

January 2017

Disposición de danofloxacin en plasma y en tejidos comestibles de pollos parrilleros

Carlos Alberto Errecalde Erlicher

Universidad Nacional de Río Cuarto, cerrecalde@ayv.unrc.edu.ar

Guillermo Fermín Prieto Paoletti

Universidad Nacional de Río Cuarto, gprieto@ayv.unrc.edu.ar

Bárbara Bourel Gudiño

Universidad Nacional de Río Cuarto, barbybourel@gmail.com

Carlos Fernando Luders Post

Universidad Católica de Temuco, cluders@uct.cl

María Paula Tonini García

Universidad Nacional de Río Cuarto, mptonini@ayv.unrc.edu.ar

See next page for additional authors

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/mv>

Citación recomendada

Errecalde Erlicher CA, Prieto Paoletti GF, Bourel Gudiño B, Luders Post CF, Tonini García MP y Rodríguez Triana L. Disposición de danofloxacin en plasma y en tejidos comestibles de pollos parrilleros. *Rev Med Vet.* 2017;(35): 103-111. doi: <https://doi.org/10.19052/mv.4393>

This Article is brought to you for free and open access by the Revistas Unisalle at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Revista de Medicina Veterinaria by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Disposición de danofloxacin en plasma y en tejidos comestibles de pollos parrilleros

Autores

Carlos Alberto Errecalde Erlicher, Guillermo Fermín Prieto Paoletti, Bárbara Bourel Gudiño, Carlos Fernando Luders Post, María Paula Tonini García, and Ludy Rodríguez Triana

Disposición de danofloxacin en plasma y en tejidos comestibles de pollos parrilleros

Carlos Alberto Errecalde Erlicher¹ / Guillermo Fermín Prieto Paoletti² / Bárbara Bourel Gudiño³ / Carlos Fernando Luders Post⁴ / María Paula Tonini García⁵ / Ludy Rodríguez Triana⁶

Resumen

Se estudió la disposición de danofloxacin en pollos parrilleros, con el objetivo de establecer parámetros farmacocinéticos en plasma y tejidos y estimar un periodo de retiro. Se dividieron 42 pollos adultos en 14 grupos de 3 individuos cada uno, que recibieron una dosis oral única de 5 mg/kg de danofloxacin, luego de un periodo de ayuno comprendido entre las 12 h previas y las 3 h posteriores a la administración. Cada lote se sacrificó en tiempos preestablecidos, y se obtuvieron muestras de sangre, músculo e hígado en un periodo de hasta 120 h postaplicación. El ensayo consistió en la extracción líquido-líquido del analito, su separación y la cuantificación por cromatografía líquida de alta performance (HPLC). Los promedios de concentración plasmática y tisular por tiempo se analizaron con el programa PK Solution. Mediante el programa WT 1.4 se calculó el periodo de retiro, con base en los límites máximos de residuos (LMR) de 200 y 400 µg/kg, establecidos para músculo e hígado de pollo, respectivamente. La danofloxacin exhibe una rápida absorción, con lo cual logra una C_{máx} de 1,1 µg/ml en un T_{máx} de 1 h; presenta un t_{1/2β} (h) de 7,64; 6,16 y 12,77 h en plasma, hígado y músculo, respectivamente; un V_d de 5,51 L/kg; cocientes tejido/plasma de 0,48 y 6,61 en músculo e hígado, respectivamente, y niveles hasta 72 h. Con el análisis de las concentraciones residuales se estima un periodo de resguardo de 1,4 y 3,34 d, para músculo e hígado, respectivamente.

Palabras clave: aves, farmacocinética, fluoroquinolonas, residuos.

- 1 Médico veterinario. PhD en Ciencias Agropecuarias. Cátedra de Farmacología, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
✉ cerrecalde@ayv.unrc.edu.ar
- 2 Médico veterinario. Magíster en Inocuidad y Calidad de Alimentos. Cátedra de Farmacología, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
✉ gprieto@ayv.unrc.edu.ar
- 3 Médica veterinaria. Becaria, Cátedra de Farmacología, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
✉ barbybourel@gmail.com
- 4 Médico veterinario. PhD en Ciencias Biológicas. Cátedra de Farmacología, Universidad Católica de Temuco, Chile.
✉ cluders@uct.cl
- 5 Médica veterinaria. Cátedra de Farmacología, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
✉ mptonini@ayv.unrc.edu.ar
- 6 Ingeniera química. Magíster en Inocuidad y Calidad de Alimentos, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
✉ ludyro@hotmail.com

Disposition of danofloxacin in plasma and edible tissues of broiler chickens

Abstract

This paper aimed to study the disposition of danofloxacin in broiler chickens in order to establish pharmacokinetic parameters in plasma and tissues and to estimate a withdrawal period. 42 adult chickens were divided into 14 groups of 3 individuals each, who received a single oral dose of 5 mg/kg of danofloxacin after a fasting period of 12 h before and 3 h post-administration. Each batch was sacrificed at pre-established times, and blood, muscle, and liver samples were obtained over a period of up to 120 h post-application. The assay consisted of the liquid-liquid extraction of analyte and its separation and quantification by high-performance liquid chromatography (HPLC). Time averages for plasma and tissue concentration were analyzed using the PK Solution software. Withdrawal period was calculated using the WT 1.4 program, based on maximum residue limits (MRL) of 200 and 400 µg/kg, established for chicken muscle and liver, respectively. Danofloxacin exhibits a rapid absorption, resulting in a C_{max} of 1.1 µg/ml with a T_{max} of 1 h; t_{1/2β} (h) was 7.64; 6.16 and 12.77 in plasma, liver, and muscle, respectively; a V_d of 5.51 L/kg; tissue/plasma ratios of 0.48 and 6.61 in muscle and liver, respectively,

Cómo citar este artículo: Errecalde Erlicher CA, Prieto Paoletti GF, Bourel Gudiño B, Luders Post CF, Tonini García MP, Rodríguez Triana L. Disposición de danofloxacin en plasma y en tejidos comestibles de pollos parrilleros. Rev Med Vet. 2017;(35):103-11. doi: <http://dx.doi.org/10.19052/mv.4393>

and levels up to 72 h. Based on residual concentration analysis, a withdrawal period of 1.4 and 3.34 d was estimated for muscle and liver, respectively.

Keywords: poultry, pharmacokinetics, fluoroquinolones, residues.

Disposição de danofloxacin em plasma e em tecidos comestíveis de frangos de corte

Resumo

Estudou-se a disposição de danofloxacin em frangos de corte, com o objetivo de estabelecer parâmetros farmacocinéticos em plasma e tecidos e estimar um período de retiro. 42 frangos adultos foram divididos em 14 grupos de 3 indivíduos cada um, que receberam uma dose oral única de 5 mg/kg de danofloxacin, depois de um período de jejum compreendido entre as 12 horas prévias e as 3 horas posteriores à administração. Cada lote foi sacrificado em tempos pré-estabelecidos, e foram obtidas amostras de sangue, músculo e fígado em um período de até 120 horas pós-aplicação. O ensaio consistiu na extração líquido-líquido do analito, sua separação e a quantificação por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). As médias de concentração plasmática e tissular por tempo foram analisadas com o programa PK Solution. Mediante o programa WT 1.4 calculou-se o período de retiro, com base nos limites máximos de resíduos (LMR) de 200 e 400 µg/kg, estabelecidos para músculo e fígado de frango, respectivamente. A danofloxacin exibe uma rápida absorção, com a qual consegue uma $C_{máx}$ de 1,1 µg/ml em um $T_{máx}$ de 1 h; apresenta um $t_{1/2\beta}$ (h) de 7,64; 6,16 e 12,77 h em plasma, fígado e músculo, respectivamente; um V_d de 5,51 L/kg; cocientes tecido/plasma de 0,48 e 6,61 em músculo e fígado, respectivamente, e níveis até 72 h. Com a análise das concentrações residuais se estima um período de resguardo de 1,4 e 3,34 d, para músculo e fígado, respectivamente.

Palavras chave: aves, farmacocinética, fluoroquinolonas, resíduos.

INTRODUCCIÓN

Las fluoroquinolonas son agentes sintéticos con notable desarrollo en avicultura, particularmente en los integrantes de segunda generación (1,2). Ejercen actividad bactericida de tipo concentración dependiente, mediante el bloqueo de las enzimas ADN girasa y topoisomerasa IV, que intervienen en el plegamiento de la doble hélice de ADN, fundamentales para la estructura tridimensional del material genético (3-5).

Estos antimicrobianos desarrollan actividad excelente sobre enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*, mo-

derada sobre *Stafilococcus* spp., buena frente *Chlamydia* spp. y *Mycoplasmas* spp. (2,5,6); y poseen propiedades farmacocinéticas que permiten la aplicación en el agua de bebida (7,8), absorción oral variable (9) y concentraciones tisulares importantes respecto al plasma, resultado del carácter anfótero, reducida afinidad por las proteínas plasmáticas (3-5) y bajo perfil toxicológico en aves (2) y en otras especies domésticas (10,11).

La danofloxacin es una fluoroquinolona utilizada solo en animales domésticos, que desarrolla acciones frente a gramnegativos, ciertos grampositivos y *Mycoplasmas* spp. (12,13). En las aves, se utiliza para el tratamiento

de enfermedades causadas por *E. coli* (2,14), *Pasteurella haemolytica* y *multocida*, *H. somnus* y *Micoplasmas* spp.

Los estudios farmacocinéticos indican que en pollos hay absorción tras la administración oral (15-18), la cual se logra en tiempo corto de acuerdo con los tiempos medios de absorción ($t_{1/2abs}$) informados de 0,89 (16) a 1,2 h (15). Luego de la aplicación de 5 mg/kg, la curva de disposición plasmática generó áreas bajo la curva (ABC) de 3,05 (16), 3,5 (15), 5,1 (17) y $7,7 \pm 1,3$ $\mu\text{g/ml}$ (19). La $C_{\text{máx}}$ obtenida se ubicó entre 0,47 y 0,5 $\mu\text{g/ml}$ (15,16,18,19), provisto a las 2,4 h ($T_{\text{máx}}$) (18,19); la vida media de eliminación ($t_{1/2\beta}$) fue de 6,9 a 8,7 h (16) y 13,05 h (19), mientras el tiempo medio de residencia (TMR) alcanzó las 8,6 h (15), el V_d a 2,11 L/kg (18); el *clearance* (Cl) fue de 20,5 (17) a 23,5 ml/h/kg a (15), y en pavos el valor alcanzó 9,77 ml/h/kg (20).

La danofloxacin desaparece primero en plasma y luego en tejidos (18). Se encuentran altas concentraciones en hígado a las 6 h de administración, las cuales descienden a las 48 h de la última dosis recibida (17). Se observa un cociente tejido/plasma de 10,7 (15) a $20,6 \pm 2,1$ (19), mientras en el músculo se ve la relación entre 2,5 (15) y $4,1 \pm 0,36$ (19). En riñón y músculo, el descenso es paralelo al observado en el hígado, aunque 2 a 10 veces menos significativos. Esta sustancia es poco metabolizada (17). El mayor residuo encontrado en estos tejidos fue el principal metabolito, N-demetil, hallado en el hígado, pero inexistente en la piel y en el tejido adiposo (17).

En el músculo y el hígado, la $C_{\text{máx}}$ fue de $2,3 \pm 0,38$ y $12,6 \pm 1,2$ $\mu\text{g/g}$, respectivamente, conseguidos a las 6 y $3,1 \pm 1,6$ h, respectivamente. La vida media de eliminación fue de $9,7 \pm 1,4$ h en el músculo y $8,7 \pm 0,44$ h en el hígado (19).

En pavos, la administración oral de 6 mg/kg generó una $C_{\text{máx}}$ plasmática de $1,1 \pm 0,95$ $\mu\text{g/ml}$, obtenida a las $2,1 \pm 2,5$ h. El ABC fue de $7,7 \pm 1,7$ $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ y la biodisponibilidad hallada fue del $78,7 \pm 17,3\%$. En esta especie demostró moderada permanencia en el organismo, según reflejan el $t_{1/2\beta}$ y el TMR de $9,7 \pm 2,9$ y $15,1 \pm 4,3$ h, respectivamente (20).

La aplicación de fluoroquinolonas en animales de producción se reflejó en la incidencia creciente de cepas resistentes de *Campylobacter* spp., asociada con la administración desmedida e inadecuada y por la presencia de residuos (21-23). La situación determinó restricciones para el empleo, la determinación de límites máximos de residuos (LMR) en tejidos comestibles y la implementación de periodos de retiro (24).

En pollos, el laboratorio fabricante propone la aplicación oral en el agua de bebida de danofloxacin mediante polvos solubles en dosis de 5-10 mg/kg/d de 3 a 5 d (15,17). Como alternativa confiable, se realizó un estudio poblacional, en reemplazo de los diseños tradicionales que utilizan pocos animales, con el objetivo de establecer concentraciones plasmáticas y en tejidos comestibles, luego de la administración oral única, para estimar parámetros cinéticos que permitan valorar su utilidad terapéutica y, con datos de depleción tisular, para establecer un periodo de resguardo a la faena.

MATERIAL Y MÉTODOS

Como sujetos experimentales se utilizaron 42 pollos parrilleros mixtos ($n = 42$), línea Ross, clínicamente sanos; vacunados contra marek, newcastle, gumboro y bronquitis infecciosa; seleccionados al azar de una población de 750 pollos de 55 d de edad al inicio de la experiencia; con un peso promedio de $3,076 \pm 0,15$ kg; pertenecientes a un establecimiento avícola comercial próximo a la ciudad de Río Cuarto. Las aves, sujetas a idénticas condiciones de manejo y alimentación, fueron alojadas en condiciones de ambiente adecuadas para la edad de los animales: ventilación forzada, plan de luz de 18 h totales, temperatura ambiente acondicionada entre 19 y 21 °C y humedad ambiente promedio 65 % con agua de bebida *ad libitum* y alimento balanceado para aves libre de promotores de crecimiento y coccidiostáticos.

Luego de una semana de ambientación, se conformaron al azar 14 lotes de 3 individuos cada uno. Cada lote fue identificado, y previo ayuno de 12 h y de 3 h postaplicación, cada animal recibió una dosis única de 5 mg/kg de

danofloxacina aplicada directamente en forma de bolo en la cavidad bucal. Después cada lote se sacrificó por exanguinación, previo aturdimiento mecánico, procedimiento similar al utilizado en establecimientos autorizados para la faena de aves, y aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de la Universidad Nacional de Río Cuarto (Expediente 33/11), en los siguientes tiempos postaplicación: 0,25; 0,5; 0,75; 1; 2; 4; 6; 8; 12; 24; 48; 72; 96 y 120 h; de esto se obtuvieron 5 ml de sangre en tubos heparinizados centrifugados de inmediato durante 10 min a 2500 r. p. m., 3 g de hígado y 3 g de músculo. El plasma resultante y las muestras de tejido se identificaron y conservaron en viales por separado hasta su análisis a -20°C .

La validación del método se concretó mediante ensayos de linealidad, recuperabilidad, límite de detección, límite de cuantificación, reproducibilidad y repetibilidad. Estos ensayos, y la determinación de la concentración del analito en las muestras problema, se efectuaron sobre el índice de área, resultante de la división de las áreas de las señales cromatográficas de danofloxacina y el estándar interno de marbofloxacina.

El ensayo de linealidad consistió en determinar el grado de ajuste de los valores de índice de área y sus respectivos estándares de calibración, a una línea recta mediante una regresión lineal entre ambas variables. La recuperabilidad se determinó eluyendo por triplicado tres estándares de calibración y tres de recuperabilidad, en concentraciones diferentes de danofloxacina, y se calculó el porcentaje de recuperabilidad (% R) para cada concentración.

El ensayo de límite de detección (LD) se realizó con la fórmula que considera la superficie de área en el cromatograma, originada tras la elusión de las concentraciones más pequeñas de danofloxacina, mediante las cuales se estableció una curva de calibración y se obtuvo el valor de β .

$$\text{LD} = (\text{promedio SD} \times 3,3) / \beta$$

El límite de cuantificación (LC) se calculó con la misma fórmula y valores, solo que se multiplica el promedio de áreas obtenidos por 10:

$$\text{LC} = (\text{promedio SD} \times 10) / \beta$$

El ensayo de repetibilidad consistió en la elusión de los estándares de calibración por sextuplicado. Se consideró aceptable cuando el coeficiente de variación (CV) entre elusiones, en cuanto el índice de áreas de los cromatogramas, fue $\leq 1,5\%$. El ensayo de reproducibilidad consistió en eluir los estándares de calibración en ensayos efectuados en 6 d diferentes. Se consideró aceptable cuando el CV de los índices de áreas de los cromatogramas fue $\leq 3\%$.

En el plasma el ensayo preparativo consistió en la extracción líquido-líquido del analito utilizando 200 μl de plasma, 200 μl de agua deionizada, 800 μl de metanol y 30 μl de una solución de marbofloxacina de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ como estándar interno. El conjunto fue sometido a agitación por vórtice durante 30 s, y luego de 25 min de reposo a temperatura ambiente (25°C), fue centrifugado a 13500 r. p. m. a 4°C durante 25 min (25). El sobrenadante fue filtrado con filtro de nylon de 0,22 μ , y 50 μl de este se emplearon como volumen de inyección de la muestra para su separación y cuantificación por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

En tejidos, el ensayo preparativo consistió en la extracción líquido-líquido del analito, empleando 150 mg de tejido, y se le adicionaron 100 μl de una solución de 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de marbofloxacina, como estándar interno, y 0,75 ml de la solución de homogenización conformada por agua deionizada, metanol, ácido perclórico al 70% y ácido fosfórico 500:500:10:1 v/v/v/v.

El conjunto fue homogeneizado mecánicamente durante 1 min. Luego se agregaron 0,75 ml de la solución de homogenización. El contenido fue sometido a 1 min de vórtice, 25 min de reposo a temperatura ambiente, estacionado durante 12 h en heladera a 4°C , y luego centrifugado durante 30 min a 13.500 r. p. m. a 4°C (25). El

sobrenadante fue filtrado con filtros de nylon de 0,22 μ , y 50 μ l fueron utilizados como volumen de inyección de la muestra para su separación y cuantificación por HPLC. Estas se realizaron a temperatura ambiente por HPLC, mediante una elusión isocrática en fase reversa, con flujo de 0,8 ml/min, utilizando columna octadecilsilano C-18, 5 μ , 25 cm, Hewlett Packard, precolumna Phenomenex, jeringa de inyección Hamilton de 100 μ l y lectura en detector de fluorescencia establecido a 295 nm de excitación y 490 nm de emisión (25).

La elusión generó picos en el cromatograma correspondientes al estándar interno y al analito en estudio; aquí se tomaron las áreas de los picos, calculando el cociente, para la confección de la curva de calibración y establecer las concentraciones plasmáticas y tisulares de danofloxacin por regresión lineal simple (26). De los tres pollos sacrificados por tiempo, se consiguió un valor promedio para el cálculo de la concentración final de la curva en el plasma o tejido en función del tiempo.

El programa farmacocinético no compartimental PK Solution 2.0 (27) se aplicó para el análisis cinético individual en el plasma y en cada tejido estudiado, incorporando los promedios de concentraciones de danofloxacin establecidas en cada tiempo, la dosis uti-

lizada y el peso promedio de las aves incluidas en la experiencia. El programa estimó valores de parámetros cinéticos robustos propios de cada tejido. El periodo de retiro se estimó con el programa WT 1.4 de la EMEA (28), según los LMR establecidos en músculo e hígado de pollo de 200 y 400 μ g/kg, respectivamente, y se incluyeron los valores residuales obtenidos en la determinación de cada tejido.

RESULTADOS

Las concentraciones plasmáticas y tisulares obtenidas en función del tiempo se representan en la tabla 1. En la tabla 2 se muestran los resultados en los distintos parámetros farmacocinéticos, derivados del análisis de los promedios de concentraciones de cada tejido en diferentes tiempos desde los 15 min hasta las 24 h siguientes a la aplicación de danofloxacin, con el programa farmacocinético no compartimental PK Solution 2.0 (27). El análisis de las concentraciones residuales *versus* el tiempo con el programa WT 1.4 de la EMEA (28) permitió estimar un periodo de resguardo a la faena de 1,4 y 3,34 d, para músculo e hígado, respectivamente, que en condiciones prácticas se extenderían a 2 d para el músculo y 4 para el hígado.

Tabla 1. Concentraciones plasmáticas de danofloxacin (\pm DE) *versus* el tiempo (horas) en plasma y tejidos (μ g/ml o μ g/g)

Tiempo (h)	Plasma (μ g/g)	Músculo (μ g/g)	Hígado (μ g/g)
0,25	0,280 \pm 0,046	0,051 \pm 0,019	1,258 \pm 0,546
0,5	0,425 \pm 0,084	0,191 \pm 0,109	2,456 \pm 0,698
0,75	0,641 \pm 0,194	0,294 \pm 0,116	4,672 \pm 0,908
1	1,052 \pm 0,367	0,370 \pm 0,200	5,280 \pm 2,354
2	0,996 \pm 0,126	0,266 \pm 0,183	8,590 \pm 1,258
4	0,963 \pm 0,075	0,196 \pm 0,133	7,446 \pm 1,248
6	0,469 \pm 0,114	0,192 \pm 0,107	2,594 \pm 0,458
8	0,351 \pm 0,041	0,189 \pm 0,132	2,267 \pm 0,184
12	0,273 \pm 0,103	0,125 \pm 0,014	1,813 \pm 0,951
24	0,085 \pm 0,138	0,075 \pm 0,024	0,400 \pm 0,193
48	0,028 \pm 0,005	0,020 \pm 0,005	0,070 \pm 0,022
72	0,018 \pm 0,001	0,019 \pm 0,002	0,035 \pm 0,011

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos obtenidos en plasma y tejidos con 5 mg/kg de danofloxacin por vía oral en pollos

Parámetro	Plasma	Músculo	Hígado
C _{máx} (µg/ml o µg/g)	1,10	0,40	8,80
T _{máx} (h)	1,00	1,00	3,00
t _{1/2abs} (h)	0,48		
t _{1/2α} (h)	1,10		
t _{1/2β} (h)	7,64	12,77	6,16
ABC área (µg-h/ml)	10,00	4,90	66,10
MRT (h)	9,60	18,50	8,00
V _d área (L/kg)	5,51		
Cl (ml/h/kg)	8,33		

C_{máx} = concentración máxima alcanzada; T_{máx} = tiempo máximo; t_{1/2abs} = tiempo de vida media de absorción; t_{1/2β} = tiempo de vida media de eliminación; t_{1/2α} = tiempo de vida media de distribución; ABC área = área bajo la curva; V_d área = volumen de distribución aparente; TMR = tiempo medio de residencia; Cl = depuración.

DISCUSIÓN

No se observaron reacciones adversas de ninguna naturaleza en las aves tratadas, en concordancia con el perfil de seguridad que exhiben las fluoroquinolonas cuando se utilizan según las condiciones recomendadas (2,5,10,11). El método implementado permitió cuantificar el antimicrobiano en plasma y tejidos hasta las 72 h postaplicación. Los resultados obtenidos revelan que la administración oral de 5 mg/kg de danofloxacin a pollos parrilleros adultos en condiciones de ayuno previo a 12 h, con el propósito de evitar la interacción del antimicrobiano con los iones divalentes de origen alimentario (2,11,13), experimenta pronta absorción, ya que se determina en el plasma a los 15 min postaplicación y consigue el C_{máx} de 1,1 µg/ml a 1 h, más pronto que lo encontrado en el hombre y en caninos por el conjunto de fluoroquinolonas (10,11). El C_{máx} obtenido excede otros ensayos realizados con danofloxacin por vía oral en pollos parrilleros (15,16,18,19), posiblemente por las condiciones de ayuno de este ensayo (2,11,13).

El t_{1/2β} obtenido de 7,6 h es similar al hallado en pollos de 7,31 h (16) e inferior a las 13,05 ± 1,68 h en pollos (19)

y 9,74 ± 2,93 h en pavos (20). El TMR encontrado en esta experiencia de 9,6 h, respecto a experiencias realizadas en pollos, es inferior al obtenido con danofloxacin en pollos de 8,69 h (15) y 15,17 ± 4,37 h en pavos (20). Estos valores concuerdan con los antecedentes de moderada permanencia plasmática de fluoroquinolonas en pollos (29), similar a lo que sucede con danofloxacin en mamíferos domésticos (30,31).

La curva de disposición plasmática generó un ABC de 10 µg-h/ml, mayores a los valores registrados en esta especie utilizando idéntica dosis de danofloxacin (15-17,19) y en pavos, tras la aplicación de 6 mg/kg (20). La rápida declinación plasmática verificada desde las 12 h no resulta solo de los procesos de eliminación, sino también de la distribución a los tejidos, lo cual es similar a lo observado en experiencias realizadas en pollos (15). Sin embargo, la depuración hallada, comparada con otros agentes del grupo en pollos es menor a la observada con danofloxacin de 20,5 (17) y 23,52 ml-min/kg (15).

Acorde con sus características físico-químicas, como liposolubilidad (11,14,18) y reducida afinidad por proteínas plasmáticas (4,24), los antecedentes de las fluoroquinolonas indican elevada distribución tisular (31-33), que se reflejan en el valor de V_d de 5,1 L/kg encontrado en este estudio. Sin embargo, excede a los registrados de 1,42 ± 0,15 L/kg en caprinos (34), 2,21 L/kg en pollos (18), 2,76 ± 0,18 L/kg en ovinos (31) y 4,3 L/kg en bovinos (30)

La comparación de las ABC en este estudio arroja cocientes tejido/plasma de 0,48 y 6,61 en músculo e hígado, respectivamente, valores menos significativos a los encontrados por otros autores en pollos con este antimicrobiano (15,17,19).

Similar a lo registrado en pollos parrilleros (17), las concentraciones hepáticas decrecen en forma paralela a las plasmáticas. En esta experiencia se hallaron 0,4 ± 0,19 µg/g a las 24 h y el valor mínimo de 0,035 ± 0,011 µg/g se determinó a las 72 h postaplicación. El C_{máx} conseguido en este tejido, de 8,8 µg/g, excede altamente al

plasmático de 1,1 µg/ml, pero es menor al informado de $12,68 \pm 1,21$ µg/g, utilizando una dosis similar (19).

En el hígado el $T_{m\acute{a}x}$ se logra a las 3 h. Los valores de $t_{1/2\beta}$ y TMR, de 6,16 y 8 h, encontrados respectivamente, señalan la permanencia de danofloxacin en este tejido, pero son menos trascendentes respecto a los registrados en otro ensayo realizado en pollos con danofloxacin (19).

En el músculo, las concentraciones determinadas disminuyen significativamente desde las 12 h de $0,125 \pm 0,014$ µg/g hasta $0,019 \pm 0,002$ µg/g a las 72 h. En este tejido, el $C_{m\acute{a}x}$ de 0,4 µg/g se consigue a la hora posaplicación, y es menor al 1,1 µg/g establecido en el plasma y en otros ensayos realizados en pollos, que indican $2,31 \pm 0,38$ µg/g (19). La danofloxacin exhibe mayor permanencia en músculo respecto al plasma y al hígado, según surge de la comparación de los valores de $t_{1/2\beta}$ hallados de 12,77; 7,64 y 6,16 h.

Las concentraciones tisulares inferiores pueden ser consecuencia del modo de aplicación: en este análisis se realizan en forma de bolo; en otros, el fármaco es suministrado en el agua de bebida. Esta aplicación genera concentraciones continuas, similar a la vía intravenosa continua, a la modalidad del ensayo, a la metodología analítica, etc. No obstante, se observan marcadas variaciones en la información disponible respecto a la disposición tisular de danofloxacin y otras quinolonas en animales domésticos.

A pesar de las diferencias expresadas en el ABC plasmático *versus* los tisulares, particularmente el hígado, el periodo de resguardo a la faena de danofloxacin en pollos parrilleros, estimado según los datos surgidos del análisis farmacocinético en los tejidos comestibles (35,36), se estableció en 1,4 y 3,34 d, para músculo e hígado, respectivamente.

La sustitución del diseño farmacocinético tradicional, que considera la toma de muestras seriadas en pocos animales —usualmente seis individuos— (13), por el modelo poblacional implementado en este estu-

dio, resulta ventajosa por cuanto implica la colecta de muestras temporales de plasma o tejidos de diferentes individuos. Esto permite atenuar las variaciones atribuidas a la edad, sexo, tamaño corporal, o provocadas por causas patológicas o nutricionales, etc., advertidas en los estudios cinéticos convencionales (31,33,37).

CONCLUSIONES

El perfil cinético exhibido por danofloxacin en pollos concuerda con sus propiedades físico-químicas. Las curvas de disposición generadas en plasma y en los tejidos estudiados, luego de la aplicación vía oral, importantes hasta las 12-24 h, permiten considerar la aplicación de una sola dosis diaria.

El diseño poblacional implementado es adecuado para realizar estudios farmacocinéticos, de disposición tisular, y para establecer el periodo de resguardo. El método de extracción aplicado y la técnica de HPLC implementada resultaron confiables, accesibles y sensibles para cuantificar concentraciones de danofloxacin en el plasma o tejidos de pollos, útil para estudios cinéticos o para establecer concentraciones residuales.

La administración de danofloxacin en pollos en las dosis de 5 mg/kg, durante periodos breves y respetando el periodo de retiro, establecidos en función de las concentraciones residuales, es de 1,4 y 3,34 d, para músculo e hígado, respectivamente. En la práctica, la mayor residualidad hepática determina un periodo de resguardo de 4 d en pollos en engorde, compatibles con la brevedad de los ciclos productivos de pollos parrilleros.

Los resultados obtenidos respaldan el empleo de danofloxacin por vía oral en pollos. No obstante, la administración debe ser prudente, en las dosis indicadas, durante periodos breves y respetando el periodo de resguardo, establecido en función de las concentraciones residuales de 1,4 y 3,34 d, para músculo e hígado, respectivamente, compatibles con la brevedad de los ciclos productivos de pollos parrilleros.

REFERENCIAS

1. Anjum A, Rizvi F. Use of second generation of quinolones in poultry. *Pakistan J Biol Sci.* 1998;1(4):392-5. doi: <https://doi.org/10.3923/pjbs.1998.392.395>
2. Hofacre C. Antimicrobial drug use in poultry. En: *Antimicrobial therapy in veterinary medicine.* 5a ed. Ames: Blackwell Publishing; 2013. p. 545-53. doi: <https://doi.org/10.1002/9781118675014.ch34>
3. Čonková E, Čellárová E, Váczi P, Sabová L. Quinolones from the point of view of pharmacology and veterinary indications (A review). *Folia Vet.* 2009;53(4):175-85.
4. Papich M, Riviere J. Fluoroquinolonas. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria.* 2a. ed. Zaragoza: Acribia; 2003. p. 961-80.
5. Walker R, Dowling P. Fluoroquinolones. En: *Antimicrobial therapy in veterinary medicine.* 4a. ed. Ames: Blackwell Publishing; 2013. p. 263-84.
6. Glisson J, Hofacre C, Mathis G. Comparative efficacy of enrofloxacin, oxytetracycline, and sulfadimethoxine for the control of morbidity and mortality caused by *Escherichia coli* in broiler chickens. *Avian Dis.* 2004;48(3):658-62. doi: <https://doi.org/10.1637/7166>
7. Vermeulen B, De Backer P, Remon J. Drug administration to poultry. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54(6):795-803. doi: [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(02\)00069-8](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(02)00069-8)
8. De Backer P. Comparative pharmacokinetics in avian species. *J Vet Pharmacol Ther.* 2006;29(Suppl. 1):239-301.
9. Chen Z, Fang K-F, Fang B, Song Y. Antimicrobial and pharmacokinetic studies of fluoroquinolones in chickens. *Documento procedente del 6th EAVPT Congress;* 1994; Edinburg, Scotland.
10. Brown SA. Fluoroquinolones in animal health. *J Vet Pharmacol Ther.* 1996;19(1):1-14. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1996.tb00001.x>
11. Gupta R, Sharma K, Sharma R, Gupta D, Sachin T, Yadav B. A review: pharmacokinetics application of fluoroquinolones. *IJPPR.* 2012;3(2):650-60.
12. Giles C, Magonigle R, Grimshaw W, Tanner C, Risk C, Lynch M, Rice J. Clinical pharmacokinetics of parenterally administered danofloxacin in cattle. *J Vet Pharmacol Ther.* 1991;14(4):400-10. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1991.tb00854.x>
13. Shojaee Aliabadi F, Lees P. Pharmacokinetic-pharmacodynamic integration of danofloxacin in the calf. *Res Vet Sci.* 2003;74(3):247-59. doi: [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(03\)00005-5](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(03)00005-5)
14. Charleston B, Gate J, Aitken I, Stephan B, Froyman R. Comparison of the efficacies of three fluoroquinolone antimicrobial agents, given as continuous or pulsed-water medication, against *Escherichia coli* infection in chickens. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42(1):83-7.
15. Knoll U, Glünder G, Kietzmann M. Comparative study of the plasma pharmacokinetics and tissue concentrations of danofloxacin and enrofloxacin in broilers chickens. *J Vet Pharmacol Ther.* 1999;22(4):239-46. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1999.00217.x>
16. Zhong X, Tong H, Cong X, Feng L. Studies in the pharmacokinetic and bioavailability of danofloxacin in chickens. *Heilongjinag J Anim Sci.* 2001;(9):11-17.
17. Lynch M, Rice J, Ericson J, Mosher F, Millas W, Harran L, Frame G, Illyes E, McGuirk P, Jefson M. Residue depletion studies on danofloxacin in the chicken. *J Agric Food Chem.* 1994;42(2):289-94. doi: <https://doi.org/10.1021/jf00038a012>
18. El-Gendi A, El-Banna H, Abo Norag M, Gaber M. Disposition kinetics of danofloxacin and ciprofloxacin in broiler chickens. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 2001;108(10):429-34.
19. Zeng Z, Deng G, Shen X, Rizwan-Ui-Haq M, Zeng D, Ding H. Plasma and tissue pharmacokinetics of danofloxacin in healthy and in experimentally infected chickens with *Pasteurella multocida*. *J Vet Pharmacol Ther.* 2011;34(1):101-4. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2010.01223.x>
20. Haritova A, Rusenova N, Parvanov P, Lashev L, Fink-Gremmels J. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of danofloxacin in turkeys. *Vet Res Comm.* 2006;30(7):75-89. doi: <https://doi.org/10.1007/s11259-006-3400-7>
21. Avrain L, Humbert F, L'Hospitalier R, Sanders P, Vernozy-Rozand C, Kempf I. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers: association with production type and antimicrobial use. *Vet Microbiol.*

- 2003;96(3):267-76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.07.001>
22. Fábrega A, Sánchez-Céspedes J, Soto S, Vila J. Quinolone resistance in the food chain. *Int J Antimicrob Agents*. 2008;31(4):307-15. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.12.010>
23. Nelson J, Chiller T, Powers J, Angulo F. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: a public health success story. *Clin Infect Dis*. 2007;4(7):977-80. doi: <https://doi.org/10.1086/512369>
24. Anadón A, Martínez-Larrañaga M. Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. *Livest Prod Sci*. 1999;59(2-3):183-98. doi: [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00026-3](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00026-3)
25. Bottcher S, 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. doi: [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(00\)00478-7](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(00)00478-7)
26. 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):119-27.
27. Farrier D. PK Solution 2.0 Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis. Summit Research Services. Ashland, USA; 1999.
28. Hekman P. Withdrawal-time calculation program WT 1.4; 1998.
29. Anadón A, Martínez-Larrañaga M, Fernández-Cruz M. Considérations physiologiques et pharmacologiques en thérapeutique aviaire. *Rev Med Vet*. 1993;144(10):745-57.
30. Friis C. Penetration of danofloxacin into the respiratory tract tissues and secretions in calves. *AJVR*. 1993;54(7):1122-7.
31. McKellar Q, Gibson I, McCormac R. Pharmacokinetics and tissue disposition of danofloxacin in sheep. *Biopharm Drug Dispos*. 1998;19(2):123-9. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-081X\(199803\)19:2<123::AID-BDD89>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-081X(199803)19:2<123::AID-BDD89>3.0.CO;2-G)
32. San Andrés Larrea M, Boggio J. Introducción a los antimicrobianos. En: *Antimicrobianos y antiparasitarios en medicina veterinaria*. 1a. ed. Buenos Aires: Intermédica; 2007. p. 1-24.
33. Lees P, Svendsen O, Wiuff C. Strategies to minimise the impact of antimicrobial treatment on the selection of resistant bacteria. En: *Guide to antimicrobial use in animals*. 1a. ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2008. p. 77-101. doi: <https://doi.org/10.1002/9781444302639.ch6>
34. Atef M, EL-Gendi A, Amer M, Abb EL-Aty A. Some pharmacokinetic data for danofloxacin in healthy goats. *Vet Res Comm*. 2001;25(5):367-77. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1010642726054>
35. Arboix M, Martín-Jiménez T. Aspectos terapéuticos y de salud pública de los residuos farmacológicos. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2002. p. 681-9.
36. Riviere J, Sundlof S. Residuos químicos en los tejidos comestibles animales. En: *Farmacología y terapéutica veterinaria*. 2a. ed. Zaragoza: Acribia; 2003. p. 1249-58.
37. Martín-Jiménez T, Riviere J. Population pharmacokinetics in veterinary medicine: Potential use for therapeutic drug monitoring and prediction of tissue residues. *J Vet Pharmacol Ther*. 1998;21(3):167-89. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1998.00121.x>