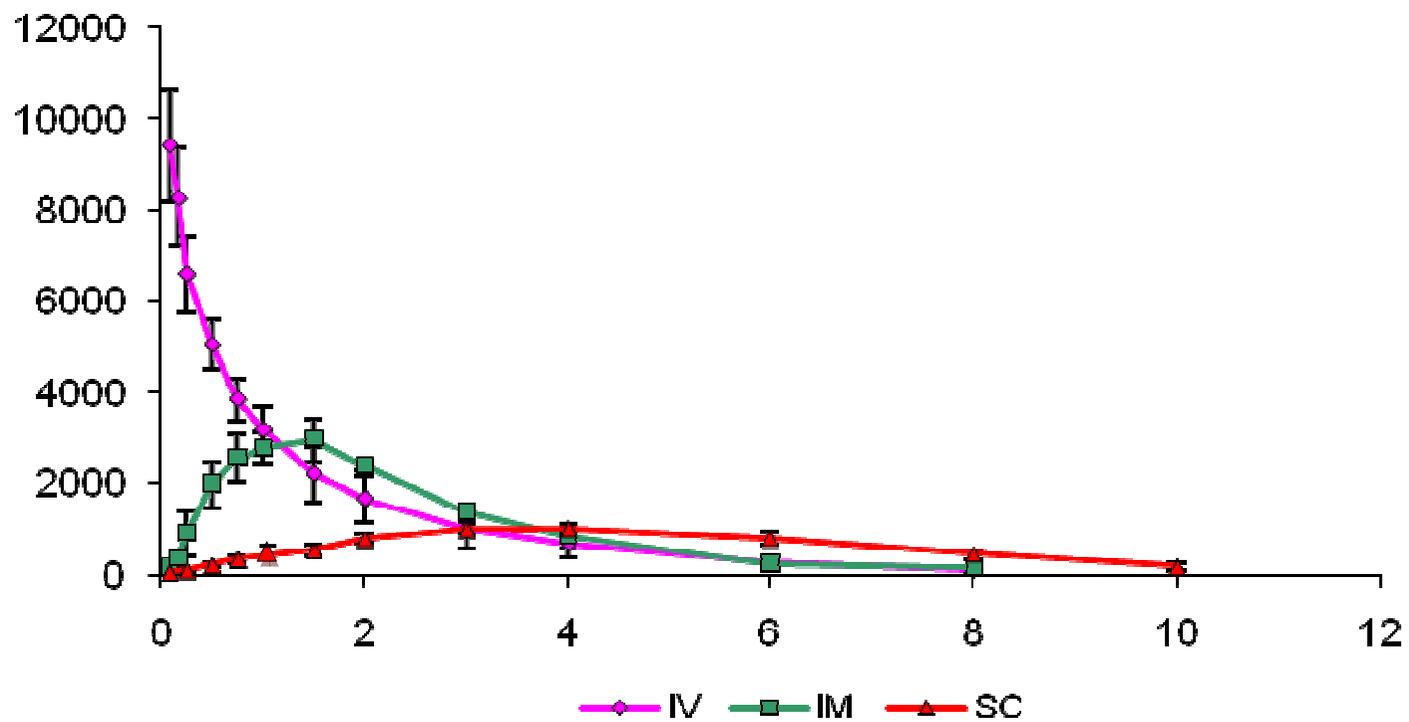
En el Gráfico 7 se representan los valores experimentales medios ( $\pm$ SD) de concentración obtenidos a los distintos tiempos de extracción tras la administración de cefquinoma por las vías IV, IM y SC. En el Gráfico 8 podemos ver estos mismos valores

en escala semilogarítmica y en el Gráfico 9 únicamente las vías extravasales (IM y SC) también en escala semilogarítmica.

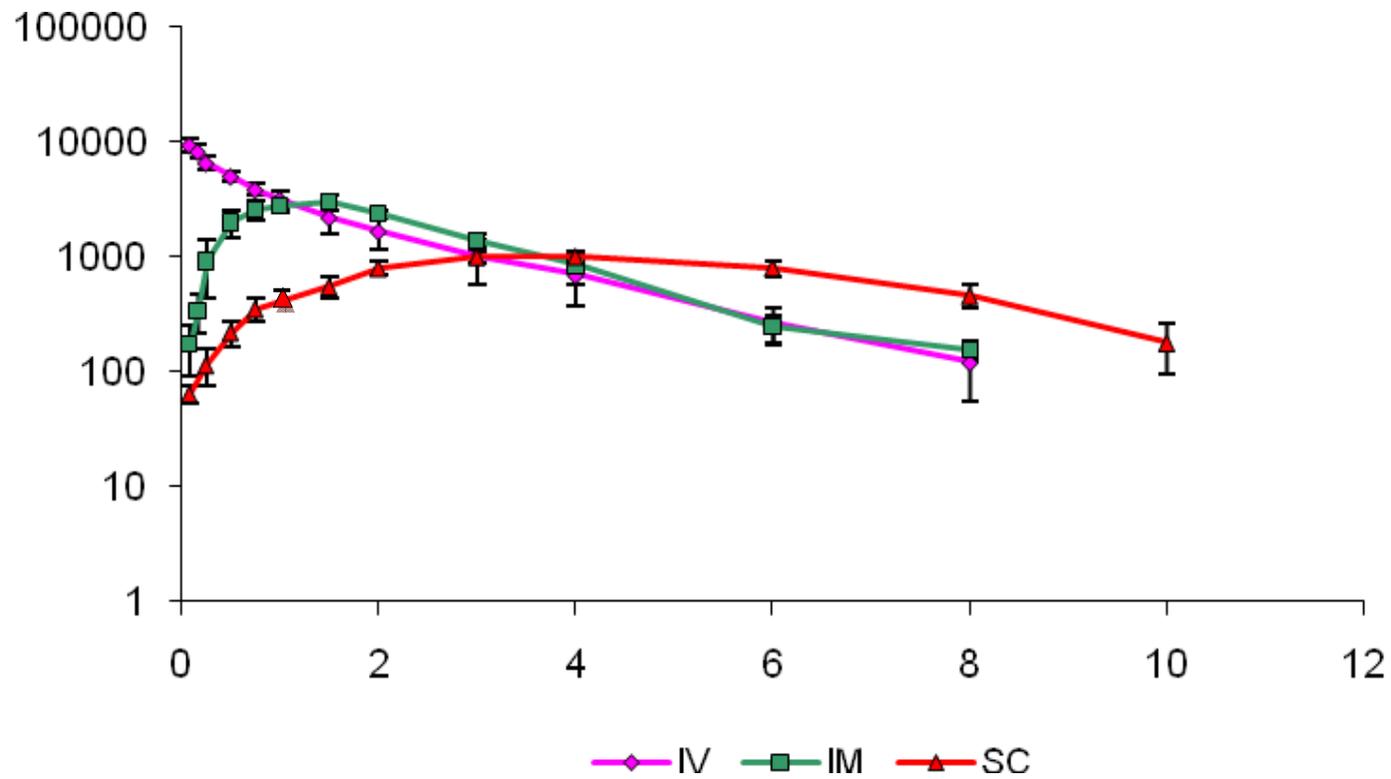
<b>Parámetros compartimentales</b>			
	<b>IV</b>	<b>IM</b>	<b>SC</b>
$\lambda_z$ ( $h^{-1}$ )	0,43	0,52	0,38
$t_{1/2} \lambda_z$ (h) *	1,75	1,37	1,84
$K_a$ ( $h^{-1}$ )	-	2,05	0,37
$t_{1/2} K_a$ (h) *	-	0,39	1,89
<b>C<sub>max</sub></b> ( $\mu g/L$ )	-	2844,80	958,20
<b>T<sub>max</sub></b> (h)	-	1,08	3,11
<b>V<sub>ss</sub></b> (L/Kg)	0,33	-	-
<b>V<sub>z</sub></b> (L/Kg)		0,44	0,82
<b>Cl</b> (L/h/Kg)	0,18	0,22	0,29

<b>Parámetros No compartimentales</b>			
	<b>IV</b>	<b>IM</b>	<b>SC</b>
<b>AUC<sub>0-∞</sub></b> ( $\mu g \times h/L$ )	11861,60	9247	6958,80
<b>MRT</b> (h)	1,86	2,64	5,20
<b>MAT</b> (h)	-	0,77	3,34
<b>Cl/F</b> (L/kg/h)	0,18	0,22	0,29
<b>V<sub>ss</sub></b> (L/kg)	0,32	-	-
<b>V<sub>z</sub>/F</b> (L/kg)	0,42	0,49	0,76
<b>F</b> (%)	-	79,54	60,40

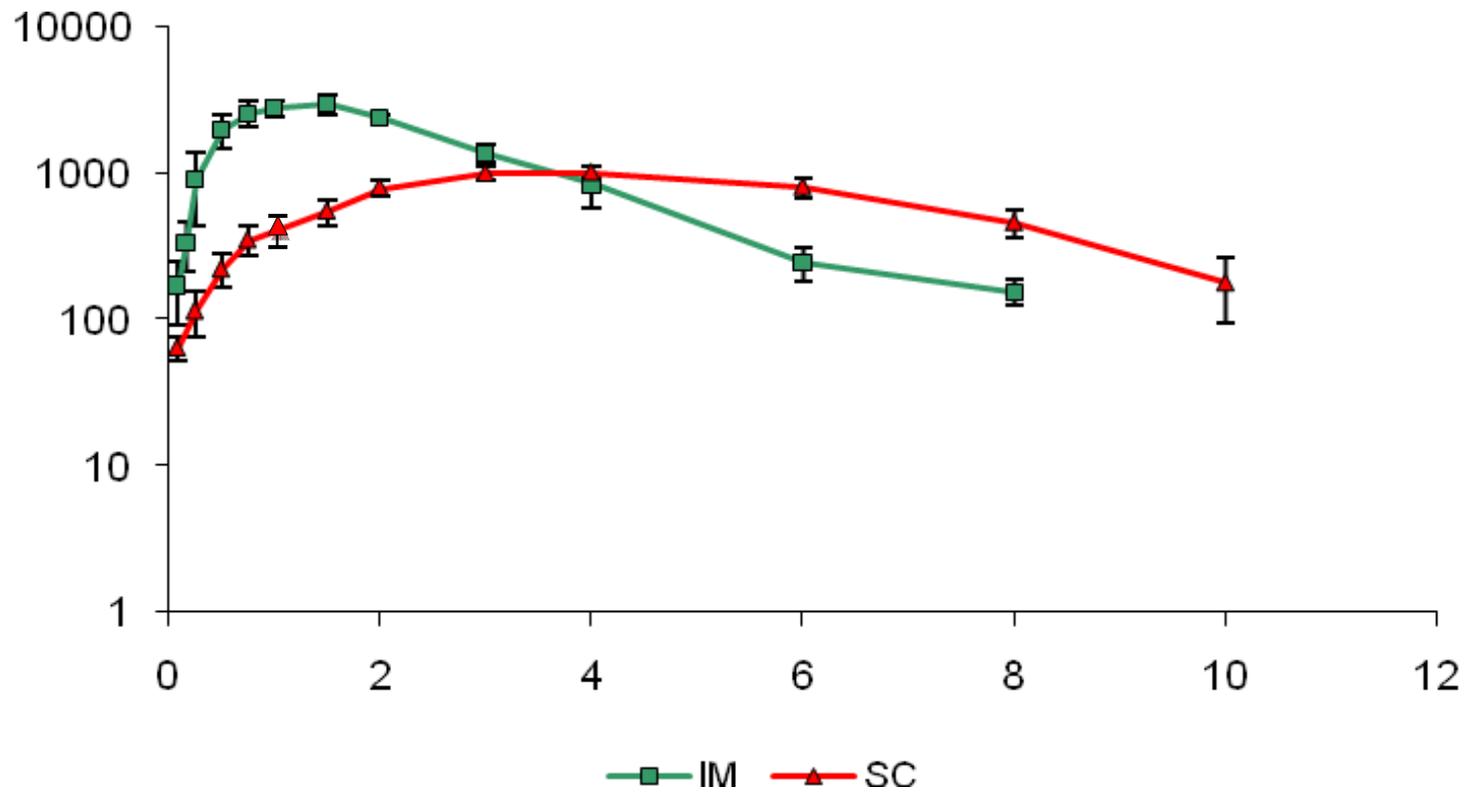
**TABLA 25.-** Valores medios de los principales parámetros farmacocinéticos en plasma tras la administración de una dosis de 2mg/kg de cefquinoma por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM) y subcutánea (SC).



**Gráfico 7.-** Representación gráfica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de cefquinoma obtenidas en oveja tras la administración de una dosis de 2 mg/kg por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM) y subcutánea (SC).



**Gráfico 8.-** Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de cefquinoma obtenidas en oveja tras la administración de una dosis de 2 mg/kg por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM) y subcutánea (SC).



**Gráfico 9.-** Representación gráfica semilogarítmica de las concentraciones medias experimentales ( $\pm$  SD) de cefquinoma obtenidas en oveja tras la administración de una dosis de 2 mg/kg por vía intramuscular (IM) y subcutánea (SC)

Para saber si existen o no diferencias significativas entre las diferentes vías de administración del fármaco, y los animales utilizados, se han realizado dos estudios estadísticos no paramétricos. El primero de ellos es la prueba de Kruskal-Wallis, que evalúa la hipótesis de que los valores de cada parámetro farmacocinético, dentro de cada una de las vías de administración, en todos los animales, son iguales o diferentes. Los resultados se muestran en la Tabla 26.

<b>Parámetros compartimentales</b>	
	<b>P todas las vías</b>
$\lambda_z$ ( $h^{-1}$ )	0,076
$t_{1/2} \lambda_z$ (h) *	0,09
$K_a$ ( $h^{-1}$ )	-
$t_{1/2} K_a$ (h) *	-
$C_{max}$ ( $\mu g/L$ )	-
$T_{max}$ (h)	-
$V_d$ (L/Kg)	0,003
$Cl$ (L/h/Kg)	0,22

<b>Parámetros no compartimentales</b>	
	<b>P todas las vías</b>
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu g \times h/L$ )	0,11
$MRT$ (h)	0,002
$MAT$ (h)	-
$Cl/F$ (L/kg/h)	0,07
$F$ (%)	-

**TABLA 26.-** Estudio comparativo no paramétrico (Kruskal-Wallis) entre los principales parámetros farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales obtenidos tras la administración de una dosis de 2mg/kg de cefquinoma por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM) y subcutánea (SC).

Dicha prueba revela la existencia de diferencias significativas, entre todas las vías, en el volumen de distribución y el tiempo medio de residencia (MRT).

El segundo estudio estadístico no paramétrico realizado es la prueba U de Mann-Whitney para dos muestras independientes. La prueba U de Mann-Whitney evalúa la hipótesis de que los valores de cada parámetro, comparados entre dos vías de

administración, en todos los animales, son iguales o diferentes. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 27.

<b>Parámetros compartimentales</b>			
	<b>P<sub>IV/IM</sub></b>	<b>P<sub>IV/SC</sub></b>	<b>P<sub>IM/SC</sub></b>
<b><math>\lambda_z</math> (h<sup>-1</sup>)</b>	0,251	0,347	0,16
<b>t<sub>1/2</sub> <math>\lambda_z</math> (h) *</b>	0,251	0,347	0,032
<b>K<sub>a</sub> (h<sup>-1</sup>)</b>	-	-	0,008
<b>t<sub>1/2</sub> K<sub>a</sub> (h) *</b>	-	-	0,032
<b>C<sub>max</sub> (ug/L)</b>	-	-	0,008
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	-	-	0,008
<b>V<sub>d</sub> (L/Kg)</b>	0,036	0,009	0,008
<b>V<sub>z</sub> (L/Kg)</b>	-	-	0,16
<b>Cl (L/h/Kg)</b>	0,138	0,02	0,056

<b>Parámetros no compartimentales</b>			
	<b>P<sub>IV/IM</sub></b>	<b>P<sub>IV/SC</sub></b>	<b>P<sub>IM/SC</sub></b>
<b>AUC<sub>0-∞</sub> (μg×h/L)</b>	0,117	0,016	0,016
<b>MRT (h)</b>	0,009	0,009	0,008
<b>MAT (h)</b>	-	-	0,008
<b>Cl/F (L/kg/h)</b>	0,092	0,011	0,011
<b>F (%)</b>	-	-	0,056

**TABLA 27.-** Estudio comparativo no paramétrico (U de Man-Whitney) entre los principales parámetros farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales obtenidos tras la administración de una dosis de 2mg/kg de cefquinoma por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM) y subcutánea (SC).

#### 4.5.- EXCRECIÓN EN LECHE DE CEFQUINOMA TRAS SU ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA, INTRAMUSCULAR Y SUBCUTÁNEA

En la tabla 28, 29 y 31 se muestran las concentraciones de cefquinoma detectadas en leche junto con el volumen de leche obtenido, para las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea respectivamente.

Tiempo (h)	Oveja A		Oveja B		Oveja C		Oveja D		Oveja E	
	µg/L	L								
1	-	0,01	-	0,03	-	0,04	-	0,01	-	0,04
2	71	0,04	54	0,11	-	0,07	71	0,06		0,05
4	66	0,04	56	0,13	61	0,10	93	0,14	53	0,08
6	69	0,15	57	0,15	70	0,24	89	0,25	103	0,18
8	54	0,10	-	0,52	-	0,20	114	0,09		0,12
12	61	0,19	-	0,19	97	0,27	58	0,33	57	0,14
24	-	0,97	-	0,93	-	1,06	-	1,05	-	0,60
36	-	0,66	-	0,90	-	0,85	-	0,46	-	0,57
48	-	0,87	-	0,82	-	0,87	-	0,78	-	0,59

**TABLA 28.-** Concentraciones experimentales de cefquinoma en leche en función del tiempo (h), expresadas en µg/L, en cada oveja tras la administración intravenosa de una dosis de 2 mg/kg y volumen de leche obtenido, expresado en litros (L).

Tiempo (h)	n	Concentración				Volumen			
		Media	SD	SE	CV(%)	Media	SD	SE	CV(%)
1	5	-	-	-	-	0,02	0,02	0,01	63,08
2	5	65,33	9,81	4,39	15,02	0,07	0,03	0,01	42,13
4	5	65,80	15,99	7,15	24,30	0,10	0,04	0,02	40,18
6	5	77,60	18,24	8,16	23,51	0,19	0,05	0,02	25,02
8	5	84	42,43	18,97	50,51	0,21	0,18	0,08	87,76
12	5	68,25	19,24	8,61	28,19	0,22	0,08	0,03	34,06
24	5	-	-	-	-	0,92	0,19	0,08	20,51
36	5	-	-	-	-	0,69	0,18	0,08	26,87
48	5	-	-	-	-	0,78	0,12	0,05	14,81

**TABLA 29.-** Media de Concentraciones experimentales de cefquinoma en leche y Volumen obtenido, en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$  y L (respectivamente), tras la administración intravenosa de una dosis de 2 mg/, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

Tiempo (h)	Oveja A		Oveja B		Oveja C		Oveja D		Oveja E	
	$\mu\text{g/L}$	L								
1	-	0,04	-	0,05	-	0,08	-	0,01	-	0,03
2	-	0,01	-	0,04	-	0,07	-	0,02	-	0,03
4	-	0,03	-	0,11	61	0,26	111	0,10	117	0,08
6	54	0,16	61	0,14	59	0,34	121	0,27	105	0,28
8	-	0,05	-	0,12	-	0,25	-	0,05	-	0,09
12	-	0,27	56	0,09	66	0,20	62	0,52	71	0,27
24	-	1,05	-	0,61	-	0,75	-	0,89	-	0,77
36	-	0,54	-	0,25	-	0,54	-	0,63	-	0,41
48	-	0,87	-	0,63	-	0,87	-	0,83	-	0,56

**TABLA 30.-** Concentraciones experimentales de cefquinoma en leche en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$ , en cada oveja tras la administración intramuscular de una dosis de 2 mg/kg y volumen de leche obtenido, expresado en litros (L).

Tiempo (h)	n	Concentración				Volumen			
		Media	SD	SE	CV(%)	Media	SD	SE	CV(%)
1	5	-	-	-	-	0,04	0,03	0,01	63,60
2	5	-	-	-	-	0,03	0,02	0,01	65,15
4	5	96,33	30,75	13,75	31,92	0,12	0,09	0,04	75,43
6	5	80,00	30,76	13,75	38,45	0,24	0,08	0,04	35,70
8	5	-	-	-	-	0,11	0,08	0,04	78,40
12	5	63,75	6,34	2,84	9,95	0,27	0,16	0,07	58,95
24	5	-	-	-	-	0,81	0,17	0,07	20,42
36	5	-	-	-	-	0,47	0,15	0,07	31,14
48	5	-	-	-	-	0,75	0,15	0,07	19,70

**TABLA 31.-** Media de Concentraciones experimentales de cefquinoma en leche y Volumen obtenido, en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$  y L (respectivamente), tras la administración intramuscular de una dosis de 2 mg/, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

Tiempo (h)	Oveja A		Oveja B		Oveja C		Oveja D		Oveja E	
	$\mu\text{g/L}$	L								
1	-	0,03	-	0,05	-	0,04	-	0,05	-	0,03
2	-	0,03	-	0,04	-	0,02	-	0,06	-	0,04
4	-	0,08	-	0,11	-	0,07	-	0,11	-	0,09
6	69	0,28	51	0,13	62	0,11	-	0,21	-	0,20
8	-	0,09	-	0,22	-	0,05	-	0,16	-	0,15
12	53	0,27	65	0,30	57	0,12	-	0,24	-	0,24
24	-	0,77	-	1,00	-	0,49	-	0,85	-	0,84
36	-	0,41	-	0,36	-	0,73	-	0,59	-	0,56
48	-	0,56	-	0,76	-	0,74	-	0,78	-	0,75

**TABLA 32.-** Concentraciones experimentales de cefquinoma en leche en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$ , en cada oveja tras la administración subcutánea de una dosis de 2 mg/kg y volumen de leche obtenido, expresado en litros (L).

Tiempo (h)	n	Concentración				Volumen			
		Media	SD	SE	CV(%)	Media	SD	SE	CV(%)
1	5	-	-	-	-	0,04	0,01	0,00	27,28
2	5	-	-	-	-	0,04	0,01	0,01	35,95
4	5	-	-	-	-	0,09	0,02	0,01	23,14
6	5	60,67	9,07	4,06	14,96	0,18	0,07	0,03	36,63
8	5	-	-	-	-	0,13	0,07	0,03	50,26
12	5	58,33	6,11	2,73	10,47	0,23	0,07	0,03	30,15
24	5	-	-	-	-	0,79	0,19	0,08	23,78
36	5	-	-	-	-	0,53	0,15	0,07	28,22
48	5	-	-	-	-	0,72	0,09	0,04	12,71

**TABLA 33.-** Media de Concentraciones experimentales de cefquinoma en leche y Volumen obtenido, en función del tiempo (h), expresadas en  $\mu\text{g/L}$  y L (respectivamente), tras la administración intramuscular de una dosis de 2 mg/, junto con la desviación estándar, error de la media y coeficiente de variación.

El porcentaje de excreción de cefquinoma se obtuvo mediante la multiplicación de las concentraciones obtenidas a cada tiempo con el volumen de leche obtenido y dividido por la dosis total administrada a cada animal. En ningún caso la excreción en leche fue superior al 0,05% en ninguna de las 3 vías.

#### 4.6.- PARÁMETROS FARMACODINÁMICOS (CMI) OBTENIDOS FRENTE A CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

En la Tabla 34 se detallan las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) en  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de cefquinoma obtenidas frente a 12 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de ovejas. Además se dispuso de dos cepas control: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Podemos observar en la Tabla la región geográfica y la fecha en que se aisló cada cepa.

Los resultados obtenidos son una  $\text{CMI}_{90} = 0,5 \mu\text{g}/\text{mL}$  (Rango 0,125 – 0,5)

CEPAS	REGIÓN DE AISLAMIENTO	FECHA DE AISLAMIENTO	CONCENTRACIÓN DE CEFQUINOMA
<i>S. aureus 1</i>	Valladolid	14/09/2012	0.25
<i>S. aureus 2</i>	León	13/09/2012	0.25
<i>S. aureus 3</i>	Teruel	29/08/2012	0.125
<i>S. aureus 4</i>	León	25/07/2012	0.5
<i>S. aureus 5</i>	Zamora	20/07/2012	0.5
<i>S. aureus 6</i>	Valladolid	05/07/2012	0.5
<i>S. aureus 7</i>	Toledo	03/07/2012	0.5
<i>S. aureus 8</i>	Zamora	21/06/2012	0.5
<i>S. aureus 9</i>	Cádiz	20/06/2012	0.5
<i>S. aureus 10</i>	Valladolid	12/06/2012	0.25
<i>S. aureus 11</i>	Salamanca	07/06/2012	0.5
<i>S. aureus 12</i>	Toledo	07/06/2012	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213		0.25
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922		0.25
MIC50 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			0.5
MIC90 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			0.5
Rango ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			0.125-0.5

**TABLA 34.-** Valores de CMI de Cefquinoma frente a distintas cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de oveja.

## **5.-DISCUSIÓN**



## **5.1.- ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA DE CEFQUINOMA EN OVEJAS**

### **5.1.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO**

Tras ajustar las concentraciones plasmáticas de cefquinoma administrada por vía intravenosa, a una dosis de 2 mg/kg en ovejas, a los modelos farmacocinéticos mono- y bicompartimentales con y sin ponderación de los datos experimentales obtenidos para cada animal y, atendiendo al criterio de información de Akaike o AIC (Yamaoka y cols, y cols, 1978), se concluye que el modelo bicompartimental con ponderación al inverso al cuadrado de las concentraciones plasmáticas es el más adecuado (Tabla 4).

En 1937, el premio Nobel Theodor Teorell, introduce el concepto del modelo bicompartimental abierto. Posteriormente es divulgado y desarrollado por J. Loo y S. Riegelman (1968). Este modelo intenta reflejar el hecho de que la distribución del fármaco en el organismo no es un proceso instantáneo, sino que se considera al organismo como dos compartimentos. Un compartimento central correspondiente a los tejidos en los que se alcanza un rápido equilibrio en la distribución del fármaco (puede considerarse instantánea) y uno periférico que corresponde a los tejidos en los que el equilibrio en la distribución precisa un tiempo más o menos dilatado para alcanzarse (Doménech y cols, 1997).

El modelo bicompartimental coincide con las características farmacocinéticas de otro trabajo publicado en ovejas para cefquinoma (Kumil Uney y cols, 2011). En otros estudios realizados en diversas especies animales para cefquinoma, y tras su administración por vía intravenosa, encontramos que todos se ajustan a modelos bicompartimentales. Entre estas especies se incluyen: cerdos (Limbert y cols, 1991; Zhang y cols, 2008, Li y cols, 2008, Liu y cols, 2012), vacuno (Limbert y cols, 1991), pollo (Xie y cols, 2013), pato (Yuan y cols, 2011), búfalo (Dinakaran y cols, 2013 y 2015), perro (Zhang y cols, 2014), cebú (Shan y cols, 2013), conejo (Quiang y cols, 2013), equino (Smiet y cols, 2011; Winther y cols, 2011), cabra (Literio, 2013) y perro (Limbert y cols, 1991).

El modelo bicompartimental también es el descrito en ovejas para otras cefalosporinas como ceftriaxona (Swati y cols, 2010), cefepima (Patel y cols, 2010), cefoperazona y cefaronida (Guerrini y cols, 1985).

El modelo bicompartimental abierto tras una dosis intravenosa, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = A \cdot e^{-\lambda_1 t} + B \cdot e^{-\lambda_2 t} \quad (1)$$

Esta ecuación adquiere diferentes valores para cada animal (Tabla 5). Para hallar la ecuación que mejor define la evolución de las concentraciones plasmáticas de cefquinoma en la oveja, se deben llevar a cabo estudios estadísticos que permitan calcular los valores medios para cada uno de los parámetros que intervienen en la misma. Dichos valores promedio se muestran en la Tabla 6.

La ecuación que define la evolución de las concentraciones plasmáticas, en la oveja tras la administración intravenosa, de una dosis única de 2 mg/kg de cefquinoma, es la siguiente:

$$C = 7250,60 \cdot e^{-3,34 t} + 3828,60 \cdot e^{-0,43 t} \quad (2)$$

La representación semilogarítmica de las concentraciones individuales experimentales (Gráfico 1) y medias (Gráfico 2), pone de manifiesto que los niveles de cefquinoma descienden rápidamente en la fase inicial (primeros 30 minutos) y, a partir de este momento, disminuyen de forma constante, dando lugar a una segunda fase que se mantiene hasta el final del proceso (8 horas tras la administración).

En los modelos bicompartimentales, como es el caso de cefquinoma por vía intravenosa en oveja, la desaparición del fármaco en plasma viene determinada por dos constantes híbridas de disposición. La constante de disposición rápida ( $\lambda_1$ ), rige principalmente los procesos de distribución, mientras que la constante de disposición lenta ( $\lambda_2$ ) rige principalmente los procesos de eliminación. Una vez alcanzado el equilibrio en la distribución, se asume que la constante de disposición rápida no tiene repercusión práctica y por tanto la desaparición del fármaco, su eliminación, queda determinada fundamentalmente por la constante de disposición lenta. Por definición, el valor de  $\lambda_1$  es siempre superior al de  $\lambda_2$  (Doménech y cols, 1997).

El descenso rápido inicial de las concentraciones plasmáticas, implica una rápida distribución a los tejidos durante la primera fase, seguida de una velocidad algo más lenta en la segunda, detectándose concentraciones de cefquinoma en plasma hasta las 8 horas.

### **5.1.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS**

En los siguientes apartados se comentaran los parámetros farmacocinéticos más relevantes de cefquinoma tras su administración intravenosa en ovejas. En la Tabla 5 se observan los parámetros farmacocinéticos compartimentales en cada animal y en Tabla 6 la media y sus estadísticos. Por otro lado, en la Tabla 7 y 8 se muestran respectivamente los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de cada animal y su media junto con sus estadísticos.

#### **5.1.2.1- CONSTANTES HÍBRIDAS DE DISPOSICIÓN RÁPIDA Y LENTA**

Estas constantes se consideran farmacocinéticamente híbridas y se les denomina de disposición debido a que engloban dos procesos, el de distribución y eliminación. Por lo tanto, cuando hablemos de distribución en realidad estaremos hablando de la suma de estos dos procesos (Doménech y cols, 1997).

En el presente estudio, los valores medios de estas constantes para cefquinoma adquieren valores de 3,34 y 0,43 h<sup>-1</sup> para  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$ , respectivamente. En otro estudio realizado con cefquinoma en ovejas Kumil Uney y cols. (2011) obtuvieron resultados diferentes y mayores para  $\lambda_1$  (11,55 h<sup>-1</sup>) y  $\lambda_z$  (0,89 h<sup>-1</sup>).

En varios estudios realizados en otras especies con el mismo antibiótico, se obtuvieron valores de  $\lambda_1$  superiores al del presente estudio en cerdos (4,72 h<sup>-1</sup>: Li y cols, 2008; 4,07 h<sup>-1</sup>: Zhang y cols, 2013) y búfalos (5,42 h<sup>-1</sup>: Dinakaran y Dumka, 2015), aunque este mismo autor reportó anteriormente un valor mucho más bajo (1,92 h<sup>-1</sup>: Dinakaran y cols, 2013). Valores inferiores de  $\lambda_1$  han sido reportados para la cefquinoma en equino (1,59 h<sup>-1</sup>: Smiet y cols, 2011; 1,31 h<sup>-1</sup>: Winther y cols, 2011), pollo (1,94 h<sup>-1</sup>: Xie y cols, 2013) y perro (2,61 h<sup>-1</sup>: Zhang y cols, 2014). Valores más parecidos han sido reportados por Lui y cols (2012) en cerdos (3,15 h<sup>-1</sup>) y por Yuan y cols, (2011) en patos (3,85 h<sup>-1</sup>).

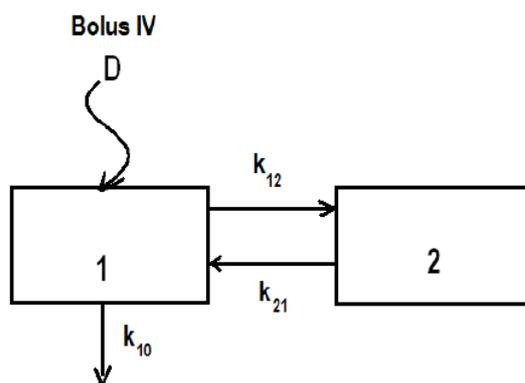
Respecto a  $\lambda_z$ , se obtuvieron valores parecidos, para la cefquinoma, en cerdo ( $0,43 \text{ h}^{-1}$ : Liu y cols, 2012;  $0,48 \text{ h}^{-1}$ : Li y cols, 2008), perro ( $0,49 \text{ h}^{-1}$ : Zhang y cols, 2014) y pato ( $0,44 \text{ h}^{-1}$ : Yuan y cols, 2011). Valores más elevados de  $\lambda_z$  han sido reportados en búfalos ( $0,82 \text{ h}^{-1}$ : Dinakaran y Dumka, 2015), aunque este mismo autor reportó anteriormente un valor mucho más bajo ( $0,19 \text{ h}^{-1}$ : Dinakaran y cols, 2013), y pollo ( $0,54 \text{ h}^{-1}$ : Xie y cols, 2013). Valores inferiores al del presente estudio se han encontrado en cerdos ( $0,29 \text{ h}^{-1}$ : Zhang y cols, 2013) y caballos ( $0,28 \text{ h}^{-1}$ : Winther y cols, 2011;  $0,35 \text{ h}^{-1}$ : Smiet y cols, 2011). Los valores de  $\lambda_1$  oscilan, según las diferentes especies estudiadas, entre  $1,21$  y  $5,42 \text{ h}^{-1}$  y los de  $\lambda_z$  entre  $0,19$  y  $0,54 \text{ h}^{-1}$ .

Para otras cefalosporinas en ovejas se han publicado datos similares para  $\lambda_1$  y  $\lambda_z$ , y dentro de los rangos antes mencionados: para cefepima  $3,46$  y  $0,27 \text{ h}^{-1}$  (Patel y cols, 2010) y para ceftriaxona  $5,3$  y  $0,57 \text{ h}^{-1}$  (Swati y cols, 2010)

Las constantes híbridas de disposición pueden relacionarse mediante la razón  $\lambda_1/\lambda_z$ , que informa cuál de ellas controla principalmente los procesos de distribución y eliminación (Plá y Obach, 1982). Así, cuanto más elevado sea dicho cociente, tanto más bicompartimental puede considerarse la distribución del fármaco. En nuestro estudio, la relación  $\lambda_1/\lambda_z$  adquiere un valor de  $7,77$ , el cual es indicativo de la diferencia existente entre ambas fases. Este valor indica que la distribución del cefquinoma es, preferentemente, bicompartimental y que es la constante  $\lambda_z$  la que controla principalmente los procesos anteriormente citados, ya que los regula durante más tiempo.

#### **5.1.2.2- MICROCONSTANTES**

En el modelo bicompartimental, puesto que la eliminación del fármaco se produce desde el compartimento central, existen tres microconstantes que rigen la distribución y eliminación del fármaco y quedan representadas en la Figura 1. Las tres microconstantes son: la constante de transferencia del compartimento central al compartimento periférico ( $k_{12}$ ), la constante de retorno del compartimento periférico al central ( $k_{21}$ ) y la constante de eliminación desde el compartimento central ( $k_{10}$ ) (Doménech y cols, 1997).



**Figura 1.-** Representación esquemática del modelo bicompartimental tras la administración intravenosa de un fármaco.

Los valores medios de dichas microconstantes, obtenidos para la cefquinoma en ovejas, han sido:  $k_{12} = 1,23 \text{ h}^{-1}$ ,  $k_{21} = 1,52 \text{ h}^{-1}$  y  $k_{10} = 0,96 \text{ h}^{-1}$  (Tabla 6). Esto pone de manifiesto que para cada animal la constante de retorno del compartimento periférico al central ( $k_{21}$ ) es la que adquiere un mayor valor, indicando un rápido retorno del fármaco desde compartimento periférico, por lo que el fármaco no sufrirá fenómenos de acumulación en el compartimento periférico y la distribución no limitará el proceso de eliminación.

Si observamos estas constantes podemos establecer relaciones de interés, como la relación  $\lambda_z/k_{10}$ , que alcanza un valor de 0,45 y señala una eliminación global del antibacteriano 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 cefquinoma a un modelo bicompartimental.

Del estudio de la relación  $k_{12}/k_{10}$ , se obtiene un valor de 1,28. Como se puede observar, este valor es cercano a 1 y nos indica que existe una velocidad de eliminación del fármaco del plasma, por metabolismo y excreción, similar a la de distribución del mismo. Que la velocidad de eliminación del fármaco sea similar a la de distribución, puede indicar que el compartimento periférico ocupa una parte no despreciable del organismo sin llegar a retener el fármaco.

Si estudiamos la relación entre la constante de transferencia y retorno, desde el compartimento periférico  $k_{12}/k_{21}$ , esta adquiere un valor de 0,81, este resultado indica que el fármaco accede al compartimento periférico pero retorna con facilidad, ya que

la relación obtenida no es inferior a 1, por lo que no se produce una acumulación en el compartimento periférico. Este valor es similar al publicado en búfalos donde el ratio fue de 0,92 (Dinakaran y Dumka, 2015).

Del análisis de la relación  $k_{21}/k_{10}$ , se obtiene un valor de 1,58, por lo que la eliminación no está condicionada por retorno del fármaco del compartimento periférico al compartimento central. Esto concuerda con que no existe retención del fármaco en el compartimento periférico.

### 5.1.2.3- TIEMPOS DE VIDA MEDIA Y TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA

El tiempo de vida media de la fase de disposición rápida ( $t_{1/2\lambda_1}$ ) para cefquinoma, es de 0,28 horas, y el tiempo de vida media de la fase de disposición lenta ( $t_{1/2\lambda_z}$ ) 1,75 horas (Tabla 6), también considerado como tiempo de vida media o semivida del fármaco (Atkinson y Kushner, 1979; Gibaldi y Perrier, 1982).

En otro estudio realizado con cefquinoma en ovejas Kumil Uney y cols. (2011) reportaron resultados muy inferiores tanto para  $t_{1/2\lambda_1}$  (0,06 h) como para  $t_{1/2\lambda_z}$  (0,78 h).

En varios estudios realizados en otras especies con dosis entre 1-2 mg/kg, se han publicado, respectivamente, los siguientes valores para  $t_{1/2\lambda_1}$  y  $t_{1/2\lambda_z}$ : en cerdos 0,15 y 1,85 h (Li y cols, 2008), 0,22 y 1,64 h (Liu y cols, 2012), 0,17 y 2,40 h (Zhang y cols, 2013); en equino 0,39 y 1,73 h (Smiet y cols, 2011), 0,55 y 2,77 h (Winther y cols, 2011); en perro 0,27 y 1,53 h (Zhang y cols, 2014); en búfalos 0,36 y 3,56 h (Dinakaran y cols, 2013), 0,13 y 1,76 h (Dinakaran y Dumka, 2015); y en aves (pato y pollo) 0,19 y 1,57 h (Yuan y cols, 2011), 0,43 y 1,29 h (Xie y cols, 2013).

Los valores de  $t_{1/2\lambda_1}$  y  $t_{1/2\lambda_z}$  son similares a los del presente estudio,  $t_{1/2\lambda_1}$  oscila entre las cifras de 0,13 y 0,59 h y  $t_{1/2\lambda_z}$  entre 1,29 y 3,56 h. Los estudios que muestran valores más diferentes al del presente estudio son Winther y cols. (2011) en caballo y Dinakaran y cols. (2013) en búfalo, aunque en otro estudio del mismo autor si muestra valores similares.

En estudios farmacocinéticos no compartimentales realizados por Litterio (2013) en cabras, Hwang y cols y cols. (2011) en conejos y Song y cols. (2012) en cerdos, se observaron los siguientes valores de  $t_{1/2\lambda_z}$ : 1,5 h, 0,93 h y 1,73 h respectivamente.

En lo que refiere a otras cefalosporinas administradas por vía intravenosa en ovejas, se reportan los siguientes valores: en ceftriaxona  $t_{1/2\lambda_1}$  y  $t_{1/2\lambda_z}$  de 0,13 y 1,21 h (Patel y cols, 2010), en cefepima 0,2 y 2,54 h (Swati y cols, 2010) y una  $t_{1/2\lambda_z}$  (obtenida mediante métodos no compartimentales) para ceftriaxona, cefoperazona y cefarorida de 1,7 h, 0,7 h y 1,5 h, respectivamente (Guerrini y cols, 1985).

El análisis farmacocinético no compartimental permite calcular el tiempo medio de residencia (MRT). Este parámetro es independiente del modelo farmacocinético elegido y tiene un significado análogo al  $t_{1/2\lambda_z}$  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  $t_{1/2\lambda_z}$  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 1,86 horas (Tabla 8) No se dispone de datos de MRT en oveja para cefquinoma, pero el resultado es similar al obtenido para cefquinoma en otras especies animales a dosis de 1-2 mg/kg: en cabra 1,71 h (Litterio, 2013); en cerdos 1,24 h (Song y cols, 2012); en yeguas 1,65 h (Smiet y cols, 2011) e inferior al obtenido en búfalos 2,34 h (Dinakaran y Dumka, 2015) y 3,56 h (Dinakaran y cols, 2013).

Tras la administración intravenosa en ovejas, ceftriaxona y cefepima presentaron un MRT de 1.14 h y 2,84 h, respectivamente (Patel y cols, 2010; Swati y cols, 2010)

#### **5.1.2.5- VOLÚMENES DE DISTRIBUCIÓN APARENTE**

El volumen de distribución aparente de cefquinoma calculado en función del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo ( $V_z$ ) en oveja, alcanza un valor de 0,42 L/kg, en tanto que el volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) adquiere un valor de 0,32 L/kg (Tabla 8). Como se puede observar estos valores son moderados, e indican que el fármaco tiene una aceptable distribución en tejidos y fluidos en esta especie. La diferencia obtenida entre ambos volúmenes de distribución es consecuencia del método empleado para su cálculo. Estas diferencias condicionan la validez de un determinado volumen de distribución. En general, el volumen de distribución es útil para transformar concentraciones en cantidades de fármaco en el organismo y viceversa. Debido al método de cálculo, el  $V_{ss}$  es válido en aquellos

momentos en que la curva de nivel plasmático está en zonas próximas a la inflexión y, por supuesto, durante la misma ( $V_{ss} = V_c + V_p$ ), en tanto que el  $V_z$  es válido en una zona más amplia de la curva de nivel plasmático, a partir de concentraciones anteriores al inicio de la fase de disposición lenta hasta el final del proceso (Doménech y cols, 1997).

En otro estudio la cifra obtenida en ovejas de  $V_{ss}$  tras la administración de 2 mg/kg fue de 0,36 L/kg, prácticamente igual a la obtenida en el presente estudio (Kumil Uney y cols, 2011).

Otros estudios de cefquinoma realizados en cerdos muestran valores de  $V_{ss}$  de 0,24 L/kg con dosis 10 mg/kg (Limbert y cols, 1991), 0,46 L/kg con dosis 2 mg/kg (Li y cols, 2008), 0,31 L/kg con dosis 2 mg/kg (Liu y cols, 2012) y 0,20 L/kg con dosis 2 mg/kg (Zhang y cols, 2013). En equinos también se reportan datos de  $V_{ss}$  entorno a 0,22 L/kg para dosis de 2 mg/kg (Smiet y cols, 2011), y entorno a 0,21 L/kg para dosis de 1 mg/kg (Winther y cols, 2011). En búfalos se describen valores de 0,17 L/kg y 0,26 L/kg para dosis de 2 mg/kg (Dinakaran y cols, 2013 y 2015). En cabras se reportan datos de  $V_{ss}$  entorno a 0,37 L/kg y  $V_z$  0,42 L/kg para dosis de 2 mg/kg (Litterio, 2013), y para cebú cifras de  $V_{ss}$  entorno a 0,34 L/kg y  $V_z$  0,38 L/kg para dosis de 1 mg/kg (Shan y cols, 2013).

Estos valores de  $V_{ss}$  se encuentran en el rango de 0,17 y 0,46 L/kg, datos similares a los obtenidos en el presente estudio, siendo en general ligeramente menores. Todos estos valores demuestran que cefquinoma no se distribuye excesivamente en tejidos. Los valores de  $V_{ss}$  más elevados los encontramos en un estudio realizado en perros con un valor de 0,81 L/kg para una dosis de 2 mg/kg (Zhang y cols, 2014).

En otras cefalosporinas tras la administración intravenosa en ovejas, se observan resultados similares a los del presente estudio, dentro del rango antes mencionado. Guerrini y cols y cols. (1985) presentan valores de  $V_{ss}$  para ceftriaxona, cefoperazona y cefaronida de 0,3 L/kg, 0,16 L/kg y 0,39 L/kg respectivamente. Para ceftriaxona se han reportado un  $V_{ss}$  de 0,27 L/kg y un  $V_z$  de 0,41 L/kg (Swati y cols, 2010), y para cefepima un  $V_{ss}$  de 0,42 L/kg (Patel y cols, 2010).

### 5.1.2.5- ÁREA BAJO LA CURVA

El valor del AUC obtenido para cefquinoma en ovejas a dosis de 2mg/kg es de 11.861  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Tabla 8). Este parámetro permite calcular el aclaramiento plasmático y la biodisponibilidad del fármaco tras su administración extravascular. Se calcula integrando, entre tiempo cero e infinito, la curva de concentración plasmática-tiempo, y puede hacerse tanto 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.

En el estudio de Kumil Uney y cols. (2011) tras la administración intravenosa de 2 mg/kg de cefquinoma se muestra un valor AUC entorno a 5.830  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ , valor muy inferior al del presente estudio.

En otras especies animales a las que se administró cefquinoma por la misma vía y a la misma dosis se obtienen los siguientes valores: en cerdos 10.190  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Song y cols, 2012), 8.070  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Li y cols, 2008), 13.850  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Liu y cols, 2012), 21.900  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Zhang y cols, 2013); en conejo 11.080  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Hwang y cols, 2011); en perro 5.150  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Zhang y cols, 2014), en cabra 8.140  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Litterio, 2013) y en pollo 5.330  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Xie y cols, 2013). En general los valores de AUC son menores a los del presente estudio, siendo en conejo y cerdos los que presentan valores más próximos.

### 5.1.2.6- ACLARAMIENTO PLASMÁTICO

El aclaramiento plasmático (Cl) puede calcularse a partir de las curvas de niveles plasmáticos, recurriendo a métodos modelo-dependientes, basados en los modelos compartimentales y fisiológicos, o utilizando métodos modelo-independientes basados en la estimación del AUC (Doménech y cols, 1997). En nuestro estudio, se ha calculado el Cl en función del área bajo la curva mediante análisis no compartimental y también por análisis compartimental. El valor obtenido, en ambos casos, ha sido de 0,16 L/kg·h (Tablas 6 y 8).

En otro estudio realizado en ovejas con cefquinoma a 2mg/kg se han obtenido valores de Cl de 0,34 L/kg·h, prácticamente el doble que en el presente estudio (Kumil Uney y cols, 2011).

Para otras especies animales, tras la administración de cefquinoma a distintas dosis (todas ellas entre 1-2 mg, salvo excepciones), se han obtenido diferentes valores:

en cabras 0,25 L/kg·h (Litterio, 2013); en cerdos 0,10 L/kg·h (Zhang y cols, 2013) 0,15 L/kg·h (Liu y cols, 2012), 0,16 L/kg·h a dosis de 10 mg/kg (Limbert y cols, 1991), 0,26 L/kg·h (Li y cols, 2008), 0,20 L/kg·h (Song y cols, 2012), en cebú 0,11 L/kg·h (Shan y cols, 2013); en perro 0,17-0,21 L/kg·h a dosis de 5-20 mg/kg (Limbert y cols, 1991); en equinos 0,12 L/kg·h y 0,13 L/kg·h (Winther y cols, 2011; Smiet y cols, 2011); en conejo 0,18 L/kg·h (Hwang y cols, 2011); en aves (pollo y pato) 0,35 L/kg·h y 0,25 L/kg·h (Xie y cols, 2013; Yuan y cols, 2011). Estos valores oscilan entre 0,10 y 0,25 L/kg·h, siendo la mayoría de ellos muy próximos al del presente estudio.

Los menores valores de Cl se han descrito para búfalo con valores de 0,072 y 0,06 L/kg·h (Dinakaran y cols, 2013 y 2015) y los mayores valores en perro 0,49 L/kg·h (Zhang y cols, 2014).

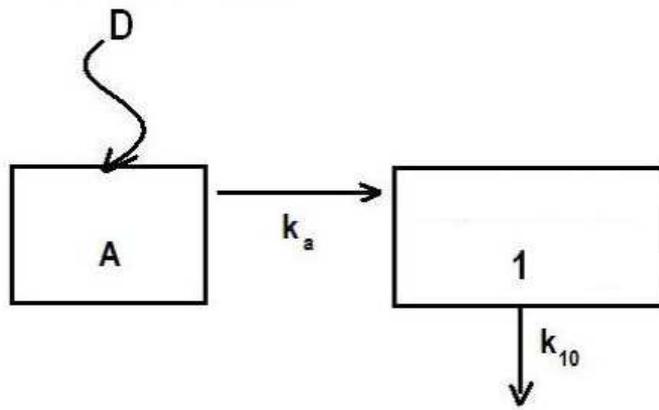
En cuanto a otras cefalosporinas, se han descrito valores de Cl de 0,23 y 0,22 L/kg·h (Patel y cols, 2010; Guerrini y cols, 1985) para ceftriaxona, 0,15 L/kg·h para cefepima (Swati y cols, 2010) y 0,16 L/kg·h para cefoperazina y cefaronida (Guerrini y cols, 1985), tras la administración intravenosa en oveja.

## **5.2.- ADMINISTRACIÓN INTRAMUSCULAR DE CEFQUINOMA EN OVEJAS**

### **5.2.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO**

Tras ajustar las concentraciones plasmáticas de cefquinoma administrada por vía intramuscular, a una dosis de 2 mg/kg en ovejas, a los modelos farmacocinéticos mono- y bicompartimentales con y sin ponderación de los datos experimentales obtenidos para cada animal y, atendiendo al criterio de información de Akaike o AIC (Yamaoka y cols, 1978), se concluye que el modelo monocompartimental con ponderación al inverso al cuadrado de las concentraciones plasmáticas con una constante de absorción de primer orden y tiempo de latencia, es el más adecuado (Tabla 12).

El modelo monocompartimental puede esquematizarse como se indica en la figura 2, en el cual se considera una distribución instantánea de en un único compartimento.



**Figura 2.-** Representación esquemática del modelo monocompartimental tras la administración extravasalar (intramuscular) de un fármaco.

El modelo monocompartimental no coincide con las características farmacocinéticas de otros trabajos realizados en ovejas para cefquinoma (Kumil Uney y cols, 2011, El-Hewait y cols, 2014) que proponen un modelo bicompartmental. En el trabajo de Tohamy (2011) la administración de cefquinoma a 1 mg/kg y 10 mg/kg por vía intramuscular en ovejas, si se ajustó mejor a un modelo monocompartimental.

En otros estudios realizados en diversas especies animales para cefquinoma, y tras su administración por vía intramuscular, encontramos que todos se ajustan a modelos bicompartmentales. Entre estas especies se incluyen: cerdos (Li y cols, 2008; Liu y cols, 2012), vacuno (Limbert y cols, 1991, Errecalde y cols, 2002), pollo (Xie y cols, 2013), pato (Yuan y cols, 2011), perro (Zhang y cols, 2014), cebú (Shan y cols, 2013), ratón (Limbert y cols, 1991) y cabra (El-Hewait y cols, 2014).

Únicamente existen 2 estudios en los que el modelo monocompartimental es el que mejor se ajusta en la administración intramuscular, siendo ambos estudios en cerdos (Zhao y cols, 2013; Zhang y cols, 2013)

El modelo monocompartimental también es el descrito en ovejas para otras cefalosporinas como ceftriaxona (Swati y cols, 2010) o ceftazidima (Rule y cols, 1991).

El modelo monocompartimental abierto tras una dosis intramuscular con tiempo de latencia, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = C_0 \cdot (e^{-\lambda z (t-t_{lat})} - e^{-k_a (t-t_{lat})}) \quad (3)$$

Esta ecuación adquiere diferentes valores para cada animal (Tabla 9).

La ecuación que define la evolución de las concentraciones plasmáticas, en la oveja tras la administración intramuscular, de una dosis única de 2 mg/kg de cefquinoma, es la siguiente:

$$C = 6012 \cdot (e^{-0,52 (t-0,15)} - e^{-2,05 (t-0,15)}) \quad \infty \gamma / \Lambda \quad (4)$$

La representación semilogarítmica de las concentraciones individuales experimentales (Gráfico 3) y medias (Gráfico 4), pone de manifiesto que los niveles de cefquinoma ascienden rápidamente fase inicial (primeros 60 minutos) donde predomina la fase de absorción y, a partir de este momento, disminuyen de forma constante hasta el final del proceso (8 horas tras la administración).

Dada la relativamente lenta absorción del fármaco, es posible que la fase rápida de distribución del fármaco haya sido enmascarada por el proceso de absorción.

## **5.2.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS**

En los siguientes apartados se comentaran los parámetros farmacocinéticos más relevantes de cefquinoma tras su administración intramuscular en ovejas. En la Tabla 13 se observan los parámetros farmacocinéticos compartimentales en cada animal y en Tabla 14 la media y sus estadísticos. Por otro lado, en la Tabla 15 y 16 se muestran respectivamente los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de cada animal y su media junto con sus estadísticos.

### **5.2.2.1- TIEMPOS DE VIDA MEDIA, TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT) Y TIEMPO MEDIO DE ABSORCIÓN (MAT)**

El tiempo de vida media o semivida del fármaco para cefquinoma por vía intramuscular ha sido 1,37 h, cifra muy similar a la constante de disposición lenta de la vía intravenosa (1,75 h), indicando que la permanencia de cefquinoma en el organismo es aproximadamente la misma.

Un estudio realizado en ovejas en el que se administró cefquinoma 2mg/kg por vía intramuscular mostró un  $t_{1/2}$  de 1,88 h (Kumil Uney y cols, 2011). En otro estudio realizado en las mismas condiciones la  $t_{1/2}$  fue de 9,03 h (El-Hewait y cols, 2014) y en

el estudio de Tohamy (2011) se muestra una  $t_{1/2\lambda z}$  de 3,91 y 2,41 h para las dosis de cefquinoma de 1mg/kg y 10mg/kg respectivamente.

En otras especies animales donde cefquinoma se administró por vía intramuscular a dosis de 1-2 mg/kg encontramos los siguientes resultados para  $t_{1/2\lambda z}$ : cabra 10,14 h (El-Hewaiti y cols, 2014); cerdos 4,36 h (Li y cols, 2008), 2,46 h (Lim y cols, 2011), 1,41 h (Liu y cols, 2012), 3,79 h (Zhao y cols, 2013); vacuno 1,56 h (Errecalde y cols, 2002), pollo 3,43 h (Al-Jundi y cols, 2009), 1,35 h (Xie y cols, 2013), pato 1,79 h (Yuan y cols, 2011); perro 2,34 h (Zhang y cols, 2014); cebú 2,78 h (Shan y cols, 2013) y camello 10,24 h (Al-Taher, 2010).

En estudios farmacocinéticos no compartimentales realizados por Litterio (2013) en cabras, Hwang y cols. (2011) en conejos y Song y cols. (2012) en cerdos, se observaron los siguientes valores de  $t_{1/2\lambda e}$ : 1,57 h, 1,04 h y 1,73 h respectivamente.

Los valores de  $t_{1/2\lambda z}$  varían considerablemente en los diversos estudios, siendo en la mayoría de casos superiores a los del presente estudio,  $t_{1/2\lambda z}$  oscila entre las cifras de 1,04 y 10,24 h. Los estudios que muestran valores más alejados al del presente estudio son El-Hewaiti y cols. (2014) en cabras y Al-Taher y cols. (2010) en camello.

En lo que refiere a otras cefalosporinas administradas por vía intramuscular en ovejas, se reportan los siguientes valores: en ceftriaxona  $t_{1/2\lambda z}$  de 2,24 h (Swati y cols, 2010) y en cefepima 5,17 h (Patel y cols, 2010).

En el presente estudio se ha obtenido un valor de MRT de 2,64 horas (Tabla 16). En dos estudios realizados en ovejas se muestran valores de MRT de 5,3 y 5,13 h para la dosis de 1 mg/kg y 10 mg/kg de cefquinoma respectivamente (Tohamy, 2011) y de 14,23 h para la dosis de 2 mg/kg (El-Hewaiti y cols, 2014) en oveja.

El resultado del presente estudio se asemeja más al obtenido para cefquinoma en otras especies animales a dosis de 1-2mg/kg: en cabra 2,59 h (Litterio, 2013); en cerdos 1,89 h (Lim y cols, 2011), 2,05 h (Song y cols, 2012); terneros 1,64 h (Errecalde y cols, 2002); e inferior al obtenido en camello 16,74 h (Al-Taher, 2010).

Tras la administración intramuscular en ovejas, ceftriaxona y cefepima presentaron un MRT de 3.23 h y 6,89 h, respectivamente (Swati y cols, 2010, Patel y cols, 2010).

En la Tabla 16, se presentan los valores correspondientes al MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) intramusculares; en tanto que el MRT intravenoso aparece en la Tabla 8. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar como en todas las ovejas, el valor de MAT es inferior al del MRT intravenoso. Si se consideran los valores medios obtenidos, el MRT intravenoso (1,86 h) resulta ser entorno a 2,4 veces superior al MAT intramuscular (0,77 h). De ello se concluye que, en principio, la absorción, tras la administración intramuscular de cefquinoma, no condiciona su eliminación.

En ovejas los datos son escasos pero bajo las mismas condiciones de estudio con cefquinoma en cerdos y cabras, se han registrado valores de MAT de 0,72 y 0,88 h, respectivamente (Song y cols, 2012; Litterio, 2013). En ambos casos los valores de MAT también han sido inferiores a los respectivos MRT intravenosos.

#### **5.2.2.2- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA**

Tras la administración extravasal, se debe tener en cuenta otro parámetro como es el tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima o tiempo máximo (Tmax). Dicho parámetro es independiente de la dosis, pero sí se modifica en función de la forma farmacéutica y la vía de administración, puesto que depende de la constante de absorción. En el presente estudio, el valor de Tmax ha sido de 1,08 h (Tabla 14).

En el estudio realizado por Kumil Uney y cols. (2011) en ovejas, se observan valores inferiores de Tmax (0,5 h) con respecto a los del presente estudio. En otros estudios realizados por Tohamy (2011) y El-Hewaiti y cols. (2014) en ovejas, podemos ver valores de Tmax superiores a los del presente estudio (2,17 h y 2,61 h).

En otras especies animales se han publicado valores de Tmax en la mayoría de los casos algo inferiores a los del presente estudio: en cerdos 0,28 h (Li y cols, 2008), 2,33 h (Lim y cols, 2011), 0,66 h (Liu y cols, 2012), 0,34 h (Zhang y cols, 2013); en cabra 0,96 h (Litterio, 2013) 2,62 h (El-Hewaiti y cols, 2014); en cebú 0,78 h (Shan y cols, 2013), en terneros 2 h (Limbert y cols, 1991), 0,85 h (Errecalde y cols, 2002); en aves (pato y pollo) 0,38 h (Yuan y cols, 2011), 0,25 (Xie y cols, 2013); en conejo 0,25 h (Hwang y cols, 2011); en perro 0,71 h (Zhang y cols, 2014) y en camello 4,25 (Al-Taher, 2010). A excepción de los estudios de Lim y cols. (2011), Al-Taher y cols. (2010) y

Limberty cols. (1991) los valores de T<sub>max</sub> son inferiores a 1 h, encontrándose en un rango de 0,28 h a 0,96 h.

En cuanto a otras cefalosporinas, se han publicado los siguientes valores de T<sub>max</sub>: en ceftriaxona 0,50 h (Swati y cols, 2010) y en cefepima 0,75 h (Patel y cols, 2010), algo menores al del presente estudio.

En lo que refiere a la concentración plasmática máxima (C<sub>max</sub>) el valor obtenido en el presente estudio para cefquinoma en oveja a 2 mg/kg, ha sido de 2844,80 µg/L.

En el estudio realizado por Kumil Uney y cols. (2011) en ovejas a dosis de 2 mg/kg se observan C<sub>max</sub> muy similares a las del presente estudio (2600 µg/L) y en el estudio El-Hewaiti y cols. (2014) bajo las mismas condiciones la C<sub>max</sub> fue de 1800 µg/L. En cuanto al estudio realizado por Tohamy (2011) en ovejas a dosis de 1 mg/kg y 10 mg/kg se obtiene valores de 1205 y 4576 µg/L.

En cuanto a estudios realizados en otros animales a dosis de 2 mg/kg de cefquinoma por vía intramuscular se obtiene los siguientes valores: en cerdos 4000 µg/L (Li y cols, 2008), 4390 µg/L (Song y cols, 2012), 3890 µg/L (Liu y cols, 2012), 6230 µg/L (Zhang y cols, 2013); en pollo 3040 µg/L (Xie y cols, 2013); en conejo 8870 µg/L (Hwang y cols, 2011); en perro 2530 µg/L (Zhang y cols, 2014) y en cabra 2480 µg/L (Litterio, 2013) y 1880 µg/L (El-Hewaiti y cols, 2014). Podemos observar que en cerdos la C<sub>max</sub> es mayor en todos los estudios, siendo los valores de C<sub>max</sub> más similares en perro y en cabra a los publicados en ovejas.

### **5.2.2.3- CONSTANTE DE ABSORCIÓN Y SEMIVIDA DE ABSORCIÓN**

La ecuación 4 define la evolución de las concentraciones plasmáticas, tras la administración intramuscular de cefquinoma en ovejas. Las constantes de absorción y eliminación, que se extraen de dicha ecuación no son reales, sino aparentes.

En este caso, la constante de absorción aparente (k<sub>a</sub>) es 2,05 h<sup>-1</sup> (Tabla 13) y la vida media asociada a la misma (t<sub>1/2ka</sub>) 0,39 h.

Si comparamos el valor obtenido para t<sub>1/2ka</sub> con el obtenido para t<sub>1/2λz</sub> intravenoso, que es 1,75 h (Tabla 6), podemos observar como este último es casi 5 veces superior, lo que indica que la fase de absorción no condicionaría la eliminación del cefquinoma en la oveja.

En el estudio de Kumil Uney y cols. (2011) realizado en ovejas a la misma dosis y por la misma vía, se obtuvo una  $K_a$  y  $t_{1/2ka}$  de  $2,23 \text{ h}^{-1}$  y  $0,31 \text{ h}$  respectivamente; mientras que, en el estudio realizado por El-Hewaiti y cols. (2014) fueron de  $0,91 \text{ h}^{-1}$  y  $0,76 \text{ h}$ . En otro estudio realizado en ovejas a dosis de  $1 \text{ mg/kg}$  muestra una  $K_a$  y  $t_{1/2ka}$  de  $1,05 \text{ h}^{-1}$  y  $0,66 \text{ h}$  mientras que para una dosis de  $10 \text{ mg/kg}$  fue de  $0,43 \text{ h}^{-1}$  y  $1,61 \text{ h}$  (Tohamy, 2011). Se observa que los valores de  $t_{1/2ka}$  son similares, aunque ligeramente superiores a los del presente estudio.

En estudios realizados en otras especies animales a dosis de  $1-2 \text{ mg/kg}$  de cefquinoma por vía intramuscular, observamos valores de  $K_a$  y  $t_{1/2ka}$  de  $1,69 \text{ h}^{-1}$  y  $0,41 \text{ h}$  (Li y cols, 2008),  $11,56 \text{ h}^{-1}$  y  $0,06 \text{ h}$  (Zhang y cols, 2013),  $0,56 \text{ h}^{-1}$  y  $1,23 \text{ h}$  (Zhao y cols, 2013) en cerdos; en cabras  $2,26 \text{ h}^{-1}$  y  $0,33$  (Litterio, 2013),  $0,93 \text{ h}^{-1}$  y  $0,73 \text{ h}$  (El-Hewaiti y cols, 2014); en terneros  $1,17 \text{ h}^{-1}$  y  $0,57 \text{ h}$  (Errecalde y cols., 2002); en cebú  $2,39 \text{ h}^{-1}$  y  $0,29 \text{ h}$  (Shan y cols, 2013); en aves (patos y pollos)  $4,07 \text{ h}^{-1}$  y  $0,17 \text{ h}$  (Al-Jundi y cols, 2009),  $5,78 \text{ h}^{-1}$  y  $0,11 \text{ h}$  (YUAN 2011),  $9,88 \text{ h}^{-1}$  y  $0,07$  (Xie y cols, 2013) y en perros  $4,56 \text{ h}^{-1}$  y  $0,15 \text{ h}$  (Zhang y cols, 2014).

Los valores de  $t_{1/2ka}$  oscilan entre  $0,06$  y  $1,24 \text{ h}$ , siendo la mayoría próximos al del presente estudio, o incluso ligeramente menores, mostrando una absorción más rápida.

En lo que refiere a otras cefalosporinas administradas por vía intramuscular en ovejas, se han descrito para ceftriaxona valores de  $K_a$  y  $t_{1/2ka}$  de  $3,01 \text{ h}^{-1}$  y  $0,23 \text{ h}$ , respectivamente (PATEL 2010).

#### **5.2.2.4- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD**

El AUC, obtenido tras la administración intramuscular, alcanza un valor de  $9247 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Tabla 16). Esta cifra es superior a la obtenida en el estudio de Kumil Uney y cols. (2011), en el que, a igualdad de dosis, se obtiene un valor de  $5190 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  y más baja que la obtenida en el estudio de Tohamy (2011) tras la administración intramuscular de  $1 \text{ mg/kg}$  de cefquinoma, en el que se obtiene un valor de  $12180 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ . En otro estudio realizado en las mismas condiciones ( $2 \text{ mg/kg}$ ) el valor de AUC fue de  $29960 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (El-Hewaiti y cols, 2014).

Otros estudios de cefquinoma en cabras, bajo las mismas condiciones, reportaron valores de AUC de  $7500 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (Litterio, 2011) y  $31119 \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$  (El-Hewaiti y

cols,2014). En cerdos, a la misma dosis, 7580, 10850, 9290 y 23050  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Li 2008, Liu 2012, Song y cols, 2012, Zhang y cols, 2013). También a dosis de 2mg/kg, en perro 4590  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Zhang y cols, 2014); en conejo 10400  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Hwang y cols 2011); y en pollo 5130  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Xie y cols, 2013). Los valores más próximos a los del presente estudio son en los estudios realizados en cerdos (a excepción del estudio de Zhang y cols., 2013) y conejo.

El valor del AUC extravascular permite calcular la biodisponibilidad (F) del fármaco, tras la administración intramuscular, mediante la siguiente ecuación:

$$F(\%) = \frac{\text{AUC}_{\text{IM}}}{\text{AUC}_{\text{IV}}} \cdot 100 \quad (5)$$

La biodisponibilidad obtenida ha sido del 79,54%, siendo menor que las observadas en otros trabajos. En ovejas únicamente encontramos el estudio realizado por Kumil Uney y cols. (2011) en el que la biodisponibilidad hallada fue de 89,31%. En otros trabajos realizados en otras especies animales a dosis de 1-2 mg/kg las biodisponibilidades fueron: en cerdos 95,13%, 97,5%, 80,38% y 116% (Li 2008, Song y cols, 2012, LUI 2012, Zhang y cols, 2013); en cabra 92,18% (Litterio, 2013); en perro 89,13% (Zhang y cols, 2014), en conejo 95,23% (Hwang y cols), en aves (pato y pollo) a 5 mg/kg 93,28% y a 2 mg/kg 95,81% (YUAN 2011, Xie y cols, 20013).

#### **5.2.2.5- VOLÚMENES DE DISTRIBUCIÓN APARENTE**

El volumen de distribución aparente de cefquinoma calculado en función del área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo ( $V_z$ ) en oveja, alcanza un valor de 0,49 L/kg (Tabla 16). Como se puede observar estos valores son moderados, e indican que el fármaco tiene una aceptable distribución en tejidos y fluidos en esta especie.

No se han encontrado estudios de cefquinoma administrada por vía intramuscular en oveja que publiquen valores de  $V_z$ .

Únicamente encontramos dos estudios de cefquinoma intramuscular donde se reflejen datos de  $V_z$ , en cerdo de 0,31 L/kg (Zhang y cols, 2014) y en perro de 0,74 L/kg (Li 2008) ambos a dosis de 2 mg/kg.

En cuanto a otras cefalosporinas, tras su administración intramuscular en ovejas, para ceftriaxona se han reportado datos de  $V_z$  de 0,43 L/kg (Swati y cols 2010) y para cefepima un  $V_{ss}$  de 1,11 L/kg (PATEL 2010).

#### **5.2.2.6- ACLARAMIENTO PLASMÁTICO (CI/F)**

En el presente estudio, se ha calculado el CI/F en función del área bajo la curva mediante análisis no compartimental y también por análisis compartimental. El valor obtenido ha sido, respectivamente, de 0,22 y 0,23 L/kg·h (Tablas 14 y 16).

No se han encontrado estudios realizados en ovejas con cefquinoma administrada por vía intramuscular en la que se reflejen valores de CI/F.

Para otras especies animales, tras la administración intramuscular de cefquinoma a diferentes dosis (todas ellas entre 1-2 mg), se han obtenido diferentes valores: en cerdos 0,18 L/kg·h (Liu 2012), 0,09 L/kg·h (Zhang y cols, 2013) y en perro 0,36 L/kg·h (Zhang y cols, 2014).

En cuanto a otras cefalosporinas, se han descrito valores de 0,13 L/kg·h (Swati y cols 2010) para ceftriaxona y 0,01 L/kg·h para cefepima (PATEL 2010), tras la administración intramuscular en oveja.

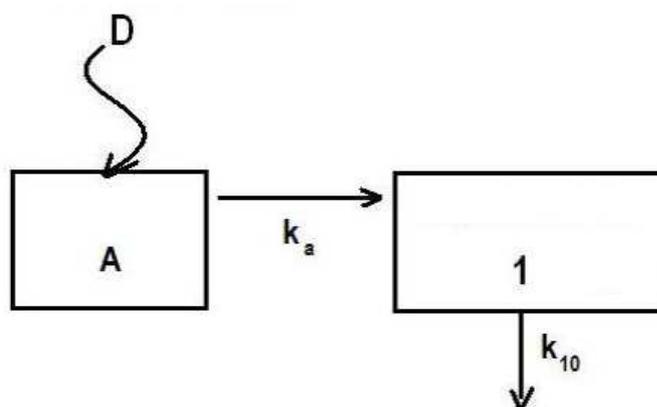
### **5.3.- ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE CEFQUINOMA EN OVEJAS**

#### **5.3.1.- MODELO FARMACOCINÉTICO**

Tras ajustar las concentraciones plasmáticas de cefquinoma administrada por vía subcutánea, a una dosis de 2 mg/kg en ovejas, a los modelos farmacocinéticos mono- y bicompartmentales con y sin ponderación de los datos experimentales obtenidos para cada animal y, atendiendo al criterio de información de Akaike o AIC (Yamaoka y cols, 1978), se concluye que, al igual que en la vía intramuscular, el modelo monocompartimental con ponderación al inverso al cuadrado de las concentraciones

plasmáticas con una constante de absorción de primer orden y tiempo de latencia, es el más adecuado (Tabla 20).

El modelo monocompartimental puede esquematizarse como se indica en la figura 3, en el cual se considera una distribución instantánea de en un único compartimento.



**Figura 3.-** Representación esquemática del modelo monocompartimental tras la administración extravasal (subcutánea) de un fármaco.

No se encuentran estudios publicados de cefquinoma en oveja en la que se administre por vía subcutánea. En otros estudios realizados en diversas especies animales para cefquinoma y tras su administración por vía subcutánea, encontramos que la mayoría se ajustan a modelos monocompartimentales. Entre estas especies se incluyen: perros (Zhou y cols, 2015), ratón (WANG 2012, Shan y cols, 2014), pollo (Xie y cols, 2013) y cabra (EL HEWAIT 2014).

Únicamente existen un estudio en el que el modelo bicompartimental es el que mejor se ajusta a la administración subcutánea, siendo en cerdos, terneros y ratones (Limbert y cols, 1991)

El modelo monocompartimental también es el descrito en ovejas para otras cefalosporinas como ceftazidima (Rule y cols, 1991).

El modelo monocompartimental abierto tras una dosis subcutánea con tiempo de latencia, viene definido por la siguiente ecuación:

$$C = C_0 \cdot (e^{-\lambda z (t-t_{lat})} - e^{-k_a (t-t_{lat})}) \quad (6)$$

Esta ecuación adquiere diferentes valores para cada animal (Tabla 17).

La ecuación que define la evolución de las concentraciones plasmáticas, en la oveja tras la administración subcutánea de una dosis única de 2 mg/kg de cefquinoma, es la siguiente:

$$C = 89076 \cdot (e^{-0,38(t-0,5)} - e^{-0,37(t-0,5)}) \quad \infty \gamma/\Delta \quad (7)$$

La representación semilogarítmica de las concentraciones individuales experimentales (Gráfico 5) y medias (Gráfico 6), pone de manifiesto que los niveles de cefquinoma ascienden lentamente fase inicial (primeras 3 horas) donde predomina la fase de absorción y, a partir de este momento, disminuyen de forma constante hasta el final del proceso (10 horas tras la administración).

Dada la relativamente lenta absorción del fármaco, es posible que la fase rápida de distribución del fármaco haya sido enmascarada por el proceso de absorción ajustándose así mejor al modelo monocompartimental.

### **5.3.2.- PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS**

En los siguientes apartados se comentarán los parámetros farmacocinéticos más relevantes de cefquinoma tras su administración subcutánea en ovejas. En la Tabla 21 se observan los parámetros farmacocinéticos compartimentales en cada animal y en Tabla 22 la media y sus estadísticos. Por otro lado, en la Tabla 23 y 24 se muestran respectivamente los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de cada animal y su media junto con sus estadísticos.

#### **5.3.2.1- TIEMPOS DE VIDA MEDIA, TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA (MRT) Y TIEMPO MEDIO DE ABSORCIÓN (MAT)**

El tiempo de vida media o semivida del fármaco para cefquinoma por vía subcutánea ha sido 1,84 h cifra muy similar a la constante de disposición lenta de la vía intravenosa (1,75 h), indicando que la permanencia de cefquinoma en el organismo es parecida.

No se han encontrado publicados estudios en ovejas donde se haya administrado cefquinoma por vía subcutánea, pero en otras especies animales donde cefquinoma se administró por esta vía encontramos los siguientes resultados para  $t_{1/2\lambda z}$

(o  $t_{1/2_{kel}}$ ): en ratón 0,58 h y 0,49 h a dosis de 10 mg/kg y 40 mg/kg (Limbert y cols, 1991), 0,35 h, 0,37 h, 0,36 h, 0,37 h a dosis de 10 mg/kg, 40 mg/kg, 160 mg/kg, y 320 mg/kg respectivamente (WANG 2012) y 0,29 h, 0,31 h, 0,32 h, 0,31 h a estas mismas dosis (Shan y cols, 2014); cerdos 1,23h a dosis de 10 mg/kg (Limbert y cols, 1991), en perro 0,99 h a dosis de 2 mg/kg (Zhou y cols, 2015) y en pollo 25,02 h a dosis 2 mg/kg (Al-Jundi y cols, 2009).

Los valores de  $t_{1/2_{el}}$  para ratón fueron muy inferiores a los del presente estudio, siendo también algo inferiores en perros, mientras que el observado en cerdos es similar, y el observado en pollos fue muy superior.

En lo que refiere a otras cefalosporinas administradas por vía subcutánea en ovejas, se han descrito valores de  $t_{1/2_{el}}$  entorno a 1,80 h para ceftazidima (Rule y cols, 1991).

En el presente estudio se ha obtenido un valor de MRT de 5,20 horas. En la Tabla 24, se presentan los valores correspondientes al MRT y el tiempo medio de absorción (MAT) subcutáneos; en tanto que el MRT intravenoso aparece en la Tabla 8. A la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos parámetros en los distintos animales, se puede apreciar como en todas las ovejas, el valor de MAT es superior al del MRT intravenoso. De ello se puede concluir que, en principio, la permanencia del fármaco en el lugar de administración es mayor que la persistencia del mismo una vez absorbido, por lo que la absorción puede ser un factor limitante en todos los demás procesos farmacocinéticos tras la administración subcutánea del fármaco.

No se han encontrado estudios en los que se analice el MRT y el MAT tras la administración subcutánea de cefquinoma.

### **5.3.2.2- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA**

En el presente estudio, el valor de  $T_{max}$  ha sido de 3,11 h (Tabla 22). Se han realizado estudios en otras especies animales donde se han publicado valores de  $T_{max}$ , en todos los casos muy inferiores a los del presente estudio: en ratón 0,38 h, 0,45 h a dosis de 10 mg/kg y 40 mg/kg (Limbert y cols, 1991), 0,31 h, 0,30 h, 0,30 h, 0,30 h a dosis de 10 mg/kg, 40 mg/kg, 160 mg/kg, y 320 mg/kg respectivamente (WANG 2012) y 0,27 h, 0,31 h, 0,33 h, 0,35 h a estas mismas dosis (Shan y cols, 2014);

cerdos 0,80 h a dosis de 10 mg/kg (Limbert y cols, 1991), en perro 0,72 h a dosis de 2 mg/kg (Zhou y cols, 2015), en terneros 1,8 h a dosis de 10mg/kg (Limbert y cols, 1991) y en pollo 0,26 h a dosis 2 mg/kg (Al-Jundi y cols, 2009).

En lo que refiere a la concentración plasmática máxima ( $C_{max}$ ) el valor obtenido en el presente estudio para cefquinoma en oveja a 2 mg/kg, ha sido de 957  $\mu\text{g/L}$ . Dicho valor es 2,9 veces inferior al obtenido tras la administración por vía IM lo que concuerda a la perfección con el hecho de que el  $T_{max}$ , es 2,9 veces superior al obtenido por vía IM. Esta diferencia parece ser debida a la lenta absorción que se produce por esta vía en las ovejas estudiadas, ya que, como se dijo anteriormente, el alto valor de MAT nos dice que la permanencia del fármaco en el lugar de administración es mayor que la persistencia del mismo una vez absorbido, por lo que la absorción será un factor limitante en todos los demás procesos farmacocinéticos. Esta menor velocidad de absorción se puede deber a la menor vascularización e irrigación del tejido subcutáneo, en general, y al mayor contenido de tejido graso o adiposo que presentan estas ovejas de alta producción láctea, ya que son alimentadas con raciones calóricas elevadas. Esto determina diferencias con otras razas de escasa producción lechera y con otras especies. Así, en un estudio realizado con cefquinoma por vía subcutánea a dosis de 2 mg/kg en perros, se muestra un valor de  $C_{max}$  de 3880  $\mu\text{g/L}$  (Zhou y cols, 2015), muy superior al reportado en este trabajo.

En cuanto a estudios realizados a otras dosis con cefquinoma por vía subcutánea se obtienen los siguientes valores: en ratón 7500 y 26000  $\mu\text{g/L}$  a dosis de 10 mg/kg y 40 mg/kg (Limbert y cols, 1991), 9570, 28390, 152210 y 276670  $\mu\text{g/L}$  a dosis de 10 mg/kg, 40 mg/kg, 160 mg/kg, y 320 mg/kg respectivamente (WANG 2012) y 13600, 49500, 164000 y 598000  $\mu\text{g/L}$  a estas mismas dosis (Shan y cols, 2014); en cerdos 26100  $\mu\text{g/L}$  a dosis de 10 mg/kg (Limbert y cols, 1991) y en terneros 3600  $\mu\text{g/L}$  a dosis de 10mg/kg (Limbert y cols, 1991). Podemos observar que la  $C_{max}$  es mayor en todos los estudios, incluso corregido el valor atendiendo a la dosis, debido a las causas anteriormente mencionadas.

### 5.3.2.3- CONSTANTE DE ABSORCIÓN Y SEMIVIDA DE ABSORCIÓN

La ecuación 6 define la evolución de las concentraciones plasmáticas, tras la administración subcutánea de cefquinoma en ovejas. Las constantes de absorción y eliminación, que se extraen de dicha ecuación no son reales, sino aparentes.

En este caso, la constante de absorción aparente ( $k_a$ ) es  $0,37 \text{ h}^{-1}$  (Tabla 22) y la vida media asociada a la misma ( $t_{1/2ka}$ ) 1,89 h, lo que supone una absorción mucho más lenta (casi 5 veces menor) que por vía intramuscular.

Si comparamos el valor obtenido para  $t_{1/2ka}$  con el obtenido para  $t_{1/2\lambda z}$  intravenoso, que es 1,75 h (Tabla 6), podemos observar como este último es ligeramente inferior, lo que indica que la fase de absorción probablemente condicione la eliminación del cefquinoma en la oveja y determine un posible efecto flip-flop.

No hay publicados estudios en ovejas donde se haya administrado cefquinoma por vía subcutánea, pero en otras especies animales donde cefquinoma se administró por esta vía encontramos los siguientes resultados para  $K_a$  y  $t_{1/2ka}$ : en perro  $2,38 \text{ h}^{-1}$  y 0,29 h a dosis de 2mg/kg (Zhou y cols, 2015) y en pollo  $2,60 \text{ h}^{-1}$  y 0,26 h a dosis 2mg/kg (Al-Jundi y cols, 2009). Se observa que los valores de  $t_{1/2ka}$  son muy inferiores a los del presente estudio. Posiblemente, en todas estas especies existía una menor cantidad de tejido adiposo que en los animales utilizados en nuestro estudio, lo que explicaría, al menos en parte las diferencias encontradas.

### 5.3.2.4- ÁREA BAJO LA CURVA Y BIODISPONIBILIDAD

El AUC obtenido tras la administración subcutánea, alcanza un valor de 6959  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Tabla 24). El único estudio en el que se analizó el AUC tras la administración de cefquinoma 2mg/kg por vía subcutánea se ha realizado en perros, donde el valor fue de 9130  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Zhou y cols, 2015).

Tras la administración de cefquinoma a diferentes dosis se observan los siguientes valores de AUC: en ratón 7800 y 26800  $\mu\text{g}/\text{L}$  a dosis de 10 mg/kg y 40 mg/kg (Limbert y cols, 1991), 8840, 26750, 141670 y 257100  $\mu\text{g}/\text{L}$  a dosis de 10 mg/kg, 40 mg/kg, 160 mg/kg y 320 mg/kg respectivamente (WANG 2012) y 11900, 44100, 155000 y 591000  $\mu\text{g}/\text{L}$  a estas mismas dosis (Shan y cols, 2014); cerdos 62300  $\mu\text{g}/\text{L}$  a dosis de 10 mg/kg (Limbert y cols, 1991) y en terneros 19400  $\mu\text{g}/\text{L}$  a dosis de 10mg/kg (Limbert y cols, 1991).

El valor del AUC permite calcular la biodisponibilidad (F) del fármaco, tras la administración subcutánea, mediante la siguiente ecuación:

$$F(\%) = \frac{AUC_{SC}}{AUC_{IV}} \cdot 100 \quad (8)$$

La biodisponibilidad obtenida ha sido del 60,40%, siendo muy inferior a la observada en perro del trabajo de Zhou y cols, y cols. (2015) (107,29%) y en otros trabajos a diferentes dosis, como el de Limbert y cols. (1991) en cerdos donde la biodisponibilidad fue de 93,40% aunque muy superior a la observada en terneros del 22,90% (Limbert y cols, 1991). En comparación con otras cefalosporinas, también fue inferior a la observada para ceftazidima del 80,80% (Rule y cols, 1991).

La posible existencia de un fenómeno flip-flop, explica que la biodisponibilidad obtenida sea muy inferior a las reportadas por otros autores en otras especies y/o para otras cefalosporinas y también con la administración IM de esta mismo estudio.

### **5.3.2.5- VOLÚMEN DE DISTRIBUCIÓN APARENTE**

El volumen de distribución aparente de cefquinoma ( $V_z$ ) tras la administración subcutánea de una dosis de 2 mg/kg en oveja, alcanza un valor de 0,82 L/kg (Tabla 24). Como se puede observar este valor es moderado, e indica que el fármaco tiene una aceptable distribución en tejidos y fluidos en esta especie.

No hay publicados estudios de cefquinoma administrada por vía subcutánea en los que se muestren valores de  $V_z$ .

### **5.3.2.6- ACLARAMIENTO PLASMÁTICO (Cl/F)**

En el presente estudio, se ha calculado el Cl/F en función del área bajo la curva mediante análisis no compartimental y también por análisis compartimental. El valor obtenido, en ambos casos, ha sido de 0,29 L/kg·h (Tablas 22 y 24).

No se encuentran estudios realizados en ovejas con cefquinoma por vía subcutánea en la que se aporten valores de Cl/F.

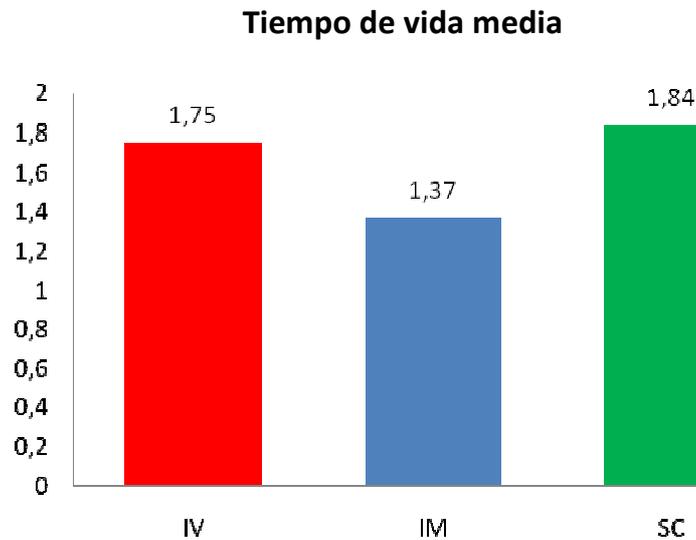
## 5.4.- COMPARACION ENTRE VÍAS DE ADMINISTRACION

La disposición plasmática de cefquinoma para la vía intravenosa se ajusta mejor a un modelo bicompartimental abierto, mientras que las vías intramuscular y subcutáneas se ajustan mejor a un modelo monocompartimental, con una constante de absorción de primer orden y tiempo de latencia.

Las representaciones gráficas de las concentraciones experimentales (Gráficos 8 y 9) sugieren diferencias en el comportamiento del antimicrobiano especialmente en su fase de absorción. Esto se refleja en un retraso de la absorción cuando se administra por vía subcutánea con respecto a la vía intramuscular, haciendo que la curva de la administración subcutánea se desplace hacia la derecha, respecto a la curva de la administración intramuscular. Pero para poder cuantificar esta afirmación es necesario comparar los parámetros farmacocinéticos obtenidos en cada caso, entre ellos,  $t_{1/2\lambda z}$ ,  $t_{1/2ka}$ ,  $\lambda z$ ,  $ka$ ,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $MRT$ ,  $MAT$ ,  $AUC$  y la biodisponibilidad. La existencia o no de diferencias significativas se ha comprobado mediante un estudio estadístico no paramétrico (H de Kruskal-Wallis y U de Man-Whitney), cuyos resultados se muestran en las Tablas 26 y 27.

### 5.4.1.- TIEMPO DE VIDA MEDIA

Puede observarse en los valores presentados en la Tabla 26 que no existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de la semivida ( $p > 0,05$ ) entre las diferentes vías de administración estudiadas.



**Figura 4.-** Tiempos de vida media ( $t_{1/2}$ ) expresados en horas, obtenidos en la oveja tras la administración de cefquinoma por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM) y subcutánea (SC) a dosis de 2mg/kg.

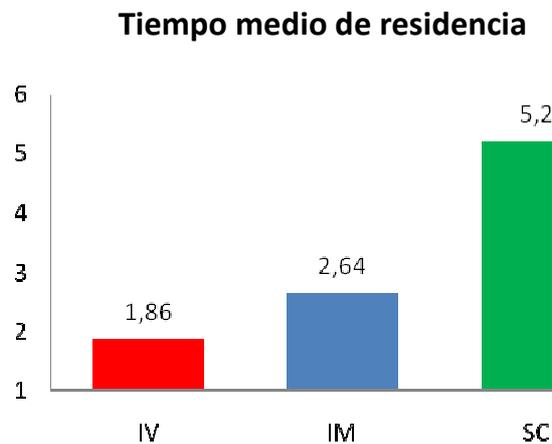
Si comparamos únicamente las vías extravasales, vemos que sí existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) mediante la prueba U de Mann-Whitney (Tabla 27). Parece ser que el tiempo de vida media subcutáneo es ligeramente mayor, por lo que posiblemente podría resultar conveniente el uso de esta vía en cuanto a obtener un mayor tiempo de permanencia de las concentraciones de cefquinoma en la oveja.

En otro estudio realizado en ovejas, a diferencia del presente estudio, la vía intramuscular mostró un tiempo de vida media mayor al de la vía intravenosa, mientras que en otros estudios realizados en diferentes especies, el tiempo de vida media fue muy similar entre la vía intravenosa y la intramuscular (Block y cols, 2005, Li y cols, 2008, Hwang y cols, 2011, Liu y cols, 2012, Shan y cols, 2013, Xie y cols, 2013, Zhang y cols, 2013, Zhang y cols, 2014, Zhou y cols, 2015), y también con la vía subcutánea (Zhou y cols, 2015).

### 5.4.2.- TIEMPO MEDIO DE RESIDENCIA

El MRT se comporta de forma diferente a las semividas descritas anteriormente. Puede observarse en las Tablas 26 y 27 la existencia de diferencias significativas entre sus valores ( $p < 0,05$ ). En la tabla 25 se observa que el MRT es mayor en las vías extravasculares respecto a la vía intravenosa. Esto indica que la permanencia del fármaco es mayor tras la administración intramuscular y aún mayor en la vía subcutánea. Es probable que la fase responsable del incremento en el MRT sea la fase de absorción, especialmente en la vía subcutánea.

A continuación (Figura 5), se presentan de forma gráfica los valores de MRT de la vía intravenosa, intramuscular y subcutánea.



**Figura 5.-** Tiempos medio de residencia (MRT) expresados en horas, obtenidos en la oveja tras la administración de cefquinoma por vía intravenosa (IV), intramuscular y subcutánea (SC) a dosis de 2mg/kg.

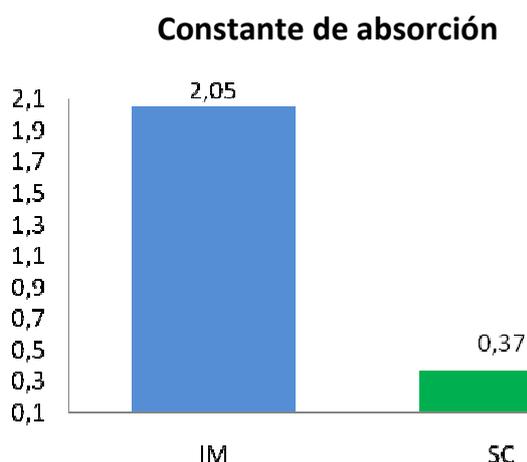
En otro estudio de idénticas características en cabras y cerdos, también se ha registrado un mayor valor de MRT por la vía intramuscular respecto de la vía intravenosa (Litterio, 2013, Song y cols, 2012). No se han encontrado estudios en los que se analice el MRT de la vía subcutánea respecto a la vía intravenosa.

### 5.4.3.- CONSTANTE DE ABSORCIÓN

Los valores medios de la constante de absorción entre la vía intramuscular y subcutánea de cefquinoma en ovejas se describen en la Tabla 25. Cuando comparamos estos valores de  $k_a$  se encuentran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) (Tabla 27) entre

ambas vías. Se observa que la velocidad de absorción de la vía intramuscular es mucho mayor que la de la vía subcutánea.

En otro estudio realizado en perros también se observó una velocidad de absorción más rápida por vía intramuscular en comparación con la vía subcutánea (Zhao y cols, 2015).



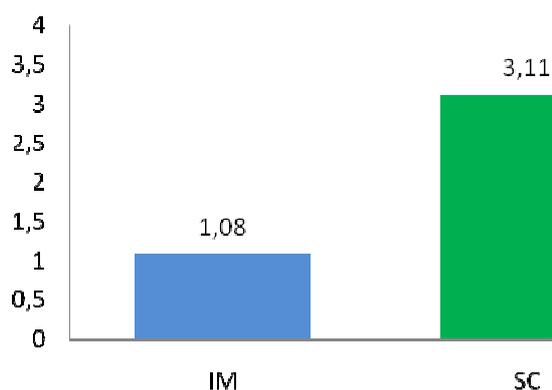
**Figura 6.-** Constante de absorción (Ka) expresada en horas a la inversa (h<sup>-1</sup>), obtenidos en la oveja tras la administración de cefquinoma por vía intramuscular (IM) y subcutánea (SC) a dosis de 2mg/kg.

#### 5.4.4.- TIEMPO MÁXIMO Y CONCENTRACIÓN MÁXIMA

En la Tabla 25 se muestran los valores medios de Tmax y C<sub>máx</sub> de las dos vías de administración extravasales. Se puede apreciar (Tablas 27) que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los valores de los tiempos y concentraciones entre ambas vías. En el caso de Tmax, se puede ver como el valor es mayor para la vía subcutánea.

En la Figura 7, se observa de forma gráfica las diferencias existentes en el Tmax para cefquinoma en ovejas, entre las dos vías de administración extravasales.

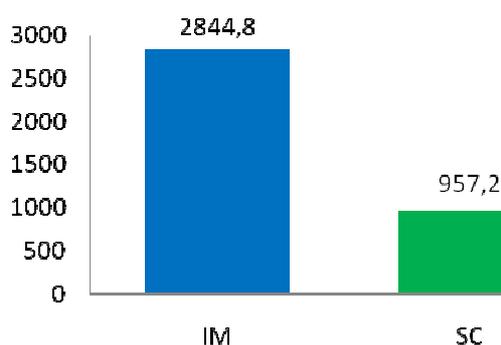
### Tiempo máximo (Tmax)



**Figura 7.-** Tiempo máximo (Tmax) expresados en horas, obtenido en la oveja tras la administración de cefquinoma por vía intramuscular (IM) y subcutánea (SC) a dosis de 2mg/kg.

En el estudio de los valores que alcanza  $C_{m\acute{a}x}$  entre las dos vías extravasales, podemos observar como por vía intramuscular se alcanzan cifras superiores de  $C_{m\acute{a}x}$  respecto a la vía subcutánea, lo que es de esperar puesto que la absorción es más lenta, la  $C_{m\acute{a}x}$  disminuye y la curva de nivel plasmático se hace más roma (Grafico 8 y 9). En la Figura 8, se observa de forma gráfica las diferencias existentes en las dos vías de administración extravasales, con respecto a la  $C_{m\acute{a}x}$  de cefquinoma en plasma.

### Concentración máxima (Cmax)



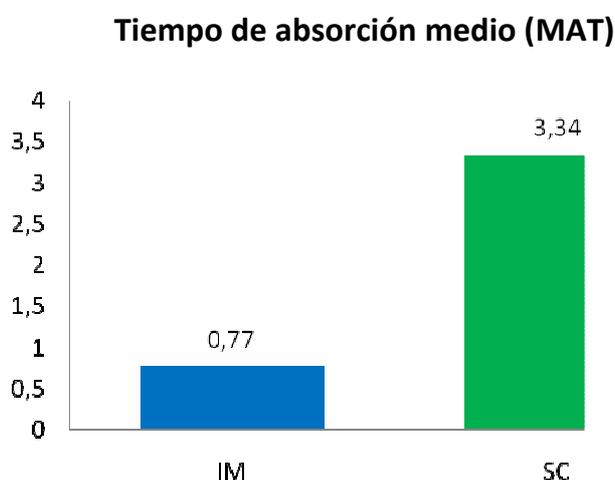
**Figura 8.-** Concentración máxima (Cmax) expresada en ug/L, obtenido en la oveja tras la administración de cefquinoma por vía intramuscular (IM) y subcutánea (SC) a dosis de 2mg/kg.

En el estudio de Zhao y cols. (20015) realizado en perros, presenta valores de Tmax muy inferiores al del presente estudio, pero si presenta un valor de Tmax

superior para la vía subcutánea frente a la vía intramuscular. En cuanto a la Cmax, presentó valores superiores para ambas vías, pero al igual que el presente estudio, el valor de Cmax fue mayor para la vía intramuscular en comparación con la vía subcutánea

#### 5.4.5.- TIEMPO MEDIO DE ABSORCIÓN (MAT)

En cuanto al MAT, los valores medios obtenidos tras las administraciones extravasales (Tabla 25) son de 0,77 h para la vía intramuscular y de 3,35 h cuando se administra por vía subcutánea. Las diferencias entre estos valores resultan estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), resultando inferior, en concordancia con lo expuesto anteriormente, el MAT obtenido en la vía intramuscular, como se ve en la figura 9. Así pues, la absorción parece ser más lenta tras la administración subcutánea frente a la vía intramuscular. Como resultado de esta diferencia en la absorción del fármaco, los valores de Tmax subcutáneos fueron superiores a los de la vía intramuscular y los valores de ka subcutáneos fueron inferiores a los obtenidos por vía intramuscular. Esta lenta absorción de la vía subcutánea es posible que pueda llegar a condicionar la eliminación.



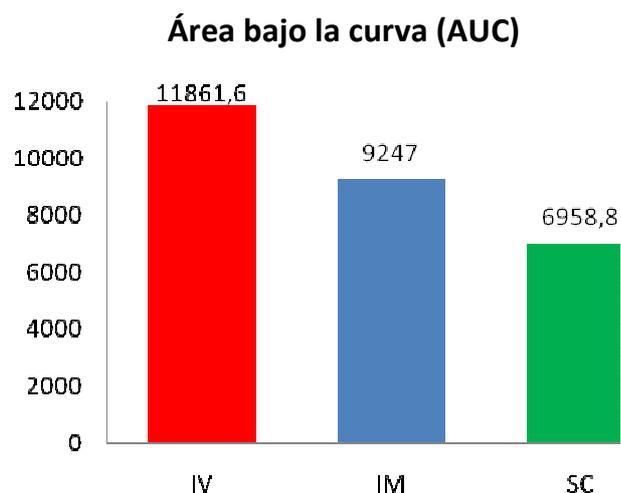
**Figura 9.-** Tiempo medio de absorción (MAT) expresada en horas, obtenido en la oveja tras la administración de cefquinoma por vía intramuscular (IM) y subcutánea (SC) a dosis de 2mg/kg.

#### 5.4.6.- ÁREA BAJO LA CURVA (AUC)

La prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis pone de manifiesto que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de AUC obtenidos para

cefquinoma por las tres vías de administración (Tabla 26). Si bien, existen diferencias estadísticamente significativas al comparar el  $AUC_{iv}$  y el  $AUC_{IM}$  frente al  $AUC_{sc}$  al realizar la prueba no paramétrica de Man-Whitney (Tabla 27).

Al comparar los valores de AUC (Figura 10) puede observarse que la vía intravenosa es la que posee un AUC mayor, seguido de la vía intramuscular, siendo el menor AUC el de la vía subcutánea.



**Figura 10.-** Área bajo la curva (AUC) expresados en  $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ , obtenidos en la oveja tras la administración de cefquinoma por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM) y subcutánea (SC) a dosis de 2mg/kg.

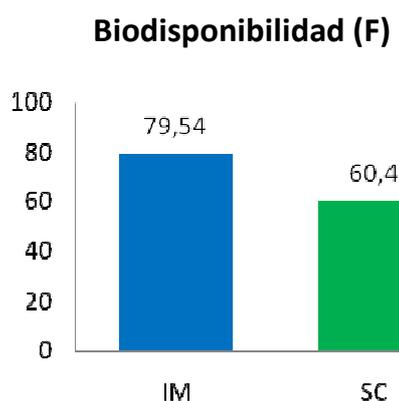
En el trabajo realizado por Kumil Uney y cols. (2011) en ovejas tras la administración de cefquinoma por vía intravenosa y subcutánea a 2mg/kg, se muestran valores de AUC inferiores al del presente estudio (aproximadamente la mitad) en el que el  $AUC_{IM}$  es ligeramente inferior al  $AUC_{iv}$ .

Otros estudios, en distintas especies animales, muestran valores de AUC tras la administración de cefquinoma por vía intravenosa e intramuscular a dosis de 2mg/kg similares a los del presente estudio, siendo ligeramente inferiores los  $AUC_{IM}$  frente a los  $AUC_{IV}$  (Li 2008, Hwang y cols 2011, Liu 2012, Song y cols, 2012, Litterio, 2013) mientras que otros estudios muestran valores de AUC ligeramente inferiores a los del presente estudio, manteniéndose en general que los valores de  $AUC_{IM}$  son inferiores a los  $AUC_{IV}$  (Xie y cols, 2013, Zhang y cols, 2014).

En cuanto a la vía subcutánea únicamente disponemos del estudio de Zhou y cols, y cols. (2015), que muestra valores de AUC tras la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea de cefquinoma a 2mg/kg en perros algo inferiores a los del presente estudio, siendo los  $AUC_{IV}$  y  $AUC_{IM}$  muy similares, y el  $AUC_{SC}$  el de mayor valor de las tres vías.

#### 5.4.7.- BIODISPONIBILIDAD (F)

La biodisponibilidad de cefquinoma cuando se administra por vía subcutánea es inferior a la encontrada cuando se administra por vía intramuscular (Tabla 25). Sin embargo, la prueba de Man-Whitney (Tabla 27) pone de manifiesto que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,05$ ). En la Figura 11, se observa de forma gráfica las diferencias existentes entre las biodisponibilidades de las dos vías extravasales.



**Figura 10.-** Biodisponibilidad (F) expresada en porcentaje, obtenida en la oveja tras la administración de cefquinoma por vía intramuscular (IM) y subcutánea (SC) a dosis de 2mg/kg.

### 5.5- INTEGRACIÓN FARMACOCINÉTICA/FARMACODINAMIA (PK/PD)

Cefquinoma pertenece al grupo de antibacterianos cuya actividad es tiempo dependiente, es decir, producen muerte bacteriana en función del tiempo que el antibiótico se encuentra por encima de la CMI (Toutain y cols, 2002; McKellar y cols,

2004). Según Toutain y cols. (2002), el parámetro se calcula por observación directa en una gráfica farmacocinética de concentración versus tiempo.

Dicho parámetro PK/PD se puede expresar en horas o bien, como el porcentaje del tiempo entre administraciones en que las concentraciones plasmáticas se encuentran por encima de la CMI. En el caso de las cefalosporinas, se considera adecuado un  $T > CMI$  al menos del 50% o superior para garantizar el éxito terapéutico, y óptimo cuando es un 80% del intervalo entre las dosis (Toutain y cols, 2002).

No es conveniente que el  $T > CMI$  sea superior a este último porcentaje, es decir que las concentraciones se mantengan sobre la CMI en forma sostenida en todo el tratamiento, debido que, para que cefquinoma pueda actuar, las bacterias deben hallarse en fase de crecimiento. Esto significa que la actividad de cefquinoma se manifiesta justamente en el momento en que sus concentraciones comienzan a disminuir por debajo de la CMI, y justifica la necesidad de disponer, entre administraciones, de un período de concentraciones sub-CMI que permitan a las bacterias reiniciar su fase de crecimiento y de esa manera, ser susceptibles a la siguiente dosis y así sucesivamente hasta disminuir la carga bacteriana (Odenholt, 2001, Picco y cols, 2009).

Además, existen evidencias de efectos sub-CMI que dañan a las bacterias de manera no letal. En general son alteraciones morfológicas (como consecuencia de perturbaciones metabólicas) responsables en la mayoría de los casos de la disminución de su capacidad de adherencia, patogenicidad y virulencia, e incluso se tornan más susceptibles a la acción de los leucocitos (Lorian y cols, 1975; Odenholt, 2001). Pese a ello, tampoco se debe exagerar el tiempo sin exposición a cefquinoma, debido al breve o prácticamente nulo efecto post-antibiótico que experimentan, a excepción de los microorganismos anaerobios Gram-negativos donde el efecto post-antibiótico puede incrementarse hasta casi 12 h (Aldridge, 2002).

En el presente estudio se ha determinado la sensibilidad a cefquinoma frente a doce cepas de *Staphylococcus aureus* obtenidas de ovejas lactantes en granjas comerciales. Como cepas de referencia se utilizaron *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

De las doce cepas estudiadas frente a cefquinoma, todas presentaron una CMI entre un rango de concentraciones de 0,50 mg/L y 0,125 mg/L; una cepa presentó una

CMI de 0,125 mg/L, tres CMI de 0,25 mg/L y ocho de 0,5 mg/L (Tabla 34). Se establece, por tanto, como CMI<sub>90</sub>, un valor de 0,5 mg/L para cefquinoma. Las cepas de referencia han presentado un valor de CMI de 0,25 mg/L para *S. aureus* ATCC 29213 y 0,25 mg/L para *E. coli* ATCC 25922.

Tras la administración de cefquinoma por vía intravenosa e intramuscular se encuentran concentraciones superiores a 0,5mg/L hasta las 4 horas (Tabla 2 y 10). Mientras que, tras la administración por vía subcutánea, fue hasta las 6 horas (Tabla 18). Esto expresado en porcentaje significa que con una administración diaria por vía intravenosa e intramuscular únicamente habría concentraciones por encima la CMI en un 17% (IM) y un 25% (SC). Para que este porcentaje se encuentre por encima del 50%, mínimo porcentaje considerado óptimo, sería necesario administrar el fármaco cada 8 horas para la vía intravenosa e intramuscular (66%) y cada 12 horas (50%) para la vía subcutánea.

Por ello, la administración subcutánea permite disminuir el número de administraciones diarias de cefquinoma.

En otros estudios en los que se analizó la CMI<sub>50</sub> para *S. aureus* y *E. Coli*, se encuentran valores de CMI iguales o inferiores a 0,25 mg/L en la mayoría de los casos (Limbert y cols, 1991, Al-Taher, 2010, Smiet y cols, 2011, ZONCA 2011, WANG 2012, Dinakaran y cols, 2013, Zhang y cols, 2013, Xie y cols, 2013, Shan y cols, 2014, Zhou y cols, 2015).

Con estos valores de CMI inferiores a los del presente estudio, el porcentaje de tiempo que cefquinoma estaría por encima de la CMI sería del 25% para la vía intravenosa e intramuscular y del 33% para la vía subcutánea, lo que permitiría alcanzar valores del 50% tras la administración cada 12 h por vía intravenosa e intramuscular y 67% tras la administración cada 12 h por vía subcutánea.

## **6.-CONCLUSIONES**



1.- El comportamiento farmacocinético de cefquinoma tras su administración intravenosa a una dosis de 2mg/kg en ovejas laconas se ajusta a un modelo bicompartimental, mientras que tras la administración intramuscular y subcutánea también a una dosis de 2mg/kg se ajusta a un modelo monocompartimental. Las ecuaciones que representan sus concentraciones plasmáticas son las siguientes:

$$\begin{aligned}
 1) \text{ IV: } & C = 7250,60 \cdot e^{-3,34 t} + 3828,60 \cdot e^{-0,43 t} && \text{ug/L} \\
 2) \text{ IM: } & C = 6012 \cdot (e^{-0,52 (t-0,15)} - e^{-2,05 (t-0,15)}) && \text{ug/L} \\
 3) \text{ SC: } & C = 89076 \cdot -(e^{-0,38 (t-0,5)} - e^{-0,37 (t-0,5)}) && \text{ug/L}
 \end{aligned}$$

2.- Las semividas en la fase terminal ( $t_{1/2\lambda}$ ) obtenidas para cefquinoma para las diferentes vías de administración son: intravenosa (1,75 h), intramuscular (1,37 h) y subcutánea (1,84 h), siendo muy similares para las tres vías. En cuanto al MRT, presenta los siguientes valores: 1,86 h para la vía intravenosa, 2,64 h para la vía intramuscular y 5,2 h para la vía subcutánea. La permanencia de cefquinoma es superior en las vías extravasculares, especialmente en la vía subcutánea.

3.- La depuración plasmática de cefquinoma en ovejas, medida por el aclaramiento plasmático total (Cl), adquiere un valor de 0,16 L/kg·h tras su administración intravenosa.

4.- El valor del volumen de distribución en el estado estacionario ( $V_{ss}$ ) para cefquinoma tras la administración por vía intravenosa es de 0,32 L/kg, indicando que la distribución del fármaco es limitada en esta especie.

5.- Las constantes de absorción obtenidas para cefquinoma han sido de: 2,05 h<sup>-1</sup> para la vía intramuscular y 0,37 h<sup>-1</sup> para la vía subcutánea. En cuanto al tiempo medio absorción (MAT) se observa un valor de 0,77 h para la vía intramuscular y 3,34 h para la vía subcutánea. Los parámetros de absorción obtenidos tras la administración por

vía subcutánea, justifican por esta vía, que la eliminación del fármaco esté condicionada por la absorción.

**6.-** Las concentraciones plasmáticas máximas ( $C_{max}$ ) obtenidas para cefquinoma por vía intramuscular y subcutánea fueron 2845  $\mu\text{g/L}$  y 957  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente. En cuanto al tiempo para alcanzar dicha concentración ( $T_{max}$ ) fue para la vía intramuscular de 1,08 h y para la vía subcutánea de 3,11 h.

**7.-** El valor de la biodisponibilidad (F) de cefquinoma tras la administración intramuscular es del 79,54% mientras que tras la administración por vía subcutánea es del 60,40%, no existiendo diferencia estadísticamente significativa entre ambos datos.

**8.-** Con las cantidades de cefquinoma halladas en leche tras su administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, podemos afirmar que cefquinoma pasa a leche en una proporción casi insignificante y menor al 0,05%.

**9.-** Con los datos de CMI de cefquinoma, determinados *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y teniendo en cuenta los porcentajes de tiempo que las concentraciones de cefquinoma permanecen por encima de las CMI, en ovino la posología para cepas con una CMI de 0,5 mg/L debería ser de 2mg/kg cada 8 horas para las vías intravenosa e intramuscular y de 2mg/kg cada 12 horas para la vía subcutánea.

## **7.-RESUMEN**



Cefquinoma es una cefalosporina que fue desarrollada exclusivamente para uso veterinario. En su espectro antimicrobiano, ha mostrado ser efectivo frente a bacterias Gram positivas como *Streptococcus spp*, *Staphylococcus aureus* (meticinil sensibles) y aún mayor actividad sobre bacilos Gram negativos como *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacteriaceae spp*, *Pasteurella spp*, *Citrobacter spp*, *Serratia marcescens*, etc. Por otro lado, *Pseudomonas aeruginosa* y *S. aureus* (meticinil resistente) presentan una sensibilidad intermedia frente a cefquinoma. (Limbert y cols, 1991; Sheldon y cols, 2004; Thomas y cols, 2006; Melnikow y cols, 2008; Zonca y cols, 2011) (Ficha técnica AEMPS Cobactan 2,5% suspensión inyectable®). Estos microorganismos son responsables de infecciones respiratorias y cutáneas, meningitis e infecciones mamarias con afectación sistémicas.

Se trata de una cefalosporina de cuarta generación que presenta un aminotiazol y el grupo ciclohexenopiridina. La presencia de un nitrógeno cuaternario mantiene la carga positiva, independientemente del PH del medio. La asociación de esta carga neta con una carga negativa en el C4 del núcleo cefem permite que cefquinoma presente una penetración a través de las porinas bacterianas superior a las cefalosporinas de tercera generación, alcanzando altas concentraciones en el espacio periplasmático de las bacterias Gram negativas (Mella y cols, 2001; Al-Jundy y cols, 2009).

Otro aspecto relevante, es la mayor resistencia de cefquinoma frente a beta-lactamasas (Mella y cols, 2001).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la farmacocinética de cefquinoma en ovejas, administrándola por distintas vías y, por otra parte, determinar las concentraciones mínimas inhibitorias de este antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*, por ser responsable de varias infecciones en la oveja. Esto nos permite establecer los parámetros de eficacia antimicrobiana, en porcentaje de tiempo por encima de la concentración mínima inhibitoria, que permitan fundamentar pautas posológicas para ganado ovino.

El estudio se ha realizado en 5 ovejas, todas ellas sanas y adultas, con pesos que oscilaban entre 61 y 93 Kg, una edad entre 2,5 y 3,5 años y de la raza de origen francés Lacaune, caracterizada por su alta producción lechera.

Las vías de administración y dosis han sido la vía intravenosa (IV), intramuscular (IM) y subcutánea (SC) a la dosis de 2 mg/kg.

La administración intravenosa se realizó en un único bolo en la vena yugular y se obtuvieron muestras de la vena yugular contralateral a los siguientes tiempos:

0 (blanco)	0,083	0,167	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	12	24	36	48
---------------	-------	-------	------	-----	------	---	-----	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

La administración intramuscular se realizó en glúteo y se obtuvieron muestras de la vena yugular a los siguientes tiempos:

0 (blanco)	0,083	0,167	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	12	24	36	48
---------------	-------	-------	------	-----	------	---	-----	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

La administración subcutánea se realizó en a nivel escapular y se obtuvieron muestras de la vena yugular a los siguientes tiempos:

0 (blanco)	0,083	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	12	24	36	48
---------------	-------	------	-----	------	---	-----	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

Las muestras de leche fueron tomadas inmediatamente antes de la dosificación en el día de la administración del tratamiento y a las 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48 h después de la dosis en todos los casos.

La determinación de cefquinoma en plasma se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección por fluorescencia, siguiendo el método descrito por Kumil Uney y cols. (2010) y Zaho y cols. (2012). El ajuste a modelos farmacocinéticos compartimentales se realizó mediante el programa farmacocinético WinNonlin Professional® (Versión 5.2.1). El criterio utilizado para determinar cuál era la ecuación que mejor describía la evolución de los datos experimentales en cada caso, fue el Criterio de Información de Akaike (AIC) (Yamaoka y cols, 1978).

Para la determinación de los parámetros no compartimentales se utilizó el programa WinNonlin Professional® (Versión 5.2.1) y el tratamiento estadístico de los datos se ha realizado con el programa SPSS 19.0. Para comprobar la homogeneidad de los datos se ha realizado la prueba de Kruskal-Wallis. Por otra parte, se han utilizado dos test estadísticos no paramétricos para comprobar si existen o no diferencias significativas de los parámetros farmacocinéticos obtenidos entre las diferentes vías de administración del fármaco, y los animales utilizados. El primero de ellos es la prueba

de Kruskal-Wallis para contrastar si los valores para cada parámetro farmacocinético son iguales o diferentes entre todas las vías de administración (IV, SC, IM). Se realizó también un segundo análisis no paramétrico, la prueba U de Mann-Whitney, para dos muestras independientes, con el fin de determinar entre qué vías se presentan las diferencias. Las diferencias consideradas estadísticamente significativas son aquellas cuya  $P$  es menor de 0,05.

Los resultados obtenidos tras la administración intravenosa muestran que cefquinoma se distribuye según un modelo bicompartimental abierto, a diferencia de lo que ocurre con la administración por vía intramuscular y subcutánea, en las que muestra que se distribuye según un modelo monocompartimental.

Cuando se administró el cefquinoma vía intravenosa, intramuscular y subcutánea se registraron los siguientes tiempos de vida media:  $1,75 \pm 0,42$ ,  $1,37 \pm 0,16$  y  $1,84 \pm 0,19$  h, respectivamente. Los resultados estadísticos muestran que los valores de semivida son similares entre las vías.

Los valores de MRT obtenidos han sido  $1,86 \pm 0,21$ ,  $2,64 \pm 0,17$  Y  $5,20 \pm 0,31$  h, respectivamente. Se observa cómo la permanencia del fármaco es mayor tras la administración extravascular, especialmente en la vía subcutánea.

Sin embargo, los valores de AUC obtenidos han sido  $11861 \pm 1466$ ,  $9247 \pm 773$  y  $6959 \pm 967$   $\mu\text{g}\times\text{h}/\text{L}$ . La biodisponibilidad de cefquinoma es menor cuando se administra dicho antibiótico por vía subcutánea (60%), respecto a la biodisponibilidad obtenida para la vía intramuscular (79,5%).

Cefquinoma administrado por vía intravenosa, intramuscular y subcutánea no superó una excreción en leche superior al 0,05% en ninguna de las 3 vías.

Para el estudio farmacocinético-farmacodinámicos (PK-PD) de cefquinoma se debe tener en cuenta que las cefalosporinas pertenecen al grupo de antibacterianos con actividad tiempo dependiente, es decir, producen la muerte bacteriana según el tiempo que permanecen por encima de la concentración mínima inhibitoria (CMI). En consecuencia, el parámetro farmacocinético-farmacodinámico que se correlaciona con mayor frecuencia con el éxito clínico es el porcentaje de tiempo por encima de la CMI (Toutain y cols, 2002; Mckellar y cols, 2004).

Por esta razón, se determinaron las CMI de cefquinoma frente a cepas de *Staphylococcus aureus* con el fin de determinar los índices farmacocinético-

farmacodinámicos óptimos. Concretamente, se ha determinado la sensibilidad a cefquinoma frente a doce cepas de *Staphylococcus aureus* obtenidas de ovejas en granjas comerciales. Como cepas de referencia se utilizaron *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

De las doce cepas estudiadas frente a cefquinoma, todas presentaron una CMI entre un rango de concentraciones de 0,50 mg/L y 0,125 mg/L; una cepa presentó una CMI de 0,125 mg/L, tres CMI de 0,25 mg/L y ocho de 0,5 mg/L. Se establece, por tanto, como CMI<sub>90</sub>, un valor de 0,5 mg/L para cefquinoma. Las cepas de referencia han presentado un valor de CMI de 0,25 mg/L para *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y de 0,25 mg/L para *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tras la administración de cefquinoma por vía intravenosa e intramuscular se encuentran concentraciones superiores a 0,5mg/L hasta las 4 horas. Mientras que, tras la administración por vía subcutánea, se alcanzaron estas concentraciones hasta las 6 horas. Esto, expresado en porcentajes, significa que, con una administración diaria por vía intravenosa e intramuscular, únicamente habría concentraciones por encima de la CMI en un 17% (IM) y un 25% (SC). Para que este porcentaje se encuentre por encima del 50%, mínimo porcentaje considerado óptimo, sería necesario administrar el fármaco cada 8 horas para la vía intravenosa e intramuscular (66%) y cada 12 horas (50%) para la vía subcutánea.

De dicho estudio se puede concluir que una dosis de 2mg/kg de cefquinoma diaria no permite alcanzar valores de tiempo por encima de la CMI en ninguna de las tres vías. Además, la única vía que permite administraciones con porcentajes de tiempo por encima del 50% administrándose cada 12 h es la vía subcutánea.

## **8.-SUMMARY**



Cefquinome is a cephalosporin developed exclusively for veterinary use. In its antimicrobial spectrum, it has shown to be effective against Gram-positive bacteria such as *Streptococcus spp*, *Staphylococcus aureus* (methicillin-sensitive) and even greater activity on Gram-negative bacilli such as *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacteriaceae spp*, *Pasteurella spp*, *Citrobacter spp*, *Serratia marcescens*, etc. On the other side, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistant) present an intermediate sensitivity to Cefquinome. (Limbert et al, 1991; Sheldon et al, 2004; Thomas et al, 2006; Melnikow et al, 2008; Zonca et al, 2011) (Technical details AEMPS Cobactan 2,5% injectable suspension®). These microorganisms are responsible for respiratory and skin infections, meningitis and mammary infections with systemic involvement.

It is a fourth generation cephalosporin which has an aminothiazole and cyclohexenopyridine group. The presence of a quaternary nitrogen maintains the positive charge, regardless of the pH of the environment. The association of this net charge and a negative charge on the C4 cephem nucleus allows cefquinome to present a penetration through bacterial porins above third-generation cephalosporins, reaching high levels in the periplasmic space of Gram-negative bacteria (Mella et al, 2001; Al-Jundy et al, 2009). Another important aspect is the greater resistance of cefquinome against beta-lactamase (Mella et al, 2001).

Our objective was to evaluate the pharmacokinetics of cefquinome in sheep, by its administration on different routes and, on the other hand, to determine the minimum inhibitory concentrations of this antibiotic against *Staphylococcus aureus*, as it is responsible for several infections. This will allow us to set the parameters for antimicrobial efficacy, in percentage of time above the minimum inhibitory concentration, so that they can provide dosage regimens for sheep. Research has been conducted on five sheep –French Lacaune breed, characterized by its high milk production–, all of them healthy and adult, with weights ranging between 61 and 93 Kg, and with an age between 2,5 and 3,5 years.

Administration routes are intravenous (IV), intramuscular (IM) and subcutaneous (SC), with a dose of 2 mg / kg.

Intravenous administration was conducted in a single bolus into the jugular vein and samples of jugular contralateral vein were obtained at the following times:

0 (blank)	0,083	0,167	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	12	24	36	48
--------------	-------	-------	------	-----	------	---	-----	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

The intramuscular administration was done in the gluteus and samples from the jugular vein were obtained at the following times:

0 (blank)	0,083	0,167	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	12	24	36	48
--------------	-------	-------	------	-----	------	---	-----	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

Subcutaneous administration was performed in the shoulder area and samples from the jugular vein were obtained at the following times:

0 (blank)	0,083	0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	12	24	36	48
--------------	-------	------	-----	------	---	-----	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

Milk samples were taken immediately before dosing on the day of treatment administration and at 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48 hours after administration in all cases.

Determination of cefquinome in plasma was performed by high performance liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detection, following the method of Kumil Uney et al. (2010) and Zaho et al. (2012). The adjustment to compartmental pharmacokinetic models was realized using the pharmacokinetic program WinNonlin Professional® (Version 5.2.1). The criteria used to determine which was the equation that best described the evolution of experimental data in each case was the Akaike Information Criterion (AIC) (Yamaoka et al, 1978).

To obtain the determination of non-compartmental parameters WinNonlin Professional program was used® (Version 5.2.1), and the statistical treatment of the data was performed with the SPSS 19.0 program. To check the consistency of the data, we applied the Kruskal-Wallis test. Moreover, we have used two non-parametric statistical tests to check whether there are significant differences in the pharmacokinetic parameters obtained between the different routes of drug administration and animals used. The first one is the Kruskal-Wallis test, used to test whether the values for each pharmacokinetic parameter are the same or different in all routes of administration (IV, SC, IM). A second non-parametric analysis, test U of

Mann-Whitney, was performed in two independent samples, with the aim of determining in which routes the differences appear. Differences considered statistically significant are those in which p is less than 0.05.

The results obtained after intravenous administration show that cefquinome is distributed according to a two-compartment open model, as opposed to what happens with intramuscular and subcutaneous administration, in which cefquinome is distributed according to a one-compartment model.

When the Cefquinome was administered by intravenous, intramuscular and subcutaneous injection the following half-lives were recorded:  $1.75 \pm 0.42$ ,  $1.37 \pm 0.16$  and  $1.84 \pm 0.19$  h, respectively. Statistical results show that the half-life values are similar between the routes.

MRT values obtained were  $1.86 \pm 0.21$ ,  $2.64 \pm 0.17$  and  $5.20 \pm 0.31$  h, respectively. It is observed that the permanence of the drug is greater after the extravascular administration, especially subcutaneous.

Nevertheless, AUC levels obtained were  $11861 \pm 1466$ ,  $9247 \pm 773$  and  $6959 \pm 967$  g  $\times$  h / L. The bioavailability of cefquinome is lower when the antibiotic is administered subcutaneously (60%) compared to the bioavailability obtained by intramuscular route (79.5%).

Cefquinome administered by intravenous, intramuscular and subcutaneous routes did not exceed in any case a milk excretion higher than 0.05%.

For the pharmacokinetic-pharmacodynamic cefquinome study (PK-PD) it should be noted that cephalosporins belong to the group of antibacterials with time-dependent activity, so this means that they produce bacterial death as long as they remain above the minimum inhibitory concentration. As a consequence, the pharmacokinetic-pharmacodynamic parameter that most frequently correlates with clinical success is the percentage of time above MIC (Toutain et al, 2002, Mckellar et al, 2004).

Thus, the minimum inhibitory concentrations of cefquinome against *Staphylococcus aureus* strains were determined in order to establish the optimal pharmacokinetic-pharmacodynamic indices. Specifically, cefquinome sensitivity has been investigated in twelve *Staphylococcus aureus* strains obtained from commercial

sheep farms. As reference strains, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Escherichia coli* ATCC 25922 were used.

Of the twelve strains tested against cefquinome, all had an MIC range of concentrations between 0.50 mg / L and 0.125 mg / L. One strain showed a MIC of 0.125 mg / L, three showed a MIC of 0.25 mg / L and eight showed a MIC level of 0.5 mg / L. Therefore, it is established for MIC90 a value of 0.5 mg / L for Cefquinome. Reference strains show a MIC level of 0, 25 mg / L for *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and 0.25 mg / L for *Escherichia coli* ATCC 25922.

After the cefquinome administration by intravenous and intramuscular routes, concentrations above 0.5 mg / L are obtained until 4 hours, whereas, after subcutaneous administration, this concentration remained until 6 hours. This, expressed as a percentage, means that with a daily intravenous and intramuscular administration, there would be only concentrations above the MIC for 17% (IM) and 25% (SC). With the aim of this percentage to be above 50%, the minimum percentage considered optimal, it is necessary to administer the drug every 8 hours, for intravenous and intramuscular routes (66%), and every 12 hours (50%) for the subcutaneous route.

From this study it can be concluded that a dose of 2mg / kg daily Cefquinome does not achieve values of time above the MIC in any of the three routes. Furthermore, the only route that allows administrations with time percentages above 50%, and being administered every 12 hours, is the subcutaneous route.

## **9.-BIBLIOGRAFÍA**



ALDRIDGE, KE. Comparison of the post-antibiotic effect (PAE) induced by ceftizoxime, ceftriaxone, ceftiofur, ampicillin-sulbactam, and ticarcillin-clavulanate against selected isolates of *Bacteroides fragilis* and *B. thetaiotaomicron*. *Anaerobe*. 2002; 8(6): 295-9.

AL-JUNDY, AM; TOHAMY, MA y RADI, AM. Pharmacokinetic profile and some pharmacodynamic aspects of cefquinome in chickens- Beni-Suef Veterinary Medical Journal. 2009; 19(1): 33-7.

ALLAN, J y MACHADO, R. Combinaciones de antimicrobianos. *Acta medica*. 1998; 8(1): 101-4

ALLAN, MJ y THOMAS, E. Pharmacokinetics of cefquinome after parenteral administration of an aqueous solution in the horse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2003;26 (Suppl. 1): 82-307

AL-TAHER, AY. Pharmacokinetics of cefquinome in camels. *J. Anim. Vet. Adv*. 2010;9: 848-52.

AMBLER, RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Tans R Soc Lond B Biol Sci*. 1980; 289(1036):321-31

ANDES, D y CRAIG, WA. Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2002; 19: 261-8.

AUSINA RUIZ, V y MORENO GUILLÉN, S. Tratado seimc de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Madrid: Ed. Médica Panamericana; 2006

ASLAM, MA; AHMED, Z y AZIM, R. Microbiology and drug sensitivity patterns of chronic suppurative otitis media. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2004; 14(8): 459-61

ATEF, M; RAMADAN, A; AFIFI, NA y YOUSSEF, SA. Pharmacokinetic profile of cefotaxime in goats. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*. 1990; 97(8): 32-7.

ATKINSON, AJ y KUSHNER, W. Clinical Pharmacokinetics. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*. 1979; 19: 105-27

BALDO, BA. Penicillins and cephalosporins as allergens structural aspects of recognition and cross-reactions. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 744-49

BARSANTI, JA; CHATFIELD, RC; SHOTTS, EB; CROWELL, WA y HARDIN, JA. Efficacy of cefadroxil in experimental canine cystitis. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 1985; 21: 89-93

BARZA, M; LYNCH, E y BAUM, J L. Pharmacokinetics of newer cephalosporins after subconjunctival and intravitreal injection in rabbits. *Arch Ophthalmol*. 1993; 111(1): 121-5

BELTRÁN C. Farmacocinética y farmacodinamia de antimicrobianos: Utilidad práctica. *Rev Chil Infect*. 2004; 21 (Supl 1): S39-S44

BISHOP, R y WEINER, J. Coordinate regulation of murein peptidase activity and AmpC  $\beta$ -lactamase synthesis in *E. coli*. *FEBS LEFT*. 1992; 304(2-3): 103-8

BLANCA, M; VEGA, JM; GARCÍA, J; MIRANDA A; CARMONA, MJ y JUÁREZ, C. New aspects of allergic reactions to beta-lactams-crossreactions and unique specificities. *Clin. Exp. Allergy* 194; 24: 407-15.

BLOCK, CV, WANNER, M y HEINRITZI, K. (2005) PHARMACOKINETICS OF CEPHALOSPORINE CEFQUINOME IN SOWS AT DIFFERENT REPRODUCTION-PHASE. *TIERARZTLICHE UMSCHAU*, 2005; 60: 137-45.

BOHNEN, JM; SOLOMKIN, JS; DELLINGER, EP; BJORNSON, HS Y PAGE CP. Guidelines for clinical care: anti-infective agents for intra-abdominal infection. A Surgical Infection Society policy statement. *Arch Surg*. 1992; 127(1): 83-9.

BROGDEN, RN; CARMINE, A; HEEL, RC; MORLEY, PA; SPEIGHT, TM y AVERY, GS. Cefoperazone: A review of its in vitro antimicrobial activity, pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs*. 1981; 22(6): 423-60.

BROWN, DF y REYNOLDS, PE. Intrinsic resistance to beta-lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. *FEBS Lett*. 1980; 122(2): 275-8

BROWN, GR. Cephalosporin-probencid drug interactions. *Clin Pharmacokinetic* 1993; 24(4): 289-300

BROWN MP; GRONWALL, RR y HOUSTON, AE. Pharmacokinetics and body fluid and endometrial concentrations of cefoxitin in mares. *Am J Vet Res*. 1986; 47(8): 1734-8.

BROWN, MP; GRONWALL, R; GOSSMAN, TB y HOUSTON, AE. Pharmacokinetics and serum concentrations of cephapirin in neonatal foals. *Am J Vet Res.* 1987; 48(5): 805-6

BUSH, K; JACOBY, GA y MEDEIROS, A. A funcional classification scheme for beta-lactamases and its corelation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1995; 39(6): 1211-33.

CAMPAGNA, JD; BOND, MC; SCHABELMAN, E y HAYES, BD. The use of cephalosporins in penicillin-allergic patients: a literature review. *J Emerg Med.* 2012; 42(5): 612-20.

CAMPBELL, BG Y ROSIN, E. Effect of food on absorption of cefadroxil and cephalexin in dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 1998; 21(5): 418-20.

CANEPARI, P; LLEO, MM; CORNAGLIA, G; FONTANA, R y SATTÀ, G. In *Streptococcus faecium* penicillin-binding protein 5 alone is sufficient for growth at sub-maximal but not at maximal rate. *J. Gen. Microbiol.* 1986; 132: 625–31

CARLBERG, H; ALESTIG, K; NORD, CE y TROLLFORS, B. Intestinal side effects of cefoperazone. *J Antimicrob Chemother.* 1982; 10(6): 483-7.

CARLI, S; ANFOSSI, P; VILLA, R; CASTELLANI, G; MENGOZZI, G y MONTESISSA, C. Absorption kinetics and bioavailability of cephalexin in the dog after oral and intramuscular administration. *J Vet Pharmacol Ther.* 1999; 22(5): 308-13.

CHAMBERS, HF. Penicillin-binding protein-mediated resistance in pneumococci and staphylococci. *J infect Dis.* 1999; 179 Suppl 2: S353-9

CHAMBERS, HF. Solving staphylococcal resistance to beta-lactams. *Trends Microbiol.* 2003 Apr;11(4): 145-8

CHATFIELD, RC; GINGERICH, DA; ROURKE, JE y STROM, PW. Cefradroxil: a new orally effective cephalosporin antibiotic. *Vet Med.* 1984; 79:339-46

CHIKWAVA, KR; SAVELL, VH y BOYD, TK. Fatal cephalosporin-induced acute hypersensitivity myocarditis. *Pediatr Cardiol.* 2006; 27(6): 777-80

CORDIÉS, L; MACHADO, LA y HAMILTON, ML. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Medica.* 1998; 8(1): 13-27.

CRAIG, WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases* 1998; 26: 1–10.

DALY, RC; FITZGERALD, RH y WASHINGTON, JA. Penetration of cefazolin into normal and osteomyelitic canine cortical bone. *Antimicrob Agents Chemother.* 1982; 22(3): 461–9

DÁMASO, D. *Antibacterianos*. 1ª Edición. Madrid: Ed. Marketing Pharm, S.A.; 1990

DAVIS, BD; DULBECCO, R; EISEN, HN; GINSBERG, HS y WOOD, BW. *Principles of Microbiology and Immunology*. New York, Ed. Harper & Row; 1968

DAVIS, JL; SALMON, JH y PAPICH, MG. Pharmacokinetics and tissue fluid distribution of cephalexin in the horse after oral and i.v. administration. *J Vet Pharmacol Ther.* 2005; 28(5): 425-31.

DINAKARAN, V; DUMKA, VK; RANJAN, B; BALAJE, R y SIDHU PK. Pharmacokinetics following intravenous administration and pharmacodynamics of cefquinome in buffalo calves. *Trop. Anim. Health Prod.* 2013; 45: 1509–12.

DINAKARAN V y DUMKA VK. Pharmacokinetic profile of cefquinome after oral subchronic flubendiamide exposure and in vitro plasma protein binding in buffalo calves. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015; 39(1): 321-6

DOMÉNECH BERROZPE, J; MARTÍNEZ LANAO, J y PLÁ DELFINA, JM., 1997. *Biofarmacia y Farmacocinética*. Ed. Síntesis S.A., Madrid. Volumen 1.

DONG, H; ZHANG, J; REN, L; LIU, Q y ZHU, S. Unexpected death due to cefuroxime-induced disulfiram-like reaction. *Indian J Pharmacol.* 2013; 45(4): 399-400.

DUFFEE, NE; CHRISTENSEN, JM; CRAIG, AM. The pharmacokinetics of cefadroxil in the foal. *J Vet Pharmacol Ther.* 1989; 12(3): 322-6

EHINGER, AM; SCHMIDT, H y KIETZMANN, M. Tissue distribution of cefquinome after intramammary and systemic administration in the isolated perfused bovine udder. *Vet. J.* 2006; 172: 147–53.

EL-HEWAITY M; EL LATIF AA; SOLIMAN A y ABOUBAKR M. Comparative Pharmacokinetics of Cefquinome (Cobactan 2.5%) following Repeated Intramuscular Administrations in Sheep and Goats. *Journal of Veterinary Medicine* 2014; 2014: 1-5.

EL-SOUD, KA; EL-BANNA, HA; HANAFY, MS y GOUDAH, A. Pharmacokinetics and intramuscular bioavailability of cefuroxime sodium in goats. *Res Vet Sci.* 2000; 69(3): 219-24.

ENTENZA, JM; HOHL, P; HEINZE-KRAUSS, I; GLAUSER, MP y MOREILLON, P. BAL9141, a Novel extended-spectrum cephalosporin active against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in treatment of experimental endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(1): 171-7

ERRECALDE, C; PRIETO, G; PUELLES, I; LUDERS, C y GARCÍA, OH. Farmacocinética de cefquinome en ternero por aplicación intramuscular. *Rev Col Cienc Pec* 2002; 15(3): 281-5.

FASS, RJ; PERKINS, RL y SASLOW, S. Cephalexin – a new oral cephalosporin: clinical evaluation in sixty-three patients. *Am J Med Sci.* 1970; 259(3): 187-200

FILE, TM; WILCOX, MH y STEIN, GE. Summary of ceftaroline fosamil clinical trial studies and clinical safety. *Clin Infect Dis.* 2012;55 Suppl 3:S173-80.

FICHA TÉCNICA COBACTAN 2,5% p/v suspensión inyectable®

FLÓREZ, J. Farmacología humana. 4º ed. Ed: Flórez J. Masson, S.A. Barcelona

FONATANA, R; GROSSATO, A; ROSSI, L; CHEN, YR y SATTÀ, G. Transition from resistance to hypersusceptibility to beta-lactam antibiotics associated with loss of a low-affinity penicillin-binding protein in a *Streptococcus faecium* mutant highly resistant to penicillin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985; 28(5): 678-83

FONTANA, R; ALDEGHERI, M; LIGOZZI, M; LOPEZ, H; SUCARI, A y SATTÀ, G. Overproduction of a low-affinity penicillin-binding protein and highlevel ampicillin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994; 38: 1980–3

FRANK, LA y KUNKLE, GA. Comparison of the efficacy of cefadroxil and generic and proprietary cephalexin in the treatment of pyoderma in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1993; 203(4): 530-3.

FRERE, JM; GALLEN, M; BUSH, K y DIDEBERG, O. Is it necessary to change the classification of b-lactamases? *J Antimicrob Chemother.* 2005; 55(6): 1051-3

FRIEDLAND, IR y MCCracken, GH. Management of infections caused by antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N Engl J Med.* 1994; 331(6): 377-82.

FUNG-TOMC, JC; CLARK, J; MINASSIAN, B; PUCCI, M; TSAI, YH; GRADELSKI, E y cols. In Vitro and In Vivo Activities of a Novel Cephalosporin, BMS-247243, against Methicillin-Resistant and Susceptible Staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(4): 971-6.

GADDE, J; SPENCE, M; WHEELER, B y ADKISSON, NF. Clinical experience with penicillin skin testing in a larger inner city STD clinic. *JAMA* 1993; 270: 2456-63

GALDIERO, S; FALANGA, A; CANTISANI, M; TARALLO, R; DELLA-PEPA, ME; D'ORIANO, V y cols. Microbe-Host Interactions: Structure and Role of Gram-Negative Bacterial Porins. *Curr Protein Pept Sci.* 2012; 13(8): 843-54.

GARCÍA-SÁNCHEZ, JE; LÓPEZ, R y PRIETO, J. *Antimicrobianos en medicina.* Barcelona. Prous Science : Sociedad Española de Quimioterapia. 1999

GIBALDI, M y PERRIER, P. *Pharmacokinetics* 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker. New York; 1982

GIULABI, F; DOCGUIR, JD; RICCIO, ML; PAGANI, L y ROSSOLINI, GM. OXA-46, a New Class D beta-Lactamase of Narrow Substrate Specificity Encoded by a blaVIM-1-Containing Integron from a *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolate. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49(5): 1973-80.

GOBERNADO, M. Extended-spectrum beta-lactamases on the rise. *Rev Esp Quimioter.* 2005; 18(2): 115-7

GOODMAN y GILMAN. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.* 11<sup>a</sup> Edicion. Mexico: Editorial Médica Panamericana; 1991

GÓMEZ, J; GARCÍA-VÁZQUEZ, E y HERNÁNDEZ-TORRES, A. Los betalactámicos en la práctica clínica. *Rev Esp Quimioter.* 2015; 28(1): 1-9

GUNDSTROM, T; JAURIN, B; EDLUND, T y NORMAK, S. Physical mapping and expression of hybrid plasmids carrying chromosomal beta-lactamase genes of *Escherichia coli* K-12. *JBacteriol.* 1980; 143(3): 1127-34.

GUERRINI, VH; FILIPPICH, LJ; CAO, GR; ENGLISH, PB y BOURNE, DW. (1985). Pharmacokinetics of cefaronide, ceftriaxone and cefoperazone in sheep. *J Vet Pharmacol Ther.* 1985; 8(2): 120-7.

GUIGUÉRE, S; PRESCOTT, JF; BAGGOT, JD; WALKER, RM y DOWLING, PM. *Antimicrobial in veterinary medicine.* 4<sup>o</sup> Edicion. Eds. Blackwell Publishing, Iowa, USA; 2006

GULERIA, V; SHARMA, N; AMITABH, S y NAIR, V. Ceftriaxone-induced hemolysis. *Indian J Pharmacol.* 2013 Sep-Oct; 45(5): 530–1.

GUPTA, V. An update on newer beta-lactamases. *Indian J Med Res.* 2007; 126(5): 417-27

HARTMAN, BJ y TOMASZ, A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 1984; 158(2): 513-6.

HARVEY, RA y CHAMPE, PC. *Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology.* J.B. Lippincott Company. Philadelphia. 1992

HENZE, UU y BERGER-BACHI, B. Penicillin-Binding Protein 4 Overproduction Increases b-Lactam Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40(9): 2121-5

HERITAGE, J; M'ZALI, FH; GASCOYNE-BINZI, D y HAWKEY, PM. Evolution and spread of SHV extended-spectrum beta-lactamases in gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 1999; 44(3):309-18

HOMATOUNI, H; GROSS, PA; SETIA, U y LYNCH, TJ. Leukopenia due to penicillin and cephalosporin homologues. *Arch Intern Med.* 1979; 139(7): 827-8.

HORNISH, RE y KOTARSKI, SF. Cephalosporins in veterinary medicine - ceftiofur use in food animals. *Curr Top Med Chem.* 2002; 2(7): 717-31.

HWANG, YH; SONG, IB; LEE, HK; KIM, TW; KIM, MS; LIM, JH y cols. Pharmacokinetics and bioavailability administration of cefquinome in rabbits following intravenous and intramuscular. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2011; 34: 618–20.

ISMAIL, MM. Pharmacokinetics, urinary and mammary excretion of ceftriaxone in lactating goats. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2005; 52(7): 354-8.

ITO, S y LEE, A. Drug excretion into breast milk--overview. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003; 55(5):617-27

JACOBY, GA y MUÑOZ-PRICE, LS. The new beta-lactamases. *N Engl J Med.* 2005; 352(4): 380-91

JOHNSON, AP; WARNER, M; CARTER, M y LIVERMORE, DM. In vitro activity of cephalosporin RWJ-54428 (MC-02479) against multidrug-resistant Gram-Positive Cocci. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(2): 321-6

JONES, RN. A review of cephalosporin metabolism: a lesson to be learned for future chemotherapy. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1989; 12(1): 25-31.

JOURIN, B y GUNDSTROM, T. AmpC cephalosporinase of *Escherichia coli* K-12 has different evolutionary origin from that of beta-lactamases of the penicillinase type. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1981; 78(8): 4897-901

KAMEI, C; SUGIMOTO, Y y TASAKA K. The effects of cephem antibiotics and related compounds on the aldehyde dehydrogenase in rat liver mitochondria. *Biochem Pharmacol.* 1987; 36(12): 1933-9

KANNANGARA, DW; SMITH, B y COHEN, K. Exfoliative dermatitis during cefoxitin therapy. *Arch Intern Med.* 1982; 142(5):1031-2

KAPLAM, SL; MASON, EO; KVERNLAND, SJ; LOISELLE, EM y FEIGIN, RD. Moxalactam treatment of serious infections primarily due to *Haemophilus influenzae* type b in children. *Pediatrics.* 1983;71(2): 187-91

KARCHMER, AW. Cephalosporins. In: Mandell, Douglas & Bennett's. Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell G L, Bennett J E, Dolin R, eds. Fifth edition. Philadelphia: Churchill Livingstone 2000; 274-99

KELKAR, PS y LI, JT. Cephalosporin allergy. *N Engl J Med.* 2001; 345(11): 804-9

KLEIN, NC y CUNHA, BA. Third-generation cephalosporins. *Med Clin North Am.* 1995; 79(4): 705-19.

KOBAYASHI, Y; TAKAHASHI, I y NAKAE, T. Diffusion of beta-lactam antibiotics through liposome membranes containing purified porins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1982; 22(5): 775-80

KWON, H; LEE, SH; KIM, SE; LEE, JH; JEE, YK; KANG, HR y cols. Spontaneously reported hepatic adverse drug events in Korea: multicenter study. *J Korean Med Sci.* 2012; 27(3): 268-73

LAVY, E; SHEM-TOV, M; OR-BACH, A; ZIV, G; GLICKMAN, A y SARAN, A. Oral availability and bioequivalence studies in dogs of two cephalexin tablets and a cephalexin capsule. *J Vet Pharmacol Ther.* 1997; 20(Suppl 1): 63-44

LEAF, DE; LANGER, NB; MARKOWSKI, M; GARRATTY, G y DIUGUID, DL. A severe case of cefoxitin-induced immune hemolytic anemia. *Acta Haematol.* 2010;124(4): 197-9

LI, XB; WU, WX; SU, D; WANG, Z.J; JIANG, HY y SHEN, JZ. Pharmacokinetics and bioavailability of cefquinome in healthy piglets. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2008; 31: 523-7

LIM, D y STRYNADKA, N. Structural basis for the  $\beta$ -lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Struct Biol.* 2002; 9(11): 870-6.

LIM, JH; LEE, HG; KIM, TW; SONG, IB; KIM; MSHWANG, YH y cols. Comparison of microbiological assay and high-performance liquid chromatography/mass spectrometry for the pharmacokinetics of cefquinome in pigs. *Agricultural Journal.* 2011; 6(6): 374-7.

LIMBERT, M; ISERT, D; KLESEL, N; MARKUS, A; SEEGER, K; SEIBERT, G y cols. Antibacterial activities in vitro and in vivo and pharmacokinetics of cefquinome (HR 111V), a new broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991; 35: 14-9.

LIN RY. A perspective on penicillin allergy. *Arch Intern Med* 1992; 152: 930-7.

LITTERIO NJ. Estudio farmacocinético-farmacodinámico de la cefquinoma en cabras en función de la edad, la gestación y la lactancia. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid

LIU, B; ZHANG, C; ZHANG, X; YANG, S; YU, J; SUN y cols. Pharmacokinetics and bioavailability of cefquinome in crossbred wild boars. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics,* 2012; 35: 611-4.

LOCKEY, R y BUKANTZ, S. *Allergens and Allergen Immunotherapy.* 2ª Edición, Nueva York. Ed. Marcel Dekker 1999; 273-96.

LODE, H; FASSBENDER, M; SCHABERG, T; BORNER, K y KOEPPE, P. Comparative pharmacokinetics of the new oral cephalosporins. *Drugs.* 1994; 47 Suppl 3:10-9; discussion 19-20.

LORIAN, V. Some effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on bacteria. *Bull N Y Acad Med.* 1975; 51(9): 1046-55.

MADEN, M; TRAŞ, B; BAŞ, AL; ELMAS, M; YAZAR, E y BIRDANE FM. Investigation of biochemical and haematological side-effects of cefquinome in healthy dogs. *Vet Q.* 2001; 23(1): 32-4

MCARTHUR, JE y DYMENT, PG. Stevens-Johnson syndrome with hepatitis following therapy with ampicillin and cephalexin. *N Z Med J.* 1975; 81(538):390-2.

MCKELLAR, QA; SANCHEZ BRUNI, SF y JONES, D. G. Pharmacokinetic / pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther.* 2004; 27(6): 503-14.

MACGOWAN, A y BOWKER, K. Developments in PK/PD: optimising efficacy and prevention of resistance. A critical review of PK/PD in in vitro models. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2002; 19: 291–8.

MARTINEZ, M y MODRIC, S. Patient variation in veterinary medicine: part I. Influence of altered physiological states. *J Vet Pharmacol Ther.* 2010; 33(3): 213-6

MCDONALD, JM. Efficacy of cefradoxil in the treatment of bacterial dermatitis in dogs. *JAVMA.* 1989; 194: 57-8

MCMAHON, FG. Disulfiram-like reaction to a cephalosporin. *JAMA.* 1980; 243(23): 2397

MEDEIROS, A. Evolution and dissemination of  $\beta$ -Lactamases by generations of  $\beta$ -Lactam. *Antibiotics. Clin. Infect. Dis.* 1997; 24. (24) Sup 1, S19-S45

MELNIKOW, E; SCHOENFELD, C; SPEHR, V; WARRASS, R; GUNKEL, N; DUSZENKO, M y cols. A compendium of antibiotic-induced transcription profiles reveals broad regulation of *Pasteurella multocida* virulence genes. *Vet Microbiol.* 2008; 131(3-4): 277-92.

MELLA, S; ZEMELMAN, C; BELLO, H; DOMÍNGUEZ, M; GONZÁLEZ, G y ZEMELMAN, R. Propiedades microbiológicas, clasificación y relación estructura-actividad de cefalosporinas e importancia de las cefalosporinas de cuarta generación. *Rev Chil Infectol.* 2001; 18(1): 7-19.

MEYER, S; GIGUÈRE, S; RODRIGUEZ, R; ZIELINSKI, RJ; GROVER, GS y BROWN, SA. Pharmacokinetics of intravenous ceftiofur sodium and concentration in body fluids of foals. *J Vet Pharmacol Ther.* 2009; 32(4): 309-16.

MEMMI, G; FILIPE, SR; PINHO, MG; FU, Z y CHEUNG, A. Staphylococcus aureus PBP4 Is essential for  $\beta$ -lactam resistance in community-acquired methicillin-resistant strains. Antimicrob Agents Chemother. 2008; 52(11): 3955-66

MOREJÓN, M. Ceftarolina y ceftobiprol, nuevas cefalosporinas. Rev Cubana Farm 2011; 45(3): 318-320

MOUALLEM, R. Comparative efficacy and safety of cephadrine and cephalexin in children. J Int Med Res. 1967; 4(4): 265-71

MULLIGAN, ME; MURRAY-LEISURE, KA; RIBNER, BS; STANDIFORD, HC; JOHN, JF y KORVICK, JA. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. Am J Med. 1993;94(3): 313-28

MURRAY, PR; ROSENTHAL, KS y PFAUER, MA. Microbiología Médica. 5ª Edición. Madrid: El Servier; 2006 .

NAKAMURA, K; NAKAGAWA, A; TANAKA, M; MASUDA, H; HAYASHI, Y y SAIONJI K. Effects of cephem antibiotics on ethanol metabolism. Nihon Yakurigaku Zasshi. 1984; 83(2): 183-91

NODA, A; y VIDAL, A. Farmacocinética y farmacodinamia, implicación en un uso más racional de los antimicrobianos. Rev Cubana Farm. 2010; 44(4): 533-46

NORRBY, R; FOORD, RD; PRICE, JD y HEDLUND, P. Clinical and Pharmacokinetic studies on cefuroxime. J Antimicrob Chemother. 1977; 3(4): 355-62

NORRBY, R; FOORD, RD; PRICE, JD y HEDLUND, P. Pharmacokinetic and clinical studies on cefuroxime. Proc R Soc Med. 1977; 70(Suppl 9): 25-33.

NORRBY, R. Side effects of cephalosporins. Drugs. 1987; 34(Suppl2): 105-120

O'CALLAGHAN, CH. Description and classification of the newer cephalosporins and their relationship with the established compounds. J Antimicrob Chemother 1979; 5: 635-71

ODENHOLT, I. Pharmacodynamic effects of subinhibitory antibiotic concentrations. Int J Antimicrob Agents. 2001; 17(1): 1-8.

ONIONS, AHS y BRADY, BL. Taxonomy of Penicillium and Acremonium [Biotechnology Handbooks ]. Vol 1. New York & London: Da Capo Press (Plenum); 1987

PAPICH, MG; DAVIS, JL y FLOERCHINGER, AM. Pharmacokinetics, protein binding, and tissue distribution of orally administered cefpodoxime proxetil and cephalexin in dogs. Am J Vet Res. 2010; 71(12): 1484-91.

PATEL, PN; PATEL, UD; BHAVSAR, SHK y THAKER, AM. Pharmacokinetics of Cefepime Following Intravenous and Intramuscular Administration in Sheep. Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics. 2010; 9(1): 7-10

PATERSON, DL y BONOMO, RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005; 18(4): 657-86

PATTERSON, JE. Extended-spectrum beta-lactamases. Semin Respir Crit Care Med. 2003; 24(1): 79-88.

PETERSEN, SW y ROSIN E. In vitro antibacterial activity of cefoxitin and cefotetan nad pharmacokinetics in dogs. Am J Vet Res. 1993; 54(9): 1496-9

PICCO, E; STIEFEL, S; CERRA, M; MICHEL, A; RUBIO, M y FORMENTINI, E. Antibacterianos: certezas e hipótesis acerca de la relación farmacocinética-farmacodinámica (PK-PD) de los mismos. Panorama Actual Med. 2009; 33(327): 994 - 1007

PITOUT, JD; SANDERS, CC y SANDERS, WE. Antimicrobial resistance with focus on beta-lactam resistance in gram-negative bacilli. Am J Med. 1997; 103(1): 51-9.

PLÁ, JM y POZO, A. Manual de iniciación a la biofarmacia (Farmacocinética aplicada). Romargraf. Barcelona. 1974

POPICK, AC; CROUTHAMEL, WG y BEKERSKY, I. Plasma protein binding of ceftriaxone. Xenobiotica. 1987; 17(10): 1139-45

QUINTILIANI, MD. Using pharmacodynamic and pharmacokinetic concepts to optimize treatment of infectious diseases. Infect. Med., 2004; 21(5): 219-33

RIVAS, KB; RIVAS, MA; DÁVILA, EL y RODRÍGUEZ, M. Cefalosporinas. De la primer a la cuarta generación. RFM. 2002; 25(2): 142-53

RIVIERE, J y PAPICH, M. Veterinary pharmacology and therapeutics. 9ª Edición. Iowa: Ed. Blackwell Publishing Professionals; 2009

ROSIN, E; UPHOFF, TS; SCHULTZ-DARKEN, NJ y COLLINS, MT. (1993). Cefazolin antibacterial activity and concentrations in serum and the surgical wound in dogs. *Am J Vet Res.* 1993; 54(8): 1317-21

ROUZZI, A; KHALIFA, B; AL-HAMDAN, H y BONDAGJI, N. The routine use of cefazolin in cesarean section. *Int. J Gynaecol. Obstet.* 2000; 69(2): 107-12

RULE, R; VILLAGRA, S; BARRENA, P; LACCHINI, R y REYNALDI, FJ. Pharmacokinetics of ceftazidime administered to lactating and non-lactating goats. *J S Afr Vet Assoc.* 2011; 82(4): 219-23

SABATH, LD. Reappraisal of the antistaphylococcal activities of first-generation (narrow-spectrum) and second-generation (expanded-spectrum) cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989; 33(4):407-11

SADER, HS; FARRELL, DJ; MENDES, RE; FLAMM, RK; CASTANHEIRA, M y JONES, RN. Antimicrobial activity of ceftaroline tested against bacterial isolates causing respiratory tract and skin and skin structure infections in US medical centers in 2013. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015 Feb 10. pii: S0732-8893(15)00031-0

SÁNCHEZ-SANCHO, F; PÉREZ-INESTROSA, E; SUAÚ, R; MONTAÑEZ, MI; MAYORGA, C; TORRES, MJ y cols. Synthesis, characterization and immunochemical evaluation of cephalosporin antigenic determinants. *J Mol Recognit.* 2003; 16(3): 148-56.

SAN MARTÍN, BN; BATAGLIA, J; HERNÁNDEZ, P; QUIROZ, A y CAÑÓN, H. Absorption and excretion of cefquinome in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in freshwater at 10 degrees C. *Zentralbl Veterinarmed A.*, 1998; 45: 615–23

SCHLEGEL, H. Microbiología general. Nueva edición. Barcelona: Ediciones Omega S.A; 1997

SCHURMAN, DJ; BURTON, DS; KAJIYAMA, G; MOSER, K y NAGEL, DA. Sodium cephalorin disposition and distribution into human bone. *Curr Ther Res Clin Exp.* 1976; 20(2): 194-203.

SHAN, Q; YANG, F; WANG, J; DING, H; HE, L y ZENG, Z. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship of cefquinome against *Pasteurella multocida* in a tissue-cage model in yellow cattle. *J Vet Pharmacol Ther.* 2014; 37(2): 178-85

SHAN, Q; LIANG, C; WANG, J; LI, J y ZENG, Z. In vivo activity of cefquinome against *Escherichia coli* in the thighs of neutropenic mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(10): 5943-6

SHARIATMADAR, S.; STORRY, JR; SAUSAIS, L y REID, M.E. Cefotetan-induced hemolytic anemia following prophylaxis for cesarean delivery. *Immunohematology.* 2004; 20(1): 63-6

SHELDON, IM; BUSHNELL, M; MONTGOMERY, J y RYCROFT, AN. Minimum inhibitory concentrations of some antimicrobial drugs against bacteria causing uterine infections in cattle. *Vet Rec.* 2004; 155(13): 383-7.

SIFAOU, F; ARTHUR, M; RICE, L y GURMANN, L. Role of penicillinbinding protein 5 in expression of ampicillin resistance and peptidoglycan structure in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45:c2594-7.

SILVERBLATT, F; TURCK, M y BULGER, R. Nephrotoxicity due to cephaloridine: a light- and electron-microscopic study in rabbits. *J Infect Dis.* 1970; 122(1): 33-44.

SILVIU DAN, F; MAC PHILIPS, S y WARRINGTON RJ. The frequency of skin-test reactions to side-chain penicillin determinants in immediate hypersensitivity to penicillins. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91: 694-701

SIMPSON, IJ. Nephrotoxicity and acute renal failure associated with cephalothin and cephaloridin. *N Z Med J.* 1971; 74(474): 312-5.

SMIET, E; HARITOVA, A; HEIL, BA; FINK-GREMMELS, J y WIJNBERG, ID. Comparing the pharmacokinetics of a fourth generation cephalosporin in three different age groups of New Forest ponies. *Equine Veterinary Journal Supplement*, 2011; 44 (Suppl. 41): 52-6.

SNYDMAN, DR; MCDERMOTT, L; CUCHURAL, GJ; HECHT, DW; IANNINI, PB; HARRELL, LJ y cols. Analysis of trends in antimicrobial resistance patterns among clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group species from 1990 to 1994. *Clin Infect Dis.* 1996; 23 Suppl 1:S54-65.

SOBACK, S; ZIV, G; BOR, A y SHAPIRA, M. Pharmacokinetics of cephalexin glycinate in lactating cows and ewes. *Zentralbl Veterinarmed A.* 1988; 35(10): 755-60

SONG, IB; KIM, TW; LEE, HG; KIM, MS; HWANG, YH; PARK BK y cols. Influence of the injection site on the pharmacokinetics of cefquinome following intramuscular injection in piglets. J Vet Med Sci. 2013; 75(1): 89-92

SPRATT, B. Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of E. coli K 12. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1975; 72(8): 2999-3003

STEADMAN, E; RAISCH, DW; BENNETT, CL; ESTERLY, JS; BECKER, T; POSTELNICK, M y cols. Evaluation of a potential clinical interaction between ceftriaxone and calcium. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54(4): 1534-40

STEGEMANN, MR; SHERINGTON, J y BLANCHFLOWER, S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ceftiofur in dogs. J Vet Pharmacol Ther. 2006(a); 29(6): 501-11.

STEGEMANN, MR; SHERINGTON, J; COATI, N; BROWN, SA y BLANCHFLOWER, S. Pharmacokinetics of ceftiofur in cats. J Vet Pharmacol Ther. 2006(b); 29(6): 513-24

SUÁREZ, C y GUDIOL, F. Antibióticos betalactámicos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009; 27(2): 116-29

SWATI, S; PATEL, UD; BHAVSAR, SK y THAKER, AM. Pharmacokinetics and Bioavailability of Ceftriaxone in Patanwadi Sheep. Online veterinary journal. 2010, Vol. 5 No. 2, Article 66. Disponible en: <http://www.vetscan.co.in/v5n2/66-ceftiofur-sheep.htm>

TAFUR, JD; TORRES, JA y VILLEGAS, MV. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativa. Infectio. 2008; 12(3), 223-33.

TESSIER, PR; NICOLAV, DP; ONYEJI, CO y Nightingale, CH. Pharmacodynamics of intermittent- and continuous- infusion ceftiofur alone and in combination with once daily tobramycin against *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro infection model. Chemotherapy. 1999; 45(4): 284-95

THOMAS, E; THOMAS, V y WILHELM, C. Antibacterial activity of cefquinome against equine bacterial pathogens. Vet. Microbiol. 2006; 115: 140-7.

TOHAMY, MA. Age-related intramuscular pharmacokinetics of cefquinome in sheep. Small Rumin. Res. 2011; 99: 72-6.

TOMASZ, A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Clin Infect Dis. 1997; 24 Suppl 1: S85-8.

TOUTAIN, PL; DEL CASTILLO, J y BOUSQUET-MÉLOU, A. The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Res Vet Sci.* 2002; 73 (2): 105-14.

TREES, DL y IANDOLO, JJ. Identification of a *Staphylococcus aureus* transposon (Tn4291) that carries the methicillin resistance gene(s). *J Bacteriol.* 1988; 170(1): 149-54.

UBAKATA, K; YAMASHITA, N y KONNO, M. Occurrence of a 13-lactam-inducible penicillin-binding protein in methicillin-resistant staphylococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985; 27: 851-7.

UNEY, K; ALTAN, F y ELMAS, M. Development and validation of a high-performance liquid chromatography method for determination of cefquinome concentrations in sheep plasma and its application to pharmacokinetic studies. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011; 55: 854-9.

VERVLOET, D y MAGNAN, A. *Traité d'allergologie*, 1 Edición, Paris. Ed. Flammarion 2003; 737-73

WANG, J; SHAN, Q; DING, H; LIANG, C y ZENG, Z. Pharmacodynamics of cefquinome in a neutropenic mouse thigh model of *Staphylococcus aureus* infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014; 58(6): 3008-12.

WEISS, M y ADKINSON, NF. Immediate hypersensitivity reactions to penicillin and related antibiotics. *Clin. Allergy* 1988; 18: 515-40.

WINTHER, L; BAPTISTE, KE y FRIIS, C. Antimicrobial disposition in pulmonary epithelial lining fluid of horses, Part III. Cefquinome. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2011; 34: 482-6.

WHITNEY, CG; FARLEY, MM; HADLER, J; HARRISON, LH; LEXAU, C; REINGOLD, A y cols. Increasing prevalence of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *N Engl J Med.* 2000; 343(26): 1917-24

WRIGHT, AJ. The penicillins. *Mayo Clin Proc.* 1999; 74: 290-307

WACKOWIEZ, G; RICHARD, JJ y FABREGUETTES, G. Pharmacokinetics of cephalexin in plasma and urine after single intravenous and oral (tablets) administration in dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 1997; 20(Suppl 1): 63-4.

WATERMAN, NG y SCHARFENBERGER, LF. Concentration relationships of cefaclor in serum, interstitial fluid, bile, and urine of dogs. *Antimicrob Agents Chemother.* 1978; 14(4): 614-6.

WILSON, WD; BAGGOT, JD; ADAMSON, PJW; HIRSH, DC y HIETALA, SK. Cefadroxil in the horse: pharmacokinetics and in vitro antibacterial activity. *J Vet Pharmacol Ther.* 1985; 8(3): 246-53

YUAN, L; SUN, J; WANG, R; SUN, L; ZHU, L; LUO, X; FANG, B y LIU, Y. Pharmacokinetics and bioavailability of cefquinome in healthy ducks. *Am. J. Vet. Res.* 2011; 72: 122–6.

XIE, W; ZHANG, X; WANG, T y DU, S. Pharmacokinetic analysis of cefquinome in healthy chickens. *British Poultry Science*, 2013; 54: 84-6.

YAMAOKA, K; NAKAGAWA, T y UNO, T. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *Journal of Biochemistry*, 1978; 100: 609-18.

ZHANG, B; GU, X; LI, X; GU, M; ZHANG, N; SHEN, X y cols. Pharmacokinetics and ex-vivo pharmacodynamics of cefquinome against *Klebsiella pneumonia* in healthy dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2014; 37(4): 367-73.

ZHANG, BX; LU, XX; GU, XY; LI, XH; GU, MX; ZHANG, N y cols. Pharmacokinetics and ex vivo pharmacodynamics of cefquinome in porcine serum and tissue cage fluids. *The Veterinary Journal*, 2014; 199(3): 399–405.

ZHAO, DH; ZHANG, CY; ZHANG, Z; LIU, ZC; LIU, BT; YU, J.J y cols. Population pharmacokinetics of cefquinome in pigs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2013; 36: 313–9.

ZHOU, YF; ZHAO, DH; YU, Y; YANG, X; SHI, W; PENG, YB y cols. Pharmacokinetics, bioavailability and PK/PD relationship of cefquinome for *Escherichia coli* in Beagle dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2015 Mar 16. doi: 10.1111/jvp.12225. [Epub ahead of print]

ZONCA, A; GALLO, M; LOCATELLI, C; CARLI, S; MORONI, P; VILLA, R y cols. Cefquinome sulfate behavior after intramammary administration in healthy and infected cows. *J. Dairy Sci.* 2011; 94: 3455-61.



## **10.-ABREVIATURAS**



- **PARÁMETROS ESTADÍSTICOS**

- **AIC:** Criterio de información de AKAIKE.
- **C.V.:** Coeficiente de variación.
- **S.E.:** Error estándar
- **n:** número de datos analizados.
- **P:** Probabilidad.
- **S.D.:** Desviación estándar.

- **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 y subcutánea).
- **F:** Biodisponibilidad.
- **ka:** 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.
- **λ<sub>1</sub>:** Constante híbrida de disposición rápida.
- **λ<sub>z</sub>:** Constante híbrida de disposición lenta.
- **MAT:** Tiempo medio de absorción.
- **MRT:** Tiempo medio de residencia.
- **tmáx:** Tiempo en el que se alcanza la concentración periférica máxima (administración intravenosa), tiempo en el que se alcanza la concentración plasmática máxima (administración intramuscular y subcutánea).
- **t<sub>1/2</sub>:** Tiempo de vida media o vida media del fármaco.
- **t<sub>1/2ka</sub>:** Tiempo de vida media aparente de absorción.
- **t<sub>1/2λ<sub>1</sub></sub>:** Tiempo de vida media de la fase de disposición rápida.
- **t<sub>1/2λ<sub>z</sub></sub>:** Tiempo de vida media de la fase disposición lenta.
- **V<sub>c</sub>:** Volumen de distribución aparente en el compartimento central.
- **V<sub>p</sub>:** Volumen de distribución aparente en el compartimento periférico.
- **V<sub>ss</sub>:** Volumen de distribución aparente en estado estacionario.

**-Vz:** Volumen de distribución aparente en función del área bajo la curva.

- **OTROS**

**-CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria. Concentración menor de antibacteriano capaz de inhibir el crecimiento de  $10^5$  bacterias en 1 ml de medio de cultivo, tras 18-24 horas de incubación.

**-EPA:** Efecto postantibiótico.

**-HPLC:** Cromatografía líquida de alta resolución.

**-IM:** Intramuscular.

**-IV:** Intravenosa.

**-LOQ:** Límite de cuantificación.

**-PK-PD:** Farmacocinética-Farmacodinamia.

**-p.o.:** por vía oral.

**-SC:** Subcutánea.

**-SNC:** Sistema Nervioso Central.

**-spp.:** especies.