



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**“EVALUACIÓN FARMACOCINÉTICA DE FLORFENICOL EN PERROS
ADMINISTRADO POR VÍA SUBCUTÁNEA”**

Gabriela Alejandra Cabrera Gac

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

PROFESOR GUÍA: DRA. DANIELA IRAGÜEN CONTRERAS

SANTIAGO – CHILE

2015



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



EVALUACIÓN FARMACOCINÉTICA DE FLORFENICOL EN PERROS ADMINISTRADO POR VÍA SUBCUTÁNEA

GABRIELA ALEJANDRA CABRERA GAC

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA : DRA. DANIELA IRAGÜEN C.
PROFESOR CONSEJERO: DR. MARCO GALLEGUILLOS C.
PROFESOR CONSEJERO: DRA. LORETO MUÑOZ A.

SANTIAGO, CHILE

2015

RESUMEN

Actualmente los antimicrobianos disponibles para el tratamiento de cuadros respiratorios en perros son limitados y requieren terapias prolongadas. En el presente estudio se estudiaron distintos parámetros farmacocinéticos de florfenicol y florfenicol amina en perros, luego de la administración de 10 mg/Kg del fármaco por vía subcutánea. Los resultados obtenidos para florfenicol fueron los siguientes: concentración máxima (C_{max}) de $1,58 \pm 0,38\mu\text{g/mL}$, tiempo en que se alcanzó la concentración máxima (T_{max}) $3 \pm 1,15$ h, clearance (Cl) $1,01 \pm 0,13$ L/Kg/h, vida media ($t_{1/2}$) $13,12 \pm 3,10$ h y volumen de distribución (V_d) $19,02 \pm 3,87\text{L/Kg}$ entre otros valores. En cuanto a los parámetros registrados para florfenicol amina son los siguientes: concentración máxima (C_{max}) de $1,57 \pm 0,36\mu\text{g/mL}$, tiempo en que se alcanzó la concentración máxima (T_{max}) $3 \pm 1,15$ h, clearance (Cl) $0,50 \pm 0,21\text{L/Kg/h}$, vida media ($t_{1/2}$) $5,35 \pm 1,82\text{h}$ y volumen de distribución (V_d) $4,22 \pm 2,97\text{L/Kg}$ entre otros. Debido a que las concentraciones de florfenicol obtenidas en este estudio son más altas que las Concentraciones Mínimas Inhibitorias de las bacterias que afectan al sistema respiratorio de los animales, florfenicol podría ser una herramienta terapéutica para el tratamiento de patologías en perros.

Palabras clave: Florfenicol, farmacocinética, perros.

ABSTRACT

Currently antimicrobials available for the treatment of respiratory tract diseases in dogs are limited and require prolonged therapy. In the present study, we examined various pharmacokinetic parameters of florfenicol and florfenicol amine in dogs after administration of 10 mg / kg of the drug for subcutaneous via. The results obtained for florfenicol were: maximum concentration (C_{max}) $1.58 \pm 0.38 \mu\text{g/mL}$, peak concentration time (T_{max}) was 3 ± 1.15 h, clearance (Cl) 1.01 ± 0.13 L/Kg/h, half-life ($t_{1/2}$) 13.12 ± 3.10 h and volume of distribution (V_d) 19.02 ± 3.87 L/Kg between other values. Regarding the parameters recorded for florfenicol amine are: maximum concentration (C_{max}) $1.57 \pm 0.36 \mu\text{g/mL}$, peak concentration time (T_{max}) was 3 ± 1.15 h, clearance (Cl) 0.50 ± 0.21 L/Kg/h, half-life ($t_{1/2}$) 5.35 ± 1.82 h and volume of distribution (V_d) 4.22 ± 2.97 L/Kg. Because florfenicol concentrations obtained in this study are higher than the minimum inhibitory concentration of bacteria that affect the respiratory system of animals, florfenicol could be a therapeutic tool for the treatment of these pathologies in dog.

Keywords: Florfenicol, Florfenicolamina, pharmacokinetics, dogs.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el número de medicamentos disponibles para tratar patologías respiratorias en animales es muy amplio, siendo uno de los más comúnmente requeridos los antimicrobianos. Estos pueden ser utilizados con fines profilácticos o terapéuticos en cuadros infecciosos de origen bacteriano en animales de granja o domésticos (Ungemach *et al.*, 2006). Un antibiótico utilizado en Chile y el mundo en animales de producción es florfenicol, perteneciente a la familia de los anfenicoles, incluyendo también al tianfenicol y al cloranfenicol (Moore, 2007).

Florfenicol es un antibiótico sintético, desarrollado para uso exclusivamente veterinario y cuya primera formulación farmacéutica disponible en el mercado fue patentada como Nuflor[®] en el año 1996 (United State Department of Commerce, Patent and Trademark Office, 1997). Es considerado un antimicrobiano bacteriostático útil en el tratamiento contra varias bacterias gram negativas y gram positivas, siendo su mecanismo de acción la inhibición de la síntesis proteica bacteriana (Cannon *et al.*, 1990; Núñez, 2006; The United States Pharmacopeial Convention, 2007).

Este antimicrobiano presenta diferencias estructurales con sus compuestos análogos cloranfenicol y tianfenicol (Moore, 2007), que le confieren dos características fundamentales: por un lado, no produce patologías sanguíneas graves, como la anemia aplásica producida por cloranfenicol (Tao *et al.*, 2012) y, por otro, no es susceptible a la cloranfenicol acetil transferasa (CAT), una enzima que determina la resistencia bacteriana a estos compuestos (Schwarz *et al.*, 2004; Biswas *et al.*, 2012). Estas características particulares le otorgan a florfenicol ventajas

comparativas con sus análogos como una adecuada eficacia antibacteriana, menor toxicidad y bajo desarrollo de resistencia bacteriana (De Craene *et al.*, 1997) además de poseer una alta biodisponibilidad, buena penetración tisular y rápida eliminación (Park *et al.*, 2007).

Florfenicol se encuentra registrado únicamente para ser utilizado en bovinos, cerdos, aves y peces (The United States Pharmacopeial Convention, 2007; SAG, 2014), quedando los demás animales fuera de las especies de destino impresas en el rotulado. De esta manera, si se prescribe florfenicol a un animal diferente a los mencionados o sin considerar una o más indicaciones señaladas en su registro, su uso se denomina “*off-label*” o “extra-etiqueta”. En Estados Unidos de Norteamérica, la *Food and Drug Administration* (FDA) reconoce que el uso de un fármaco fuera de las indicaciones para las que fue aprobado y registrado, pueden ser importantes opciones terapéuticas en determinadas situaciones y patologías (FDA, 2011), siempre y cuando existan los estudios que validen dicha utilización.

La farmacocinética de florfenicol ha sido estudiada en las especies de destino, como son bovinos (Lobell *et al.*, 1994; De Craene *et al.*, 1997), cerdos (Liu *et al.*, 2003; Jiang *et al.*, 2006), peces (Horsberg *et al.*, 1996; Di Salvo *et al.*, 2013), aves (Anadón *et al.*, 2008; Ismail y El-Kattan, 2009) y otras especies donde su uso aún no está establecido y la documentación es escasa, como son ovejas (Lane *et al.*, 2004; Palma *et al.*, 2012), patos (El-Banna, 1998), ciervos (Alcorn *et al.*, 2004), conejos (Park *et al.*, 2007) y perros (Park *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2011) entre otros.

A la fecha en Chile, según el Registro y Control de Medicamentos Veterinarios dependiente del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) existen seis tipos de formulaciones distintas de florfenicol (SAG, 2014), siendo su uso exclusivamente destinado para el tratamiento de afecciones respiratorias en bovinos, cerdos y aves (Abu-Shin *et al.*, 2005; Basha *et al.*, 2011,

SAG, 2014), y en peces, para el tratamiento de un número importante de bacterias patógenas del salmón (SAG, 2014; Di Salvo *et al.*, 2013).

De lo descrito se desprende que en la clínica de animales menores, y en particular, enfermedades respiratorias que afectan a los perros, estas quedan sin posibilidades de ser tratadas con este fármaco. Teniendo en cuenta que los antimicrobianos disponibles para tratar patologías respiratorias en perros, principalmente doxiciclina y enrofloxacino, están presentando cada vez menor efecto antibacteriano, debido principalmente a la resistencia bacteriana (Chalker *et al.*, 2012; Boothe *et al.*, 2012). La comprobada habilidad de florfenicol para tratar patologías del sistema respiratorio en animales de abasto es un valioso antecedente a considerar para realizar investigaciones destinadas a corroborar los efectos de un fármaco como este en el organismo de perros, para que en un futuro pueda ser aprobado por los organismos estatales pertinentes y se convierta en una herramienta útil en el tratamiento de enfermedades respiratorias.

En la literatura se pueden encontrar escasas publicaciones que buscan dilucidar los efectos, y en particular la farmacocinética de florfenicol en perros (Park *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2011). Por ello, en este estudio se evaluó el comportamiento farmacocinético de florfenicol administrado por vía subcutánea (s.c.) en perros sanos, de tal manera de determinar las concentraciones séricas y calcular los parámetros farmacocinéticos de este antimicrobiano y su principal metabolito activo florfenicol amina.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el comportamiento farmacocinético de florfenicol y florfenicol amina en perros sanos, tras la administración de una dosis 10 mg/kg administrada por vía subcutánea.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar las concentraciones séricas de florfenicol y florfenicol amina en perros sanos tratados.

2. Calcular los parámetros farmacocinéticos de florfenicol y florfenicol amina para cada animal en estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales experimentales: Los animales fueron facilitados por la Asociación de Ayuda al Animal Abandonado, asociación que entregó el consentimiento para este estudio. Se incluyeron en el experimento cuatro perros de ambos sexos, entre dos y cinco años de edad, clínicamente sanos y con una condición corporal 3/5 según la *American Animal Hospital Association* (Baldwin, 2010). Los perros estaban sanos al examen clínico, sin alteraciones en el hemograma ni en el perfil bioquímico y en adecuado estado sanitario, es decir con vacunas y desparasitaciones vigentes. Se excluyeron perros con baja condición corporal o excedidos de peso, perras preñadas y perros que se encontraran bajo tratamiento con cualquier medicamento o que hubiese sido administrado en los últimos 30 días. Este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile antes de su ejecución, y se considero que si uno de los animales hubiese presentado signos adversos atribuibles o no al tratamiento o cualquier signo de enfermedad, sería retirado del estudio y se le proporcionaría la atención médica necesaria (los animales fueron monitoreados durante todo el estudio por un médico veterinario). El procedimiento se efectuó en el Hospital Clínico de Animales Pequeños, perteneciente a la Facultad de Ciencias Veterinaria y Pecuarias de la Universidad de Chile. Los perros fueron aclimatados al lugar donde se desarrolló el experimento un día previo al tratamiento. Los animales se ubicaron en caniles individuales, con agua *ad libitum* y alimento extruido de acuerdo a sus requerimientos. Los perros incluidos en el estudio fueron pesados el día en que se administró el tratamiento de manera de determinar la dosis a administrar.

Diseño Experimental: Se usó de forma “extra-etiqueta” una formulación farmacéutica de florfenicol, disponible comercialmente para administración en bovinos (Nuflor®, Intervet Schering-Plough Animal Health) a una dosis única de 10 mg/kg, por vía s.c a nivel de vertebrae torácicas. Las muestras (10 mL de sangre) se obtuvieron mediante flebotomía desde la vena cefálica antes de la administración del antimicrobiano (T_0) y posteriormente en los siguientes tiempos: 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 96 y 192 horas. Durante las primeras 24 horas, las muestras fueron obtenidas mediante el uso de un catéter en la vena cefálica (21G) para evitar punciones innecesarias. Posteriormente las muestras fueron extraídas mediante jeringa (36, 48, 96 y 192 horas). En ambos casos, las muestras fueron trasvasadas a tubos vacutainer vacíos (sin anticoagulante), los que posteriormente fueron centrifugados a 1500G por 15 min y finalmente el suero fue almacenado a -20°C hasta el momento de su análisis.

Extracción de florfenicol y florfenicolamina: La determinación de florfenicol y florfenicolamina en suero fue realizada mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) usando el método validado en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (Matta, 2012). A un mL de suero se agregaron 900 μL de agua ultrapura y cuatro mL de acetona. La muestra fue agitada por 10 segundos y centrifugada por 5 minutos a 3100 x g. El sobrenadante fue transferido a otro tubo y se le agregaron 3 mL de diclorometano. Las muestras fueron nuevamente centrifugadas por 1 minuto a 1500 x g y la fase inferior fue secada bajo flujo de nitrógeno en baño de agua a una temperatura entre 40 y 50° C. Posteriormente fue reconstituida con 400 μL de solución fosfato de sodio/metanol pH 2,8 y 1 mL de hexano. La muestra fue nuevamente centrifugada por 10 min a 1200 x g. 400 μL de la fase

inferior fueron transferidos a un tubo eppendorf, que fue centrifugado por 5 min a 2600 x g, y finalmente traspasado a un vial rotulado para el análisis cromatográfico.

Equipamiento y condiciones cromatográficas: Las muestras fueron analizadas por cromatografía líquida de alto rendimiento acoplado a un detector de arreglo de fotodiodos, consistente en una bomba binaria (Merck Hitachi Mod. 5110), un inyector automático (Merck Hitachi Mod. 5210), horno de columna (Merck Hitachi Mod. 5310), detector (Merck Hitachi Mod. 5430) y un software para la adquisición y procesamiento de datos *Elite La Chrome*. La separación cromatográfica se realizó en una columna analítica Simmetry C18 (250 mm x 4.6 mm x 5 µm), a una temperatura de 35°C, a una longitud de onda de 220 nm. La fase móvil correspondió a una solución A compuesta de 4,75 gr de ácido heptano sulfónico, 9,5 gr de fosfato tribásico de sodio dodecahidrato y 700 uL de agua ultra pura, y una solución B (trietilamina 0.1 % en metanol) a un flujo de 0,8 mL/min.

Solución estándar de florfenicol y florfenicolamina: Se utilizó un estándar certificado de florfenicol y de florfenicolamina (Dr. Ehrenstorfer GmbH, >99% de pureza) con los que se preparó una solución madre de 1 mg/mL de concentración. A partir de ésta, se prepararon soluciones de ambos antimicrobianos para lograr concentraciones de 0,5; 1; 5; 10; 20; 40; 80 y 100 ng/mL en plasma fortificado.

Cuantificación de muestras experimentales: La cuantificación de florfenicol y florfenicol amina en las muestras de suero de perro se realizaron mediante curvas de calibración aplicando la fórmula **Concentración = (a - y)/b**, donde “a” corresponde al área cromatográfica de la muestra; “y” corresponde al intercepto en el eje y de la curva de calibración y “b” corresponde a la pendiente de la misma curva.

Análisis farmacocinético: El cálculo de los parámetros farmacocinéticos fue realizado de acuerdo a lo descrito por Schwartz y Pateman (2004). La concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y el tiempo en alcanzar esta concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) se obtuvieron directamente de la observación de las curvas tiempo-concentración. La Constante de eliminación (λ_z) se calculó a través de una regresión lineal de la concentración transformada a logaritmo en base 10 en relación al tiempo mediante la siguiente fórmula: $\lambda_z = \text{pendiente} \times - 2,303$, donde el término 2,303 corresponde a una constante. La vida media de eliminación ($t_{1/2}$) se calculó a través de la fórmula $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda_z}$, donde $\ln 2$ equivale a 0,693. El área bajo la curva (ABC_{final}) se calculó por regla trapezoidal lineal, desde el tiempo 0 (t_0) hasta el tiempo donde se encuentra la última concentración cuantificable. La extrapolación ABC_{final} desde el tiempo cero al infinito (ABC_{∞}) se obtuvo a partir de la fórmula $ABC_{\infty} = ABC_{final} + \left(\frac{C_{final}}{\lambda_z}\right)$, donde C_{final} es la última concentración cuantificable observada. Por otro lado el clearance (Cl) se calculó con la fórmula $Cl = \frac{Dosis}{ABC_{\infty}}$ y finalmente el volumen de distribución (V_d) fue calculado con la fórmula $V_d = \frac{Cl}{\lambda_z}$.

RESULTADOS

Ningún perro tratado presentó efectos adversos ni al momento de su aplicación ni durante el periodo de obtención de muestras.

La concentración máxima (C_{max}) se alcanzó entre las dos y cuatro horas post administración ($T_{max} = 3 \pm 1,15$ h), obteniéndose en promedio 1367ng/mL. Las concentraciones séricas disminuyeron drásticamente desde las 12 horas post administración en todos los animales, alcanzando un valor promedio de 148 ng/mL. Desde las 96 horas post administración, florfenicol no fue detectado (ND) en el suero (Tabla 1 y Figura1).

Tabla N 1: Concentraciones de florfenicol (ng/mL) obtenidas a distintos tiempos (horas) desde suero de perros tratados con una dosis de 10 mg/kg por vía subcutánea.

Tiempo post administración (Horas)	Concentración sérica de florfenicol ng/mL					
	Perro 1	Perro 2	Perro 3	Perro 4	Promedio	Desviación Estándar
0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	ND	403	890	797	523	407
2	1387	798	1884	1732	1450	482
4	1662	1030	1159	1286	1284	273
8	1246	909	1105	1136	1099	140
12	292	110	83	105	148	97
24	335	180	ND	ND	129	162
36	251	85	115	77	132	81
48	452	115	121	ND	172	195
96	ND	ND	ND	ND	ND	ND
112	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND: no detectado

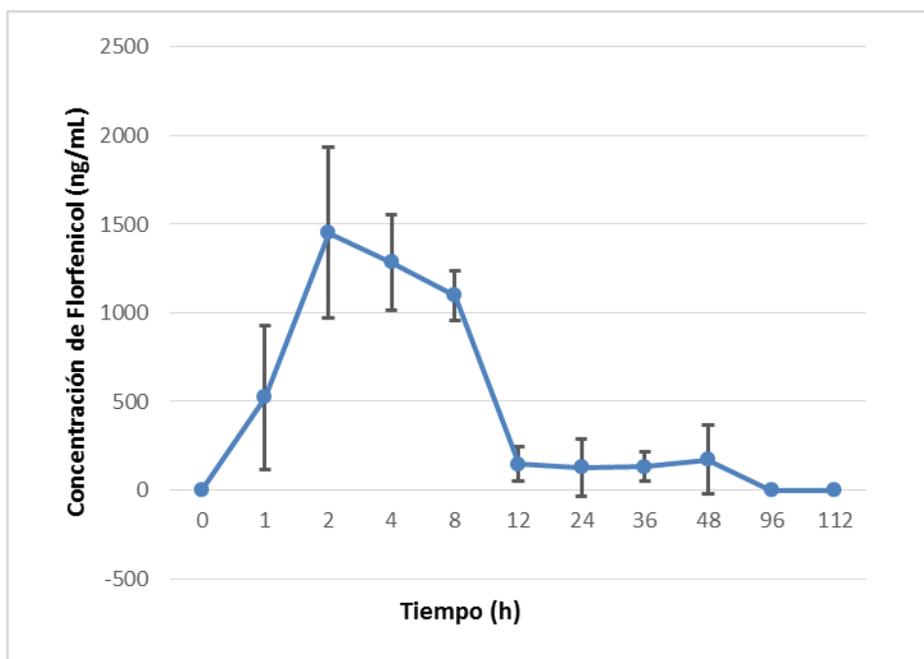


Figura 1. Curva de promedios de la concentración de florfenicol vs tiempo, obtenido desde suero de perros tratados con 10 mg/Kg del fármaco por vía subcutánea. Se observan desviaciones estándares para cada nivel.

En la figura N°2 se grafica la concentración promedio de florfenicol amina versus el tiempo post tratamiento. Al igual que para florfenicol, la C_{max} se alcanzó entre las dos y cuatro horas post administración ($T_{max} = 3 \pm 1,15$ h), obteniéndose en promedio 1372 ng/mL. Sin embargo, la disminución de las concentraciones séricas es evidente desde las 48 horas post administración, apreciándose una persistencia mayor que florfenicol. Desde las 96 horas post administración, florfenicol amina no fue detectado en el suero de los perros.

Tabla N 2: Tabla Nro. 1: Concentraciones de florfenicol amina (ng/mL) obtenidas a distintos tiempos (horas) desde suero de perros tratados con una dosis de 10 mg/kg por vía subcutánea.

Tiempo post administración (Horas)	Concentración sérica de florfenicolng/mL					
	Perro 1	Perro 2	Perro 3	Perro 4	Promedio	Desviación Estándar
0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	ND	443	912	822	544	416
2	1390	824	1869	1723	1452	464
4	1655	1047	1171	1293	1292	262
8	1254	931	1119	1149	1113	135
12	909	444	292	588	558	263
24	1140	330	369	198	509	427
36	933	215	336	247	433	337
48	1145	115	366	ND	407	516
96	ND	ND	ND	ND	ND	ND
112	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND: No detectado.

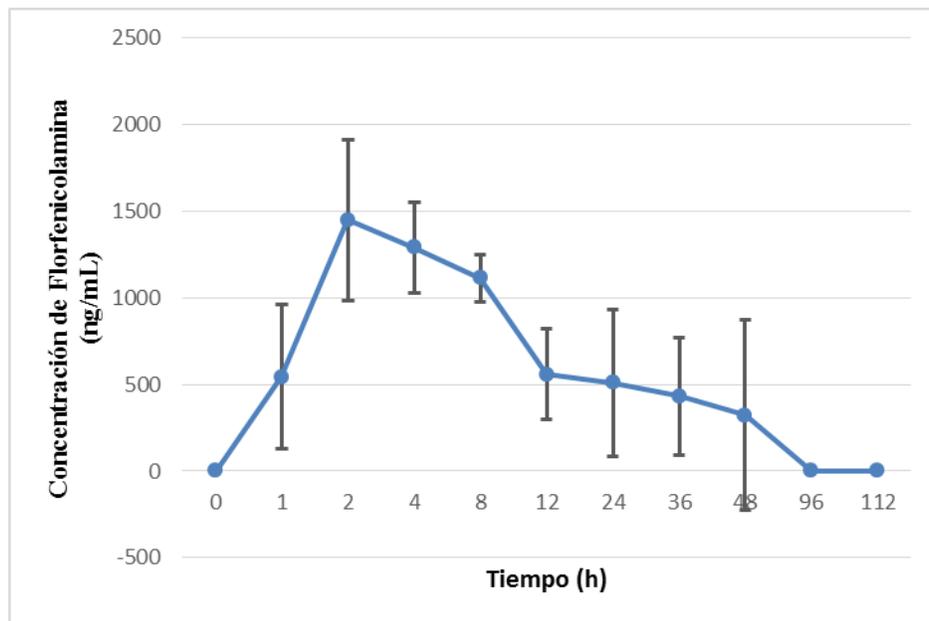


Figura 2. Curva de promedios de concentraciones de florfenicol amina versus tiempo, obtenido desde suero de perros tratados con 10 mg/Kg del fármaco por vía subcutánea.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos en este estudio, como C_{max} y T_{max} fueron muy similares entre florfenicol y florfenicol amina. Florfenicol presentó un volumen de distribución y una vida media de eliminación mayor que florfenicol amina (Tabla 3).

Tabla N 3. Parámetros farmacocinéticos (media \pm DE) de florfenicol y florfenicol amina luego de la administración de una dosis de 10 mg/kg por vía subcutánea en perros.

Parámetro farmacocinético	Promedio Florfenicol \pm DE	Promedio Florfenicol Amina \pm DE
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	1,58 \pm 0,38	1,57 \pm 0,36
T_{max} (h)	3 \pm 1,15	3 \pm 1,15
ABC_{final} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	21,5 \pm 13,1	21,35 \pm 10,32
ABC_{∞} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	25,7 \pm 13,32	27,98 \pm 13,66
V_d (L/Kg)	19,02 \pm 3,87	4,22 \pm 2,97
λ_z (L/h)	0,06 \pm 0,01	0,14 \pm 0,04
$t_{1/2}$ (h)	13,12 \pm 3,10	5,35 \pm 1,82
Cl (L/Kg/h)	1,01 \pm 0,13	0,50 \pm 0,21

C_{max} : Concentración sérica máxima; T_{max} : Tiempo en alcanzar la concentración sérica máxima; ABC_{final} : Área bajo la curva desde el tiempo cero hasta el tiempo de la última concentración cuantificable; ABC_{∞} : Área bajo la curva extrapolada al infinito; V_d : Volumen de distribución. λ_z : Constante de eliminación; $t_{1/2}$: Vida media de eliminación; Cl: Clearance.

DISCUSIÓN

La farmacocinética de florfenicol y de su principal metabolito, florfenicol amina, ha sido estudiada principalmente en animales de producción, donde el uso de este fármaco está permitido y cuenta con registro del SAG (SAG, 2014). Pero estudios en especies menores, como en perros, son escasos (Park *et al.* 2008; Kim *et al.* 2011). Además cabe mencionar que florfenicol no tiene registro veterinario para ser utilizado en perros.

Kim *et al.* (2011), estudió la cinética de florfenicol en perros de raza Beagle, administrando una dosis de 10 mg/kg por vía intramuscular e intravenosa, obteniendo una C_{max} 2,86 ± 0,59 µg/mL en T_{max} 2,49 ± 0,61 h. a diferencia de los parámetros obtenidos en este estudio donde la C_{max} alcanzó 1,58 ± 0,38 µg/mL con una T_{max} de 3 ± 1,15 h. Esta diferencia de los valores obtenidos, pueden atribuirse a la vía de administración utilizada y al tipo de formulación que se empleó en la investigación, ya que en el presente estudio se utilizó una formulación comercial de florfenicol (oleosa) indicada para bovinos y cerdos (Nuflor®, Intervet Schering-Plough Animal Health), mientras que Kim *et al.* (2010) utilizó una formulación experimental de florfenicol y tilosina. Los fármacos según la vía de aplicación (i.v. i.m. y p.o. o s.c.) deben atravesar diferentes tejidos y membranas para llegar a la sangre y posteriormente al sitio de infección (Verma *et al.*, 2010), lo que finalmente afecta los diferentes parámetros farmacocinéticos.

Park *et al.* (2008), estudio la farmacocinética de florfenicol y florfenicol amina en perros, tras una administración única de 20mg/kg por vía intravenosa y oral. La C_{max} de florfenicol fue de 6,18 µg/mL en T_{max} de 0,94 ± 0,43 h, mayor a los valores obtenidos en el presente estudio (C_{max} 1,58 ± 0,38 µg/mL, T_{max} 3 ± 1,15 h). Estas diferencias se pueden explicar a que en este

estudio se uso una dosis única de 10 mg/kg. Además Park *et al* (2008) empleó una formulación experimental de florfenicol disuelto en polietilenglicol-300. Los excipientes influyen en la disolución, estabilidad e interacción del fármac con factores fisiológicos (Panakanti y Narang, 2012)

En cuanto a florfenicol amina, en esta memoria se alcanzó una C_{\max} $1,57 \pm 0,36 \mu\text{g/mL}$ en un T_{\max} $3 \pm 1,15$, h, mientras que Park *et al.* (2008) tras la administración vía oral de florfenicol presentó una C_{\max} de $3,64 \pm 2,47 \mu\text{g/mL}$ en un T_{\max} $2,13 \pm 1,25$ h y por vía endovenosa obtuvo un C_{\max} $5,67 \pm 1,30 \mu\text{g/mL}$ en T_{\max} $1,19 \pm 0,55$ h.

Otras investigaciones que aplican florfenicol por vía s.c. en especies de animales distintas a las usadas en este trabajo, se asemejan a los valores de los parámetros cinéticos medidos en este estudio. Como por ejemplo, Holmes *et al.* (2012), estudió la farmacocinética de florfenicol en alpacas adultas tras una dosis única de 40mg/kg vía subcutánea, obteniendo una C_{\max} de $1,95 \pm 0,94 \mu\text{g/mL}$ en T_{\max} $2,0 \pm 1,07$ h. Mientras que Regnier *et al.* (2013) realizo un estudio de parámetros farmacocinéticos de florfenicol en ovejas, tras una administración de una dosis única de 20mg/kg vía subcutánea y obtuvo una C_{\max} de $1,32 \pm 0,54 \mu\text{g/mL}$ en T_{\max} $2,17 \pm 0,96$ h.

Si bien la C_{\max} alcanzada en este estudio se puede considerar baja ($1,58 \pm 0,38 \mu\text{g/mL}$) al compararla con otros estudios realizados en caninos (Park *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2011), ésta no influye en el objetivo de actuar frente a las bacterias patógenas, ya que las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) de este fármaco, que se mencionan en la literatura para combatir bacterias que producen patologías respiratorias en cerdos y bovinos, es de $0,5 \mu\text{g/mL}$ (Shin *et al.*, 2005; The United States Pharmacopeial Convention, 2007), valor que es superado por este

estudio, y reafirma las posibilidades de florfenicol de convertirse en una herramienta terapéutica en el tratamiento de patologías que afectan el sistema respiratorio de los perros.

Se describe en la literatura, que otros parámetros farmacocinéticos están altamente asociados entre sí, como son el Clearance (Cl), tiempo de vida media ($t_{1/2}$) y vida media (V_d). La relación que existe entre $t_{1/2}$ y V_d es directamente proporcional, en cambio el Cl es inversamente proporcional a $t_{1/2}$ (Toutain y Bousquet-Mélou, 2004)^a. Esta premisa fue detectada en los resultados de este estudio que se discuten a continuación.

El Cl de florfenicol que se alcanzó fue de $1,01 \pm 0,13$ L/Kg/h, mayor que en otros estudios realizados en perros que obtuvieron Cl $0,49 \pm 0,19$ L/Kg/h (Kim *et al.*, 2011), pero cercano a los resultados de Park *et al.* (2008) con un Cl de $1,03 \pm 0,49$ L/Kg/h. Si entendemos al Cl como la capacidad del cuerpo para eliminar una droga, se puede sugerir que a un Cl bajo como el calculado en este estudio, podría ser útil para desarrollar una droga de administración oral con un régimen de dosificación bajo (Toutain y Bousquet-Mélou, 2004)^b. Los valores de Cl para florfenicol amina son aún más bajos ($0,50 \pm 0,21$ L/Kg/h), indicando que este metabolito activo permanece mayor tiempo en plasma.

En cuanto a la $t_{1/2}$ de florfenicol y florfenicol amina, ésta llegó a ser de $13,12 \pm 3,10$ h y $5,35 \pm 1,82$ h, respectivamente. Este resultado fue mayor a otros estudios realizados en caninos, como los de Park *et al.* (2008) $t_{1/2}$ $1,11 \pm 0,94$ h. y los de Kim *et al.* (2011) $t_{1/2}$ $4,92 \pm 1,14$ h, y para florfenicol amina un $t_{1/2}$ $2,26 \pm 1,14$ h (Park *et al.*, 2008). Es importante recordar que los resultados obtenidos por Park *et al.* (2008) y Kim *et al.* (2011), surgieron de la administración del florfenicol por vía i.v., siendo ésta una diferencia con el presente estudio donde el fármaco fue aplicado de manera s.c. En la literatura se menciona que un $t_{1/2}$ medido a partir de una

administración extravascular puede ser mucho más prolongada que otra aplicada de manera i.v., esto explicado por un proceso denominado *flip-flop* que se define como el proceso mediante el cual un fármaco no puede ser eliminado del organismo si aún está siendo absorbido, que es lo que ocurre en la administración s.c. donde la liberación del fármaco desde el sitio de administración es gradual (Toutain y Bousquet-Mélou, 2004)^c. Además Toutain y Bousquet-Mélou (2004)^c indican que a un largo $t_{1/2}$ puede ser asociado a un bajo clearance plasmático, comportamiento evidenciado en esta investigación. La principal aplicación clínica del $t_{1/2}$ es para seleccionar una apropiada distancia en los intervalos de dosificación de un fármaco en circunstancias de múltiples dosis, lo que para este caso podría significar un intervalo de dosificación mayor, tal y como es lo recomendado para bovinos (SAG, 2014).

En lo referido al V_d registrado en este estudio, fue de $19,02 \pm 3,87$ L/Kg para florfenicol y $4,22 \pm 2,97$ L/Kg para florfenicol amina. Otros investigadores que estudiaron la farmacocinética de este fármaco en la especie canina publicaron valores de V_d cercanos a $1,45 \pm 0,82$ L/Kg (Park *et al.*, 2008) y $2,63 \pm 0,12$ L/Kg (Kim *et al.*, 2011) para florfenicol y florfenicol amina respectivamente. Si bien los valores de V_d obtenidos en el presente estudio fueron mayores a los registrados en otras investigaciones similares, se asemeja a valores registrados para florfenicol en otras especies como cabras y ovejas (Ali *et al.*, 2003). Un V_d de éstas características asegura una adecuada proporción entre la cantidad de fármaco en los tejidos y las concentraciones plasmáticas. Además los valores de V_d registrados se condice con los resultados de $t_{1/2}$ alcanzados, ya que la literatura menciona que un alto V_d está asociado a una larga $t_{1/2}$ (Toutain y Bousquet-Mélou, 2004)^a.

CONCLUSIÓN

Finalmente los parámetros cinéticos obtenidos, tanto Cmax como Tmax de florfenicol fueron distintas a otros estudios, lo que puede ser explicado por las diferentes dosis, vías de administración y excipientes del fármaco. Aun así, en esta investigación, a pesar de obtener una Cmax baja en comparación a otros estudios realizados en perros, ésta no influye en el objetivo de actuar frente a las bacterias patógenas del tracto respiratorio, ya que las CMI de este fármaco que se registran en la literatura para bacterias comunes del tracto respiratorio tanto de cerdos y aves son inferiores. Esto, sumado a los otros parámetros farmacocinéticos analizados, sugiere que florfenicol podría tener buenos resultados terapéuticos en pacientes caninos con patologías bacterianas.

El bajo CI presentado en este estudio permite dar la posibilidad de realizar estudios con una droga de administración oral mediante un tratamiento de dosificación bajo, que podría entregar buenos resultados terapéuticos en pacientes con patologías bacterianas. Esto sumado a la t media calculada, permitiría dosis con una mayor ventana de tiempo entre aplicaciones, solo si es administrada s.c..

Se requieren más estudios farmacocinéticos, de seguridad, clínicos y de eficacia en perros para demostrar las cualidades de este fármaco en la terapéutica de esta especie animal. Aun así, la administración de florfenicol por vía s.c en las dosis utilizadas en este estudio, permite plantear que podría ser efectivo en perros.

REFERENCIAS

1. Abu-Basha E, Gehring R, Al-Shunnaq A, Gharaibeh S. 2012. Pharmacokinetics and bioequivalence of florfenicol oral solution formulations (Flonicol® and Veterin®10%) in broiler chickens. *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*. **4**, 1 – 5. Si está , al final de la hoja 6
2. Alcorn J, Dowling P, Woodbury M, Killeen R. 2004. Pharmacokinetics of florfenicol in North American elk (*Cervuselaphus*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **27**, 289 – 292
3. Ali B, Al-Qarawi A, Hashaad M. 2003. Comparative plasma pharmacokinetics and tolerance of florfenicol following intramuscular and intravenous administration to camels, sheep and goats. *Veterinary Research and Communication*. **27**, 475 – 83.
4. Anadón A, Martínez M, Martínez M, Ríos A, Caballero V, Ares I, Martínez-Larrañaga M. 2008. Plasma and tissue depletion of florfenicol and florfenicol-amine in chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **56**, 11049–11056
5. Baldwin, K. 2010. Guías para la Evaluación Nutricional de perros y gatos de la Asociación Americana Hospitalaria de Animales (AAHA). *Journal of the American Animal Hospital Association*. Jul/Ago. Vol 46. N° 4. [en línea]: <http://petnutritionalliance.org/PDFS/PNAAAHANutritionalAssessmentSP.pdf>[consulta: 18-06-2014]

6. Biswas T, Houghton J, Garneau-Tsodikova S, Tsodikov O. 2012. The structural basis for substrate versatility of chloramphenicol acetyltransferase CAT_I. *Protein Science*, **21**, 520–530.
7. Boothe D, Smaha T, Carpenter M, Shaheen B, Hatchcock T. 2012. Antimicrobial resistance and pharmacodynamics of canine and feline pathogenic *E. coli* in the United States. *Journal of the American Animal Hospital Association*.**48**, 379 – 389.
8. Cannon M, Harford S, Davies J. 1990. A comparative study on the inhibitory actions of chloramphenicol, thiamphenicol and some fluorinated derivatives. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **26**, 307–317.
9. Chalker V, Waller A, Webb K, Spearing E, Crosse P, Brownlie J, Erlesa K. 2012. Genetic Diversity of *Streptococcus equisubsp. zooepidemicus* and doxycycline resistance in kennelled dogs. *Journal of Clinical Microbiology*. **50**, 2134 – 2136.
10. De Craene B, Deprez P, D’Haese E, Nelis H, Van Den Bossche W, De Leenheer P. 1997. Pharmacokinetics of florfenicol in cerebrospinal fluid and plasma of calves. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **41**, 1991 – 1995.
11. Di Salvo A, Della Rocca G, Terzetti E, Malvisi J. 2013. Florfenicol depletion in edible tissue of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), and sea bream, *Sparus aurata* L. *Journal of Fish Diseases*. doi: 10.1111/j.1365-2761.2012.01437.x
12. El-Banna H. 1998. Pharmacokinetics of florfenicol in normal and *Pasteurella*-infected Muscovy ducks. *British Poultry Science*, **39**, 492 – 496.
13. FDA. Food and Drug Administration. 2011. Guidance for industry responding to unsolicited requests for Off-Label information about prescription drugs and medical devices. [en línea]

<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM285145.pdf>>[consulta: 18-04-2013]

14. Holmes K, Bedenice D, Papich M. 2012. Florfenicol pharmacokinetics in healthy adult alpacas after subcutaneous and intramuscular injection. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **35**, 382 – 388.
15. Horsberg T, Hoff K, Nordmo R. 1996. Pharmacokinetics of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in Atlantic Salmon. *Journal of Aquatic Animal Health*. **8**, 292 – 301.
16. Ismail M, El-Kattan Y. 2009. Comparative pharmacokinetics of florfenicol in the chicken, pigeon and quail. *British Poultry Science*. **50**, 141 – 149.
17. Jiang H, Zeng L, Chen Z, Liu J, Fung K. 2006. Pharmacokinetics of florfenicol in pigs following intravenous, intramuscular or oral administration and the effects of feed intake on oral dosing. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **29**, 153 – 156.
18. Kim E, Gebru E, Lee J, Kim J, Park S. 2011. Pharmacokinetics of a florfenicol-tylosin combination after intravenous and intramuscular administration to Beagle dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*. **73**, 463 – 466.
19. Lane V, Wetzlich S, Clifford A, Taylor I, Craigmill A. 2004. Intravenous and subcutaneous pharmacokinetics of florfenicol in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **27**, 191 – 196.
20. Liu J, Fung K, Chen Z, Zeng Z, Zhang J. 2003. Pharmacokinetics of florfenicol in healthy pigs and in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **47**, 820 – 823.

21. Lobell R, Varma K, Johnson J, Sams R, Gerken D, Ashcraft S. 1994. Pharmacokinetics of florfenicol following intravenous and intramuscular doses to cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **17**, 253 – 258.
22. Moore, E. 2007. Therapeutic review. Florfenicol. *Journal of Exotic Pet Medicine*. **16**, 52 – 54.
23. Núñez B. 2006. Anfenicoles. **En:** Programa Uso Racional de Antibióticos. BMS. Universidad de San Francisco. 33 – 37.
24. Palma C, Ramírez J, Benavente A, Cazanga V, Venegas M, Pérez R. 2012. Pharmacokinetics of florfenicol and florfenicol-amine after intravenous administration in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **35**, 508 – 511.
25. Park B, Lim J, Kim M, Hwang Y, Yun H. 2007. Pharmacokinetics of florfenicol and its major metabolite, florfenicol amine, in rabbits. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **30**, 32 – 36.
26. Park B, Lim J, Kim M, Hwang Y, Yun H. 2008. Pharmacokinetics of florfenicol and its metabolite, florfenicol amine, in dogs. *Research in Veterinary Science*. **84**, 85 – 89.
27. Regnier A, Laroute V, Gautier-Bouchardon A, Gayraud V, Picard-Hagen N, Toun P. 2013. Florfenicol concentrations in ovine tear fluid following intramuscular and subcutaneous administration and comparison with the minimum inhibitory concentrations against mycoplasmal strains potentially involved in infectious keratoconjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research*. **74**, 268 – 274.
28. SAG. Servicio Agrícola y Ganadero. 2014. Sistema de Medicamentos veterinarios. [en línea]

http://medicamentos.sag.gob.cl/ConsultaUsrPublico/BusquedaMedicamentos_1.asp

[consulta: 11-04-2014]

29. Schwartz S, Pateman T. 2004. Pre-clinical pharmacokinetics. **En:** A Handbook of Bioanalysis and Drug Metabolism. Evans, G. (ed). CRC Press. United States of North America.
30. Schwarz S, Kehrenberg C, Doublet B, Cloeckaert A. 2004. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiology Reviews*. **28**, 519 – 542. Si esta, al final de la hoja 5.
31. Shin S, Kang S, Nabin R, Kang M, Yoo H. 2005. Evaluation of the antimicrobial activity of florfenicol against bacteria isolated from bovine and porcine respiratory disease. *Veterinary Microbiology*. **106**, 73 – 77.
32. Tao W, Lee M, Wu J, Kim N, Kim J, Chung E, Hwang E, Lee S. 2012. Inactivation of chloramphenicol and florfenicol by a novel chloramphenicol hydrolase. *Applied and Environmental Microbiology*. **78**, 6295 – 6301.
33. The United States Pharmacopeial Convention. 2007. Florfenicol (Veterinary - Sistemic). 1-6.
34. Toutain P, Bousquet-Mélou A. 2004^b. Plasma clearance. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **27**, 415 – 425.
35. Toutain P, Bousquet-Mélou A. 2004^c. Plasma terminal half-life. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **27**, 427 – 439.
36. Toutain P, Bousquet-Mélou A. 2004^a. Volume of distribution. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. **27**, 441 – 453.

37. Ungemach R, Müller-Bahrtd D, Abraham G. 2006. Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine. *International Journal of Medical Microbiology*. **41**, 33 – 38.
38. United State Department of Commerce, Patent and Trademark Office. 1997. Notice of final determination. [en línea] <<http://www.uspto.gov/web/offices/com/sol/foia/comm/pte/4235892.pdf>> [consulta: 17-04-2013].
39. Verma P, Thakur A, Deshmukh K, Jha A, Verma S. 2010. Routes of drug administration. *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research*. **1**, 54 – 59.
40. Epstein S, Mellema M, Hopper K. 2010. Airway microbial culture and susceptibility patterns in dogs and cats with respiratory disease of varying severity. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. **20**, 587 – 594.