

doi: <http://dx.doi.org/10.19052/mv.4052>

Farmacocinética plasmática y urinaria de marbofloxacin intramuscular en caninos

Guillermo Fermín Prieto Paoletti¹ / Carlos Errecalde Erlicher² / Natalia Francisca Urzúa Pizarro³ /
María Paula Tonini García⁴ / María Jimena Messina Mur⁵

Resumen

Se estudió la disposición plasmática y urinaria de marbofloxacin en caninos (n = 6) tras la aplicación intramuscular de 2 mg/kg. En distintos tiempos posadministración se tomaron muestras de sangre hasta las 24 h, y de orina solo en los caninos machos (n = 4) a las 4, 8, 12 y 24 h. Se realizó una extracción líquido-líquido del analito con agua, metanol y centrifugado a 13.500 r. p. m. a 4 °C. La separación y cuantificación se realizó por HPLC mediante la elusión isocrática en fase reversa, utilizando columna C-18, detector de fluorescencia a 295 nm de excitación y 490 nm de emisión y fase móvil compuesta por agua, acetonitrilo y trietilamina. Las concentraciones plasmáticas temporales se analizaron con el software no compartimental PK Solution 2.0. Los resultados conseguidos indican pronta absorción, rápida y amplia distribución. El Cl y los valores conseguidos de t_{1/2}β y TMR indican lenta depuración y prolongada permanencia. El ensayo determinó concentraciones plasmáticas perdurables hasta 24 h, y que exceden la CMI de patógenos relevantes. El cociente ABC/CMI indica eficacia frente a microorganismos con CMI ≤ 0,15 µg/ml. Las concentraciones urinarias de marbofloxacin son más significativas que las plasmáticas. No obstante, se requieren nuevos estudios que avalen su empleo con la dosis y vía de aplicación ensayada.

Palabras clave: caninos, farmacocinética, marbofloxacin, plasma, orina.

- 1 Médico veterinario. Especialista. MSc. Docente adjunto de Farmacología, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
✉ gprieto@ayv.unrc.edu.ar
- 2 Médico veterinario. Especialista. PhD. Docente adjunto de Farmacología, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
✉ cerrecalde@ayv.unrc.edu.ar
- 3 Médica veterinaria. Estudiante de Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Fis-Quim y Nat. Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
✉ nurzuapizarro@ayv.unrc.edu.ar
- 4 Médica veterinaria. Estudiante de Maestría de Inocuidad y Calidad de Alimentos. Docente auxiliar de Farmacología, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
✉ mptonini@ayv.unrc.edu.ar
- 5 Médica veterinaria. Especialista en Clínica Médica de Perros y Gatos. Estudiante de Maestría de Anatomía y Fisiología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
✉ jimenamessina@hotmail.com

Plasma and urine pharmacokinetics of intramuscular marbofloxacin in canines

Abstract

Plasma and urinary disposition of marbofloxacin was studied in canines (n = 6) after intramuscular administration of 2 mg/kg. At different times post-administration, blood samples were collected until 24 h, and urine samples, only from male dogs (n = 4) at 4; 8; 12, and 24 h. Liquid-liquid extraction of analyte with water, methanol, and centrifugation at 13500 rpm at 4 °C were performed. Separation and quantification were made using HPLC by reverse phase isocratic elution with a C18 column, fluorescence detector at 295 nm excitation and 490 nm emission, and a mobile phase consisting of water, acetonitrile, and triethylamine. Temporary plasma concentrations were analyzed with non-compartmental PK Solution 2.0 software. The results obtained indicate rapid absorption, as well as rapid and wide distribution. Cl and values of t_{1/2}β and MRT indicate slow clearance and prolonged stay. The study evidenced plasma concentrations up to 24 h, which exceed the MIC of relevant pathogens. The AUC/MIC ratio indicates efficacy against microorganisms with

Cómo citar este artículo: Prieto Paoletti GF, Errecalde Erlicher C, Urzúa Pizarro NF, Tonini García MP, Messina Mur MJ. Farmacocinética plasmática y urinaria de marbofloxacin intramuscular en caninos. *Rev Med Vet.* 2017;(33):59-66. doi: <http://dx.doi.org/10.19052/mv.4052>

MIC \leq 0.15 $\mu\text{g/ml}$. Urinary levels of marbofloxacin are more significant than plasmatic levels. However, new studies are required to assess their use with the tested dose and route of application.

Keywords: canines, pharmacokinetics, marbofloxacin, plasma, urine.

Farmacocinética plasmática e urinária de marbofloxacin intramuscular em caninos

Resumo

Se estudou a disposição plasmática e urinária de marbofloxacin em caninos ($n = 6$) após a aplicação intramuscular de 2 mg/kg. Em diferentes tempos pós-administração se tomaram amostras de sangue hasta as 24 h, e de urina somente nos caninos machos ($n = 4$) a as 4; 8; 12 e 24 h. Se realizou uma extração líquido-líquido do analito com água, metanol e centrifugado a 13500 r. p. m. a 4 °C. A separação e quantificação se realizou por HPLC mediante a eluição isocrática em fase reversa, utilizando columna C-18, detector de fluorescência a 295 nm de excitação e 490 nm de emissão e fase móvel composta por água, acetonitrilo e trietilamina. As concentrações plasmáticas temporárias se analisaram com o software não compartimental PK Solution 2.0. Os resultados conseguidos indicam pronta absorção, rápida e ampla distribuição. O Cl e os valores conseguidos de $t_{1/2\beta}$ e TMR indicam lenta depuração e prolongada permanência. O ensaio determinou concentrações plasmáticas perduráveis hasta 24 h, e que excedem a CMI de patógenos relevantes. O cociente ABC/CMI indica eficácia frente a micro-organismos com CMI \leq 0,15 $\mu\text{g/ml}$. Os níveis urinários de marbofloxacin são mais significativos que os plasmáticos. Não obstante, se requerem novos estudos que avalizem seu uso com a dose e via de aplicação ensaiada.

Palavras chave: caninos, farmacocinética, marbofloxacin, plasma, urina.

INTRODUCCIÓN

Las fluoroquinolonas desarrollan actividad bactericida en presencia de bacterias aeróbicas gramnegativas, algunas grampositivas y micoplasmas, mediante la interacción con las enzimas ADN-girasa y topoisomerasa IV (1,2). En caninos, las infecciones urinarias asociadas a *Escherichia coli*, el uropatógeno más importante (3), demandan diversos antibacterianos, inclusive fluoroquinolonas (3-5), acorde con las significativas concentraciones urinarias provistas (1,6); sin embargo, la resistencia creciente de *E. coli*, cercana al 40%, restringe su eficacia terapéutica (3,4,7,8).

La marbofloxacin es una fluoroquinolona de segunda generación que exhibe buen margen de seguridad en ca-

linos, excepto por las posibles anormalidades en cartílagos en animales jóvenes (9,10). Es una molécula anfótera con mínima ionización en pH fisiológico, particularidad que asociada a su carácter lipofílico y la limitada unión a proteínas plasmáticas en caninos estimada de un 9% favorece la distribución tisular (1,2,11).

Los cambios estructurales introducidos le confieren características cinéticas mejoradas: extenso tiempo medio de eliminación ($t_{1/2\beta}$), amplio volumen de distribución (Vd) e incremento del espectro hacia bacterias grampositivas y anaerobios (12); la marbofloxacin exhibe la actividad bactericida, de concentración dependiente; la CMI frente *E. coli* se ubica entre 0,016 y 0,06 $\mu\text{g/ml}$ (13,14), frente a enterobacterias y *Pasteurella* spp. en 0,02 $\mu\text{g/ml}$ y sobre *Pseudomonas* spp. en 0,3-0,4 $\mu\text{g/ml}$ (13).

En caninos, los antecedentes cinéticos de marbofloxacin indican completa biodisponibilidad tras la aplicación intramuscular. La máxima concentración plasmática ($C_{m\acute{a}x}$) fue de $1,7 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}$, y el tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$) en que se expresó fue de $0,47 \pm 0,08 \text{ h}$ (15). La aplicación oral e intramuscular de 2 mg/kg determinó valores del área bajo la curva (ABC) de $11,3 \pm 3,07 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ (15) y $13,07 \pm 1,07$ (16). El fármaco consigue apreciable distribución en tejidos, según el V_d reportado de $1,8 \pm 0,9$ (15) hasta $2,2 \pm 0,3 \text{ l/kg}$ (17).

El $t_{1/2\beta}$ obtenido excede los hallados con enrofloxacin, difloxacin y orbifloxacin (11-16). Se informaron valores de $t_{1/2\beta}$ para la vía oral de $9,07 \pm 1,9 \text{ h}$ (16), de $10,89 \pm 0,84 \text{ h}$ (11) y de $14,0 \pm 4,9 \text{ h}$ (17); de $8,08 \pm 6,25 \text{ h}$ (15) y de $12,4 \pm 2,6 \text{ h}$ (17), para la vía endovenosa, y de $7,51 \pm 3,7$ (15), para la aplicación intramuscular.

Por otro lado, la aplicación intramuscular determinó un tiempo medio de residencia (TMR) de $11,2 \pm 6 \text{ h}$ (15), mientras que por aplicación oral fue próximo a 13 h (16,17), mayor al observado con orbifloxacin, enrofloxacin y difloxacin (16).

El clearance total (Cl_t) osciló entre $1,9 \pm 0,5$ (17) y $2,8 \pm 0,6 \text{ ml/min/kg}$ (15). El 35-40 % de fármaco se elimina por orina sin modificaciones (2,17); por aplicación oral de $2,75 \text{ mg/kg}$ se detectaron niveles urinarios de $18,08$ y $13,9 \mu\text{g/ml}$ a las 2 y 24 h, respectivamente (11).

Debido a que se desconoce la magnitud de la disposición plasmática y urinaria de este antimicrobiano por administración intramuscular en caninos, se realiza este estudio cinético, con el propósito de establecer la farmacocinética plasmática y su disposición urinaria para brindar información que propicie su aplicación terapéutica racional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Se utilizaron caninos mestizos ($n = 6$), clínicamente sanos, de $4,5 \pm 2,4$ años de edad, de $26,4 \pm 6,3 \text{ kg}$ de peso

corporal, con suministro de agua y alimento balanceado *ad libitum*, con su correspondiente plan sanitario y sin antecedentes de tratamientos recientes con antimicrobianos.

Toma de muestras

Aplicando un protocolo aprobado por el Comité de Ética de Investigación de la Universidad Nacional del Río Cuarto (UNRC) (Resolución CoEdi del 31/10/2014), cada animal recibió por vía intramuscular una dosis única de 2 mg/kg de marbofloxacin (Marbocyl 2 %, Vetoquinol, España). Posteriormente se colectaron muestras de sangre en los siguientes tiempos: 0,16-0,33-0,5; 0,75; 1; 2; 4; 6; 8; 2 y 24 h, centrifugadas durante 10 min a 1200 r. p. m., y solo en los perros machos ($n = 4$); muestras de orina a las 4; 6; 12 y 24 h, mediante un catéter urinario K33, conservadas a $-70 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta su análisis.

Tratamiento de las muestras

El ensayo preparativo consistió en la extracción líquido-líquido del analito. Cada muestra de plasma fue procesada según el método propuesto por Böttcher y colaboradores (18). En un tubo Eppendorf se incorporaron $200 \mu\text{l}$ de plasma u orina problema, $200 \mu\text{l}$ de agua deionizada, $20 \mu\text{l}$ de una solución de $20 \mu\text{g/ml}$ de enrofloxacin como estándar interno y $800 \mu\text{l}$ de metanol. El conjunto fue sometido a 30 s de vórtex; luego permaneció en reposo durante 30 min a temperatura ambiente y se centrifugó 20 min a 14.000 r. p. m. a $4 \text{ }^\circ\text{C}$; del sobrenadante obtenido y filtrado, $50 \mu\text{l}$ fueron inyectados al HPLC.

Procedimiento de separación y cuantificación

Se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta presión Hewlett-Packard y columna octadecilsilano C-18. La separación y cuantificación se realizó a temperatura ambiente en una elusión isocrática en fase reversa con flujo de $0,8 \text{ ml/min}$, lectura en detector de fluorescencia establecido a 295 nm de excitación y 490 nm de emisión y fase móvil conformada por agua, acetonitrilo y trietilamina, 79:20:1 v/v/v ajustada a pH 3 con ácido ortofos-

fórico, según Böttcher y colaboradores (18). La elusión generó picos en cromatograma correspondientes a enrofloxacin (estándar interno) y al analito en estudio.

Cálculo de las concentraciones plasmáticas y urinarias de marbofloxacin

En cada una de las muestras problema de plasma u orina, con el cromatograma obtenido en la corrida de la muestra del ensayo cinético y con el patrón de concentración conocida, se obtuvo un cociente tomando el valor del área de pico de marbofloxacin y del estándar interno. A partir de este cociente se determinaron las concentraciones plasmáticas y urinarias por regresión lineal simple, según Nouws y Ziv (19), mediante la fórmula:

$$y = a + bx$$

Donde: y = índice de área, a = intercepto, b = pendiente y x = concentración, en cuya fórmula transformada:

$$x = \frac{y - a}{b}$$

se reemplazó y por los valores promedio correspondientes de los índices de área de las muestras, a y b por los valores indicados, para obtener valores de concentración x .

Análisis farmacocinético

Los datos individuales *versus* tiempo se aplicaron al *software* PK Solution 2.0 Non Compartmental Pharmacokinetics Data Analysis (20), con el propósito de establecer parámetros cinéticos robustos.

RESULTADOS

La aplicación intramuscular de 2 mg/kg de marbofloxacin en caninos determina rápida absorción y distribución a los tejidos, según expresan los reducidos valores hallados en los parámetros de vida media de absorción ($t_{1/2abs}$) y vida media de distribución ($t_{1/2\beta}$), además de los otros parámetros cinéticos expresados en la tabla 1. El

perfil plasmático generado se representa en la figura 1 y en la tabla 2.

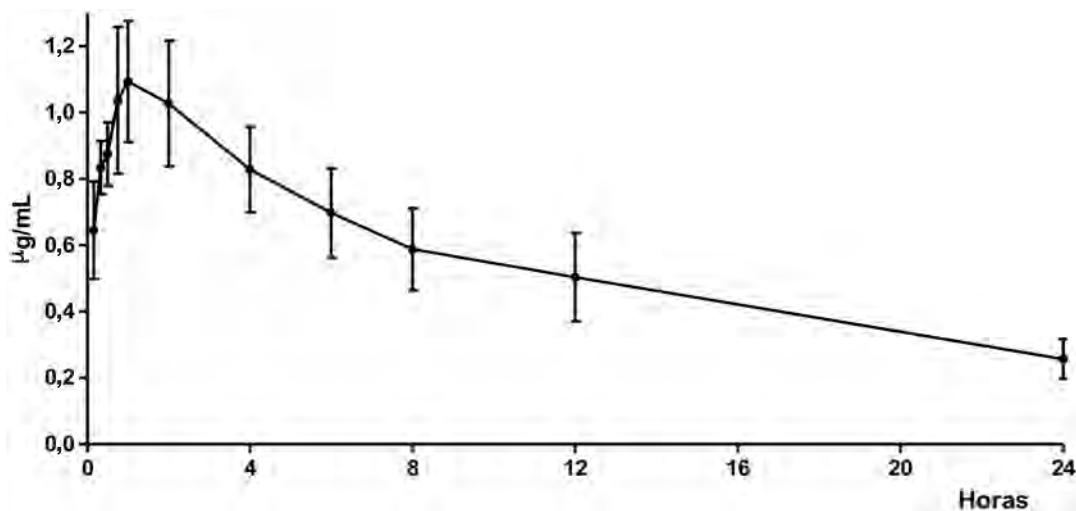
Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos determinados en caninos por aplicación de 2 mg/kg de marbofloxacin por vía intramuscular

Parámetro cinético	Plasma
$t_{1/2abs}$ (h)	0,31 ± 0,11
$t_{1/2\alpha}$ (h)	1,64 ± 0,94
$t_{1/2\beta}$ (h)	14,16 ± 2,89
$C_{m\acute{a}x}$ (μg/mL)	1,13 ± 0,18
$T_{m\acute{a}x}$ (h)	1,1 ± 0,45
ABCárea (μg-h/mL)	19,0 ± 3,34
TMR (h)	19,55 ± 4,03
Vd (L/kg)	2,17 ± 0,43
Cl _t (mL/min/kg)	1,79 ± 0,27

Tabla 2. Concentraciones de marbofloxacin ($X \pm DE$), expresados en μg/mL conseguidos en plasma y orina en distintos tiempos (horas) posaplicación

Tiempo (h)	Plasma	Orina
0,16	0,66 ± 0,14	-
0,33	0,81 ± 0,06	-
0,50	0,89 ± 0,09	-
0,75	1,13 ± 0,14	-
1,00	1,11 ± 0,18	-
2,00	0,99 ± 0,16	-
4,00	0,85 ± 0,13	20,05 ± 12,61
6,00	0,71 ± 0,13	-
8,00	0,60 ± 0,12	40,07 ± 34,32
12,00	0,47 ± 0,08	34,72 ± 33,68
24,00	0,27 ± 0,06	32,05 ± 32,56

Figura 1. Concentraciones plasmáticas por aplicación intramuscular de 2 mg/kg de marbofloxacina en caninos



DISCUSIÓN

La aplicación intramuscular de 2 mg/kg de marbofloxacina genera concentraciones plasmáticas inmediatas que subsisten hasta las 24 h posaplicación y exceden la CMI requerida por los patógenos gramnegativos relevantes (13,14), excepto de *Pseudomonas* spp. (13); esto es similar a lo observado tras la aplicación de idéntica dosis intravenosa (9), oral o subcutánea (17).

El $C_{máx}$ hallado es inferior y el $T_{máx}$ es ligeramente posterior al registrado por vía intramuscular (15), posiblemente debido a la diferente composición de las formulaciones farmacéuticas. El V_d encontrado insinúa una notable distribución desde el compartimento central. Este valor es similar al expuesto por Schneider y colaboradores (17), producto de la escasa afinidad por las proteínas plasmáticas, el carácter anfótero y la liposolubilidad de marbofloxacina (1,21).

El $t_{1/2\beta}$ obtenido excede significativamente al registrado con este fármaco por vía oral (16) e intramuscular (15), y es similar al encontrado por Schneider y colaboradores (17). El reducido Cl_t y la extensa permanencia plasmática tendrían relación con las propiedades físico-químicas;

la configuración del ciclo oxadiazínico favorecería el extenso $t_{1/2\beta}$ y también el amplio V_d (12,22), y sustentan el uso clínico de este antimicrobiano por vía intramuscular, aplicado cada 24 h (1), similar a lo que sucede tras la administración oral o subcutánea (17).

Las características de persistencia y difusión tisular, sumadas a sus atributos microbiológicos (13,14), inclusive al efecto posantibiótico comprobado con las fluoroquinolonas (1,23) y al análisis del cociente predictor de eficacia establecido para fluoroquinolonas de $ABC/CMI \geq 125$ h (24,25), sugieren la aplicación de este antimicrobiano en presencia de cepas patógenas que exhiben una $CMI \leq 0,15$ µg/ml (13, 14). En contraste, el predictor ABC/CMI es insuficiente para tratar infecciones causadas por *Pseudomonas* spp., en coincidencia con Frazier y colaboradores (11), según la CMI encontrada frente a este patógeno (13).

Las concentraciones urinarias cuantificadas en los perros machos (tabla 2) son más significativas que las plasmáticas, conforme los antecedentes de marbofloxacina (1,2,17). Estas concentraciones muy superiores establecidas en experiencias realizadas con idénticas dosis por aplicación oral (16) serían suficientes para el tratamiento

de infecciones urinarias no complicadas, por cuanto el éxito terapéutico depende de la dosis, el intervalo de aplicación, las concentraciones conseguidas (al menos cuatro veces la CMI), y que los microorganismos patógenos sean moderadamente susceptibles (26). Sin embargo, estos resultados son insuficientes para recomendar su aplicación a la dosis y por la vía ensayada, considerando la elevada manifestación de resistencia exhibida frente a las fluoroquinolonas (7,27), posiblemente por los valores de pH entre 5,5 y 7 dieta dependiente, de la orina de caninos (28), siendo menos eficaces las fluoroquinolonas en medio ácido (17,29,30). Por otro lado, la orina puede contener cantidades de magnesio, que reduce la actividad de las fluoroquinolonas, independientemente del pH (17,31).

Aun así, se recomiendan protocolos terapéuticos con aplicaciones diarias con dosis mayores durante tres o cuatro días para obtener un cociente predictor más favorable, reducir la exposición en el tiempo y restringir la manifestación de resistencia (5,8).

CONCLUSIONES

La técnica de extracción del analito y el método de HPLC implementado son adecuados para separar y cuantificar la marbofloxacina en plasma y orina de caninos.

La aplicación intramuscular de 2 mg/kg de marbofloxacina al 2% no ocasiona reacciones adversas locales ni generales, acorde con el perfil de seguridad que caracteriza al conjunto de fluoroquinolonas.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos en esta experiencia concuerdan con el perfil cinético exhibido por el conjunto de fluoroquinolonas por aplicación intramuscular. Los valores conseguidos en los parámetros $t_{1/2abs}$, $t_{1/2\alpha}$ y $t_{1/2\beta}$ indican inmediata absorción desde el sitio de aplicación, pronta distribución desde el compartimento central y extensa permanencia en el organismo, respectivamente, mientras el elevado Vd encontrado sugiere amplia distribución en los distintos compartimentos corporales.

Los resultados obtenidos permiten que este esquema posológico pueda adaptarse a la administración intramuscular, por cuanto el antimicrobiano persiste hasta las 24 h posteriores a su aplicación. No obstante, la variabilidad en las concentraciones urinarias establecidas en este estudio y la reducida cantidad de animales utilizados demanda nuevos estudios que avalen este procedimiento terapéutico en infecciones urinarias complicadas.

REFERENCIAS

1. Čonková E, Čellárov A, Váczi E, Sabová L. Quinolones from the point of view of pharmacology and veterinary indications (A review). *Folia Vet.* 2009;53(4):175-85.
2. Pallo-Zimmerman L, Byron J, Graves T. Fluroquinolones: then and now. *Compend Contin Educ Vet.* 2010;32(7):E1-9.
3. Olin S, Bartges J. Urinary tract infections: treatment/comparative therapeutics. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2015;45(4):721-46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2015.02.005>
4. Liu X, Boothe D, Jin Y, Thungrat K. *In vitro* potency and efficacy favor later generation fluoroquinolones for treatment of canine and feline *Escherichia coli* uropathogens in the United States. *World J Microbiol Biotechnol.* 2013;29(2):347-54. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-012-1188-x>
5. Jessen L, Sørensen T, Bjornvad C, Nielsen S, Guardabassi L. Effect of antibiotic treatment in canine and feline urinary tract infections: A systematic review. *Vet J.* 2015;203(3):270-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.12.004>
6. Boothe D, Silverstein D. Antimicrobial use in the critical care patient. En: *Small animal critical care medicine.* Missouri: Saunders-Elsevier; 2009. p. 821-7. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4160-2591-7.10194-8>
7. Cooke C, Singer R, Jang S, Hirsh D. Enrofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolated from dogs with urinary tract infections. *J Am Vet Med Assoc.* 2002;220(2):190-2. <http://dx.doi.org/10.2460/javma.2002.220.190>
8. Boothe D, Boeckh A, Simpson R, Dubose K. Comparison of pharmacodynamic and pharmacokinetic indices of efficacy for 5 fluoroquinolones toward pathogens of dogs

- and cats. *J Vet Intern Med.* 2006;20:1297-1306. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb00742.x>
9. Gruet P, Richard P, Chard X, Thomas E, Autefage A. Prevention of surgical infections in dogs with a single intravenous injection of marbofloxacin: an experimental model. *Vet Rec.* 1997;140(8):199-202. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.140.8.199>
 10. Plumb D. Marbofloxacin. En: *Veterinary drug handbook*. 6a. ed. Iowa: Blackwell Publishing Professional; 2010. p. 557-558.
 11. Frazier D, Thompson L, Trettien A, Evans E. Comparison of fluoroquinolone pharmacokinetic parameters after treatment with marbofloxacin, enrofloxacin, and difloxacin in dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2000;23(5):293-302. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2885.2000.00285.x>
 12. Brown S. Fluoroquinolones in animal health. *J Vet Pharmacol Ther.* 1996;19(1):1-14. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2885.1996.tb00001.x>
 13. Spreng M, Deleforge J, Thomas V, Boisram B, Drugeon H. Antibacterial activity of marbofloxacin. A new fluoroquinolone for veterinary use against canine and feline isolates. *J Vet Pharmacol Ther.* 1995;18(4):284-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2885.1995.tb00592.x>
 14. Meunier D, Acarb J, Martela J, Kroemerc S, Valle M. A seven-year survey of susceptibility to marbofloxacin of pathogenic strains isolated from pets. *Int J Antimicrob Agents.* 2004;24(6):592-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.09.004>
 15. Yohannes S, Awji E, Lee SJ, Park SC. Pharmacokinetics and pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administration in beagle dogs. *Xenobiotica.* 2014;45(3):1-6.
 16. Heinen E. Comparative serum pharmacokinetics of the fluoroquinolones enrofloxacin, difloxacin, marbofloxacin, and orbifloxacin in dogs after single oral administration. *J Vet Pharmacol Ther.* 2002;25(1):1-5. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2885.2002.00381.x>
 17. Schneider M, Thomas V, Boisrame B, Deleforge J. Pharmacokinetics of marbofloxacin in dogs after oral and parenteral administration. *J Vet Pharmacol Ther.* 1996;9(1):56-61. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2885.1996.tb00009.x>
 18. Böttcher S, von Baum H, Hoppe-Tychy T, Benz C, Sonntag H. An HPLC assay and a microbiological assay to determine levofloxacin in soft tissue, bone, bile and serum. *J Pharm Biomed Anal.* 2001;25(2):197-203. [http://dx.doi.org/10.1016/S0731-7085\(00\)00478-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0731-7085(00)00478-7)
 19. Nouws J, Ziv G. The effect of storage at 4 °C on antibiotic residues in kidney and meat tissues of dairy cows. *Tijdschr Diegeneesk.* 1976;101(20):119-127.
 20. Farrier D. PK Solution 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis. Summit Research Services, Ashland, USA. PK Solutions 2.0; 1999.
 21. Papich M, Riviere J. Fluoroquinolone antimicrobial drugs. En: *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 9a. ed. Iowa: Wiley-Blackwell Publishing; 2009. p. 983-1012.
 22. Neuman M. Relationship between chemical structure of antibiotics and pharmacokinetics. *Drug Exp Clin Res.* 1987;13(3):115-24.
 23. Giguère S, Dowling P. Fluoroquinolones. En: *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 5a. ed. Iowa: John Wiley & Sons; 2013. p. 295-314.
 24. Lees P, Svendsen O, Wiuff C. Strategies to minimize the impact of antimicrobial treatment on the selection of resistant bacteria. En: *Guide to antimicrobial use in animals*. Oxford: Blackwell Publishing; 2008. p. 77-101.
 25. Papich M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) modeling and the rational selection of dosage regimes for the prudent use of antimicrobial drugs. *Vet Microbiol.* 2014;171(3-4):480-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.12.021>
 26. Baggot J, Giguère S. Principles of antimicrobial drug bioavailability and disposition. En: *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 5a. ed. Iowa: John Wiley & Sons; 2013. p. 41-77. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118675014.ch4>
 27. Shaheen B, Boothe D, Oyarzabal O, Wang C, Johnson C. Evaluation of the contribution of gyrA mutation and efflux pumps to fluoroquinolone and multidrug resistance in pathogenic *Escherichia coli* isolates from dogs and cats. *Am J Vet Res.* 2011;72(1):25-32. <http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.72.1.25>
 28. Sink C, Feldman B. Laboratory urinalysis and hematology for the small animal practitioner. Teton New Media Jackson; 2004. p. 121.
 29. Barry A. In vitro activities of the quinolone antimicrobial agents. En: *International Telesymposium on Quinolones*.

- 1a. ed. Barcelona: J Prous Science Publising; 1989. p. 237-254.
30. Da Silva J, Hollenbach C. Fluoroquinolonas resistên-
cia bacteriana na medicina veterinária. *Arq Inst Biol.*
2010;77(2):363-9.
31. Díaz David D. Comportamiento farmacocinético de
la marbofloxacin en bovinos de diferentes edades y
relación PK-PD frente a mastitis estafilocócicas [tesis
doctoral]. Madrid: Universidad Complutense; 2012.