

## **EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE ENROFLOXACINA Y SU METABOLITO ACTIVO, CIPROFLOXACINA, TRAS ADMINISTRACIÓN INTRAMUSCULAR Y SUBCUTÁNEA EN LLAMAS.**

Himelfarb, Martín\*; Rubio Langre\*\*, Sonia y Daer, Matías\*

Tutores: Litterio, Nicolás\* y San Andrés, Manuel I.

\* Cátedra de Farmacología y Toxicología, Facultad De Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica De Córdoba, Córdoba, Argentina

\*\* Departamento de Toxicología y Farmacología, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

### **INTRODUCCIÓN**

Los camélidos sudamericanos (CSA), concretamente la llama y el guanaco son especies autóctonas que, antes de la colonización, se distribuían a lo largo y a lo ancho de la Argentina. Con la consecuente llegada de los bóvidos continentales, estas especies fueron desplazadas y se ubicaron en zonas más inhóspitas. Básicamente su ubicación actual se remonta al NOA (Noroeste Argentino) comprendiendo provincias como Salta y Jujuy básicamente, aunque cabe mencionar que países como Bolivia y Perú concentran la mayor población de CSA (principalmente alpacas y vicuñas). La ubicación de los mismos en esta zona responde a características de adaptación, ya que estos animales están perfectamente adaptados a climas desérticos. Poseen la capacidad de mantenerse varios días sin beber líquidos y son capaces de adaptarse a vivir en zonas de altura, debido a su alta proporción de hemoglobina fetal y su elevado hematocrito. Cabe destacar que estos animales se utilizan como multipropósito, básicamente para producción cárnica, en forma de chacinados y “charki” (carne salada y desecada) y carne fresca, para la producción de fibra (de muy elevado precio) y como animal de carga. A consecuencia de estos datos, el camélido sudamericano ha retomado cierta importancia en el aspecto productivo y en el también en el aspecto médico, porque en países como Estados Unidos, también se utiliza como mascota. El camélido como tal es un animal de muy bajo impacto ecológico, supone un aprovechamiento de recursos naturales como nueva fuente de riqueza para poblaciones de áreas desfavorecidas y además constituye un terreno virgen para la investigación farmacológica.

La enrofloxacin es un fluorquinolona desarrollada exclusivamente para ser usada en medicina veterinaria. Se caracteriza por poseer una muy buena actividad antimicrobiana,

incluso contra microorganismos poco susceptibles o resistentes a los antimicrobianos de uso corriente en animales. Su índice terapéutico es alto, y puede administrarse de forma eficaz y segura en terapias combinadas con otros medicamentos. La enrofloxacin es ampliamente utilizada en diferentes especies domésticas, exóticas y silvestres. En el caso de nuestra especie hay muy poca información sobre el comportamiento farmacocinética de la enrofloxacin. Solo hemos encontrado tres artículos que describan el comportamiento cinético de la enrofloxacin en CSA. En los tres casos administrada por vía IV en alpacas o en llamas.

### *Patógenos habituales en Camélidos Sudamericanos*

Las principales enfermedades bacterianas en camélidos son comunes a las de los rumiantes mayores y menores:

- 1) Clostridiales: Botulismo (*C. botulinum*); Tétanos (*C. tetani*); Mancha o gangrena (*C. chauvei*); Edema maligno (*C. septicum*); Enfermedad negra (*C. novyi* tipo B); Hemoglobinuria bacilar (*C. novyi* tipo D); Enterotoxemia tipo A (*C. perfringens* tipo A); Enterotoxemia tipo C (*C. perfringens* tipo C); Enterotoxemia tipo D (*C. perfringens* tipo D); Hepatitis clostridial (*C. haemolyticum*)
- 2) Tuberculosis (*Micobacterium bovis*, *M. tuberculosis*, *M. avium*)
- 3) Enfermedad de Johne (*Micobacterium paratuberculosis*)
- 4) Ántrax (*Bacillus anthracis*)
- 5) Brucelosis (*Brucilla mellitensis* tipo 1)
- 6) Listeriosis (*Listeria monocytogenes*)
- 7) Leptospirosis (*Leptospira grippotyphosa*)
- 8) Necrobacilosis (*Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides fragillis*, *Corynebacterium pyogenes*)
- 9) Osteomilitis mandibular (*Actinomyces sp.*, *Fusobacterium necrophorum*)
- 10) Streptococosis (*Streptococcus pyogenes*, *S. faecalis*, *S. uberis*)
- 11) Fiebre de la Alpaca (*Streptococcus zooepidemicus*)
- 12) Colibacilosis (*Escherichia coli*)
- 13) Infecciones bacterianas menores: *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus aureus* *Campylobacter sp.*, *Enterococcus sp.*, *Moraxella liquefaciens*.

## HIPÓTESIS DE TRABAJO

Es posible cuantificar los niveles plasmáticos de enrofloxacin y su metabolito activo, ciprofloxacina, mediante una técnica de HPLC/uv.

## OBJETIVOS

El objetivo específico de nuestro estudio es conocer cómo es la evolución de los niveles plasmáticos de la enrofloxacin y su metabolito activo, ciprofloxacina, después de administrar una dosis de una especialidad comercial de enrofloxacin, por vía intramuscular o subcutánea. A partir de los datos obtenidos y presentados en este estudio, se podrán calcular los parámetros farmacocinéticos que definan matemáticamente este comportamiento. Dos de ellos la AUC y la Cmax ayudarán a predecir la seguridad y eficacia del tratamiento, mediante el estudio de los indicadores de eficacia antimicrobiana para agentes concentración dependiente (AUC/CIM<sub>90</sub> y Cmax/CIM<sub>90</sub>).

## DISEÑO EXPERIMENTAL

### *Selección, Identificación y manejo de los animales*

Se seleccionó un grupo homogéneo de seis hembras vacías, de aproximadamente 3 años de edad, con mansedumbre elevada y clínicamente sanos. Los animales fueron identificados por un triple sistema: con caravanas, numerado con tiza y cinta de color para identificar el grupo. Se diseñó un parte de trabajo, una planilla en la que se registró el n° de caravana y el código alfanumérico que le hicimos corresponder. Con respecto al manejo de los animales, estos al estar en estrecho contacto diario con los investigadores, no sufrieron ningún tipo de stress, al extremo de comer durante el estudio. Los seis animales estaban dentro de un corral al aire libre, con alimento y agua ad libitum. Cada uno de ellos se encontraba protegido con bozal para evitar daños entre ellos o a los veterinarios. Previamente al comienzo de la experiencia se les rasuró la zona yugular para facilitar la toma de muestras y minimizar el estrés. Se les administró una dosis de enrofloxacin (5 mg/kg) por vía IM o SC. Se colectaron muestras a tiempo previamente definido de la vena yugular en un volumen aproximado de 5 ml por muestra. Los tiempos, en minutos desde la administración, fueron: 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360, 480, 600, 720, 1440. Cabe destacar que los camélidos sudamericanos difieren de la mayoría de los ruminantes en la ubicación de la vena yugular. La misma no está contenida en un

canal yugular, si no que esta por debajo de la musculatura superficial del cuello, lo que hace difícil la ubicación de catéteres intravenosos para facilitar las tomas de muestras.

### *Metodología analítica*

Para cuantificar las concentraciones, de enrofloxacin y ciprofloxacina, presentes en las muestras, se utilizó el método HPLC/uv descrito en la comunicación titulada: “Determinación mediante HPLC/uv, de los niveles séricos de enrofloxacin, ciprofloxacina y marbofloxacina, tras administración IV en llamas”. Para representar gráficamente los datos, utilizamos los programas informáticos Graphpad y SPSS.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Tras administración intramuscular, las seis llamas muestran un comportamiento homogéneo. Se observa una rápida absorción durante la primera hora, la C<sub>max</sub> se alcanza a 2-3 h. Las concentraciones se encuentran por encima de 1 microgr/mL durante más de 10 h y los niveles se mantienen por encima del límite de cuantificación hasta las 12 h (Gráfica 1). En la administración subcutánea se observan variaciones interindividuales. La C<sub>max</sub> se alcanza a los 90 min. Las concentraciones se encuentran por encima de 1 microgr/mL durante más de 12 h y los niveles se mantienen por encima del límite de cuantificación hasta las 24 h (Gráfica 2). Con respecto al metabolito activo, ciprofloxacina, mostró niveles bajos en relación a otras especies mamíferas hervíboras. No podemos cuantificar su porcentaje respecto al AUC de enrofloxacin porque aún no hemos calculado los parámetros cinéticos. Los niveles bajos de ciprofloxacina podrían sugerir que la llama metaboliza en baja proporción la enrofloxacin y que la eliminaría en gran cantidad como droga intacta; o bien que la ciprofloxacina producida es eliminada rápidamente de modo que al tomar la muestra ya no se encuentra y por tanto apenas se detecta. Esta explicación es solo una hipótesis porque no hemos realizado estudios de metabolismo ni hemos analizado su presencia en orina.

Como dato clínico, debemos mencionar que en el caso de la enrofloxacin administrada subcutáneamente, se produjo una importante irritación local. Esto, clínicamente, se constató cuando los animales, minutos después de la administración se rascaban y mordían sobre el sitio de inyección. Sería interesante estudiar los niveles séricos de CPK para evidenciar la posible toxicidad tisular presente en la zona tras administración SC y, también muy probablemente, IM de enrofloxacin.

## CONCLUSIONES

La administración SC e IM de enrofloxacin en llamas son opciones potencialmente eficaces para su uso en medicina veterinaria. Es necesario hacer futuros estudios con administraci3n de dosis m3ltiples que incluyan una evaluaci3n de toxicidad tisular y definir las CIM<sub>90</sub> para pat3genos espec3ficos de llamas.

### *Agradecimientos*

A Bayer AG, por financiar parcialmente el estudio, por la cesi3n de las drogas patrones y por la confianza depositada en los equipos de la UCM y UC C.

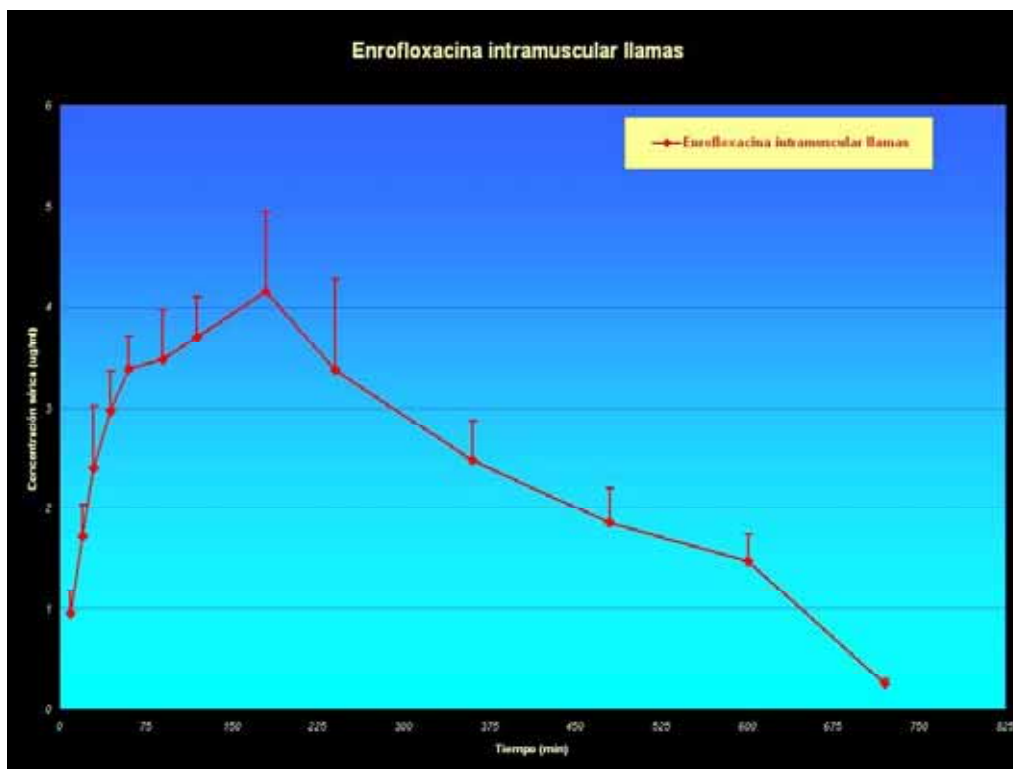
A La AECI (PIC AECI A/5944/06) por avalar un contacto m3s estrecho entre nuestras Universidades, financiando y ayudando decorosamente a todo el equipo. Al personal del Dpto. de Relaciones Internacionales de ambas Universidades, por facilitar nuestra labor.

A los compa1eros de la Biblioteca/Hemeroteca de ambas Facultades, por su asesor3a y su esfuerzo diario por facilitarnos nuevas estrategias de b3squeda de informaci3n.

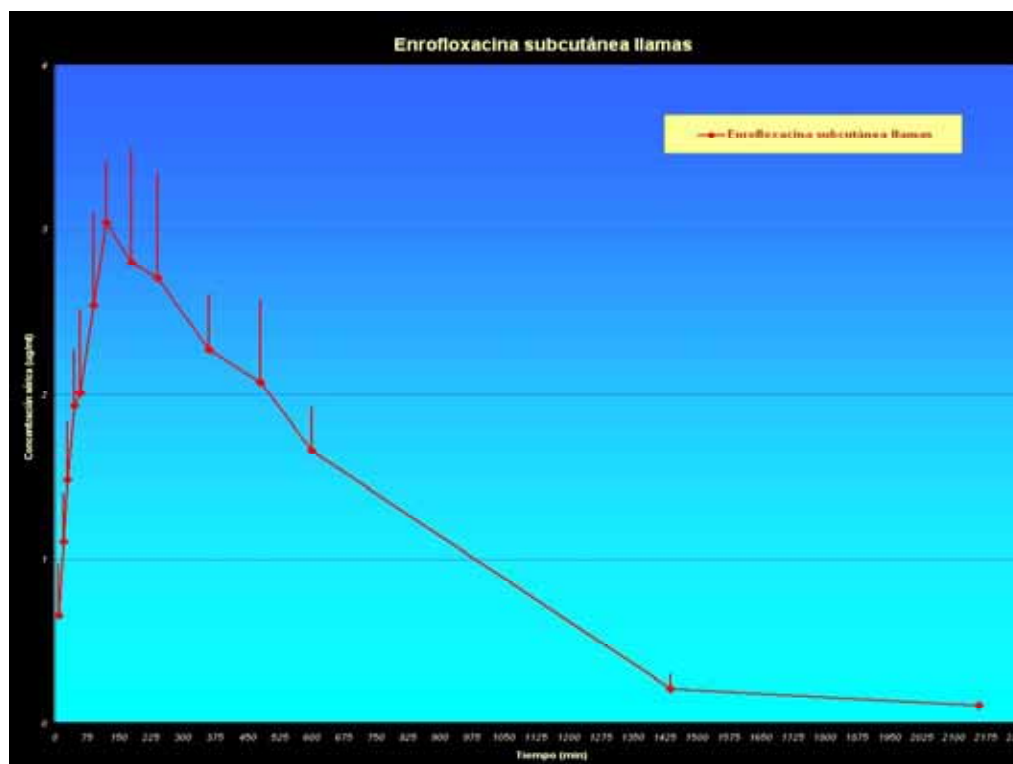
## BIBLIOGRAF3A

1. Christensen, J.M., *et al.* (1996). The disposition of five therapeutically important antimicrobial agents in llamas. *Journal Vet. Pharmacology and Therapeutics*. 19, 431-438.
2. Fowler, M.E. & Zinkl, J.G. (1989) Reference ranges for hemtaologic and serum biochemical values in llamas (*Lama glama*). *American Journal of Veterinary Research*. December; 50(12):2049-53.
3. Gandolf, A.R. *et al.* (2005) Pharmacokinetics after intravenous, subcutaneous, and oral administration of enrofloxacin to alpacas. *American Journal of Veterinary Research*. Julio; 66(7):1291.
4. Garry, F. *et al.* (1994). Clinical pathology of llamas. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 10(2):201-9
5. Kreil, V. *et al.* ( 2001). Pharmacokinetics of enrofloxacin in llamas (*Lama glama*). *Revista InVet*. Vol. 3:55-62
6. Lees, P. & Aliabadi, F.S. (2002). Rational dosing of antimicrobial drugs: animals versus humans. *International journal of antimicrobial agents*, 19: 269-284

7. Otero, J.L. *et al.* (2001). Enrofloxacin: una fluoroquinolona de uso exclusivo en veterinaria. Parte II: farmacocinética y toxicidad. *Analecta veterinaria*, 21, 1:42-49.



Gráfica 1.- Evolución de los niveles plasmáticos de enrofloxacin tras administración intramuscular en llamas adultas (n=6).



Gráfica 2.- Evolución de los niveles plasmáticos de enrofloxacin tras administración subcutánea en llamas adultas (n=6).