



.UBA
Universidad de
Buenos Aires

.UBA VETERINARIA
Facultad de Ciencias Veterinarias

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
CÁTEDRA DE FARMACOLOGÍA

**“CLINDAMICINA EN CANINOS Y FELINOS DOMÉSTICOS:
FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA”**

AUTOR: SABRINA M. PASSINI

DIRECTOR: PROF. DRA. GABRIELA A. ALBARELLOS

- 2022 -

Dedicada a papá, mamá, Fla, abu.

Y muy especialmente a Gabi.

A Gabi, mi directora, por su amistad, por confiar en mí, por su generosidad como persona y como profesional, por enseñarme muchísimo sobre farmacología pero aún más sobre vivir.

A Luis, que no me alcanza ni esta línea ni un GRACIAS para expresarle lo mucho que significó su ayuda y aguante.

A Lau, quien siempre tiene un consejo o la palabra justa y por ser una gran compañera en la odisea "Cromatografía".

A Agus y Martín, por su amistad, por estar siempre y hacer más que llevaderos hasta esos días interminables de laburo.

A Sil y Pau, con quienes compartimos la pasión (casi nerds) por la farmacología y los gatos. Y por preocuparse por ellos como si fueran suyos.

A mis compañeros de cátedra, por su apoyo, por las risas, por la ayuda los días de muestreo, por bancarse almuerzos entre tubos Khan o la alarma del cromatógrafo cada 5 minutos.

A Javier y Mariela, por su ayuda en la etapa microbiológica.

Al Área de Caniles, especialmente Sil, por su buena predisposición y compromiso con el trabajo con animales siempre.

A Fenta, Glico, Hepa, Ipeca, Jalapa, Keta, Frido, Chino, Quiltro, Pascu, Renata y Toto, sin ellos este trabajo no hubiera sido posible e hicieron las cinéticas muy entretenidas.

A mis amigas, por escucharme, darme ánimo y hasta sobornarme con vino como incentivo. Por su amistad incondicional en todas las etapas de mi vida, incluida esta.

Finalmente a mi familia, mi sostén, gracias por estar siempre.

ÍNDICE

Abreviaturas	1
Resumen	3
Summary	6
I. INTRODUCCIÓN	9
I.I. Historia	10
I.II. Estructura química	10
I.III. Farmacodinamia	13
I.III.1. Mecanismo de acción	13
I.III.2. Actividad antimicrobiana	15
I.III.2.a. Lincosamidas	15
I.III.2.b. Efecto antibacteriano	16
I.III.2.c. Efecto inóculo	16
I.III.2.d. pH del medio	17
I.III.2.e. Efecto postantibiótico	17
I.III.2.f. Inhibición en la producción de toxinas bacterianas	18
I.III.3. Otros efectos – Efectos extra antimicrobianos	19
I.III.3.a. Efecto sobre el sistema inmune	19
I.III.3.b. Efecto sobre la contractibilidad muscular	21
I.III.4. Espectro	22
I.III.4.a. Microorganismos aerobios y microaerófilos grampositivos	22
I.III.4.b. Microorganismos aerobios gramnegativos	22
I.III.4.c. Espiroquetas	23

I.III.4.d. Microorganismos anaerobios	23
I.III.4.e. Micoplasmas	23
I.III.4.f. Protozoarios	24
I.III.4.g. Microorganismos no susceptibles	24
I.III.5. Actividad <i>in vitro</i> de la clindamicina	25
I.III.5.a. Resistencia reportada	26
I.III.6. Mecanismos de resistencia	29
I.III.7. Usos terapéuticos	31
I.III.8. Efectos adversos	34
I.III.9. Interacciones farmacodinámicas	36
I.III.9.a. Clindamicina con otros antimicrobianos	36
I.III.9.a.a. Clindamicina - Macrólidos – Fenicoles	36
I.III.9.a.b. Clindamicina – Betalactámicos	37
I.III.9.a.c. Clindamicina - Aminoglucósidos	37
I.III.9.a.d. Clindamicina – Fluoroquinolonas	38
I.III.9.a.e. Clindamicina – Vancomicina	39
I.III.9.a.f. Clindamicina – Rifampicina	39
I.III.9.a.g. Clindamicina – Metronidazol	39
I.III.9.b. Clindamicina con bloqueantes neuromusculares	39
I.IV. Farmacocinética	40
I.IV.1. Formulaciones	40
I.IV.2. Absorción	41
I.IV.2.a. Absorción oral	41

I.IV.2.a.a. Biodisponibilidad y efecto de primer paso	42
I.IV.2.a.b. Interacción con alimento	43
I.IV.2.b. Absorción intramuscular y subcutánea	43
I.IV.3. Distribución	45
I.IV.3.a. Difusión a células del sistema inmune	50
I.IV.3.b. Unión a proteínas plasmáticas	51
I.IV.3.c. Conversión de la clindamicina fosfato a su forma activa	53
I.IV.4. Eliminación: Metabolismo y Excreción	53
I.IV.4.a. Metabolismo	55
I.IV.4.b. Excreción	56
I.IV.4.c. Recirculación enterohepática	57
I.IV.5. Dosis múltiple	57
I.IV.6. Interacciones farmacocinéticas	58
I.IV.7. Influencia del alimento sobre la absorción oral de fármacos	58
I.IV.8. Sistema de clasificación biofarmacéutica	61
I.V. Modelo farmacocinético/farmacodinámico	63
II. HIPÓTESIS	66
II.I. Hipótesis central	67
II.II. Hipótesis de trabajo	67
III. OBJETIVOS	68
III.I. Objetivo general	69
III.II. Objetivos específicos	69
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	70

IV.I. Lugar de trabajo	71
IV.II. Farmacocinética	71
IV.II.1. Caninos	71
IV.II.1.a. Materiales utilizados	71
IV.II.1.a.a. Animales	71
IV.II.1.a.b. Fármacos y dosificación	72
IV.II.1.a.c. Administración de la clindamicina, toma de muestras y almacenamiento	72
IV.II.1.b. Metodología para la administración del antibiótico y toma de muestras	73
IV.II.1.b.a. Administración de la clindamicina	73
IV.II.1.b.b. Toma de muestras	73
IV.II.1.b.c. Acondicionamiento y conservación de las muestras	74
IV.II.2. Felinos	74
IV.II.2.a. Materiales utilizados	74
IV.II.2.a.a. Animales	74
IV.II.2.a.b. Fármacos y dosificación	74
IV.II.2.a.c. Administración de la clindamicina, toma y conservación de las muestras	75
IV.II.2.b. Metodología para la administración del antibiótico y toma de muestras	76
IV.II.2.b.a. Administración de la clindamicina	76
IV.II.2.b.b. Toma de muestras	76
IV.II.2.b.c. Acondicionamiento y conservación de las muestras	77

IV.II.3. Diseño experimental	77
IV.II.4. CICUAL	77
IV.II.5. Materiales y metodología para la extracción y cuantificación de la clindamicina en plasma	77
IV.II.5.a. Materiales	77
IV.II.5.a.a. Equipo de detección	77
IV.II.5.a.b. Fase estacionaria	78
IV.II.5.a.c. Fase móvil	78
IV.II.5.a.d. Extracción	78
IV.II.5.a.e. Material de laboratorio	78
IV.II.5.b. Metodología	79
IV.II.5.b.a. Puesta a punto y validación del método para la extracción y cuantificación de la clindamicina en plasma canino y felino	79
IV.II.5.b.a.a. Curva de calibración	79
IV.II.5.b.a.b. Descripción del método analítico	80
IV.II.5.b.a.c. Extracción	80
IV.II.5.b.a.d. Validación del método cromatográfico	81
IV.II.5.b.a.e. Determinación de las concentraciones plasmáticas de la clindamicina	82
IV.II.5.b.a.f. Determinación de la estabilidad de la clindamicina conservada a -20°C	83
IV.II.6. Construcción de la curva de disposición, análisis	83

farmacocinético y análisis estadístico	
IV.II.6.a. Materiales	83
IV.II.6.b. Metodología	83
IV.II.6.b.a. Administración endovenosa de la clindamicina	84
IV.II.6.b.a.a. Modelo bicompartimental abierto para la administración endovenosa	85
IV.II.6.b.b. Administración oral de la clindamicina. Modelo monocompartimental abierto	87
IV.II.6.b.c. Análisis estadístico	88
IV.III. Farmacodinamia	89
IV.III.1. Materiales	89
IV.III.1.a. Antimicrobianos	89
IV.III.1.b. Material biológico	89
IV.III.1.c. Medios de cultivo	91
IV.III.1.d. Material de laboratorio	91
IV.III.2. Metodología para la determinación de la CIM	92
IV.III.2.a. Fundamento	92
IV.III.2.b. Solución del antimicrobiano	92
IV.III.2.c. Curva estándar	92
IV.III.2.d. Inóculo	93
IV.III.2.e. Cultivo	94
IV.III.2.f. Lectura y determinación de la sensibilidad antimicrobiana	94

IV.III.2.g. Validación	94
IV.III.3. Metodología para la realización del Tablero de damas o Checkerboard	95
IV.III.3.a. Fundamento	95
IV.III.3.b. Determinación de la CIM para los antimicrobianos en estudio	96
IV.III.3.c. Soluciones de antimicrobianos	97
IV.III.3.d. Inóculo	97
IV.III.3.e. Confección del Tablero de damas	98
IV.III.3.f. Cultivo	98
IV.III.3.g. Lectura	98
IV.III.3.h. Validación	99
IV.III.3.i. Interpretación y análisis del Tablero de damas	99
IV.IV. Integración farmacocinética/farmacodinámica	102
IV.IV.1. Materiales	102
IV.IV.2. Metodología	102
IV.IV.2.a. Análisis estadístico	102
V. RESULTADOS	103
V.I. Farmacocinética	104
V.I.1. Validación del método para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en plasma	104
V.I.2. Análisis farmacocinético de las concentraciones plasmáticas de la clindamicina en perros	109
V.I.3. Análisis estadístico de la farmacocinética de la clindamicina administrada a perros	117
V.I.4. Análisis farmacocinético de las concentraciones plasmáticas	119

de la clindamicina en gatos	
V.I.5. Análisis estadístico de la farmacocinética de la clindamicina administrada a gatos	128
V.I.6. Comparación estadística de la farmacocinética de la clindamicina entre caninos y felinos	130
V.II. Farmacodinamia	135
V.II.1. Resultados de los parámetros farmacodinámicos estudiados	135
V.II.1.a. Resultados de la determinación de la CIM	135
V.II.1.b. Resultados del Tablero de Damas	137
V.III. Integración farmacocinética/farmacodinámica	141
V.III.1. FC/FD en caninos	141
V.III.1.a. Análisis estadístico de los predictores de eficacia FC/FD en caninos	143
V.III.2. FC/FD en felinos	145
V.III.2.a. Análisis estadístico de los predictores de eficacia FC/FD en gatos	148
VI. DISCUSIÓN	150
VI.I. Materiales y métodos	151
VI.I.1. Animales	151
VI.I.1.a. CICUAL	151
VI.I.2. Protocolo de trabajo	152
VI.I.2.a. Diseño	152
VI.I.2.b. Dosis	152
VI.I.2.c. Vías de administración	153
VI.I.2.c.a. Vía endovenosa	153

VI.I.2.c.b. Vía oral	153
VI.I.2.d. Alimentación durante el ensayo	154
VI.I.2.e. Muestreo plasmático	155
VI.I.3. Metodología analítica	155
VI.II. Farmacocinética	157
VI.II.1. Análisis farmacocinético	157
VI.II.1.a. Modelo farmacocinético	157
VI.II.1.a.a. Vía endovenosa	157
VI.II.1.a.b. Vía oral	158
VI.II.1.b. Administración endovenosa	158
VI.II.1.c. Administración oral en ayunas	161
VI.II.1.d. Recirculación enterohepática	163
VI.II.2. Comparación de la farmacocinética de la clindamicina entre perros y gatos	164
VI.II.2.a. Vía endovenosa comparada	164
VI.II.2.b. Vía oral comparada	166
VI.II.3. Comparación de la farmacocinética de la clindamicina administrada luego de una ración de alimento	167
VI.II.3.a. Clindamicina con alimento en perros	168
VI.II.3.b. Clindamicina con alimento en gatos	171
VI.III. Farmacodinamia	173
VI.III.1. Cepas estudiadas	173
VI.III.2. Determinación de la CIM	175
VI.III.3. Tablero de Damas	177

VI.IV. Integración farmacocinética/farmacodinámica (FC/FD)	180
VII. CONCLUSIONES	184
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	187
IX. ANEXOS	231
IX.I. ANEXO I	232
IX.II. ANEXO II	238
IX.III. ANEXO III	246
IX.IV. ANEXO IV	249

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS

Imagen I.1. Estructura química de la lincomicina y la clindamicina.	11
Tabla I.1. Actividad <i>in vitro</i> de la clindamicina frente a microorganismos patógenos de origen animal aislados en perros, gatos y vacas.	25
Tabla I.2. Porcentaje de resistencia (R) a la clindamicina en cocos grampositivos causantes de enfermedad en caninos y felinos.	27
Tabla I.3. DL ₅₀ de la clindamicina fosfato y clorhidrato para las vías endovenosa e intraperitoneal en ratones y oral en ratas.	36
Tabla I.4. Dosis, concentración máxima, tiempo máximo y área bajo la curva de la clindamicina clorhidrato administrada por vía oral como dosis única en distintas especies.	42
Tabla I.5. Dosis, vía de administración, concentración máxima, tiempo máximo y área bajo la curva de la clindamicina clorhidrato y fosfato administrada por vía intramuscular o subcutánea en distintas especies.	45
Tabla I.6. Volumen de distribución del compartimiento central y volumen de distribución en el estado estacionario luego de la administración endovenosa de la clindamicina a caninos, cerdos, walabís, ratas y humanos.	46
Tabla I.7. Concentración de la clindamicina en tejidos y suero, en diferentes especies animales.	47
Tabla I.8. Dosis, vida media de eliminación, clearance corporal total y tiempo medio de residencia de la clindamicina administrada por vía endovenosa, intramuscular, subcutánea y oral a distintas especies animales.	54

Tabla I.9. Sistema de clasificación biofarmacéutica según las propiedades de solubilidad y permeabilidad de los fármacos.	61
Tabla IV.1. Microorganismos causantes de infección en caninos y felinos clasificados según género y especie, especie animal de la que fueron aislados y fuente de infección.	90
Tabla IV.2. Criterios de interpretación del perfil de susceptibilidad antimicrobiana para estafilococos y estreptococos según el valor de CIM obtenido acorde al valor de corte establecido por el CLSI para la clindamicina.	94
Tabla IV.3. Criterios de interpretación del perfil de susceptibilidad antimicrobiana para estafilococos y estreptococos según el valor de CIM obtenido acorde a los valores de corte establecidos por el CLSI para la ampicilina, enrofloxacin, gentamicina y doxiciclina.	97
Figura IV.1. Aplicación del cálculo de FIC al Tablero de damas según el patrón de crecimiento microbiano.	101
Figura V.1. Cromatograma correspondiente a una muestra de plasma canino sin antibiótico (blanco) que define la selectividad del método.	104
Figura V.2. Cromatograma correspondiente a una muestra de plasma felino sin antibiótico (blanco) que define la selectividad del método.	105
Tabla V.1. Resultados de los parámetros evaluados para la validación del método analítico para la determinación de la clindamicina en plasma canino y felino mediante HPLC.	106
Figura V.3. Cromatograma correspondiente a la concentración de 5 µg/ml de la curva estándar de la clindamicina en fase móvil.	107
Figura V.4. Cromatograma correspondiente a la concentración de 5 µg/ml de la curva estándar de la clindamicina en plasma canino.	108

Figura V.5. Cromatograma correspondiente a la concentración de 5 µg/ml de la curva estándar de la clindamicina en plasma felino.	108
Tabla V.2. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en perros, administrada por vía endovenosa (10 mg/kg).	109
Tabla V.3. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en perros, luego de ser administrada por vía oral (8,3±1,1 mg/kg) en ayunas.	110
Tabla V.4. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en perros, administrada por vía oral (8,3 ± 1,1 mg/kg) luego de recibir una ración de alimento.	111
Figura V.6. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa en perros.	112
Figura V.7. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina (8,3±1,1 mg/kg) por vía oral en ayunas (n=6) y con alimento (n=5) en perros.	113
Figura V.8. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina (7,5 mg/kg) por vía oral al canino "P" con alimento.	114
Tabla V.5. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa a perros.	115
Tabla V.6. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (8,3±1,1 mg/kg) por vía oral en ayunas a perros.	116
Tabla V.7. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (8,3±1,1 mg/kg) por vía oral a perros luego de recibir una ración de alimento.	116

Tabla V.8. Comparación y análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos de la clindamicina en caninos, administrada vía endovenosa (10 mg/kg) y vía oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) en ayunas y luego de recibir alimento.	117
Figura V.9. Comparación de los parámetros farmacocinéticos en los que se hallaron diferencias estadísticamente significativas, entre la administración oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) de la clindamicina a perros en ayunas y luego de recibir una ración de alimento.	118
Tabla V.9. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en gatos, luego de ser administrada por vía endovenosa (10 mg/kg).	120
Tabla V.10. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en gatos, luego de ser administrada por vía oral (15 mg/kg) en ayunas.	121
Tabla V.11. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en gatos, administrada por vía oral (15 mg/kg) luego de recibir una ración de alimento.	122
Figura V.10. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa en gatos.	123
Figura V.11. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina en gatos (15 mg/kg) por vía oral en ayunas (n=6) y luego de ser alimentados (n=5).	124
Figura V.12. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina (15 mg/kg) al felino "J" por vía oral luego de recibir una ración de alimento.	125
Tabla V.12. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa a gatos.	126

Tabla V.13. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (15 mg/kg) por vía oral en ayunas a gatos.	127
Tabla V.14. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (15 mg/kg) por vía oral a gatos luego de recibir una ración de alimento.	127
Tabla V.15. Comparación y análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos de la clindamicina en felinos, administrada vía endovenosa (10 mg/kg) y vía oral (15 mg/kg) en ayunas y luego de recibir alimento.	129
Figura V.13. Comparación de los parámetros farmacocinéticos con diferencias estadísticamente significativas, entre la administración oral (15 mg/kg) de la clindamicina a gatos en ayunas y luego de recibir una ración de alimento.	129
Tabla V.16. Comparación y análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego de la administración endovenosa de la clindamicina (10 mg/kg) a caninos y felinos.	131
Figura V.14. Comparación de los parámetros farmacocinéticos, estadísticamente significativos, obtenidos luego de la administración endovenosa (10 mg/kg) de la clindamicina a caninos y felinos.	132
Tabla V.17. Comparación y análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego de la administración oral en ayunas de la clindamicina a caninos (8,3±1.1 mg/kg) y felinos (15 mg/kg).	133
Tabla V.18. Comparación y análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego de la administración oral de la clindamicina, luego de recibir una ración alimento, a caninos (8,3±1.1 mg/kg) y felinos (15 mg/kg).	133

Figura V.15. Comparación de los parámetros farmacocinéticos en los que se encontraron diferencias estadísticamente significativas, obtenidos luego de la administración oral de la clindamicina a perros ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) y gatos (15 mg/kg), en ayunas y luego de recibir una ración de alimento.	134
Tabla V.19. Estafilococos y estreptococos estudiados, especie animal en que se aislaron, sitio de infección, valor de CIM obtenida y clasificación de susceptibilidad según los valores de corte establecidos por el CLSI (2015).	136
Tabla V.20. Resumen del perfil de susceptibilidad de estafilococos y estreptococos causantes de infección en pequeños animales.	137
Tabla V.21. Resultados de la CIM de la clindamicina y de los antimicrobianos a combinar en el Tablero de damas (ampicilina, doxiciclina, gentamicina y enrofloxacin), para los microorganismos estudiados.	138
Tablas V.22. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estafilococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC promedio”.	138
Tablas V.23. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estafilococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC mínima”.	139
Tablas V.24. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estafilococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC Fila y Columna”.	139
Tablas V.25. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estreptococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC promedio”.	140

Tablas V.26. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estreptococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC mínima”.	140
Tablas V.27. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estreptococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC Fila y Columna”.	140
Tabla V.28. Tiempo en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM luego de ser administrada vía endovenosa (10 mg/kg) a perros.	141
Tabla V.29. Tiempo en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM luego de ser administrada por vía oral (8,3 \pm 1,1 mg/kg) en ayunas a perros.	142
Tabla V.30. Tiempo en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM luego de ser administrada vía oral (8,3 \pm 1,1 mg/kg) a perros que recibieron una ración de alimento.	142
Tabla V.31. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM obtenido luego de administrar la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa a caninos.	142
Tabla V.32. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM obtenido luego de administrar la clindamicina por vía oral (8,3 \pm 1,1 mg/kg) en ayunas a caninos.	143
Tabla V.33. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM obtenido luego de administrar la clindamicina por vía oral (8,3 \pm 1,1 mg/kg) a caninos luego de ser alimentados.	143
Tabla V.34. Comparación y análisis estadístico del predictor de eficacia $t > CIM$ para la clindamicina administrada vía oral (8,3 \pm 1,1 mg/kg) a perros en ayunas y luego de ser alimentados.	144

Tabla V.35. Comparación y análisis estadístico del predictor de eficacia $ABC_{0-24} > CIM$ para la clindamicina administrada vía oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) a perros en ayunas y luego de ser alimentados.	144
Tabla V.36. Tiempo en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM luego de ser administrada vía endovenosa (10 mg/kg) a gatos.	145
Tabla V.37. Tiempo en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM luego de ser administrada vía oral (15 mg/kg) en ayunas a gatos.	146
Tabla V.38. Tiempo en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM luego de ser administrada vía oral (15 mg/kg) a gatos alimentados.	146
Tabla V.39. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM , obtenido luego de la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa a felinos.	147
Tabla V.40. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM obtenido luego de administrar la clindamicina (15 mg/kg) por vía oral en ayunas a felinos.	147
Tabla V.41. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM obtenido luego de administrar la clindamicina (15 mg/kg) por vía oral a felinos luego de ser alimentados.	148
Tabla V.42. Comparación y análisis estadístico del predictor de eficacia $t > CIM$ para la clindamicina administrada vía oral (15 mg/kg) a gatos en ayunas y luego de ser alimentados.	149
Tabla V.43. Comparación y análisis estadístico del predictor de eficacia ABC_{0-24}/CIM para la clindamicina administrada vía oral (15 mg/kg) a gatos en ayunas y luego de ser alimentados.	149

ABREVIATURAS

A: Ordenada en el origen de la fase de distribución.

alfa: constante de la fase de distribución.

ABC_{0-24} : área bajo la curva de concentración en función del tiempo, de 0-24 h.

$ABC_{0-\infty}$: área bajo la curva de concentración en función del tiempo, de tiempo 0 a infinito.

ABC_{0-t} : área bajo la curva de concentración en función del tiempo, de tiempo 0 al último tiempo muestreado. $ABMC_{0-\infty}$: área bajo la curva del primer momento.

AUIC: área bajo las concentraciones inhibitorias de la curva.

$AUIC_{0-t}$: área bajo las concentraciones inhibitorias de la curva a tiempo t.

B: Ordenada en el origen de la fase de eliminación.

beta: constante de la fase de eliminación.

CIM: concentración inhibitoria mínima.

CIM_{50} : concentración inhibitoria mínima, sobre el 50% de las cepas bacterianas.

CIM_{90} : concentración inhibitoria mínima, sobre el 90% de las cepas bacterianas.

Cl: clearance o depuración corporal total.

CLSI: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio.

C_{max} : concentración plasmática máxima luego de la administración extra-vascular.

C_p : Concentración plasmática del antimicrobiano al tiempo t.

C_{p0} : concentración plasmática al tiempo 0.

C.V.: coeficiente de variación

D.E.: desviación estándar.

EPA: efecto post-antibiótico.

ev: endovenoso/a.

F: biodisponibilidad.

FC / FD: relación entre los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos.

FIC: concentración fraccionaria inhibitoria.

HPLC: cromatografía líquida de alta performance.

im: intramuscular.

sc: subcutánea.

k_{01} : constante del proceso de absorción.

k_{10} : constante de eliminación desde el compartimiento central.

k_{12} : constante de pasaje del compartimiento central al periférico.

k_{21} : constante de pasaje del compartimiento periférico al central.

mV: milivoltios.

po: vía oral.

t: tiempo.

$t_{\frac{1}{2}(10)}$: vida media de eliminación desde el compartimiento central.

$t_{\frac{1}{2}el}$: vida media del proceso de eliminación.

$t_{\frac{1}{2}a}$: vida media del proceso de absorción.

$t_{\frac{1}{2}d}$: vida media del proceso de distribución.

t_{max} : tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima.

TMR: tiempo medio de residencia.

TMR_{0-t} : tiempo medio de residencia, de tiempo 0 al último tiempo muestreado.

MAT: tiempo medio de absorción.

UFC: unidades formadoras de colonias.

UV: ultravioleta.

V_a : volumen de distribución del compartimiento central y el periférico.

V_c : volumen de distribución del compartimiento central.

V_{ss} : volumen de distribución en el estado estacionario.

RESUMEN

La clindamicina es un antimicrobiano indicado en medicina veterinaria para el tratamiento de infecciones por estafilococos y microorganismos anaerobios en pequeños animales.

Los objetivos de este trabajo fueron poner a punto un método cromatográfico para la determinación cualitativa y cuantitativa de la clindamicina en plasma canino y felino. Caracterizar el perfil farmacocinético plasmático de la clindamicina en caninos y felinos domésticos luego de su administración por vía endovenosa y oral. Comparar la farmacocinética de la clindamicina entre caninos y felinos. Establecer y comparar la influencia del alimento sobre el perfil farmacocinético de la clindamicina administrada vía oral en caninos y felinos. Relevar el perfil de sensibilidad bacteriana a la clindamicina a través de la prueba de susceptibilidad in vitro, CIM, para microorganismos causantes de infección en caninos y felinos. Establecer las interacciones farmacológicas in vitro entre la clindamicina y otros antibióticos de uso frecuente en medicina de pequeños animales sobre cepas bacterianas aisladas en infecciones en caninos y felinos. En base a las interacciones estudiadas, proponer o no la conveniencia del empleo de asociaciones antibióticas de clindamicina en caninos y felinos domésticos. Calcular los predictores de eficacia terapéutica para la clindamicina en las distintas situaciones planteadas (especie animal, vía de administración y alimento) a través de la integración de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos apropiados para este antibiótico. En base a los resultados obtenidos, proponer regímenes posológicos racionales para la clindamicina administrada por vía endovenosa y oral, tanto en ayuno como con alimento, a caninos y felinos.

Para el estudio farmacocinético de la clindamicina se empleó un diseño cruzado (2x2x2). El antimicrobiano se administró por vía endovenosa en ambas especies a una dosis de 10 mg/kg y por vía oral, en ayunas y luego de recibir alimento, a una dosis de $8,3 \pm 1,1$ mg/kg a perros y 15 mg/kg a gatos. Cuando la administración se realizó con comida todos los animales recibieron su ración correspondiente de alimento e inmediatamente luego se les administró el antibiótico con agua para favorecer su deglución.

La cuantificación del antibiótico en plasma se realizó mediante el método HPLC con detección UV. El perfil de susceptibilidad al antibiótico de los microorganismos causantes de infección en pequeños animales, se estableció mediante la

determinación de la CIM por el método de macrodilución en caldo. El estudio de interacción *in vitro* entre la clindamicina con otros antimicrobianos de uso frecuente en medicina de pequeños animales, gentamicina, ampicilina, enrofloxacin y doxiciclina se llevó a cabo mediante la técnica del Tablero de Damas. El análisis FC/FD para este fármaco se realizó a través del cálculo de los predictores de eficacia $t > CIM$ y ABC_{0-24}/CIM .

Luego de la administración endovenosa la clindamicina se distribuyó ampliamente y de forma similar en caninos y felinos con un V_c de 0,96 l/kg y 0,94 l/kg, respectivamente. La eliminación fue significativamente ($p < 0,05$) más lenta en caninos definida con un CI de 0,28 l/h/kg y una vida media de eliminación de 3,36 h mientras que en los felinos estos parámetros tomaron valores de 0,45 l/h/kg y 2,56 h respectivamente.

Tras la administración oral en ayunas la clindamicina se absorbió rápidamente en ambas especies, con un T_{max} en perros de 1,12 h y en gatos de 0,57 h, siendo significativamente ($p < 0,05$) más temprana en estos últimos. La biodisponibilidad oral en ayunas fue buena tanto en caninos como en felinos, pero con un mayor valor para los gatos, siendo 61,9% y 94,8%, respectivamente.

La presencia de alimento en el tubo digestivo no modificó significativamente la biodisponibilidad oral del antimicrobiano, siendo de 50,4% en perros y 90,3% en gatos. Se observaron cambios significativos ($p < 0,05$) en la velocidad de absorción, aumentando en los perros con un T_{max} de 0,75 h y retrasándose en los gatos, cuyo T_{max} fue de 0,96 h.

La CIM_{50} de los *Staphylococcus pseudintermedius* causantes de infección en caninos y felinos tuvo un valor de 0,12 $\mu\text{g/ml}$ mientras que el valor de CIM_{90} tomó valores superiores a 4 $\mu\text{g/ml}$, concentración a partir de la cual los microorganismos se clasifican como resistentes a este antimicrobiano. El porcentaje de resistencia para estos microorganismos fue del 38%.

La interacción de la clindamicina con la doxiciclina, la ampicilina, la enrofloxacin y la gentamicina, analizada mediante el Tablero de Damas sobre el *S. pseudintermedius*, resultó en indiferencia para todas las combinaciones, excepto para la doxiciclina, con la cual se detectó sinergismo en uno de sus puntos de combinación.

El resultado del predictor de eficacia FC/FD $t > CIM$ para la administración endovenosa de la clindamicina a caninos y felinos fue de 15 h y 13 h respectivamente, dando un intervalo posológico óptimo de 24 h. Luego de la administración oral del antibiótico a

caninos, en ayunas y con alimento, el $t_{>CIM}$ fue de 9 h en ambas condiciones, y por ende el intervalo posológico apropiado en este caso sería de 12 h. En felinos este predictor tomó valores superiores, 12 h oral en ayunas y 13 h con alimento, dejando un intervalo posológico de 24 h. El segundo predictor de eficacia calculado fue el ABC_{0-24}/CIM_{50} , y sus valores para la vía endovenosa, oral en ayunas y con alimento en caninos fueron 329, 159 y 134 respectivamente, mientras que en felinos fueron 210, 257 y 286.

Luego de la administración endovenosa de la clindamicina en caninos y felinos la misma se distribuyó rápidamente, en forma amplia y similar en ambas especies. Por otro lado, el proceso de eliminación ocurrió con mayor velocidad en gatos respecto a perros. La absorción oral de la clindamicina en ayunas fue rápida presentando una buena biodisponibilidad en ambas especies, aunque mayor en los gatos respecto a los perros. El alimento no modificó significativamente la biodisponibilidad oral del antimicrobiano en ninguna de las especies en estudio. Se encontró un comportamiento distinto en la velocidad de absorción en perros y gatos, mientras que en los primeros el antimicrobiano administrado con comida se absorbió más rápido, en los segundos ocurrió lo contrario, viéndose enlentecido el proceso de absorción en presencia de alimento en el tubo digestivo. La sensibilidad de las cepas de estafilococos estudiadas fue moderada, señalando un porcentaje considerable de microorganismos resistentes a este antibiótico. Al combinar *in vitro* la clindamicina con otros antimicrobianos de uso frecuente en pequeños animales el resultado obtenido fue de indiferencia para todas las combinaciones excepto para la doxiciclina con la que se detectó sinergismo. El predictor de eficacia $t_{>CIM}$ resultó prolongado en ambas especies permitiendo en felinos un intervalo posológico de 24 horas a las dosis empleadas, mientras que en caninos el intervalo para la vía oral debiera reducirse a 12 horas. Al no existir valores de referencia en medicina humana como veterinaria para el predictor de eficacia ABC_{0-24}/CIM , pudieron establecerse valores en ambas especies con las dosis empleadas en este trabajo.

SUMMARY

Clindamycin is an antibiotic recommended in veterinary medicine for treatment of staphylococcal and anaerobic infections in small animals.

The aims of this study were to validate a chromatographic method for clindamycin quantification in canine and feline plasma. Characterize the pharmacokinetics behaviour of clindamycin administered intravenously and orally to domestic dogs and cats. Compare the pharmacokinetics of clindamycin between canines and felines. To establish and compare the influence of food on the pharmacokinetic profile of clindamycin administered orally in dogs and cats. Define its pharmacodynamics profile on bacterial strains isolated from infection sites in cats and dogs by MIC determination. Establish pharmacodynamics interactions that occur when combining clindamycin with other antimicrobials frequently used in small animals. Based on this suggest or not the use of antibiotic associations of clindamycin in domestic canines and felines. Calculate the pharmacokinetic/pharmacodynamics parameters (PK/PD) that predicts the therapeutic efficacy of this antibiotic for the studied situations, administration route, fasted and fed state, animal species. And propose rational dosage regimens for clindamycin administered intravenously and orally, both fasting and with food, to canines and felines.

The pharmacokinetic study was carried out by a cross over design (2x2x2). Clindamycin was administered intravenously in both species at a dose of 10 mg/kg, orally in dogs at a dose of 8.3 ± 1.1 mg/kg and orally in cats at 15 mg/kg. When administered the antibiotic with food, the animals received their ration and immediately afterwards the drug was administered orally with some water to ensure swallowing.

Quantification of the antibiotic in plasma was performed using the HPLC method with UV detection. The antibiotic susceptibility profile of the microorganisms that cause infection in small animals was established by the broth macrodilution method and MIC determination. The interaction study between clindamycin and other antimicrobials frequently used in small animal medicine, gentamicin, ampicillin, enrofloxacin and doxycycline, was carried out using the *in vitro* Checkerboard method. The PK/PD analysis for this drug was performed by calculating the efficacy predictors $t > MIC$ and AUC_{0-24}/MIC .

After intravenous administration, clindamycin was widely distributed in canines as well as felines with a V_c of 0.96 l/kg and 0.94 l/kg, respectively. Elimination process was

slower in canines with a CI of 0.28 l/h/kg and elimination half-life of 3,36 h, while in felines these parameters were 0.45 l/h/kg and 2.56 h respectively ($p < 0.05$).

After oral administration in fasted state, clindamycin was rapidly absorbed in both species, with a T_{max} in dogs of 1.12 h and in cats of 0.57 h, being significantly earlier in this last one ($p < 0.05$). Oral bioavailability was good, 61.9% for dogs and 94.8% for cats.

The presence of food in the gastrointestinal tract did not significantly modify the oral bioavailability of the antibiotic, being in dogs 50.4% and in cats 90.3%. Absorption rate in both species showed significant changes ($p < 0.05$), being improved in dogs with a T_{max} of 0.75 h and delayed in cats, with a T_{max} of 0.96 h.

MIC_{50} of the pathogen *Staphylococcus pseudintermedius* isolated in dogs and cats was 0.12 $\mu\text{g/ml}$, while the MIC_{90} was higher than 4 $\mu\text{g/ml}$, concentration from which these bacteria are classified as resistant to clindamycin. The percentage of resistance for these microorganisms was 38%.

Clindamycin interaction analysed by the Checkerboard method, with doxycycline, ampicillin, enrofloxacin and gentamicin on *S. pseudintermedius* was indifference for all combinations, except for doxycycline, where synergism was detected in one of the antibiotic intersections.

The efficacy predictor PK/PD $t > MIC_{50}$ after the intravenous administration of clindamycin to canines and cats was 15 h and 13 h, respectively, with an optimal dosage interval of 24 h. After oral administration of the antibiotic to dogs, in fasted and fed state, the $t > MIC_{50}$ was 9 h for both conditions, and therefore the appropriate dosage interval would be 12 h. In cats, this predictor took higher values, showing in fasted animals 12 h while in fed animals 13 h, resulting in a dosage interval of 24 h. The second predictor of efficacy calculated was AUC_{0-24}/MIC_{50} , for intravenous route in dogs, fasting and oral with food the results were 329, 159 and 134, respectively, while in cats they were 210, 257 and 286.

After intravenous administration of clindamycin to dogs and cats, it distributed rapidly, widely and similar in both species. On the other hand, the elimination process occurred faster in cats than in dogs. Oral absorption of clindamycin in fasted state was rapid, showing good bioavailability in both species, but higher in cats than in dogs. The presence of food did not significantly modify the oral bioavailability of the antimicrobial in any of the species in study. A different behaviour was found in the speed of

absorption of the antibiotic given with food, while in dogs, the antimicrobial orally administered was absorbed faster, in cats it was absorbed slower. The sensitivity of the studied staphylococci strains was moderate, showing a considerable percentage of microorganisms resistant to this antibiotic. When combining clindamycin *in vitro* with other antimicrobials frequently used in small animals, the result obtained was indifferent for all combinations except for doxycycline, with which synergism was detected. The efficacy predictor $t > MIC$ was prolonged in both species, allowing in felines a dosage interval of 24 hours at the doses used, while in canines the interval for the oral route should be reduced to 12 hours. As there are no reference values in human or veterinary medicine for the efficacy predictor ABC_{0-24}/CIM , we established values for both species with the doses used in this study.

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.I. Historia

Las lincosamidas es un grupo de antimicrobianos que surgió a fines de la década del 50 principios de la del 60. El primer representante fue la lincomicina reportado en 1962 por Mason Dietz y DeBoer, y comercializada a partir de 1964 por la compañía farmacéutica UpJohn bajo el nombre de Lincocin[®]. Fue obtenida a partir del caldo de fermentación de cultivo de *Streptomyces lincolnensis* var. *Lincolnensis*, microorganismo aislado del suelo de Lincoln, Nebraska, ciudad que dio origen a su nombre. Dentro de sus cualidades se puede mencionar que tenía actividad sobre microorganismos grampositivos tanto *in vitro* como *in vivo*, con una baja toxicidad y sin resistencia cruzada con otros antimicrobianos de ese momento. Posteriormente, se realizaron modificaciones químicas buscando mejorar el sabor y la absorción del antibiótico, sintetizándose diferentes ésteres del mismo. Por otro lado, se ensayaron modificaciones químicas para obtener análogos sintéticos con mejor eficacia antimicrobiana y mejores características farmacocinéticas (Magerlein, 1971; Whright y col., 2014). Así fue como en 1965, el reemplazo del grupo hidroxilo del carbono 7 del residuo azúcar, por un átomo de cloro, dio origen a la clindamicina, compuesto con mayor actividad antibacteriana y liposolubilidad, beneficiando así su absorción oral con respecto al compuesto inicial (Magerlein y col., 1966; Birkenmeyer y Kagan, 1970). Luego, en los años 1980, la posibilidad de hidrolizar la amida central de la estructura química de la clindamicina permitió sustituir el anillo de pirrolidina por piperidina para la síntesis de un nuevo compuesto, la pirlimicina. Este derivado de la clindamicina presentó su mismo espectro sobre cocos grampositivos pero demostró mayor actividad sobre *Bacteroides fragilis* y *Plasmodium berghei*. En cuanto a su cinética la pirlimicina presentaba mayor penetración en abscesos (en ratones) y concentraciones plasmáticas sostenidas durante más tiempo. Actualmente es un antimicrobiano de uso exclusivo en medicina veterinaria para el tratamiento de mastitis (Birkenmeyer y col., 1984; Whright y col., 2014).

I.II. Estructura química

La clindamicina (7(S)-cloro-7-deoxilincomicina) es un derivado sintético de la lincomicina. La molécula tiene como base al ácido propilhigrínico, derivado del aminoácido prolina, unido mediante enlace amida a la metiltiolincosamida, un azúcar

azufrado de 8 carbonos (Herr y Slomp, 1967; Magerlein y col., 1967; Schroeder y col., 1967). La síntesis de la clindamicina se logró a partir de tratamiento de la lincomicina con cloruro de tionilo en tetracloruro de carbono. Esta reacción química sustituyó el oxhidrilo 7 de la octosa por un átomo de cloro. Posteriormente, también a partir de la lincomicina y mediante la reacción de Appel, se sometió el antibiótico a dicloruro de trifetilfosfina o trifetilfosfina y tetracloruro de carbono para obtener la sal clorhidrato de clindamicina (Birkenmeyer y Kagan 1970). La estructura química de lincomicina y clindamicina se muestran en la Imagen I.1.

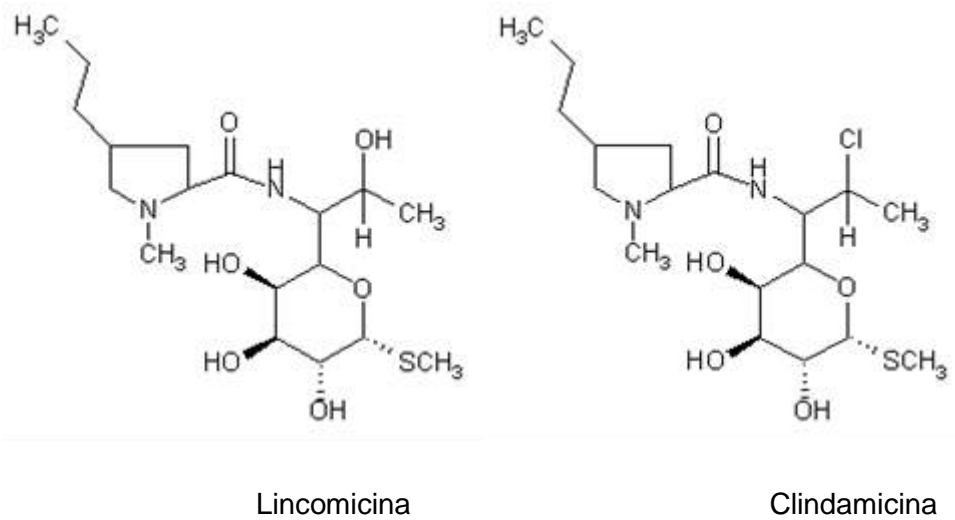


Imagen I.1. Estructura química de la lincomicina y la clindamicina. La clindamicina presenta un átomo de cloro en la posición 7(S) el cuál le confiere mejores características farmacológicas respecto a su precursor, la lincomicina. (Imagen tomada de: Papich [2018] Chloramphenicol and Derivatives, Macrolides, Lincosamides and Miscellaneous Antimicrobials. En Riviere, J.E.; Papich, M.G. Veterinary Pharmacology & Therapeutics. Décima edición. Capítulo 36. Hoja 925).

La clindamicina tiene un peso molecular de 424,98 g/mol y su fórmula química es $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$. Es una base débil con un pKa estimado en $7,45 \pm 0,02$. Como droga base su solubilidad en agua es baja siendo estable en solución acuosa en un rango de pH de 3 a 5. En orden creciente la sal de clorhidrato de clindamicina y fosfato de clindamicina presentan una mayor solubilidad en agua y son estables a temperatura ambiente a pH 6 y 8, respectivamente, mientras que el éster fosfato es estable en un

rango de pH 6 a 10 (Magerlein, 1971; Rimmer y Sales, 1978; Morozowich y Karnes, 2007).

La presencia del cloro en el carbono 7 en la configuración S mejoró sus propiedades farmacológicas debido al aumento en su liposolubilidad, modificando tanto su actividad antibacteriana como su farmacocinética. Clindamicina pasó a ser hasta 4 veces más activa que su precursor frente a estafilococos coagulasa positivos, negativos, estreptococos beta-hemolíticos y algunas enterobacterias (Chadwick, 1971; Magerlein, 1971; Bartlett y col., 1972; Heman-Ackah, 1975b; Matzov y col., 2017), adquirió también actividad biológica sobre *Plasmodium berghei* y *Plasmodium cynomolgi* (Birkenmeyer y Kagan, 1970). En cuanto a su administración oral, la clindamicina aumentó la velocidad de absorción, siendo en humanos la C_{max} de 30 minutos versus una hora para la lincomicina, a su vez, se demostró que la presencia de alimento en el tubo digestivo no produce modificaciones significativas en su cinética (Birkenmeyer y Kagan, 1970; Rimmer y Sales, 1978). Diferentes esterificaciones de clindamicina se evaluaron para mejorar diversas propiedades del fármaco. Aquellas que resultaron en aplicación clínica fueron clindamicina 2 fosfato y clindamicina palmitato clorhidrato. El fosfato de clindamicina se sintetizó con el objetivo de disminuir el dolor a la aplicación intramuscular del clorhidrato, altamente irritante por precipitar en el sitio de aplicación. Dicho éster convierte al compuesto en una prodroga que se activa *in vivo* mediante fosfatasas tisulares o plasmáticas que catalizan la hidrólisis de clindamicina 2 fosfato liberando la droga activa. Esta variante química presenta una mayor solubilidad acuosa lo que permite una rápida difusión del sitio de aplicación hacia el torrente sanguíneo y una menor difusión intercelular hacia los tejidos circundantes, lo que reduce el dolor, genera menor lesión tisular y mayor tolerancia a la aplicación (Gray y col., 1974; Morozowich y Karnes, 2007). Clindamicina palmitato clorhidrato se sintetizó para mejorar la palatabilidad de la solución acuosa. Clindamicina clorhidrato presenta un sabor amargo mientras que su forma esterificada con grupos acilo de diversa longitud de carbonos disminuye su sabor tornándolo neutro. El palmitato de clindamicina resultó ser el más aceptado en solución oral en un estudio realizado en humanos, comparado con laurato, hexanoato y acetato. Mientras que en caninos se realizó el estudio de biodisponibilidad oral arrojando iguales resultados respecto a la solución de clorhidrato de clindamicina (Sinkula y col., 1973). Ambas características propiciaron su uso para la vía oral.

I.III. Farmacodinamia

I.III.1. Mecanismo de acción

La clindamicina interfiere con la síntesis proteica por unirse reversiblemente a la porción 23S del ARNr de la subunidad 50S del ribosoma bacteriano. Interactúa tanto con el sitio A y P del ribosoma obstaculizando la formación de la cadena de iniciación, inhibe también el ingreso de los aminoacil-ARNt al sitio A y genera la terminación temprana de la síntesis proteica. Esta actividad antibacteriana la ejerce mediante las 2 fracciones de la molécula, el azúcar derivado de la octosa (metiltiolincosamida) y el aminoácido propilhigrínico (derivado de la prolina) (McDonald y col., 1981; Schlünzen y col., 2001; Matzov y col., 2017). La unión a la subunidad 50S se produce en 2 fases, en un primer momento se une al ribosoma bloqueando el sitio A y posteriormente el grupo propilhigrínico rota hacia el sitio P (Matzov y col., 2017). El antimicrobiano interactúa con nucleótidos específicos del dominio V de la porción 23S del ribosoma. El estudio de la inhibición de la síntesis proteica por parte de la clindamicina se realizó sobre ARNr pertenecientes a *Deinococcus radiodurans* y *Escherichia coli*, de manera que los aminoácidos participantes reciben su número correspondiente y la abreviatura Dr o Ec, según corresponda. De los 3 grupos oxhidrilo que posee el residuo azúcar del antibiótico, el 2OH y el 3OH forman enlaces por puentes de hidrógeno al N6 del principal aminoácido con el que se establece la unión antimicrobiano-ribosoma: el A2041Dr (A2058Ec) (Schlünzen y col., 2001). Por este motivo, mutaciones en dicho aminoácido o dimetilaciones en el grupo N6 confieren resistencia a la clindamicina (Weisblum, 1995a; Ross y col., 1997; Roberts, 2004). El 3OH también interactúa con el oxígeno, no puente, del grupo fosfato del aminoácido G2484Dr (G2505Ec), con el N1 del A2041Dr (A2058Ec) y con el N6 del A2042Dr (A2059Ec). El tercer grupo oxhidrilo, (4OH) establece enlaces por puente de hidrógenos con esta última adenina mencionada, en la cual también se reportaron mutaciones que otorgan resistencia al antibiótico. Finalmente, el grupo carbonilo de la octosa interactúa con el grupo oxhidrilo del G 2484Dr (G2505Ec) (Schlünzen y col., 2001). Sin embargo, al escindir la molécula de azúcar y evaluar su actividad individual se observó una muy baja capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano, concluyendo que esta porción del antimicrobiano contribuye al anclaje del mismo sobre el ribosoma más que a su función antimicrobiana (Matzov y col., 2017). El fragmento aminoácido se relaciona con el sitio A, sitio P y salida del túnel ribosomal a través de fuerzas Van der Waals e hidrofóbicas. Por un lado el aminoácido propilhigrínico se ubica próximo a la molécula de tirosina del sitio A (3,5Å), el carbono número 8 del antibiótico próximo al N3 del

nucleótido C2431Dr (C2452Ec) perteneciente al sitio P y el átomo de azufre interactúa con el nucleótido G2484Dr (G2505Ec) que presenta relación tanto con el sitio de unión A como P (Schlünzen y col., 2001). Por último, el bloqueo en la elongación del péptido nascente se cree que se debe a un efecto estérico de la porción aminoacídica del antibiótico a nivel de la salida del túnel del ribosoma (Schlünzen y col., 2001; Matzov y col., 2017).

La clindamicina tiene actividad sobre protozoarios como *Toxoplasma gondii*. Inicialmente se observó que el antimicrobiano frenaba el desarrollo de este microorganismo y posteriormente se demostró que presentaba un efecto parasiticida lento. Al exponer al parásito al antimicrobiano, no se observan modificaciones en su actividad durante el primer ciclo de replicación, independientemente de la concentración de clindamicina que se emplee. A las 48 horas, posterior al segundo ciclo lítico, se observa una reducción en la capacidad de infestar nuevas células respecto al cultivo inicial en un rango de 4 a 14% y al tercer día la inhibición de actividad es completa con una muerte de casi la totalidad del cultivo (Pfefferkorn y col., 1992). Esto llevó a cuestionar el mecanismo de acción, postulando 2 opciones, la inhibición de la actividad mitocondrial o la inhibición de una estructura denominada apicoplasto, descartando que sea el mismo que ejerce sobre las bacterias, dado que los ribosomas de *T. gondii* son de tipo eucariota (Pfefferkorn y col., 1992; Pfefferkorn y Borotz, 1994). Camps y col. (2002) demostraron que la clindamicina se une al dominio V del ribosoma 50S del apicoplasto. Dicha organela se encuentra en los microorganismos del filo Apicomplexa, contiene en su interior un genoma circular de 35 kilobases con su propia maquinaria ribosomal, y participa en rutas metabólicas para la síntesis de ácidos grasos, isoprenoides y clusters de hierro y azufre. Se considera que su rol en la síntesis de lípidos y modificación de proteínas unidas a estos, está relacionado con la interacción-huésped parásito y la síntesis de la vacuola parasitofora, necesaria para la replicación de *T. gondii* sin exposición al sistema inmune del huésped (Lim y McFadden, 2010). La clindamicina bloquea la síntesis proteica en el interior del apicoplasto, sin embargo, la tasa de replicación de los taquizoítos dentro de la vacuola parasitofora de la primer célula huésped no se ve afectada, es recién cuando estos taquizoítos ingresan a la segunda célula huésped (segundo ciclo lítico) que se evidencia una marcada disminución en el número de parásitos viables. La eliminación total de los mismos ocurre para el tercer ciclo de replicación (Fichera y Ross, 1997; Camps y col., 2002). Este efecto de muerte diferida del protozoario se produce por afectarse la etapa de endodiogenia donde se forman

las células hijas a partir de la membrana plasmática de la célula madre, recordando que la inhibición de la actividad ribosomal del apicoplasto disminuye la síntesis de ácidos grasos e isoprenoides, ambos componentes de la membrana Camps y col., 2002. A su vez Amberg-Johnson y Yeh, (2019) demostraron que *T. gondii* es capaz de adquirir isoprenoides de la célula huésped durante el primer ciclo lítico, lo que permitiría la normal replicación observada.

El mismo mecanismo de acción estudiado en *T. gondii* fue también descrito para *Plasmodium falciparum*, parásito causante de la enfermedad malaria y en *Babesia* spp. Estos protozoarios pertenecen al mismo filo “Apicomplexa” y por ende todos presentan un apicoplasto con su estructura interna correspondiente, el genoma circular y su maquinaria de traducción, la cual se inhibe por la acción anti-ribosomal de la clindamicina (AbouLaila y col., 2012; Biddau y Sheiner, 2019).

I.III.2. Actividad antimicrobiana

I.III.2.a. Lincosamidas

Las lincosamidas son antimicrobianos de moderado a amplio espectro, siendo la clindamicina varias veces más activa que la lincomicina, particularmente sobre microorganismos anaerobios estrictos y *Staphylococcus aureus*. El estudio comparado de potencia entre estos antimicrobianos se realizó para diversos microorganismos, encontrándose menores valores de CIM para clindamicina en *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Bacillus subtilis*, *B. fragilis*, *Clostridium perfringens*, *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella schottmuelleri* y *Pseudomonas aeruginosa* (McGehee y col., 1968; Birkenmeyer y Kagan, 1970; Phillips y col., 1970; Magerlein, 1971; Bartlett y col., 1972; Kislak, 1972; Zabransky y col., 1973; Heman-Ackah 1975b; Berg y col., 1984). Se propuso que la actividad superior de la clindamicina se debe a un aumento en la liposolubilidad y permeabilidad de la molécula debido al cloro presente en el C7, ya que no se encontraron diferencias en la inhibición ribosomal *in vitro*. Al analizar el efecto de la clindamicina y la lincomicina sobre ribosomas libres de *S. aureus* y *E. coli* encontraron valores de concentración inhibitoria muy similares para ambos antibióticos lo que llevó a postular que la mayor potencia de la primera correspondía al aumento en la permeabilidad celular alcanzando mayores concentraciones en el sitio de acción (Matzov y col., 2017).

La clindamicina se metaboliza en diferentes proporciones según la especie animal a tres metabolitos con actividad antimicrobiana variable. De ellos, el N-demetil clindamicina es el más potente con actividad 4 veces superior a la droga madre, clindamicina sulfóxido muestra solo un cuarto de actividad respecto a su precursora. Y por último, clindamicina glucurónido sin efecto antimicrobiano (Argoudelis y col., 1969; Sun, 1973).

I.III.2.b. Efecto antibacteriano

La clindamicina es un antimicrobiano bacteriostático (Heman-Ackah, 1975a; Westerman y col., 1976; Garlando y col., 1988; Hoogeterp y col., 1993; Valdimarsdóttir y col., 1997; Pankey y Sabath, 2004; Soriano García y col., 2005) con acción bactericida frente a determinadas situaciones, distintos microorganismos, mayores concentraciones de antimicrobiano o menor densidad de inóculo. Se demostró este efecto sobre cepas de cocos gram positivos, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus pneumoniae*, (McGehee y col., 1968; Kropec y Daschner, 1989; Lemmen y col., 1993; Klepser y col., 1997; Lewis y col., 1999; Valour y col., 2015). LaPlante y col. (2008) encontraron que la clindamicina presentó efecto bactericida sobre una cepa de *S. aureus* meticilinoresistente, sensible a clindamicina y efecto bacteriostático en 2 cepas de *S. aureus* meticilinoresistente, con resistencia inducible a clindamicina, con mejor respuesta a menor densidad de inóculo. También se demostró efecto bactericida sobre microorganismos anaerobios estrictos como son *B. fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Prevotella bivia*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium mortiferum*, *Peptostreptococcus magnus*, *Propionibacterium acnés* (Nastro y Finegold, 1972; Zabransky y col., 1973; Heman-Ackah, 1975b; Stevens y col., 1987; Klepser y col., 1996; Klepser y col., 1997; Spangler y col., 1997).

I.III.2.c. Efecto inóculo

La actividad antimicrobiana de la clindamicina no se modifica por el efecto inóculo. El efecto Eagle o efecto inóculo, descrito por primera vez por Eagle y Musselman en 1948 para la penicilina, fue muy estudiado posteriormente para la mayoría de los antimicrobianos. Es un efecto paradójico por el cual la tasa de muerte bacteriana de penicilina disminuye conforme al aumento en la densidad de inóculo tanto para

estreptococos como estafilococos. La variación en la actividad antimicrobiana de clindamicina y modificaciones de su valor de CIM frente a distintas densidades de inóculo fue analizada para los microorganismos de su espectro. Evaluando la CIM para *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* y *C. perfringens*, obtuvieron solo el aumento en una dilución para los cocos (McGehee y col., 1968), mientras que en otros estudios no observaron modificaciones en su valor frente al aumento de 10 a 100 veces la densidad estándar de inóculo, ni frente a modificaciones en 1000 veces para los clostridios (McGehee y col., 1968; Phillips y col., 1970; Heman-Ackah, 1975b; Stevens y col., 1987). LaPlante y col. (2008) demostraron el efecto bactericida de la clindamicina frente a cepas de estafilococos meticilino-resistentes, sin diferencias en el efecto tanto a alta como baja densidad de inóculo. Sólo en cepas con resistencia de tipo MLSb se vio una mejor eficacia a menor densidad. El efecto Eagle también se analizó *in vivo* con ratones con miositis experimental empleando *S. pyogenes* como agente causal y demorando el tiempo de inicio de tratamiento para permitir el crecimiento bacteriano. La clindamicina fue el antimicrobiano con mejor respuesta, respecto a la penicilina y a la eritromicina, disminuyendo solo en un 20% la supervivencia de los ratones iniciando el tratamiento 6 horas posteriores a la inoculación (Stevens y col., 1988).

I.III.2.d. pH del medio

La actividad de la clindamicina no se ve disminuida ante descensos del pH por el agregado de CO₂ y modificación en la composición del aire (Kislak, 1972). Por otro lado, se demostraron cambios en el valor de CIM frente a variaciones de pH, obteniéndose una disminución en base 2 en relación inversa al aumento de pH en un rango de valores de 5 a 8. El pH con actividad óptima fue el más elevado, mientras que la menor eficacia se evidenciaba cuando el pH se aproximaba al pKa de la droga (Phillips y col., 1970; Heman-Ackah, 1975b).

I.III.2.e. Efecto postantibiótico

El efecto postantibiótico (EPA) es el tiempo que permanece inhibido el desarrollo bacteriano luego de ser expuesto a concentraciones de antibiótico similares o superiores a la CIM del microorganismo y posteriormente lavado del medio de cultivo. Se estandariza como el tiempo que tardan en crecer en 1 log UFC/ml los

microorganismos inhibidos cuando son comparados con el desarrollo de un cultivo control, bajo las mismas condiciones. Este efecto se correlaciona en forma directa con la magnitud de daño celular que produce el antibiótico sobre el microorganismo y el tiempo que persiste el fármaco en el sitio de acción, también se demostró que depende del área bajo la curva, es decir tanto de la concentración del antimicrobiano como del tiempo de exposición. El EPA suele ser más prolongado *in vivo* respecto a *in vitro* debido a una mayor tasa de crecimiento bacteriano en este último, sumado a una mayor susceptibilidad del microorganismo dañado a sufrir fagocitosis y eliminación por parte de las células blancas. Acorde a la duración, permitiría aumentar el intervalo posológico sin afectar la eficacia del antibiótico (McDonald y col., 1981; Craig y Vogelmann, 1987; Li y col., 1997; Valdimarsdóttir y col., 1997). La clindamicina presenta un EPA variable de 2 a 10 horas, al unirse en forma reversible al ribosoma se postuló que la duración de dicho efecto corresponde al tiempo que demora el antimicrobiano en disociarse del mismo y difundir fuera de la bacteria (Craig y Vogelmann, 1987). El EPA para *S. aureus* se encuentra en el rango de 1 a 6 horas, con valores extremos hasta 10 horas, tanto en cepas estándar como aislamientos clínicos (Bundtzen y col., 1981; Vogelmann y Craig, 1986; Kuenzi y col., 1987; Xue y col., 1996), particularmente Vogelmann y col. (1988) demostraron un EPA *in vivo* de hasta 7 horas sobre *S. aureus* inoculados a ratones neutropénicos. Para *S. pyogenes* y *S. pneumoniae* la duración de este efecto es similar a la de los estafilococos, 1 a 7 horas (Kuenzi y col., 1987) Mientras que en microorganismos anaerobios se observó un EPA de 2 horas en *Bacillus anthracis* (Athamna y col., 2004) y de 0,6 horas en *B. fragilis*, alcanzando tiempos apenas superiores a la hora con concentración de antimicrobiano 10 veces superiores a la CIM (Valdimarsdóttir y col., 1997). Similar situación ocurre con *Haemophilus influenzae*, en el cual se logra un EPA máximo de 2 horas empleando concentraciones también 10 veces mayores a la CIM (Kuenzi y col., 1987).

I.III.2.f. Inhibición en la producción de toxinas bacterianas

Se demostró que la clindamicina inhibe la producción de toxinas bacterianas en estafilococos, estreptococos y clostridios, probablemente asociado a su mecanismo de acción, interferencia con la síntesis proteica. Evaluando la toxina TSS, responsable del síndrome de shock tóxico, sintetizada por *S. aureus* encontraron que la clindamicina, en concentraciones inferiores a la CIM del microorganismo, logra inhibir la producción de la misma (Schlievert y Kelly, 1984). Similar ocurre con la síntesis de la exotoxina

pirogénica A del *S. pyogenes* frente a concentraciones del antibiótico 0,5 veces su valor de CIM (Sriskandan y col., 1997). Finalmente, en relación a *C. perfringens* se evaluó la presencia de su alfa-toxina, mediante la detección de actividad, siendo ésta nula en presencia de clindamicina en concentraciones iguales a su CIM (Stevens y col., 1987; Stevens y col., 1995). De esta manera, este antimicrobiano adquiere utilidad en el tratamiento de los síndromes de shock tóxico estreptocócico y por exotoxinas estafilocócicas (SST), y en gangrenas causadas por la alfa-toxina de *C. perfringens* (Schlievert y Kelly, 1984; Stevens y col., 1995; Sriskandan y col., 1997).

I.III.3. Otros efectos – Efectos extra antimicrobianos

I.III.3.a. Efecto sobre el sistema inmune

La clindamicina exhibe efectos inmunomoduladores, aumentando la quimiotaxis, la producción de anticuerpos, la opsonización, la fijación del complemento, y la fagocitosis por parte de los leucocitos polimorfonucleares y disminuyendo la adherencia bacteriana (Van Vlem y col., 1996).

La presencia de clindamicina en el medio, tanto a concentraciones terapéuticas como sub CIM, produce un aumento en el proceso de fagocitosis por parte de los polimorfonucleares y un aumento en el porcentaje de muerte bacteriana intracelular. Esto se ensayó sobre *S. pyogenes*, *E. coli*, *B. fragilis* y patógenos de la mucosa gingival como *Porphyromonas gingivalis* y *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Gemmell y col., 1981; Howard y Soucy, 1983; Milatovic y col., 1983; Bassaris y col., 1984; Eick y col., 2000). También se encontró un aumento en el número de macrófagos en hígado luego del tratamiento con clindamicina en ratones infectados con *Babesia rodhaini*, frente al tratamiento con otros fármacos de elección para esta patología (Wijaya y col., 2001). El aumento en la actividad fagocítica se relacionó, a su vez, con un aumento en la activación del complemento, mayor velocidad de unión del fragmento C3b a la superficie bacteriana y opsonización del microorganismo, luego de ser expuesto a concentraciones sub terapéuticas de clindamicina (Gemmell y col., 1981; Howard y Soucy, 1983; Milatovic y col., 1983).

Por otro lado se estudió el efecto de la clindamicina sobre el proceso de fagocitosis de neutrófilos apoptóticos, sin microorganismos mediando el estudio y no se hallaron diferencias comparados al experimento control (Yamaryo y col., 2003). Y solo un

estudio realizado por Wittmann y col. (2004) demostró que la clindamicina disminuye la fagocitosis por parte de neutrófilos a altas concentraciones (125 µg/ml).

Como causa del aumento de actividad del complemento y fagocitosis se postuló para *S. aureus* ciertas alteraciones morfológicas en la estructura de la pared bacteriana encontradas luego de la exposición a la droga, que favorecerían la unión del complemento, mientras que en *S. pyogenes* se demostró una disminución en la síntesis y expresión de la proteína M, una proteína de superficie que otorga resistencia a la opsonización. Ambos procesos ocurrieron a concentraciones sub CIM de clindamicina (Gemmel y col., 1981; Milatovic y col., 1983). Sin embargo, estudios realizados por Eick y col. (2000) y Bystrzycka y col. (2016) en los cuales incubaron las células de la línea blanca con el antimicrobiano durante un tiempo determinado, y luego fueron lavadas, también presentaron un aumento en la capacidad fagocítica de bacterias.

Hand y col. (1983) demostraron que la clindamicina ingresa a las células polimorfonucleares a través de un sistema de transporte activo que usualmente ingresa nucleósidos como la adenosina. En presencia de *S. aureus* ese sistema de transporte se encuentra aumentado favoreciendo aún más el ingreso de la droga al interior de dichas células.

La actividad intracelular de este antimicrobiano es discutida, muchos estudios demuestran un incremento en el porcentaje de muerte bacteriana en el interior de polimorfonucleares y macrófagos, incluso sobre microorganismos resistentes al antibiótico, luego de ser expuestos a clindamicina. La adición del antimicrobiano se realizó de dos formas, poniendo en contacto únicamente las células de la línea blanca, posteriormente lavadas y enfrentadas al microorganismo o sobre el neutrófilo o macrófago con los microorganismos ya en su interior, ambas resultaron en mejoras significativas de los porcentajes de muerte bacteriana intracelular (Bassaris y col., 1984; Faden y col., 1985; Anderson y col., 1986; Bassaris y col., 1987; Eick y col., 2000). Otros estudios no encontraron ventajas con la presencia del antimicrobiano en microorganismos fagocitados. Vosbeck y col. (1984) demostraron que la droga ejercía el mismo efecto antibacteriano sobre microorganismos libres o intracelulares en polimorfonucleares, mientras que Easmon y Crane (1984) no hallaron diferencias significativas comparando el proceso de fagocitosis y destrucción bacteriana en presencia o ausencia del antibiótico, una de sus críticas es el corto tiempo de exposición al mismo, 4 horas, en relación al tiempo que se requeriría para producir la

muerte bacteriana, 3 a 6 horas. En tercer lugar existen trabajos que postulan una disminución en la activación de neutrófilos, interferencia en la respuesta oxidativa, en el estallido respiratorio y en la producción de peróxido de hidrógeno cuando la clindamicina se encuentra en el medio. Se demostró que dichos efectos no tienen relación con la activación de receptores de membrana sino con la presencia de altas concentraciones del antibiótico intracelular que interferiría en algún punto de la cascada de activación de la oxidasa a nivel de una proteína G, fosfolipasas (C, D o A₂), metabolismo de fosfolípidos o en los niveles de calcio citosólicos (Hand y col., 1990; Wittmann y col., 2004). La acción intracelular se evaluó también en células por fuera de la línea blanca como son osteoblastos con estafilococos en su citoplasma, en los cuales se inhibió el desarrollo bacteriano cuando el antimicrobiano fue puesto en contacto con las células a tiempo 0, pero no cuando se adicionó 12 horas más tarde (Ellington y col., 2006).

Por acción indirecta sobre el sistema inmune Hu y col. (2019) encontraron una disminución en la respuesta inflamatoria frente a infecciones causadas por *S. aureus* en mucosa nasal. Concentraciones sub-inhedorias de clindamicina disminuyen la producción de exoproteínas por parte de la bacteria, modulando la producción de citoquinas inflamatorias, revirtiendo sus efectos citotóxicos sobre la barrera mucosa, mejorando su funcionalidad y respuesta del sistema inmune.

Este antibiótico también disminuye la producción de TNF-alfa inducido por lipopolisacáridos de *C. perfringens* en células mononucleares de humanos (Stevens y col., 1995).

I.III.3.b. Efecto sobre la contractibilidad muscular

Wright y Collier (1976) demostraron que tanto la clindamicina como la lincomicina inhibían la respuesta contráctil en el músculo diafragmático de rata luego de generar una despolarización inicial breve. El bloqueo neuromuscular se iniciaba en forma lenta y progresiva alcanzando el efecto máximo en 40 a 60 minutos, este tiempo se acorta al emplear mayores concentraciones del antibiótico y es la fracción no ionizada, la responsable de este fenómeno. La parálisis muscular no se revierte con calcio ni con fisostigmina. Esto llevó a postular que el sitio de acción era sobre la fibra muscular postsináptica exclusivamente para la clindamicina, mientras que lincomicina podría tener actividad también sobre el axón. Por otro lado, Fiekers y col. (1979) demostraron

que clindamicina disminuye la amplitud, tiempo y velocidad en que ocurren los potenciales de acción miniatura o espontáneos. Estos potenciales corresponden a pequeñas liberaciones de acetilcolina en la placa neuromuscular sobre el músculo en reposo que no llegan a ser estímulo suficiente para producir una despolarización y consecuente contracción. También aumenta el umbral para la despolarización de la placa motora terminal sin alterar dicho mecanismo una vez que ocurre. Este efecto sería relevante luego de una administración endovenosa rápida o cuando se administra la clindamicina con bloqueantes neuromusculares ya que potencian su acción como se describe posteriormente en el apartado interacciones.

Este mismo efecto se postuló que ocurriría también sobre el músculo cardíaco ya que se han reportado casos de bradicardia, bloqueo auriculoventricular y fibrilación ventricular asociados al uso de clindamicina en medicina humana (Wright y Collier, 1976; Gabel y col., 1999; Dizajmehr y col., 2019).

I.III.4. Espectro

I.III.4.a. Microorganismos aerobios y microaerófilos grampositivos

Son susceptibles a clindamicina *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. epidermidis*, estafilococos coagulasa positivos, estafilococos coagulasa negativos, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. faecalis*, *S. viridans*, *S. sanguinis*, estreptococos alfa-hemolíticos, estreptococos beta-hemolíticos, *Erysipelothrix rhusiopathiae*; *Micrococcus* spp., *Bacillus anthracis* (Phillips y col., 1970; Chadwick, 1971; Marks, 1975; Westerman y col., 1976; Kuenzi y col., 1987; Garlando y col., 1988; Kropec y Daschner, 1989; Venditti y col., 1990; Lemmen y col., 1993; Klepser y col., 1997; Lewis y col., 1999; Yamamoto y col., 2001; Soriano García y col., 2005; Rezanka y col., 2007; LaPlante y col., 2008; Negro y col., 2012; Valour y col., 2015; Srednik, 2017).

I.III.4.b. Microorganismos aerobios gramnegativos

Moraxella bovis es un coco bacilo sensible a clindamicina (Senturk y col., 2007).

Campylobacter jejuni, *C. coli*, *C. foetus* y otros (Andreasen, 1987; Archer y col., 1988; Wagner y col., 2003).

I.III.4.c. Espiroquetas

Leptospira spp. El estudio se realizó sobre diferentes cepas *L. biflexa*, *L. borgpetersenii*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. weilii* y dentro de los serovares de *L. interrogans*, *L. interrogans icterohaemorrhagiae*, *L. interrogans copenhageni* y *L. interrogans mankarso* (Murray y col., 2004; Suepaul y col., 2015; Wuthiekanun y col., 2015).

I.III.4.d. Microorganismos anaerobios

B. fragilis, *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*, *B. vulgatus*, *B. capillosus*, *B. melaninogenicus*, *B. oralis*, *B. corrodens*, *Fusobacterium fusiforme*, *F. necrophorum*, *F. nucleatum*, *F. gonidiaformans*, *F. symbiosum*, *F. mortiferum*, *C. perfringens*, *C. welchii*, *C. tertium*, *Clostridium* spp., *Actinomyces* spp., *Prevotella bibia*, *P. intermedia*, *P. melaninogenica*, *Veillonella* sp., *Porphyromonas* spp., *Peptococcus saccharolyticus*, *P. asaccharolyticus*, *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium acnés*, *Acidaminococcus ferentans*, *Bifidobacterium* sp., *Bilophiola wadsworthia* (Phillips y col., 1970; Bartlett y col., 1972; Kislak, 1972; Nastro y Finegold, 1972; Westerman y col., 1976; Dutta y Devriese, 1981; Klepser y col., 1996; Klepser y col., 1997; Valdimarsdóttir y col., 1997; Schaumann y col., 2000; Athamna y col., 2004; Rezanka y col., 2007; Negro y col., 2012; Steininger y Willinger, 2016).

I.III.4.e. Micoplasmas

Este antimicrobiano tiene actividad sobre algunas especies de micoplasmas tanto de medicina humana como veterinaria. Es efectiva sobre *Mycoplasma bovis*, *M. bovigenitalium*, *M. bovimastiditis*, *M. laidlawii*, *M. hyopneumoniae*, se empleó también para el tratamiento de infecciones causadas por mordedura de gatos, dentro de los agentes etiológicos se encontraban *M. equigenitalium*, *M. elephantis* y *M. felis* (Hamdy y Miller, 1971; Torres-Henderson y col., 2014; Cai y col., 2018). En medicina humana también presenta actividad tanto sobre *Mycoplasma* spp. y *Ureaplasma* spp. (Krausse y Schubert, 2010).

I.III.4.f. Protozoarios

T. gondii (Pfefferkorn y col., 1992; Fichera y col., 1995; Camps y col., 2002; Dubey y col., 2009), *Neospora caninum* (Crookshanks y col., 2007; Dubey y col., 2007; Silva y Machado, 2016), *Eimeria pragensis* (Yunus y col., 2005), *Babesia gibsoni* (Wulansari y col., 2003; Lin y col., 2012; Nandini y col., 2016; Vishnurahav y col., 2017), *Plasmodium falciparum* (Seaberg y col., 1984; Lell y Kremsner, 2002).

I.III.4.g. Microorganismos no susceptibles

La clindamicina no tiene actividad frente a bacterias gramnegativas aerobias o anaerobias facultativas, enterobacterias, *Pseudomonas* spp., *Pasteurella multocida* (McGehee y col., 1968; Chadwick, 1971; Magerlein, 1971; Heman-Ackah, 1975b; Stevens y col., 1979; Rezanka y col., 2007; Ludwig y col., 2016), *Neisseria* spp. (McGehee y col., 1968), *H. influenzae* (McGehee y col., 1968; Chadwick, 1971; Marks, 1975; Kuenzi y col., 1987).

Dentro de los microorganismos grampositivos, la clindamicina no es eficaz sobre *Enterococcus* spp. (McGehee y col., 1968; Westerman y col., 1976) y *Nocardia* spp. (Larruskain y col., 2011; Zhao y col., 2017).

Clostridium difficile tiene la particularidad de ser un microorganismo anaerobio sobre el cual la clindamicina no tiene actividad (Pankuch y col., 1993; Büchler y col., 2014).

Corynebacterium spp. es un género que, si bien algunas cepas pueden ser susceptibles, la CIM₅₀ y CIM₉₀ para la mayoría de estos microorganismos resultó en valores dentro del rango de resistencia (Soriano García y col., 1995; Neemuchwala y col., 2018).

Tanto *Mycobacterium tuberculosis* como *M. avium* presentan resistencia natural a la clindamicina, solo en *M. leprae* se encontró susceptibilidad a este antimicrobiano (Yajko y col., 1987; Franzblau, 1991; Buriánková y col., 2004).

I.III.5. Actividad *in vitro* de la clindamicina

Los datos de la actividad *in vitro* de la clindamicina sobre cepas de origen animal se muestran en la Tabla I.1. Para su elaboración se tomaron los valores más altos y más bajos de CIM₅₀ y CIM₉₀ citados en la bibliografía.

El CLSI (2015) establece los valores de corte de la clindamicina para *Staphylococcus* spp. y estreptococos beta-hemolíticos en piel y tejidos blandos de caninos, definiendo microorganismos susceptibles aquellos con una CIM ≤ 0,5 µg/ml, intermedios 1-2 µg/ml y resistentes cuando la CIM ≥ 4 µg/ml.

Los valores de corte de la clindamicina para anaerobios grampositivos fueron establecidos por el CLSI (2019) para humanos, y no están descriptos para medicina veterinaria. Definiendo susceptibilidad cuando los valores de CIM ≤ 2 µg/ml, intermedios 4 µg/ml y resistentes cuando la CIM ≥ 8 µg/ml.

Tabla I.1. Actividad *in vitro* de la clindamicina frente a microorganismos patógenos de origen animal aislados en perros, gatos y vacas*. Para su elaboración se tomaron los valores más altos y más bajos de CIM₅₀ y de CIM₉₀ citados en la bibliografía (Chirino-Trejo y Prescott, 1983; Pankuch y col., 1993; Murray y col., 2004; Francoz y col., 2005; Ganiere y col., 2005; Abusleme Garay, 2009; Rubin y col., 2011; Senhorinho y col., 2012; Lawhon y col., 2013; Pfizer, 2014; Silva y col., 2014; Suepaul y col., 2015; Ludwig y col., 2016; Álvarez-Pérez y col., 2017; Cai y col., 2018).

Microorganismo	CIM ₅₀ (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)
Cocos grampositivos		
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	0,12 – 0,5	1 - 128
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,06 – 64	0,12 - 128
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0,25	4
<i>Staphylococcus</i> spp.	0,5	4
Estreptococos beta-hemolíticos	0,5	0,5
<i>Streptococcus</i> spp.	0,12 – 0,25	>4 – 8

Tabla I.1. Continúa

Microorganismo	CIM ₅₀ (µg/ml)	CIM ₉₀ (µg/ml)
Anaerobios		
<i>Bacteroides fragilis</i>	0,25 – 16	2 - 128
<i>Bacteroides capillosus</i>	0,12	1
<i>Bacteroides</i> spp.	0,06 – 1	2 – 16
<i>Clostridium perfringens</i>	0,064 - 1,5	0,25 - 6
<i>Clostridium difficile</i>	0,064– 4	6 – >256
<i>Clostridium</i> spp.	2	12
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	0,12	1
<i>Fusobacterium canifelinum</i>	0,25	0,25
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	0,12 - 0,25	0,25 - 8
<i>Fusobacterium</i> spp.	0,02 - 0,5	0,25 – 16
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	0,06 - 0,25	0,5 – 2
<i>Porphyromonas gulae</i>	0,25	0,25
<i>Porphyromonas macacae</i>	0,25	0,25
<i>Porphyromonas</i> spp.	0,06	0,25
<i>Prevotella bivia</i>	0,12	0,12
<i>Prevotella</i> spp.	0,12 – 0,25	0,25 – 2
<i>Propionibacterium acnés</i>	0,12	0,12
Otros		
<i>Leptospira</i> spp. ^a		0,2 – 0,39
<i>Mycoplasma bovis</i> *	0,19 - 0,25	0,25 - 0,5

*Todos los microorganismos corresponden a aislamientos caninos y felinos excepto *Mycoplasma bovis*.

^a*Leptospira* spp. incluye: *L. biflexa*, *L. borgpetersenii*, *L. interrogans* (*L. interrogans icterohaemorrhagiae*, *L. interrogans copenhageni* y *L. interrogans mankarso*), *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*.

I.III.5.a. Resistencia reportada

Estudios de susceptibilidad bacteriana a la clindamicina, a partir de microorganismos aislados en procesos infecciosos de caninos y felinos, reportan un moderado a alto porcentaje de resistencia a este antimicrobiano. Se encontró también que el porcentaje de resistencia era superior en pacientes que habían recibido tratamientos antimicrobianos previos, respecto al porcentaje de resistencia encontrado en bacterias causantes de primoinfecciones sin tratamiento antibiótico previo (Larsen y col., 2015; van Damme y col., 2020). La Tabla I.2 Resume los porcentajes de resistencia obtenidos para cada bacteria, el número de microorganismos evaluados, sitio de infección y lugar geográfico del estudio.

Tabla I.2. Porcentaje de resistencia (R) a la clindamicina en cocos grampositivos causantes de enfermedad en caninos y felinos, en Argentina y otros países.

Microorganismo	Sitio de infección	n	R (%)	Lugar	Autor y año
ARGENTINA					
<i>S. pseudintermedius</i>	Piel, oído, orina, vagina, otros.	3882	46	CABA y GBA	Rumi y col., 2021
<i>S. aureus</i>		809	42		
Estafilococos coagulasa negativos		996	33		
<i>Streptococcus</i> spp.		517	17		
<i>S. pseudintermedius</i>	Oído, piel, vagina, otros.	28	43	La Plata, Bs.As.	Vigo y col., 2015
<i>S. pseudintermedius</i>	Piel	91	60	CABA, GBA y La Plata, Bs.As.	Giacoboni y col., 2017
AMÉRICA LATINA					
<i>Staphylococcus</i> spp. y <i>Streptococcus</i> spp.	Hueso	29	59	Botucatu, Brasil	Siqueira y col., 2014
<i>S. pseudintermedius</i>	Oído	39	28	Santiago, Chile	Abusleme Garay, 2009
<i>S. schleiferi</i>	Oído	12	25		
<i>S. aureus</i>	Oído	2	100		
<i>S. pseudintermedius</i>	Piel	92	25	Lima, Perú	Antúnez y col., 2009.

Tabla I.2. Continúa

Microorganismo	Sitio de infección	n	R (%)	Lugar	Autor y año
OTROS PAÍSES					
<i>S. pseudintermedius</i>	Piel	50	22	Francia	Ganiere y col., 2005
<i>S. pseudintermedius</i>	ND	60	8	Saskatchewan, Canadá	Rubin y col., 2011
<i>S. pseudintermedius</i> aislados en perros	Piel y tejidos blandos	556	25	Europa ^a	Ludwig y col., 2016
<i>S. pseudintermedius</i> aislados en gatos		49	NC (15/50)		
<i>S. aureus</i> aislados en perros	Piel y tejidos blandos	45	4		
<i>S. aureus</i> aislados en gatos		29	NC (1/29)		
<i>Streptococcus</i> spp. aislados en perros	Piel y tejidos blandos	167	11		
<i>Streptococcus</i> spp. aislados en gatos		25	NC (3/25)		
<i>S. pseudintermedius</i>	Piel (y otros)	419	24		
<i>S. pseudintermedius</i>	Piel (sin tratamientos antibióticos previos)	57	14	Copenhague, Dinamarca	Larsen y col., 2015
<i>S. pseudintermedius</i>	Piel (con tratamientos antibióticos previos)	289	27		
<i>S. pseudintermedius</i>	Piel (sin tratamientos antibióticos previos)	60	22	Utrecht, Países Bajos	van Damme y col., 2020
<i>S. pseudintermedius</i>	Piel (con tratamientos antibióticos previos)	137	38		
<i>S. pseudintermedius</i>	Piel	86	41 -50	Nápoles, Italia	Nocera y col., 2021

^aIncluye: República Checa, Francia, Alemania, Hungría, Italia, Países Bajos, Polonia, España, Suiza y el Reino Unido.
ND No determinado
NC No calculado

I.III.6. Mecanismos de resistencia

Existen 3 mecanismos de resistencia para este antimicrobiano, el primero y que se presenta con mayor frecuencia es la modificación del sitio blanco, el segundo mecanismo es mediante la producción de enzimas inactivantes y por último puede deberse a la expresión de bombas de eflujo (Leclercq, 2002).

La modificación del ribosoma 50s ocurre por la síntesis y actividad de metilasas ribosomales o por mutaciones espontáneas en los genes que codifican para la peptidiltransferasa. Este mecanismo es compartido con antimicrobianos que actúan sobre el mismo ribosoma obteniéndose, según los antibióticos involucrados, los diferentes fenotipos de resistencia cruzada: ML: macrólidos y lincosamidas, MLSb: macrólidos-lincosamidas-streptograminas B, MLSK: incluyendo ketólidos y MLSKO: que incorpora a las oxazolidinonas (Weisblum y Demohn, 1969; Dutta y Devriese, 1981; Roberts, 2004).

Las metilasas ribosomales actúan sobre el fragmento 23s del ribosoma, en una región conservada del dominio V, adicionando un grupo metilo (o dimetilación) sobre una adenina que suele ser estable A2058Ec. Esta región es compartida por macrólidos, lincosamidas y streptogramina B en sus respectivos sitios de unión (Weisblum, 1995a). Las metilasas se encuentran codificadas en el gen *erm* (metilasa ribosomal de eritromicina en inglés) ubicado en transposones en el cromosoma bacteriano o plásmidos y se transfiere mediante elementos móviles. Existen más de 20 variantes de este gen, las más relevantes por las bacterias involucradas, son *erm A* y *C* en los estafilococos, *erm B* en los estreptococos y *erm F* en *B. fragilis* y otros anaerobios (Roberts y col., 1999; Leclercq, 2002; de Vries y col., 2012). La expresión del gen *erm* puede ser tanto constitutiva como inducible. La forma constitutiva se encuentra en alto porcentaje en estafilococos y mayor aún en aquellos meticilinoresistentes, tanto en medicina veterinaria como humana (Saribas y col., 2006; Kadlec y Schwarz, 2010; Ruzauskas y col., 2015; Vigo y col., 2015; Giacoboni y col., 2017; Khodabandeh y col., 2019). Cuando el gen se encuentra en su forma inducible, la bacteria transcribe un ARNm inactivo y por ende la metilasa ribosomal no se sintetiza. La presencia del inductor inicia el proceso de traducción dando como resultado la expresión de este mecanismo de resistencia. Se demostró que la eritromicina forma un complejo con el ribosoma bacteriano modificando el inicio de la traducción del ARNm al codón de iniciación para la síntesis de la metilasa. En estafilococos la eritromicina es un excelente inductor, no así la clindamicina ni las streptograminas, y el perfil fenotípico

aislado con mayor frecuencia es MLSb (Weisblum, 1995b; Leclercq, 2002; Roberts, 2004). En estreptococos tanto la clindamicina como la eritromicina y la streptogramina B pueden actuar como inductores (Horinouchi y col., 1983; Roberts y Brown, 1994). En *C. perfringens* encontraron que la eritromicina y la oleandomicina actúan como inductores de resistencia a macrólidos y lincosamidas pero no a streptograminas (Dutta y Devriese, 1981).

La prueba diagnóstica *in vitro* empleada para establecer el perfil de resistencia de un microorganismo a clindamicina se denomina D-test, se colocan adyacentes en el antibiograma un disco de eritromicina y uno de clindamicina. Cuando se expresa el gen *erm* en forma constitutiva la bacteria evidencia un nivel de resistencia alto a todos los antimicrobianos MLSb, dando halos de diámetro bajo. Cuando la expresión del mismo es inducible la bacteria tiene resistencia fenotípica a macrólidos pero conserva la sensibilidad frente a clindamicina (tornándose rápidamente resistente frente a una exposición a macrólidos), la proximidad de ambos discos permite evidenciar un achatamiento del halo de clindamicina (forma de "D") frente al halo producido por la inhibición del crecimiento del disco de eritromicina. Si el perfil de resistencia fuera solo macrólido-streptogramina B (MSb) el halo de clindamicina permanece intacto y conserva un diámetro dentro del rango de sensibilidad (Shrestha y Rana, 2014; CLSI, 2019).

Un segundo mecanismo de resistencia para este antimicrobiano consiste en la expresión de enzimas inactivantes, la 3-lincomicina 4-clindamicina o-nucleotidiltransferasa. Estas enzimas se encuentran codificadas en plásmidos, en 2 grupos de genes *LinA* (y sus variantes *LnuC* y *LnuD*) presentes principalmente en estafilococos y *LinB* (y variante *LnuF*), en enterococos. Catalizan la adenilación del 3'-OH o 4'-OH del residuo azúcar azufrado de las lincosamidas (metiltiolincosamida), dando como resultado 4-(5'-adenilato)-clindamicina o 3-(5'-adenilato)-lincomicina, ambos metabolitos inactivos. Este grupo enzimático pertenece a la superfamilia de nucleotidiltransferasas, relacionadas también con las nucleotidiltransferasas de los aminoglucósidos y polimerasas (Brisson-Noël y col., 1988; Leclercq y Courvalin, 1991; Morar y col., 2009; Vigo y col., 2015).

Como último mecanismo de resistencia se encuentran los sistemas de eflujo bacteriano codificados en 5 superfamilias, dos de las cuales se hallaron en microorganismos resistentes a lincosamidas. Dentro de la familia MF el gen *MdeA* codifica para la expresión de bombas de eflujo en estafilococos (*S. aureus* y *S.*

hemolyticus) siendo sustrato tanto lincosamidas como macrólidos. Dentro de la familia ABC, se encuentran los genes tipo *Msr(A)*: *Vag(A)* y su variante *Vag(A)_v*, que confieren resistencia de bajo nivel a lincosamidas y streptograminas también en estafilococos (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. pseudintermedius*). Estas bombas de eflujo consisten en un sistema de transporte activo primario con consumo de ATP para la familia ABC y secundario, a través de un gradiente electroquímico, para la familia MF (Poole, 2005; Li y Nikaido, 2009; Lozano y col., 2012; Ruzauskas y col., 2015).

I.III.7. Usos terapéuticos

La clindamicina está indicada en pequeños animales para el tratamiento de infecciones estafilocócicas y por anaerobios, particularmente aquellas producidas por cocos resistentes a penicilina, en individuos que hayan manifestado hipersensibilidad a dicho antimicrobiano cuando se requiere una mayor penetración tisular (Knights y col., 2012; Trepanier, 2013; Sykes, 2014; Jessen y col., 2019).

Es uno de los antimicrobianos clasificados como seguros para su uso durante la preñez (Papich y Davis, 1986). Se reportó como uno de los antimicrobianos de mayor prescripción en cachorros caninos y felinos entre 6 y 26 semanas de edad (Lister y col., 2011) y es de elección para el tratamiento de *T. gondii* y *N. caninum* tanto en cachorros como en adultos (Lavelly, 2006; Crookshanks y col., 2007). Se informó incluso su administración a un canino de 2 semanas de edad para el tratamiento de *N. caninum* (da Costa Reis y col., 2016) sin embargo, frente a otros procesos infecciosos, su uso no es recomendado en neonatos por producir alteración de la flora intestinal normal y diarreas asociadas (Plumb, 2004). En felinos en cautiverio, Manul, (*Otocolobus (felis) manul*) se empleó clindamicina en hembras preñadas, durante la lactación y luego en los cachorros al iniciar su alimentación sólida (3 a 4 semanas de edad) con el objetivo de reducir la tasa de mortalidad juvenil por toxoplasmosis, obteniendo buenos resultados y sin reportes de efectos colaterales (Girling y col., 2020).

Integra el grupo de antimicrobianos de primera elección para el tratamiento sistémico de piodermias superficiales en perros, cuyo agente principal suele ser *S. pseudintermedius* (Harvey y col., 1993; Littlewood y col., 1999; Beco y col., 2013; Summers y col., 2012; Hillier y col., 2014; Jessen y col., 2019). Se recomienda también para el tratamiento de piodermias profundas debido a que este tipo de

infecciones tiene la particularidad de contener abundantes sitios necróticos y procesos de cicatrización en los cuales la clindamicina presenta buena penetración, a diferencia de otros antibióticos (Scott y col., 1998; Beco y col., 2013).

Frente a infecciones causadas por estafilococos meticilinoresistentes, la clindamicina podría emplearse como alternativa, evaluando siempre el perfil de susceptibilidad del microorganismo. Se demostró que existe un alto porcentaje de resistencia incluso a clindamicina en este tipo de bacterias (Kadlec y Schwarz, 2010; Moodley y col., 2014; Ruzauskas y col., 2015; Ludwig y col., 2016; Giacoboni y col., 2017).

Este antimicrobiano presenta una excelente actividad sobre microorganismos anaerobios estrictos y es de elección para el tratamiento de procesos infecciosos con dicha etiología, teniendo en cuenta que ciertas cepas de *Clostridium* spp., y cepas de *Bacteroides* spp. podrían presentar resistencia al antimicrobiano y su acción prácticamente nula sobre *C. difficile* (Berg y col., 1984; Dow, 1988; Negro y col., 2012; Lawhon y col., 2013; Álvarez-Pérez y col., 2017, Jessen y col., 2019).

En cuanto a infecciones de vías respiratorias, está indicada tanto para el tratamiento de vías altas, rinitis crónicas en gatos (Reed, 2014), como bajas. Pertenece al grupo de primera línea para el tratamiento de neumonía y pitorax en perros y gatos. Pudiendo emplearse tanto por vía parenteral en casos graves, como oral en tratamientos ambulatorios, y sola o combinada con fluoroquinolonas (Dow, 1988; MacPhail, 2007, Lappin y col., 2017; Jessen y col., 2019; Dear, 2020). Particularmente en felinos, se indica para el tratamiento de neumonías causadas por estreptococos (como segunda opción a penicilina) y neumonías causadas por *T. gondii* (Foster y Martin, 2011). En relación al tratamiento de pitorax la clindamicina se administra como monoterapia o combinada con amoxicilina ácido clavulánico o con enrofloxacin, complementado con el tratamiento quirúrgico, drenaje (Barrs y col., 2005).

Otra indicación para el uso de la clindamicina en pequeños animales, tanto por su espectro como por su distribución tisular, es en el tratamiento de infecciones en tejido óseo: osteomielitis (Braden y col., 1988; Dernel, 1999), enfermedad periodontal y profiláctico en destartraje quirúrgico (Bowersock y col., 2000; Zetner y col., 2003; Niemiec, 2008; Negro y col., 2012; Trepanier, 2013; Jessen y col., 2019). Los microorganismos aislados con mayor frecuencia en osteomielitis son estafilococos beta-hemolíticos. También es frecuente encontrar infecciones mixtas con anaerobios ya sea por fracturas expuestas o traumatismos (Siqueira y col., 2014). Debido a esto, la clindamicina se encuentra dentro de los antimicrobianos de elección para el

tratamiento de estos procesos infecciosos (Braden y col., 1988; Jackson y Pacchiana, 2004; Gieling y col., 2019). La indicación del antibiótico no debería ser empírico en esta patología, ya que se observa un alto porcentaje de resistencia en los casos estudiados, por lo tanto debe reevaluarse su indicación una vez obtenidos los resultados del cultivo, aislamiento y antibiograma de la lesión (Siqueira y col., 2014).

La clindamicina se emplea también en profilaxis quirúrgica por su actividad sobre anaerobios, principalmente, y cocos grampositivos, combinándose con antimicrobianos con actividad sobre gramnegativos (enterobacterias). Se indica en profilaxis quirúrgicas de tejidos como cabeza y cuello (Weber y col., 1992; Howe y Boothe, 2006), tracto intestinal y en cirugías contaminadas del aparato reproductor en hembras (Van den Bogaard y Weidema, 1985; Boothe y Boothe, 2015).

En pacientes sépticos la terapéutica antimicrobiana temprana, de amplio espectro y por vía endovenosa disminuye la tasa de mortalidad. Cuando la clindamicina se indicó con dicho fin, se empleó combinada con enrofloxacin, amikacina o gentamicina (Brady y King, 2000; Butler, 2011; Silverstein y Otto, 2012; Jessen y col., 2019).

La droga también está indicada, tanto en medicina humana como veterinaria, para el tratamiento de mordeduras producidas por perros o gatos y combinada con fluoroquinolonas o trimetoprim sulfam. Las heridas por mordeduras en estas especies suelen causar infecciones mixtas, la flora oral está compuesta por bacterias aerobias grampositivas y anaerobias estrictas. (Van den Bogaard y Weidema, 1985;) (Davies, 2000; Broom y Woods, 2006; Bula-Rudas y Olcott, 2018; Jessen y col., 2019).

La clindamicina presenta una amplia distribución tisular con excelente llegada a próstata, sin embargo, la mayoría de los procesos infecciosos en dicho tejido son causados por microorganismos no incluidos dentro de su espectro, enterobacterias. De manera que su uso se aconseja sólo cuando el cultivo, aislamiento y perfil de susceptibilidad bacteriana lo indiquen (Weese y col., 2019).

En cuanto a enfermedades causadas por protozoarios, este antimicrobiano es de primera elección para el tratamiento de toxoplasmosis en caninos y felinos (Lavelly, 2006; Dubey y col., 2009; Troxel, 2009; Foster y Martin, 2011; Girling y col., 2020). También lo es para el tratamiento de *N. caninum* en perros, donde permite la remisión de los signos, pero no asegura la eliminación completa del parásito aún con tratamientos prolongados de hasta 6 meses (Crookshanks y col., 2007; Dubey y col., 2007; Troxel, 2009). Puede emplearse sola o combinada con sulfonamidas y

pirimetamina con el fin de potenciar su efecto antiprotozoario (Troxel, 2009; Silva y Machado, 2016). Se evaluó también su eficacia para el tratamiento de *Babesia gibsoni*, enfermedad que presenta una alta tasa de recidivas luego de instaurada la terapéutica convencional. Clindamicina fue administrada como monoterapia en caninos infestados experimental y naturalmente obteniendo una mejoría de los signos clínicos, de las alteraciones hematológicas y bioquímicas (Wulansari y col., 2003; Vishnurahav y col., 2017). En un estudio realizado por Lin y col. (2012) su empleo, en combinación con diminazeno e imidocarbo, produjo un aumento en las tasas de recuperación y una disminución en las de recidivas. Cuando se combinó con metronidazol y doxiciclina se logró la remisión tanto de los signos clínicos como de las alteraciones hematológicas (Nandini y col., 2016).

I.III.8. Efectos adversos

La clindamicina es una droga segura en pequeños animales, con pocos efectos adversos, produciendo diarreas por alteración de la microbiota intestinal como principal alteración (Jessen y col., 2019). En gatos a los que se les administró una dosis de 25 mg/kg y de 50 mg/kg (repartida en 2 tomas diarias) se reportaron cuadros de vómitos y diarreas (Greene y col., 1992). Sin embargo, otros autores que la han administrado tanto en monodosis como en tratamientos prolongados a dosis de 5 y 11 mg/kg no han reportado la presencia de efectos adversos (Harvey y col., 1993; Littlewood y col., 1999; Saridomichelakis y col., 2011).

En especies fermentadoras como equinos, rumiantes, conejos, hámsteres, las lincosamidas pueden predisponer al sobrecrecimiento de bacterias como *Clostridium* spp. con el desarrollo de una enterocolitis severa, diarrea y muerte (Chang y col., 1978; Reh y Pakes, 1982; Bulgin, 1988; Plenderleith, 1988; Larsen, 1997; Papich, 2003). En medicina humana, la administración de clindamicina puede ocasionar desde diarrea a colitis pseudomembranosa y muerte por la proliferación de *C. difficile* (Smart y col., 1976; Neu y col., 1977).

Otro efecto observado a nivel del tracto digestivo es la aparición de esofagitis. El tratamiento con cápsulas de clindamicina administradas por vía oral sin agua ni alimento a gatos causó esofagitis en 3 animales, uno de los cuales presentó también estenosis y en otros 2 se observó la formación de estenosis esofágica como signo inicial. Los signos clínicos visibles fueron náuseas, regurgitación y disfagia. Se postuló

también que los gatos, al igual que se describe en medicina humana, pueden sufrir desórdenes esofágicos inducidos por medicamentos, siendo la clindamicina uno de los causantes (Sutton y Gosnold, 1977; Levine, 1999; Beatty y col., 2006).

La aplicación intramuscular del compuesto inicial, clorhidrato de clindamicina, causa dolor moderado a alto en ratones, perros y humanos, para ello se sintetizó el éster fosfato el cual genera una menor reacción local y mayor tolerancia a la administración por esta vía (Gray y col., 1974; Lavy y col., 1999; Morozowich y Karnes, 2007).

Tal como se describe en la sección de interacciones farmacodinámicas, la clindamicina puede producir bloqueo neuromuscular y potenciar el efecto de fármacos anestésicos a este nivel u ocasionar alteraciones cardíacas, bradicardia, hipotensión y arritmias, debido a su acción inhibitoria sobre la respuesta contráctil del músculo estriado (Wright y Collier, 1976; Fiekers y col., 1979; Dizajmehr y col., 2019).

En un estudio farmacocinético realizado en gatos Brown y col. (1989) administraron clindamicina durante 10 días a 18 gatos divididos en 3 grupos según esquema posológico (5 mg/kg cada 12 horas, 11 mg/kg cada 12 horas y 22 mg/kg una vez al día). Posterior al ensayo los gatos fueron eutanasiados, en la necropsia observaron leve inflamación del colon en el 50% de los animales, leve colestasis en el 40% y leve hipertrofia izquierda ventricular en el 40% de los gatos, la magnitud de las lesiones no tenía relación con las dosis empleadas. En perros Gray y col. (1974) estudiaron la presencia de posibles alteraciones hepáticas luego de la administración de clindamicina endovenosa, intramuscular y oral, encontrando cambios mínimos y transitorios que revirtieron con administraciones subsiguientes, observaron en el hepatocito depósitos lipídicos (vía endovenosa) y mieloides (vía oral), vacuolizaciones en el retículo endoplásmico liso y dilataciones en el retículo endoplásmico rugoso (vía intramuscular). También se produjeron aumentos séricos transitorios de las enzimas transaminasa glutámico oxalacética (GOT) y glutámico pirúvica (GPT).

Estudios de toxicidad oral de clindamicina en ratas y perros a dosis de 300 mg/kg/día durante un año demostraron buena tolerancia y no observaron cambios histopatológicos en ambas especies. Empleando dosis de 600 mg/kg/día durante 6 meses en ratas no produjeron signos de toxicidad, mientras que en perros observaron vómitos, anorexia y pérdida de peso [Farmacia and Upjohn Company (s.f.)].

Evaluando otros efectos adversos se probó la tolerancia a la administración endovenosa de clindamicina a perros, a dosis superiores a las terapéuticas (60 y 120

mg/kg 2 veces al día durante un mes a una velocidad de infusión de 10 minutos totales) sin observar efectos colaterales, cambios clínicos, hematológicos, bioquímicos, urinarios o histopatológicos ni flebitis asociada (Gray y col., 1974).

La DL₅₀ obtenida para clindamicina clorhidrato y fosfato administrados por vía endovenosa, intraperitoneal y oral a ratones y ratas se muestran en la Tabla I.3. Los efectos tóxicos observados previo a la muerte fueron depresión central y convulsiones (Gray y col., 1974).

Tabla I.3. DL₅₀ de la clindamicina fosfato y clorhidrato para las vías endovenosa (ev) e intraperitoneal (ip) en ratones y oral (po) en ratas expresadas en mg/kg (Magerlein, 1971; Gray y col., 1974).

	DL ₅₀ ev (mg/kg)	DL ₅₀ ip (mg/kg)	DL ₅₀ po (mg/kg)
Clorhidrato de clindamicina	143	262	>5000
Fosfato de clindamicina	855	1145	1832

I.III.9. Interacciones farmacodinámicas

I.III.9.a. Clindamicina con otros antimicrobianos

I.III.9.a.a. Clindamicina - Macrólidos - Fenicoles

La combinación de clindamicina (lincosamidas) con fenicoles y macrólidos produce un antagonismo de tipo farmacológico por interferir físicamente en sus respectivos sitios de unión. Estos 3 grupos de antimicrobianos interactúan con la región central de la peptidil transferasa, superponiéndose sobre determinados nucleótidos de la subunidad 50s. El solapamiento clidamicina-macrólido ocurre en la salida del túnel del ribosoma, segmento donde se une el residuo azúcar de la lincosamida y el residuo azúcar del macrólido sobre los nucleótidos A2041Dr (A2058Ec), A2042Dr (A2059Ec) y U2484Dr (U2505Ec) mientras que la interacción clindamicina-cloranfenicol ocurre en el sitio A del ribosoma, sobre los nucleótidos G2044Dr (G2061Ec) y G2484Dr (G2505Ec) (Schlünzen y col., 2001; Rezanka y col., 2007; Matzov y col., 2017).

I.III.9.a.b. Clindamicina - Betalactámicos

El estudio *in vitro* de la combinación clindamicina-penicilina se realizó sobre *S. pyogenes* con el objetivo de encontrar alternativas al tratamiento de fascitis necrotizante, enfermedad en la cual la clindamicina demostró mejor eficacia con respecto a la penicilina en modelos experimentales mientras que la penicilina aportaría su bajísimo porcentaje de resistencia. La curva de muerte bacteriana construida a partir de esta combinación antibiótica demostró la presencia de antagonismo al comportarse igual que la curva de clindamicina como único agente, permaneciendo siempre por sobre la curva de penicilina. A su vez, se demostró que la combinación de concentraciones sub-CIM de ambos antibióticos tiene un efecto sinérgico con respecto al observado con cada antimicrobiano individualmente. Concluyendo, si bien las concentraciones plasmáticas alcanzadas con el uso *in vivo* de clindamicina y penicilina son muy superiores a las ensayadas *in vitro* y por ende no exhibirían efectos antagónicos, el uso combinado no representaría ventaja con respecto a la administración individual de estos antimicrobianos (Stevens y col., 1998).

Simon y Littschwager (1985) ensayaron el efecto sobre el desarrollo de *S. aureus* y *S. epidermidis* con el uso combinado de ceftazidima-clindamicina mediante el tablero de damas. De las 115 cepas estudiadas, un 26% dio un efecto sinérgico, un 48% efecto aditivo y 26% indiferencia, no encontraron antagonismo. Postularon que la ventaja en esta combinación sería en caso de infecciones mixtas en las que estuvieran presentes microorganismos anaerobios, sobre los cuales la ceftazidima presenta menor actividad con respecto a la clindamicina, de 14 microorganismos anaerobios estudiados la clindamicina no presentó resistencia mientras que para la ceftazidima fue del 60%.

I.III.9.a.c. Clindamicina - Aminoglucósidos

La combinación de clindamicina con aminoglucósidos sobre estafilococos mostró sinergismo, con una disminución de la CIM de *S. aureus* para clindamicina en presencia de gentamicina, tobramicina, kanamicina y en menor medida de estreptomina (Watanakunakorn y Glotzbecker, 1974), mientras que Fass y col. (1974) no pudieron demostrar sinergismo, pero declararon no observar aumento de la CIM de clindamicina en combinación con gentamicina. Frente a estreptococos, Snyder y col. (1975) demostraron antagonismo en la combinación clindamicina-gentamicina, mientras que Duperval y col. (1975) encontraron sinergismo en 3 cepas y antagonismo en 2. Ambos estudios basaron sus resultados en la cuantificación de colonias viables

(efecto bactericida) a diferencia de lo observado en los trabajos con estafilococos, en los cuales el resultado depende de la inhibición de crecimiento bacteriano.

I.III.9.a.d. Clindamicina - Fluoroquinolonas

La combinación de clindamicina con fluoroquinolonas se investigó tanto a concentraciones inhibitorias sobre *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*, como sub-CIM sobre una cepa de *E. coli*. Boeckh y col. (1990) comenzaron con un estudio *in vivo* de la cinética de clindamicina y fluoroquinolonas por vía endovenosa (ciprofloxacina y ofloxacina) y oral (enoxacina y fleroxacina), se tomaron muestras de sangre en tiempos determinados y el plasma se puso en contacto con los microorganismos en estudio. El resultado para la vía endovenosa fue una mejora de la actividad bactericida frente a cocos grampositivos con respecto a la administración por separado de los antimicrobianos, sin afectarse la actividad sobre gramnegativos ni anaerobios. Para la administración oral no observaron dicho efecto, sino una indiferencia frente a todos los microorganismos, atribuyendo esta diferencia a las menores concentraciones plasmáticas alcanzadas por esta vía.

Por otro lado, la presencia de concentraciones de clindamicina por debajo de la CIM de la cepa de *E. coli* KL16 interfiere con la actividad bactericida del ácido nalidíxico, ciprofloxacina y ofloxacina aumentando significativamente el tiempo en que se logra la muerte del 99% de los microorganismos (Lewin y Smith, 1989).

La interacción con este grupo de antimicrobianos se estudió también sobre microorganismos anaerobios, *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. y *Clostridium* spp. La trovafloxacina es una fluoroquinolona de cuarta generación con actividad sobre anaerobios estrictos, se analizó su interacción con clindamicina y metronidazol por el método de tablero de ajedrez y curvas de muerte bacteriana. Mediante el primer método se obtuvo sinergismo en 2 de las 156 cepas para la clindamicina y 7 para el metronidazol, las restantes resultaron indiferentes. Por el segundo método, se ensayaron 12 cepas de las cuales un 50% resultaron en sinergismo para la combinación con clindamicina-trovafloxacina, independientemente del género bacteriano, y las restantes con efecto aditivo. Para metronidazol 11 de las 12 cepas dieron efecto sinérgico (Ednie y col., 2000).

I.III.9.a.e. Clindamicina - Vancomicina

La combinación *in vitro* vancomicina-clindamicina sobre *S. aureus* dio como resultado antagonismo tanto por aumento de la CIM del microorganismo como en el perfil de curvas de muerte bacteriana. Sin embargo, dicho antagonismo se observó en forma marcada en estafilococos meticilinoresistentes frente a altas concentraciones de vancomicina, 10 y 20 veces su valor de CIM, mientras que dentro de los rangos 0,25 y 2 veces las CIM solo se observó solo una leve tendencia al aumento de colonias viables. En estafilococos sensibles a meticilina esta interacción ocurrió en menor grado, incluso observaron sinergismo a bajas concentraciones de ambos antimicrobianos. Sin embargo, concluyeron que al tratarse de un antimicrobiano bactericida, la interferencia en la síntesis proteica y enlentecimiento en el crecimiento bacteriano afecta la acción de la vancomicina sobre la pared dado que requiere microorganismos en crecimiento activo (Booker y col., 2004).

I.III.9.a.f. Clindamicina - Rifampicina

Arditi y Yogev (1989) analizaron el efecto de la combinación de clindamicina con rifampicina sobre estafilococos coagulasa negativos tanto por el método del tablero de ajedrez (inhibición de crecimiento bacteriano) como por la construcción de curvas de muerte bacteriana. Mediante el primero, de 15 cepas analizadas, 11 resultaron con un efecto aditivo, 4 de indiferencia y no observaron antagonismo. Con el segundo método se analizaron 12 cepas de las cuales 6 arrojaron sinergismo, 3 efecto aditivo y 3 indiferencia, sin observar antagonismos.

I.III.9.a.g. Clindamicina - Metronidazol

Ralph y Amatnieks (1980) combinaron clindamicina con metronidazol sobre *B. fragilis* mediante el método del tablero de ajedrez. De 24 cepas un 24% resultaron con efecto sinérgico, 52% sinergismo parcial, 19% aditivo y 5% indiferencia. A mayor densidad de inóculo disminuyó el efecto sinérgico al 15%. Concluyeron que la combinación empírica metronidazol – clindamicina no ofrece ventaja dada la alta eficacia del metronidazol y su efecto bactericida. Sin embargo, si tuviera que realizarse dicha combinación el estudio no demuestra la presencia de antagonismo.

I.III.9.b. Clindamicina con bloqueantes neuromusculares

La administración en forma conjunta de lincosamidas con bloqueantes neuromusculares potencia la acción de estos últimos. La clindamicina ejerce una

acción depresora directa sobre la contracción muscular, mientras que la lincomicina interferiría también en la transmisión nerviosa de la placa neuromuscular (Wright y Collier, 1976; Fiekers y col., 1979). Esta interacción se reportó para bloqueantes neuromusculares no despolarizantes (pancuronio, pipecuronio, rocuronio, vecuronio, etc.) particularmente con el uso de pancuronio en medicina humana informaron que la administración de neostigmina como reversor no resultó eficaz pudiendo incluso prolongar aún más el tiempo de parálisis muscular y recuperación (Fogdall y Miller, 1974; de Gouw y col., 1993).

Por otro lado Lee y col. (2013) emplearon en forma conjunta rocuronio con clindamicina y gentamicina, con un efecto sinérgico sobre el tiempo de bloqueo neuromuscular y retraso en la recuperación, intensificándose aún más a mayores concentraciones de clindamicina. Este sinergismo se produce porque ambos antimicrobianos deprimen la actividad de la placa neuromuscular mediante diferentes mecanismos. Los aminoglucósidos antagonizan los canales de calcio del botón presináptico en la placa neuromuscular impidiendo la liberación de acetilcolina, pudiendo revertirse con la administración de calcio, no así de fisostigmina (Paradelis y col., 1988).

I.IV. Farmacocinética

La farmacocinética de la clindamicina se estudió en distintas especies en medicina veterinaria como caninos, felinos, walabís, palomas y ratas, y en medicina humana. Presenta una farmacocinética lineal en un amplio rango de dosis e independiente de la vía de administración empleada (De Haan y col., 1973; Weber y col., 1980; Brown y col., 1989; Plaisance y col., 1989; Yang y Lee, 2007; Saridomichelakis y col., 2011).

I.IV.1. Formulaciones

La clindamicina se presenta para su administración por vías enterales y parenterales. La sal clorhidrato de clindamicina se formula en cápsulas, comprimidos o solución para su administración oral o tópica en forma de solución o crema. El éster clindamicina 2 fosfato se formula en solución para su uso inyectable endovenoso, subcutáneo e intramuscular. Mientras que para su aplicación tópica se formula como solución, loción o gel para su uso en piel y como cremas u óvulos para su uso vaginal (Magerlein,

1971; Gray y col., 1974; Rimmer y Sales, 1978; Morozowich y Karnes, 2007). La solución de clindamicina 2-palmitato clorhidrato es una formulación de uso en pediatría destinada a la administración oral por su buena palatabilidad con respecto al clorhidrato de sabor amargo (Sinkula y col., 1973).

I.IV.2. Absorción

I.IV.2.a. Absorción oral

La clindamicina administrada por vía oral ha sido estudiada en perros, gatos, cerdos, ratas, aves y humanos. Las dosis empleadas se encuentran en un rango de 5 a 25 mg/kg, con extremos de 100 mg/kg en aves y 300 mg/kg en ratas. Mientras que en humanos se emplearon dosis de 150, 300 y 600 mg totales (Sinkula y col., 1973; Leigh, 1981; Brown y col., 1989; Boothe y col., 1996; Batzias y col., 2005; Yang y Lee, 2007; Carrasco-Portugal y col., 2008; Lenarduzzi y col., 2011; Saridomichelakis y col., 2011; Goode y col., 2019).

La absorción es rápida con una $t_{1/2a}$ reportada en caninos y humanos de 2,1 horas y 0,72 horas, respectivamente (Bouazza y col., 2012; Ortega y col., 2016) y con un T_{max} definido entre 0,25 y 3 horas en caninos, felinos, cerdos, ratas, palomas y humanos. En estas mismas especies las C_{max} , a dosis terapéuticas, se encontraron en un rango de 1,43 $\mu\text{g/ml}$ a 8,29 $\mu\text{g/ml}$ (Sinkula y col., 1973; Leigh, 1981; Brown y col., 1989; Boothe y col., 1996; Batzias y col., 2005; Yang y Lee, 2007; Carrasco-Portugal y col., 2008; Lenarduzzi y col., 2011; Saridomichelakis y col., 2011; Goode y col., 2019). Los principales parámetros farmacocinéticos que evalúan la absorción oral y las dosis empleadas se muestran en la Tabla I.4.

Tanto el pico de concentración plasmática como el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo aumentan en forma proporcional dentro del rango de dosis terapéuticas (Brown y col., 1989; Yang y Lee, 2007).

Tabla I.4. Dosis, concentración máxima (C_{max}), tiempo máximo (T_{max}) y área bajo la curva ($ABC_{0-\infty}$ o ABC_{0-t}) de la clindamicina clorhidrato administrada por vía oral como dosis única en distintas especies.

Especie	Dosis (mg/kg)	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{max} (h)	$ABC_{0-\infty}$ ABC_{0-t} ($\mu\text{g.h/ml}$)	Autor y año
Caninos	25	8,29	1	76,8 ^a	Sinkula y col., 1973
Caninos	53	56	2,3	432 ^a	Sun y Hsi, 1973
Caninos	11	3,25	1	16,19 ^a	Batzias y col., 2005
Caninos	5	1,88	3	6,7 ^b	Saridomichelakis y col., 2011
	11	3,29	3	18,35 ^b	
Caninos	20	4,4	2,7	50,87	Ortega y col., 2016
Felinos	11	7,37	1,5	42,6 ^b	Boothe y col., 1996
Felinos	5,5	---	---	18,45 ^a	Brown y col., 1989
	11	---	---	31,37 ^a	
	22	---	---	51,43 ^a	
Cerdos	15	3,52	1,33	12,0 ^a	Goode y col., 2019
Ratas	75	5,69	0,25	8,4 ^a	Yang y Lee, 2007
	150	9,8	0,25	15,7 ^a	
	300	19,1	0,25	33,1 ^a	
Palomas	100	1,43	0,5	2,71 ^a	Lenarduzzi y col., 2011
Humanos	8,2	5,3	0,8	16,9 ^a	Gatti y col., 1993
Humanos (mujeres)	10,1	5,94	1,08	26,87 ^a	Carrasco-Portugal y col., 2008
Humanos (hombres)	8,7	5,15	0,93	24,63 ^a	

^a $AUC_{0-\infty}$

^b AUC_{0-t}

I.IV.2.a.a. Biodisponibilidad y efecto de primer paso

La biodisponibilidad oral de la clindamicina es variable según la especie, en caninos es del 72% a 88%, en humanos del 53% a 87,6%, mientras que en ratas es del 30% (Sun y Hsi, 1973; Gatti y col., 1993; Batzias y col., 2005; Yang y Lee, 2007; Bouazza y col., 2012).

La biodisponibilidad oral de la clindamicina en ratas es baja ($F=30\%$); luego de ser administradas por vías endovenosa, oral, intragástrica, intraduodenal e intraportal se encontró la menor ABC luego de la administración intragástrica. Por otro lado, el porcentaje de clindamicina eliminado por materia fecal en 24 horas fue del 10% de la dosis administrada por vía oral, correspondiendo un 2,3% a excreción biliar como tal y un 7,7% a droga no absorbida. Se concluyó que el efecto de primer paso para este antibiótico, en ratas, ocurre a nivel gástrico. Paralelo a esto se demostró que el metabolismo e inactivación a nivel intestinal, hepático y pulmonar era nulo (Yang y Lee, 2007).

I.IV.2.a.b. Interacción con alimento

En personas, se demostró que la presencia de alimento en el tubo digestivo no interfiere con la absorción del antimicrobiano. Si se comprobó un retraso en el T_{max} en algunos individuos, sin embargo, estas diferencias, así como las halladas en las C_{max} alcanzadas, no resultaron significativas luego de recibir el antibiótico en ayunas y posterior a una comida (McGehee y col., 1968; Meyers y col., 1969; Birkenmeyer y Kagan, 1970; De Haan y col., 1972). Por otro lado McGehee y col. (1968) encontraron diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de clindamicina a las 12 horas de dosificados, resultando superiores cuando fue administrada en ayunas. Mientras que en otro estudio realizado por De Haan y col. (1972) se encontró una mayor tasa de absorción cuando se administró clindamicina palmitato junto con alimento.

I.IV.2.b. Absorción intramuscular y subcutánea

La clindamicina se administró por vía intramuscular a perros, gatos y humanos, y por vía subcutánea en perros y gatos. La formulación inyectable empleada fue el fosfato de clindamicina que resulta menos irritante y dolorosa para la vía intramuscular, consiste en un éster que se hidroliza rápidamente en plasma a su forma activa. En perros también se evaluó la farmacocinética parenteral de clindamicina clorhidrato. La dosis promedio empleada en animales fue 10 mg/kg y en humanos 300 mg totales (De Haan y col., 1973; Weber y col., 1980; Leigh, 1981; Lavy y col., 1999; Passini y col., 2017).

La absorción para estas vías fue rápida, en caninos la administración subcutánea presentó un rango de k_{01} de $2,2 \text{ h}^{-1}$ a $3,6 \text{ h}^{-1}$, lo que corresponde a una $t_{1/2a}$ de 12 y 19

minutos, respectivamente. En humanos la k_{01} para la vía intramuscular estuvo entre $0,24 \text{ h}^{-1}$ y $0,75 \text{ h}^{-1}$ y su $t_{1/2a}$ asociada de 1 a 3 horas (De Haan y col., 1973; Weber y col., 1980). Los principales parámetros que evalúan la absorción intramuscular y subcutánea de la clindamicina en distintas especies se muestran en la Tabla I.5.

En perros la F de la clindamicina para la vía intramuscular fue del 115 % y para la vía subcutánea del 310%, se postuló que la magnitud de este último valor corresponde, por un lado, a un efecto flip flop actuando el tejido subcutáneo como reservorio de la dosis aplicada y, por otro, a una posible recirculación enterohepática del antibiótico (Lavy y col., 1999). Un estudio realizado por Sun y Hsi (1973) propuso también una posible precipitación de la droga en el tejido muscular luego de administrada por esta vía, lo que ocasionó un retraso en su excreción en 1,4 veces respecto a la administración oral.

La farmacocinética de la clindamicina luego de ser administrada por vía subcutánea a caninos, resultó lineal en un rango de dosis de 2,75 mg/kg a 11 mg/kg, mientras que una dosis de 22 mg/kg arrojó valores de Cl, de la pendiente beta y por ende, su V_c apenas por fuera del intervalo de confianza (95%) de los parámetros correspondientes a las dosis menores (Weber y col., 1980).

Tabla I.5. Dosis, vía de administración, concentración máxima (C_{max}), tiempo máximo (T_{max}) y área bajo la curva ($ABC_{0-\infty}$ o ABC_{0-t}) de la clindamicina clorhidrato y fosfato administrada por vía intramuscular o subcutánea en distintas especies.

Especie	Dosis (mg/kg)	Vía	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{max} (h)	$ABC_{0-\infty}$ ABC_{0-t} ($\mu\text{g.h/ml}$)	Autor y año
Caninos	53	im	34	4,7	429	Sun y Hsi, 1973
Caninos	2,75	sc	2	0,3	11,4 ^a	Weber y col., 1980
	5,51		3,4	1	19,9 ^a	
	11		6	1	39,7 ^a	
	22		8,5	1,5	60,1 ^a	
Caninos*	10	im	4,4	1,2	30,1 ^a	Lavy y col., 1999
		sc	20	0,8	87,6 ^a	
Felinos	10	im	5,9	1	33,7 ^b	Passini y col., 2017
		sc	6,3	1,1	36,7 ^b	
Humanos	4	im	5,61	1	36,6 ^a	De Haan y col., 1973
	7,5	im	5,28	3	38,1 ^a	

* Corresponde a clindamicina clorhidrato.

^a $AUC_{0-\infty}$

^b AUC_{0-t}

im: intramuscular

sc: subcutánea

I.IV.3. Distribución

La clindamicina presenta una distribución tisular amplia y rápida. Su volumen de distribución, luego de administrada por vía endovenosa, se encuentra en un rango de 0,6 l/kg a 3 l/kg para diferentes especies, los valores de los parámetros V_c y V_{ss} en animales y humanos se muestran en la Tabla I.6. La $t_{1/2d}$ en caninos fue de 11 minutos, en walabís de 9,6 minutos y en humanos de 7,13 minutos (Eller y col., 1989; Lavy y col., 1999; Watson y col., 2017).

El estudio mediante modelos compartimentales de la administración endovenosa de clindamicina encontró que la velocidad de pasaje del antibiótico hacia los tejidos (k_{12}) ocurría más rápido que la salida desde los mismos (k_{21}) en walabís estas constantes tuvieron un valor de 2,1 h^{-1} y 1,2 h^{-1} , respectivamente (Watson y col., 2017). En humanos, si bien no informaron valores para estas constantes, encontraron bioactividad (droga madre o metabolitos) en orina hasta 4 días posteriores luego de una administración única del antibiótico, atribuyendo esto a una distribución rápida

hacia los distintos compartimientos pero con una lenta liberación desde los mismos (de Haan y col., 1973). En caninos se estudió la farmacocinética tisular, en piel, de la clindamicina administrada a dosis de 5,5 mg/kg y 11 mg/kg durante 3 días de tratamiento, la vida media de eliminación tisular luego de la primera administración fue de 5,9 horas y 9,7 horas, respectivamente, mientras que para el tercer día de administración fue de 7,8 horas y 11,3 horas. La $t_{1/2el}$ plasmática de la clindamicina correspondiente a los mismos ensayos fue de 4,3 horas y 9,9 horas para las dosificaciones de 5,5 y 11 mg/kg, respectivamente, mientras que para el tercer día de administración fue de 4 horas y 7,5 horas. Los autores concluyeron que la cinética de la droga en piel y sus concentraciones variaban en paralelo a lo que ocurría en plasma (Saridomichelakis y col., 2011; Saridomichelakis y col., 2013).

Tabla I.6. Volumen de distribución del compartimiento central (V_c) y volumen de distribución en el estado estacionario (V_{ss}) luego de la administración endovenosa de la clindamicina a caninos, cerdos, walabís, ratas y humanos.

Especie	V_c (l/kg)	V_{ss} (l/kg)	Autor y año
Caninos	0,56	0,86	Lavy y col., 1999
Caninos	3,08	2,48	Batzias y col., 2005
Cerdos	--	1,26	Kuroha y col., 2001
Walabís	0,33	0,9	Watson y col., 2017
Ratas	--	1,39	Yang y Lee, 2007
Humanos	--	1,1	Plaisance y col., 1989
Humanos	--	0,79	Gatti y col., 1993
Humanos	0,95	--	Bouazza y col., 2012

La clindamicina se distribuye fácilmente hacia los tejidos alcanzando concentraciones equiparables a las plasmáticas en la mayoría de ellos. Y se concentra en aquellos de menor pH respecto al plasmático, como ocurre en el pulmón, polimorfonucleares y macrófagos. También alcanza concentraciones superiores a las plasmáticas en hígado y bilis. Las concentraciones de la clindamicina en diferentes tejidos y especies animales se resumen en la Tabla I.7. (Panzer y col., 1972; Sales y col., 1973; Klempner y Styrt, 1981; Hand y King-Thompson, 1982; Brown y col., 1990; Carryn y col., 2003).

La difusión a través de la barrera hematoencefálica es baja alcanzando concentraciones en sistema nervioso central máximas correspondientes a un 25% de los valores plasmáticos. Por lo tanto se requieren dosis altas, 22 a 30 mg/kg en animales y 1200 mg en humanos, para que las mismas sean terapéuticas. En felinos dosis de 22 mg/kg logran concentraciones en cerebro de 1,6 µg/ml, superiores a la CIM para *S. aureus* propuesta en el mismo trabajo (0,4 µg/ml) (Picardi y col., 1975; Brown y col., 1990; Gatti y col., 1998).

Philipson y col. (1973) estudiaron el pasaje de la clindamicina al feto en humanos luego de recibir la madre una dosis única o tratamiento multidosis. La concentración de antibiótico hallada correspondía a valores inhibitorios para la mayoría de los patógenos siendo particularmente alta en el hígado. La principal diferencia encontrada fue el mayor nivel de clindamicina en todos los tejidos fetales luego de administraciones múltiples respecto a la dosis única. Las concentraciones de clindamicina en el feto se muestran en la Tabla I.7.

Tabla I.7. Concentración de la clindamicina en tejidos y suero, en diferentes especies animales, dosificación, intervalo posológico y días de tratamiento realizados previo a la toma de muestras. Las dosis se expresan en mg/kg para animales y mg totales en humanos.

Tejido	Dosis	N° días*	Concentración (µg/ml)		Autor y año
			Suero	Tejido	
CANINOS					
Piel	5,5 bid po	1	1,9	1,3	Saridomichelakis y col., 2011
		3	2	1,7	
	11 sid po	1	3,1	2,7	Saridomichelakis y col., 2013
		3	3,3	3,8	
Hueso	11 sid po	5	--	8,1	Zetner y col., 2003

Tabla I.7. Continúa

Tejido	Dosis	N° días*	Concentración (µg/ml)		Autor y año
			Suero	Tejido	
GATOS					
Pulmón	11 bid po	10	5,4	17,8	Brown y col., 1990
Hígado				12,4	
Bilis				93,5	
Colon				7,8	
Músculo				2,7	
Hueso				0,2	
Cerebro				0,8	
LCR				0,4	
Pulmón	22 sid po	6,4	40,3		
Hígado			17,5		
Bilis			114		
Colon			9,7		
Músculo			4,9		
Hueso			0,34		
Cerebro			1,6		
LCR			0,4		
Hueso	11 sid po	5	---	17,4	Zetner y col., 2003
Piel	10 sid ev	---	5,7	9,5	Passini y col., 2017
Subcutáneo				4,9	
Músculo				8,2	
Útero				13,4	
Testículo				9,6	
Piel	10 sid im	---	5,2	4,8	
Subcutáneo				3,1	
Músculo				3,9	
Útero				14,1	
Piel	10 sid sc	---	6,2	4,2	
Subcutáneo				3,1	
Músculo				5	
Útero				14,4	
Testículo				4	

Tabla I.7. Continúa

Tejido	Dosis	N° días*	Concentración (µg/ml)		Autor y año
			Suero	Tejido	
CONEJO					
Humor acuoso	75 sid im	---	14,3	1,5	Tabbara y O'connor, 1975
Humor vítreo				2,3	
Retina				13,7	
Hueso sano	15 sid sc	---	12,1	4,9	Mader y col., 1989
Hueso infectado				11,9	
RATÓN					
Absceso estéril	85 sid sc	---	15,5	8,2	Joiner y col., 1981
Absceso infectado				6,6	
MONO					
Cerebro	10-20 tid im		2	2,7	0
LCR				<0,63	
Cerebro	30 tid im		2	10,	<1,25
LCR				3	
HUMANO					
Pulmón	150 qid po		5	10,1	5
Músculo			3	2,9	0,7
Hueso			2	--	0,6
Próstata			2	1,6	1,7
Conducto biliar	300 qid po		1	3,1	26,2
Vesícula				3	41,3
Hueso	300 ^a ev	---	≈4,5	5	Baird y col., 1978
Músculo				1,4	
Grasa				1,5	
LCR	1200 ev	---	14,8	0,23	Gatti y col., 1998

Tabla I.7. Continúa

Tejido	Dosis	N° días*	Concentración (µg/ml)		Autor y año
			Suero	Tejido	
FETO HUMANO					
Sangre madre	450 ^b po	---	0,7	2,8	Philipson y col., 1973
Líquido amniótico				0,8	
Hígado				2,1	
Riñón				1,8	
Pulmón				1,22	
Cerebro				0,5	
Músculo				1,1	
Hueso				0,8	

*N°días: días de tratamiento previo a la toma de muestra de tejido

^a300 mg im luego 300 mg ev intraquirúrgico

^b4 a 20 dosis (intervalo posológico no especificado)

ev: vía endovenosa

po: vía oral

sc: vía subcutánea

im: vía intramuscular

LCR: líquido cefaloraquídeo

sid: una vez al día (cada 24 horas)

bid: dos veces al día (cada 12 horas)

tid: tres veces al día (cada 8 horas)

qui: cuatro veces al día (cada 6 horas)

I.IV.3.a. Difusión a células del sistema inmune

La clindamicina tiene la capacidad de concentrarse dentro de polimorfonucleares y macrófagos en forma rápida, saturable, con gasto de energía y dependiente del pH del medio, con una velocidad de ingreso de 15,8 nmol/45seg cada 10⁶ células. Esta propiedad se le atribuyó a su liposolubilidad y características ácido-base. Su pKa de 7,4 favorece su atrapamiento en el compartimiento intracelular de menor pH respecto al externo. Concentraciones en el líquido extracelular de 10 µg/ml y 5 µg/ml generan concentraciones en el espacio intracelular de neutrófilos de 220 µg/ml y 130 µg/ml, respectivamente. Siendo las relaciones máximas informadas entre las concentraciones intracelulares y extracelulares (Ce/Ci) de 30 a 40 y alcanzadas previo a los 10 minutos

de exposición al antibiótico. El valor de pH óptimo para esta difusión fue de 9, no teniendo diferencias significativas con el gradiente obtenido a pH 7. Se observó una reducción en el ingreso a pH=5 con una relación de concentración interna/externa de $5 \pm 0,5$. La clindamicina sufre atrapamiento incluso dentro de los lisosomas de estos polimorfonucleares y mantiene su actividad antibacteriana intracelular tal como sucede en el líquido extracelular, si bien este efecto es discutido, como se vio en la sección de farmacodinamia (I.III.3.a. Efecto sobre el sistema inmune) (Klempner y Styrt, 1981; Hand y King-Thompson, 1982; Easmon y Crane, 1984; Carryn y col., 2003).

El ingreso a macrófagos y polimorfonucleares ocurre con gasto de energía obtenida a partir de la cadena respiratoria y la bomba Na^+/K^+ ATPasa. Se demostró que la clindamicina ingresa a estas células mediante un sistema de transporte activo de nucleósidos como la adenosina. En presencia de *S. aureus* ese sistema de transporte se encuentra aumentado favoreciendo aún más la entrada del antibiótico a las células blancas (Hand y King-Thompson, 1982; Hand y col., 1983).

I.IV.3.b. Unión a proteínas plasmáticas

La clindamicina presenta una moderada a alta unión a proteínas plasmáticas. En caninos se reportó un valor del 82%, mientras que en humanos, los porcentajes reportados variaron entre un 60,4% a un 93,6% (Flaherty y col., 1996; Ikenoue y col., 2000; Kays y col., 1992; Gordon y col., 1973).

Al ser una base débil viaja unida en plasma a la alfa 1 glicoproteína ácida, perteneciente al grupo de proteínas de fase aguda. Tiene unión específica demostrada en caninos, humanos y vacas (Kays y col., 1992; Flaherty y col., 1996; Son y col., 1998; Israili y Dayton, 2001). Presenta una mayor afinidad de unión en humanos y le sigue en vacas, perros y por último ovejas (Son y col., 1998).

La alfa 1 glicoproteína ácida es una proteína de fase aguda que se encuentra en plasma en concentraciones menores respecto a la albúmina, con un rango de 38 mg/dl a 100 mg/dl en condiciones normales para humanos, 25,7 mg/dl en perros, 23,5 mg/dl en vacas, 12 en mg/dl en ovejas y 66-75 mg/dl en cerdos, pero que frente a procesos inflamatorios o daños tisulares sus niveles pueden incrementarse incluso sobre los 200mg/dl (Kays y col., 1992; Flaherty y col., 1996; Son y col., 1998; Kuroha y col., 2001). Esta amplia variación en las concentraciones plasmáticas de esta proteína llevó

a analizar la influencia de estos cambios sobre el porcentaje de unión del fármaco y sobre los parámetros farmacocinéticos.

Tanto en medicina humana como veterinaria, en perros, vacas y ovejas, se demostró que el porcentaje de unión a proteínas plasmáticas para este antimicrobiano depende de la concentración de la alfa 1 glicoproteína ácida en plasma. Encontrando porcentajes de unión superiores a los reportados en pacientes sanos, en individuos bajo diferentes condiciones patológicas en las que se eleva dicha proteína, traumatismos, quemaduras, infecciones, cirugías. En medicina humana, los incrementos se dieron del 78% al 83% en un estudio y del 84% al 92% en otro (Kays y col., 1992; Flaherty y col., 1996). En perros, vacas, humanos y ovejas se estimó una disminución en la fracción libre de clindamicina en 5,8 - 5,7 - 4 y 1,5 veces, respectivamente cuando la alfa 1 glicoproteína ácida aumentó por sobre los valores normales (Son y col., 1998).

Por otro lado, la unión de la clindamicina a su proteína transportadora es de tipo saturable con un aumento no lineal en el porcentaje de unión a medida que aumenta la dosis de antimicrobiano utilizado. Kays y col. (1992) encontraron para la misma concentración plasmática de alfa 1 glicoproteína ácida (100-150 mg/dl) un menor porcentaje de unión a mayor concentración de clindamicina, 61 y 62% cuando la concentración de clindamicina era 4 y 10 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente y 81% de unión a proteínas a una concentración de 2 $\mu\text{g/ml}$.

Estudios realizados en diferentes especies reportaron variaciones en los parámetros farmacocinéticos al utilizar altas dosis. En humanos, cuando se administraron dosis crecientes, se encontró una variación en el área bajo la curva corregida por la dosis, siendo ésta menor con la dosis superior (600 mg vs 1200 mg totales). Una de las explicaciones propuestas para este hallazgo fue la posible saturación del sitio de unión a la alfa glicoproteína ácida (De Haan y col., 1973; Plaisance y col., 1989). Sin embargo, el estudio realizado por Plaisance y col. (1989) no arrojó dependencia de dosis para el clearance ni para el volumen de distribución. Un hallazgo similar reportaron Brown y col. (1989) en gatos y Weber y col. (1980) en perros. Los primeros, al comparar 3 dosificaciones vía oral (5,5; 11 y 22 mg/kg), encontraron en la superior un aumento en el V_{ss} corregido por la biodisponibilidad asociado a una disminución en el área bajo la curva corregida por la dosis. Mientras que los segundos, administrando dosis similares a caninos por vía subcutánea, hallaron en la cinética correspondiente a los 22 mg/kg un V_a de 6,1 l/kg significativamente superior al V_a para las demás

dosificaciones (5,7 l/kg) siendo esto consecuencia de un mayor valor de los parámetros Cl y beta.

I.IV.3.c. Conversión de la clindamicina fosfato a su forma activa

La velocidad de conversión de la clindamicina fosfato a su forma base, administrada por vía endovenosa a humanos a dosis de 300, 600, 900 y 1200 mg totales (4 a 17 mg/kg aproximado) fue de 5,1 h⁻¹, 8,9h⁻¹, 14,9h⁻¹ y 10,3h⁻¹, respectivamente, y las correspondientes vidas medias del éster en suero fueron de 8,3 minutos, 5,2 minutos, 2,9 minutos y 4,1 minutos. Tomando la dosis más alta las concentraciones plasmáticas del fosfato no fueron detectables más allá de la hora y media de administrado el antibiótico (De Haan y col., 1973). En otro estudio similar, también en humanos, Plaisance y col. (1989) encontraron que un 83% del fosfato de clindamicina desaparece del plasma en los primeros 30 minutos, con una vida media que varió entre 9,6 y 10,8 minutos para dosis de 600 y 1200 mg. La cantidad del éster recuperado en orina no superó el 2% en ambos estudios, concluyendo que la conversión a clindamicina base es prácticamente completa (De Haan y col., 1973; Plaisance y col. (1989).

I.IV.4. Eliminación: Metabolismo y Excreción

La clindamicina se elimina mediante metabolismo hepático y se excreta, tanto sus metabolitos como una pequeña fracción de la droga madre, principalmente por vía biliar y en menor medida por orina, saliva y leche. (Sun, 1973; Sun y Hsi, 1973; Steen y Rane, 1982; Brown y col., 1990; Wynalda y col., 2003; Yang y Lee, 2007). En la Tabla I.8 se muestran los parámetros farmacocinéticos relacionados con la eliminación para diferentes especies animales y vías de administración.

Tabla I.8. Dosis, vida media de eliminación ($t_{1/2el}$), clearance corporal total (Cl) y tiempo medio de residencia (TMR) de la clindamicina administrada por vía endovenosa, intramuscular, subcutánea y oral a distintas especies animales.

Vía/ Especie	Dosis (mg/kg)	$t_{1/2el}$ (h)	Cl (l/h.kg)	TMR (h)	Autor y año
ENDOVENOSA					
Caninos	10	2,1	0,36	2,4	Lavy y col., 1999
Caninos	11	4,4	0,5	5,1	Batzias y col., 2005
Walabís	20	1,79	0,45	2	Watson y col., 2017
Ratas	50	0,83	2,4	0,6	Yang y Lee, 2007
Humanos	8,2	2,1	0,27	2,9	Gatti y col., 1993
Humanos	8,2	2,9	0,28	---	Plaisance y col., 1989
INTRAMUSCULAR					
Canino	53	5,5	---	---	Sun y Hsi, 1973
Caninos	10	7,1	---	11,7	Lavy y col., 1999
SUBCUTÁNEA					
Canino	11	13,9	0,28	---	Weber y col., 1980
Caninos	10	5,2	---	6,1	Lavy y col., 1999
ORAL					
Canino	53	3,9	---	---	Sun y Hsi, 1973
Caninos	11	4,4	0,46*	5,79	Batzias y col., 2005
Caninos	11	9,9	0,65*	96	Saridomichelakis y col., 2011
Felinos	11	---	0,41*	4,6	Brown y col., 1989
Felinos (cápsula)	11	16,4	---	6,7	Boothe y col., 1996
Felinos (solución)	11	7,5	---	6,6	
Ratas	50	1,1	---	---	Yang y Lee, 2007
Humanos	8,2	2,4	---	---	Gatti y col., 1993

*Valor de clearance corregido por la biodisponibilidad

Sun y Hsi (1973) encontraron diferencias significativas en la vida media de eliminación de la clindamicina en caninos luego de administrada por vía oral e intramuscular, siendo de 3,9 horas para la primera y 5,5 horas para la segunda, atribuyendo esta diferencia a una posible precipitación en el sitio de inyección. A pH 7,4, correspondiente al líquido extracelular, la clindamicina existe como base libre con baja solubilidad acuosa, actuando la droga como si fuese administrada en forma de suspensión.

I.IV.4.a. Metabolismo

La clindamicina se metaboliza en hígado a clindamicina sulfóxido, N-demetilclindamicina y clindamicina glucurónido. Estos tres metabolitos fueron identificados *in vitro* a partir de la incubación del antimicrobiano con hepatocitos o microsomas hepáticos de caninos, ratas y humanos. En humanos, también *in vitro*, se demostró que la clindamicina sulfóxido se obtiene a partir de una reacción de S-oxigenación mediada por el CYP3A4 (Sun, 1973; Wynalda y col., 2003; Szultka-Mlynska y Buszewski, 2016). Szultka-Mlynska y Buszewski (2016) postularon que la biotransformación de la clindamicina hacia su forma conjugada con ácido glucurónico sucedería en 2 pasos consecutivos, a partir del trabajo *in vitro* con microsomas hepáticos humanos. Ocurre una primera biotransformación mediada por reacciones de fase I, mencionadas anteriormente, y el producto de la misma es sustrato de la glucuroniltransferasa.

Al analizar el comportamiento farmacocinético de la droga madre y de sus metabolitos en ratas, se observó que pasados los 30 minutos de la administración del antimicrobiano solo un 33% corresponde a clindamicina como tal. Paralelo a esto, la N-demetilclindamicina presenta su pico de concentración máxima a los 15 minutos. Por otro lado el hallazgo de altas concentraciones hepáticas de este metabolito en forma tan temprana presume que la biotransformación es responsabilidad completa de este órgano. Distinto ocurre con clindamicina sulfóxido, detectado en forma temprana tanto en hígado como en intestino, postulando que el proceso de oxidación es producido por oxidasas hepáticas, microorganismos intestinales y/u oxidación química (Brodasky y col., 1977).

La clindamicina no tiene actividad autoinductora ni inhibidora enzimática, esto fue demostrado al analizar la composición de los metabolitos obtenidos en orina luego de

una dosis única y posterior a un tratamiento multidosis en ratas no encontrando diferencias en dichos porcentajes (Sun, 1973). Mientras que al analizar el efecto *in vitro* de la droga sobre enzimas de la familia citocromo P450 se reportó una leve acción inhibitoria solo sobre el CYP3A4 que no interferiría con el metabolismo de otras drogas cuyo clearance esté mediado por dicha enzima (Wynalda y col., 2003).

I.IV.4.b. Excreción

En caninos un 55% a 63% de la dosis total de clindamicina, como droga madre y/o sus metabolitos se excreta por vía biliar luego de su administración oral e intramuscular, respectivamente, mientras que un 30% a 27% lo hace por vía urinaria, porcentajes similares se encontraron también en ratas (Sun y Hsi, 1973). Posteriormente se analizó en ambas especies la fracción excretada vía riñón, con la identificación y cuantificación de la droga madre y de sus metabolitos. En caninos, un 35,7% corresponde a clindamicina como tal, 27,6% a clindamicina sulfóxido otro 27,6% a clindamicina glucurónido y un 9,2% a N-demetilclindamicina. En ratas los porcentajes fueron del 53% para la droga madre, 31,4% para clindamicina sulfóxido y 15,1% para N-demetilclindamicina, no encontrando clindamicina glucurónido. Esto último se debería a una capacidad 4 veces mayor del canino en conjugarse con ácido glucurónico por una deficiencia de la uridina difosfato-glucuroniltransferasa en la rata (Sun, 1973). En un estudio más reciente, los autores Yang y Lee (2007) encontraron que la excreción renal de la clindamicina, como droga madre, en ratas era inferior al 9% de la dosis administrada.

En ratas tanto N-demetilclindamicina como clindamicina sulfóxido presentan un aumento sostenido en su concentración intestinal hasta las 8 horas post administración (Brodasky y col., 1977). En humanos de Haan y col. (1973) reportaron que el mayor porcentaje de bioactividad biliar corresponde al metabolito N-demetilclindamicina presente hasta 18 horas posteriores a la administración del antibiótico, encontrando trazas de clindamicina y de clindamicina sulfóxido hasta las 4 y 18 horas post administración, respectivamente. Este último grupo también estudió la excreción de la clindamicina por saliva. Los participantes del estudio expresaron sentir mal sabor en la boca durante o posterior a la administración de clindamicina vía endovenosa. En saliva, tras la administración de 300 mg por vía intramuscular, se detectaron concentraciones del antimicrobiano hasta 8 horas post administración, dentro un rango de valores del 4 a 14% respecto a las concentraciones plasmáticas.

Mientras que a dosis de 600 mg por vía intramuscular y endovenosa, las concentraciones fueron detectadas hasta las 14 horas, con porcentajes de excreción mayores, hallando incluso concentraciones superiores a las plasmáticas en varios puntos del muestreo (11 a 64% de las concentraciones plasmáticas luego de la administración intramuscular y 10 a 156% para la vía endovenosa) (De Haan y col., 1973).

I.IV.4.c. Recirculación enterohepática

Existen pocos reportes respecto a este proceso en la farmacocinética de la clindamicina. Sun y Hsi (1973) encontraron en perros una cinética lineal hasta las 12 horas posteriores a la administración del antimicrobiano tanto por vía intramuscular como oral. Y detectaron un segundo pico, posterior a que los animales fueran alimentados, sugiriendo recirculación enterohepática de la droga madre o metabolitos. Por otro lado, Lavy y col. (1999) también en caninos, postularon una posible recirculación enterohepática como causal de una biodisponibilidad superior al 100% luego de su administración subcutánea.

I.IV.5. Dosis múltiple

Cuando se administraron dosis múltiples de clindamicina a pacientes humanos por vía endovenosa (600 mg cada 6 horas y 1200 mg cada 12 horas), por vía intramuscular (300 mg cada 8 horas) o por vía oral (150 mg cada 8 horas o 300 mg) no se evidenció acumulación del antimicrobiano en el suero (Meyers y col., 1969; De Haan y col., 1973; Leigh, 1981; Plaisance y col., 1989). El mismo resultado se obtuvo en felinos administrada por vía oral (5,5 mg/kg cada 12 horas, 11 mg/kg cada 12 horas y 22 mg/kg cada 24 horas durante 10 días) (Brown y col., 1989). Y en caninos para la administración de clindamicina fosfato por vía subcutánea a perros durante 3 días (Weber y col., 1980).

En humanos, administrada vía intramuscular cada 8 horas y endovenosa cada 6, 8 y 12 horas alcanzó, en todas las situaciones, el estado estacionario previo a la tercera administración (De Haan y col., 1973; Plaisance y col., 1989).

I.IV.6. Interacciones farmacocinéticas

Cuando se administró clindamicina vía oral junto con el antidiarreico caolín y pectina, la absorción del antimicrobiano sufrió un retraso y llevó el t_{max} promedio de 1,01 h a 2,37 h, sin embargo, no se detectaron diferencias significativas en la cantidad absorbida (Albert y col., 1978).

Inhibidores de la enzima CYP3A4, perteneciente a la familia citocromo P450, como son el ketoconazol y la ciclosporina interfieren con la oxidación de la clindamicina disminuyendo la formación de su metabolito sulfóxido. Por otro lado si bien este antimicrobiano demostró cierta actividad inhibitoria sobre esta enzima, la misma no afecta el metabolismo propio ni el de otros fármacos que utilicen el mismo sistema (Wynalda y col., 2003).

En humanos, la administración conjunta con rifampicina, potente inductor enzimático del citocromo P450, aumenta el clearance de la clindamicina un 43% y disminuye su concentración plasmática media en el estado estacionario de 8,9 mg/l a 5,3 mg/l (Zeller y col., 2010; Bouazza y col., 2012).

I.IV.7. Influencia del alimento sobre la absorción oral de fármacos

Cuando se analizó la influencia del alimento sobre la cinética oral de fármacos se observó que la mayoría de ellos presentaron variaciones en sus parámetros farmacocinéticos luego de administrarlos con comida respecto al ayuno mientras que solo en un bajo número no se produjeron modificaciones (Welling, 1977). La presencia de alimento en el tubo digestivo puede aumentar o disminuir la biodisponibilidad oral de fármacos o retrasar su absorción (Williams y col., 1996). Estos cambios farmacocinéticos podrían ser particularmente relevantes para fármacos que deban titularse o con índices terapéuticos estrechos y en antimicrobianos cuya eficacia depende de mantener concentraciones por sobre la CIM en sangre y otros tejidos (Welling, 1977; Williams y col., 1996).

La interacción existente entre el alimento y el fármaco puede dividirse en dos categorías: interacción de tipo físico-química o fisiológica (Fleisher y col., 1999). La interacción físico-química incluye cambios en la estabilidad de la droga, de su solubilidad o capacidad de difusión. Para absorberse un fármaco necesita, en primer lugar, disgregarse de la forma farmacéutica de ser sólida y luego solubilizarse en los

líquidos del tubo digestivo. Variaciones en el pH gástrico o la presencia de alimento puede favorecer o no la disgregación de la forma farmacéutica. Algunos fármacos bases débiles pueden presentar una menor tasa de disolución a pHs elevados mientras que para los ácidos débiles la situación sería al revés, y observarse una mayor tasa de disolución, respecto a una administración en ayunas. La capacidad de difusión puede verse afectada por el efecto quelante o adsorbente. Para el primero, el contenido de cationes di o trivalentes de la dieta, como son el calcio o hierro, o algunas sales biliares pueden disminuir la cantidad de fármaco disponible para absorberse ya que la droga actúa como quelante formando complejos insolubles. Mientras que en el segundo, la presencia de pectina u otras fibras capaces de adsorber fármacos en su superficie, podrían también interferir con la absorción de los mismos, disminuyendo su biodisponibilidad. El alimento puede actuar también como barrera física, particularmente aquellos sólidos o de elevada viscosidad, disminuyendo el tiempo y superficie de contacto con la mucosa intestinal, interfiriendo por ende en el proceso de absorción (Welling, 1977; Williams y col., 1996; Fleisher y col., 1999).

Las interacciones de tipo fisiológicas se relacionan con variaciones en la secreción digestiva y en la motilidad gastrointestinal en respuesta a la presencia de alimento.

A nivel intestinal el pH más elevado respecto al gástrico puede llevar a precipitar fármacos bases débiles de baja solubilidad mientras que los alimentos que aumenten las secreciones biliares y fluidos intestinales pueden crear un ambiente más favorable para solubilizar estos fármacos y mejorar su absorción (Welling, 1977; Fleisher y col., 1999).

El vaciado gástrico es el fenómeno principal que controla el pasaje de fármacos administrados vía oral hacia su sitio de absorción, el intestino (Fleisher y col., 1999; Sabnis, 1999). Por lo tanto cualquier factor que retrase el mismo puede retrasar también la absorción oral de fármacos o disminuirla si el fármaco es ácido sensible. Puede ocurrir también, para fármacos de menor solubilidad, que un aumento en el tiempo de permanencia en el estómago permita una mayor disolución en los líquidos digestivos con una mayor tasa de absorción posterior. El vaciado gástrico depende de la distensión del estómago, la acción de las enzimas proteolíticas, el pasaje del estado sólido al líquido del bolo, el estímulo de osmoreceptores o quimiorreceptores intestinales por soluciones con elevada osmolaridad o pH menor a 5 o elevada viscosidad, ácidos grasos, dietas proteicas o calóricas (Welling, 1977; Williams y col., 1996). La fracción líquida del contenido gástrico y partículas de hasta 1 o 2 mm de

diámetro atraviesan el píloro sin dificultad y en forma inmediata, mientras que la fracción sólida o líquidos con elevado contenido calórico encuentran demorado su pasaje. Acorde a la capacidad de disgregación del fármaco y a su solubilidad, el mismo puede estar presente tanto en la primera como en la segunda fracción del contenido gástrico y por lo tanto verse demorada o no su absorción (Welling, 1977; Fleisher y col., 1999; Sabnis, 1999). Por otro lado, en ayunas, la motilidad del estómago está regulada por una serie de ondas peristálticas agrupadas bajo el nombre de complejo motor interdigestivo. Este ciclo de movimientos consta de 4 etapas y, en pequeños animales, tiene una duración total de 60 a 120 minutos. Una vez por ciclo la totalidad del contenido gástrico en ayunas se vuelca a través del píloro hacia el intestino. Respecto al peristaltismo encargado del proceso digestivo, estas ondas en ayunas ocurren con una menor frecuencia y con mayor variabilidad entre individuos. Para fármacos de elevada permeabilidad y algunos de baja solubilidad esta diferencia de movimientos puede llevar a un aumento en la variabilidad de la etapa de absorción del fármaco en ayunas respecto a administrado con alimento (Fleisher y col., 1999; Sabnis, 1999; Herdt y Sayegh, 2013).

Una vez el fármaco alcanza el intestino la motilidad de este órgano deja de ejercer un efecto representativo en la etapa de absorción ya que el tránsito intestinal es independiente del estado de ayuno o alimentado (Fleisher y col., 1999; Sabnis, 1999).

Existen otras interacciones menos frecuentes como es la posibilidad de competencia por transportadores cuando el fármaco y componentes del alimento, ejemplo aminoácidos, se absorben empleando la misma ruta (Fleisher y col., 1999). El aumento del flujo sanguíneo esplácnico durante la digestión que podría favorecer la absorción de fármacos así como sucede con otros componentes de la dieta o disminuirla, en drogas de alta tasa de extracción hepática, por aumento del clearance (Welling, 1977; Williams y col., 1996). Y por último, la ingestión de alimento podría favorecer la recirculación de un fármaco ya sea por un aumento en la excreción de bilis y/o en la producción de saliva (Sabnis, 1999).

Particularmente para la clindamicina, en humanos se estudiaron los cambios cinéticos que se produjeron al administrarla con alimento, tal como fue descrito en la sección I.IV.2.a.b. Interacción con alimento. Pero no se estudió el tipo de interacción que ocurre entre el antibiótico y el alimento que lleve a dichos cambios. No existen estudios que evalúen la farmacocinética de la clindamicina en presencia de alimento en medicina veterinaria.

I.IV.8. Sistema de clasificación biofarmacéutica

En 1995 Amidon y col. (1995) publicó un sistema de clasificación de fármacos según su grado de solubilidad y permeabilidad con el objetivo de correlacionar dichas propiedades con la biodisponibilidad oral que presentará la droga *in vivo*. La primera característica considera la solubilidad de la molécula en el medio acuoso, mientras que la segunda la permeabilidad de la misma a través de la mucosa intestinal. Es así que los fármacos pueden dividirse en cuatro clases según estas propiedades biofarmacéuticas, ver Tabla I.9.

Tabla I.9. Sistema de clasificación biofarmacéutica según las propiedades de solubilidad y permeabilidad de los fármacos (Amidon y col., 1995).

	Alta solubilidad	Baja solubilidad
Alta permeabilidad	CLASE I	CLASE II
Baja permeabilidad	CLASE III	CLASE IV

Dado que para absorberse un fármaco debe primero solubilizarse en el contenido del tubo digestivo, la elevada solubilidad y permeabilidad de aquellos correspondientes a la Clase I, dentro de la cual se encuentra la clindamicina, hacen que el único factor limitante para su absorción sea el vaciado gástrico (siempre considerando formas farmacéuticas de liberación inmediata). Para los fármacos pertenecientes a la Clase II, la tasa y el grado de disolución pasa a ser el factor limitante para su absorción, proceso que ocurrirá en forma más lenta respecto a la clase anterior. En el caso de los Clase III, la permeabilidad es la característica que determina la tasa de absorción. Al presentar una elevada disolución, la llegada de la droga al intestino dependerá, como en el primer caso, únicamente del vaciado gástrico, mientras que a nivel intestinal el tránsito en este órgano, el contenido luminal y finalmente la permeabilidad de la membrana son los factores que otorgarán variabilidad a esta etapa. Por último aquellos pertenecientes a la Clase IV son los fármacos que presentarán mayor dificultad en su absorción ya que tienen restringida tanto la capacidad de disolverse como de atravesar membranas (Amidon y col., 1995).

Posteriormente Wu y Benet (2005) emplearon este sistema de clasificación como predictor de la disposición de fármacos y de posibles interacciones a nivel intestinal, hepático y potencialmente a nivel renal y encéfalico, asignándole el nombre de Clasificación biofarmacéutica de disposición de fármacos (BDDCS por sus siglas en inglés). Este sistema serviría entre otras cosas, para predecir el comportamiento cinético de drogas administradas vía oral con alimento. Por otro lado la FDA en el año 2002 recomendó que los ensayos de biodisponibilidad oral de fármacos administrados con alimento debían realizarse con una dieta de alto contenido graso, ya que es la que mayores cambios fisiológicos a nivel digestivo ocasiona, y con la que se verían las mayores variaciones en la biodisponibilidad. Así es como se obtuvo que esta dieta grasa no tendría efecto sobre la cinética de fármacos pertenecientes a la clase I o podría retrasar el pico de absorción, al retrasar el vaciado gástrico, para los de Clase II aumentaría el área bajo la curva mientras que para los de Clase III la disminuiría y, por último, no tuvieron información suficiente para postular modificaciones en los de Clase IV. Los factores del alimento que ocasionan estas variaciones fueron los mismos descritos en el apartado anterior (U.S Department of Health and Human Services [HHS]; Food and Drug Administration [FDA]; Center for Drug Evaluation and Research [CDER], 2002; Wu y Benet, 2005; Benet, 2013).

Papich y Martinez (2015) Postularon que al desarrollar este sistema para medicina humana, no puede extrapolarse en forma directa a veterinaria porque se encontraron diferencias por ejemplo en la permeabilidad intestinal del canino, siendo ésta mayor que en humanos y en el sistema empleado para las pruebas de disolución y clasificación que considera la fisiología digestiva del humano también, por ejemplo con el volumen de líquido empleado para el ensayo, el pH y las dosis utilizadas. También analizaron si existía correlación entre la biodisponibilidad oral, la solubilidad y lipofilia de distintos fármacos entre humanos y caninos. Encontraron que para los de Clase I, donde se incluye la clindamicina, existía buena correlación en el parámetro biodisponibilidad con una tendencia a un menor valor en caninos respecto a humanos. Particularmente para la clindamicina informaron una biodisponibilidad similar en humanos y caninos y un coeficiente D_0 , encargado de medir la solubilidad del fármaco en caninos menor a 1, indicando que también en esta especie presenta elevada solubilidad.

I.V. Modelo farmacocinético/farmacodinámico

Establecer la relación existente entre la farmacocinética y farmacodinamia de un antimicrobiano permite la optimización de la terapéutica antibiótica utilizando una dosis y posología que logren tanto la cura tanto clínica como bacteriológica minimizando la selección de microorganismos resistentes (Lees y col., 2004, Toutain y col., 2021).

La clindamicina es un antimicrobiano bacteriostático, con acción bactericida sobre algunos microorganismos o bajo determinadas condiciones y con un EPA variable entre 1 a 10 horas (ver puntos I.III.2.b. Efecto antibacteriano y I.III.2.e. Efecto postantibiótico).

La eficacia clínica de la droga responde al modelo pk/pd de los antimicrobianos tiempo dependientes, posteriormente surgió una segunda clasificación que la ubica dentro de los antimicrobianos con efecto de muerte bacteriana independiente de su concentración y con prolongado efecto persistente (Toutain y col., 2002; McKellar y col., 2004; Asín-Prieto y col., 2015; Ahmad y col., 2016; Jessen y col., 2019). El parámetro FC/FD al que responde también es discutido, inicialmente a todos los antimicrobianos clasificados como tiempo dependientes se les asignaba el predictor de eficacia $t > CIM$. El que se define como el tiempo durante el cual las concentraciones plasmáticas superan la CIM del microorganismo, y su valor debía ser superior al 40 – 60% del intervalo posológico medido en 24 horas y expresado en porcentaje (Klepser y col., 1997; Craig, 2001; Toutain y col., 2002; McKellar y col., 2004; Mouton y col., 2005). Por otro lado, la caracterización de la clindamicina dentro del grupo de antimicrobianos bacteriostáticos con moderado a prolongado EPA sugirió que su eficacia clínica era mejor definida por el predictor ABC/CIM que por el predictor $t > CIM$ (Levison y Levison, 2009; Ahmad y col., 2016; Ahmad y col., 2017). El numerador de este parámetro comprende el área bajo la curva de disposición plasmática medida en 24 horas en el estado estacionario (Mouton y col., 2005).

No existe discusión respecto a clasificar este antimicrobiano como tiempo dependiente, sin embargo, los autores que lo consideran con un bajo efecto persistente le asignan el predictor de eficacia $t > CIM$ (Craig, 2001; Jacobs, 2001). Esta clasificación agrupa aquellos antimicrobianos cuyo efecto bactericida depende del tiempo de exposición y es independiente de la concentración. El techo en una curva de muerte bacteriana se alcanza con concentraciones 4 a 5 veces la CIM del microorganismo (Craig, 1998). Klepser y col. (1996) demostraron que la clindamicina ejerce efecto bactericida sobre *B. fragilis* cuando la concentración alcanza 4 veces la

CIM y la tasa de muerte bacteriana no se incrementa a concentraciones superiores. Solo sobre una cepa de este microorganismo encontraron efecto concentración dependiente hasta 16 veces su CIM. Mientras que *in vivo*, en humanos, se demostró que bajas dosis (300 mg totales) lograban un efecto bactericida durante el 80 y 100% del intervalo posológico para *B. fragilis* y *S. pneumoniae* y entre el 50 y 85% para *S. aureus* (Klepser y col., 1997). Un estudio similar realizado por Lewis y col. (1999) demostró que no existen diferencias significativas en las tasas de muerte bacteriana de *S. aureus* y *S. pneumoniae* con dosis de 300 mg cada 12 h y dosis de 600 mg cada 8 h y 300 mg cada 8 h, a la vez que todos los esquemas posológicos mantuvieron concentraciones por sobre la CIM el 100% del tiempo.

Por otro lado, la clindamicina fue clasificada como un antimicrobiano con moderado a alto efecto persistente debido a su EPA, tal como se describió anteriormente, y por ende el predictor ABC/CIM pasa a ser el mejor parámetro asociado a su eficacia terapéutica (Soriano García, 2002; Ambrose y col., 2007; Levison y Levison, 2009; Papich, 2014; Asín-Prieto y col., 2015; Blasco y col., 2015; Ahmad y col., 2016; Ahmad y col., 2017). Sin embargo, el valor óptimo que debería alcanzar este predictor todavía no se encuentra establecido (Lewis y col., 1999; Canut Blasco y col., 2015).

Flaherty y col. (1988) estudiaron la actividad inhibitoria en suero sobre *B. fragilis* luego de diferentes esquemas posológicos en medicina humana. Obtuvieron la CIM del microorganismo y por otro lado el ABC a partir de la curva de disposición plasmática del antibiótico. Con estos valores se calculó el área bajo las concentraciones inhibitorias de la curva (AUC). Con una CIM de 0,25 – 0,5 µg/ml y una dosificación de 600 mg cada 6h, 900 mg cada 8h y 1200 mg cada 12h sus valores de AUC_{0-t} respectivamente fueron 174, 242 y 317. Posteriormente Schentag y col. (1991) postularon como equivalentes el cálculo del AUC y del AUC/CIM como predictores de la actividad antimicrobiana. Quedando en la actualidad solo vigente el parámetro AUC/CIM por ser más sencillo su cálculo y no depender de, si las concentraciones plasmáticas superan o no la CIM (Mueller y col., 2004).

Lewis y col., (1999) analizaron en un modelo *in vitro* la actividad de diferentes dosificaciones de clindamicina sobre 3 aislamientos de *S. aureus* y dos de *S. pneumoniae*. Al no haber predictor establecido para este antimicrobiano calcularon los 3 parámetros FC/FD existentes obteniendo el 100% de concentración plasmática sobre la CIM durante todo el intervalo posológico. Mientras que el predictor de eficacia ABC/CIM para los 600 mg cada 8 horas tomó valores de 1133 (*S. aureus*) y 358-544

(*S. pneumoniae*), para los 300 mg cada 8 horas de 575 (*S. aureus*) y 276 y 182 (*S. pneumoniae*) y para los 300 mg cada 12 horas de 358 (*S. aureus*) y 172 y 113 (*S. pneumoniae*).

II. HIPÓTESIS

II. HIPÓTESIS

II.I. Hipótesis central

La caracterización de las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de la clindamicina en caninos y felinos domésticos permitirá construir predictores de eficacia terapéutica necesarios para su uso racional en estas especie.

II.II. Hipótesis de trabajo

- ✓ El uso correcto de los agentes antimicrobianos para el tratamiento de enfermedades de etiología bacteriana requiere del conocimiento farmacológico (farmacocinético y farmacodinámico) de los mismos.
- ✓ El uso inapropiado de antibióticos en medicina veterinaria y humana incrementa los porcentajes de cepas bacterianas resistentes en las poblaciones de microorganismos patógenos para los animales y el hombre, y predispone a efectos indeseables (colaterales y/o tóxicos) sobre los mismos.
- ✓ Las concentraciones plasmáticas y los correspondientes parámetros farmacocinéticos pueden modificarse por factores fisiológicos, dentro de los cuales se incluye la especie animal.
- ✓ Factores externos, tales como la presencia de alimento en el tubo digestivo, pueden alterar los parámetros farmacocinéticos que evalúan la absorción.
- ✓ El conocimiento del comportamiento farmacocinético de las drogas es imprescindible para establecer la correcta posología de las mismas.
- ✓ Las pruebas *in vitro* (CIM) que determinan el perfil de susceptibilidad de las bacterias a los antimicrobianos son instrumentos útiles y necesarios para la correcta elección de los mismos.
- ✓ Los métodos que integran los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos de los antimicrobianos son herramientas adecuadas para predecir el éxito en el tratamiento de las enfermedades causadas por agentes bacterianos y para disminuir la aparición de cepas bacterianas resistentes.
- ✓ Las asociaciones de antibióticos pueden conducir a interacciones que modifican los efectos esperados para cada uno de los antimicrobianos participantes.

III. OBJETIVOS

III. OBJETIVOS

III.I. Objetivo general

Promover el uso racional de la clindamicina en caninos y felinos domésticos, proponiendo dosis y posologías tendientes a lograr la máxima eficacia clínica con bajas probabilidades de desarrollo de resistencia bacteriana.

III.II. Objetivos específicos

- ✓ Poner a punto un método cromatográfico para la determinación cualitativa y cuantitativa de la clindamicina en plasma canino y felino.
- ✓ Caracterizar el perfil farmacocinético plasmático de la clindamicina en caninos y felinos domésticos luego de su administración por vía endovenosa y oral.
- ✓ Comparar la farmacocinética de la clindamicina entre caninos y felinos.
- ✓ Establecer y comparar la influencia del alimento sobre el perfil farmacocinético de la clindamicina administrada vía oral en caninos y felinos.
- ✓ Relevar el perfil de sensibilidad bacteriana a la clindamicina a través de la prueba de susceptibilidad *in vitro*, CIM, para microorganismos causantes de infección en caninos y felinos.
- ✓ Establecer las interacciones farmacológicas *in vitro* entre la clindamicina y otros antibióticos de uso frecuente en medicina de pequeños animales sobre cepas bacterianas aisladas en infecciones en caninos y felinos.
- ✓ En base a las interacciones estudiadas, proponer o no la conveniencia del empleo de asociaciones antibióticas de clindamicina en caninos y felinos domésticos.
- ✓ Calcular los predictores de eficacia terapéutica para la clindamicina en las distintas situaciones planteadas (especie animal, vía de administración y alimento) a través de la integración de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos apropiados para este antibiótico.
- ✓ En base a los resultados obtenidos, proponer regímenes posológicos racionales para la clindamicina administrada por vía endovenosa y oral, tanto en ayuno como con alimento, a caninos y felinos.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.I. Lugar de trabajo

Todos los experimentos se desarrollaron en la Cátedra de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.

IV.II. Farmacocinética

El estudio farmacocinético de la clindamicina en caninos y felinos comprende las siguientes etapas:

- Administración de la droga por vía endovenosa, oral en ayunas y oral luego de ser alimentados los animales.
- Toma de muestras de sangre en tiempos predeterminados, extracción y almacenamiento del plasma.
- Determinación de las concentraciones plasmáticas de la clindamicina en plasma (método HPLC).
- Construcción de las curvas de disposición y análisis farmacocinético.
- Análisis estadístico de los resultados.

IV.II.1. Caninos

IV.II.1.a. Materiales utilizados

IV.II.1.a.a. Animales

Se trabajó con 6 caninos adultos de raza Beagle, 4 machos y 2 hembras, enteros, provenientes de Caniles de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Todos alojados en el mismo recinto, bajo las mismas condiciones ambientales, alimentados con balanceado seco calidad Premium, 100g por ración 2 veces al día y agua *ad libitum*. Al momento del estudio los 6 animales se encontraban clínicamente sanos, vacunados, desparasitados y con estudios de sangre sin particularidades, con un peso promedio de $12,4 \pm 1,8$ kg. Ninguno de ellos recibió tratamiento antimicrobiano durante los tres meses previos al ensayo.

IV.II.1.a.b. Fármacos y dosificación

Para la vía de administración endovenosa se empleó clindamicina fosfato (Clindamicina Northia® Northia, Argentina). Solución inyectable 150 mg/ml. La dosis seleccionada fue de 10 mg/kg según información bibliográfica (Weber y col., 1980; Lavy y col., 1999; Batzias y col., 2005).

Para la administración oral se utilizó clindamicina clorhidrato, comprimidos ranurados 400 mg (Clindex 400 mg® Bio-Amer, Buenos Aires). El rango de dosis empleado fue de 5 a 10 mg/kg según información bibliográfica (Batzias y col., 2005; Saridomichelakis y col., 2011; Beco y col., 2013; Hillier y col., 2014; Lappin y col., 2017). Cada animal recibió una dosis total de 100 mg (¼ del comprimido ranurado) y luego se normalizó la misma por kg de peso corporal, dando como resultado una dosis promedio de $8,3 \pm 1,1$ mg/kg.

IV.II.1.a.c. Administración de la clindamicina, toma de muestras y almacenamiento

- ✓ Agujas estériles descartables (21 G x 1" Euromix®)
- ✓ Alcohol etílico 96° (Purocol®)
- ✓ Algodón hidrófilo
- ✓ Balanza para pesar los animales
- ✓ Centrífuga (Presvac®)
- ✓ Freezer -20°C (Electrolux)
- ✓ Gradillas para tubos tipo Khan y para tubos tipo Eppendorf
- ✓ Heladera (Patrick Fagor)
- ✓ Jeringas estériles descartables de 3 y 10 ml (Webest®)
- ✓ Jeringas estériles descartables de 1 ml (Neojet®)
- ✓ Parafilm "M"®
- ✓ Peladora eléctrica (Oster®)
- ✓ Pipetas Pasteur
- ✓ Planilla para tabulación de datos
- ✓ Solución yodo povidona 10% (Pervinox®, Laboratorio Phoenix, Argentina)
- ✓ Tubos plásticos descartables (12 x 75 mm) (DVS®)
- ✓ Microtubos 1,5 ml (Axygen®)

- ✓ Catéter para vías centrales Intracath® (Intracath® with wire stylet I.V. catheter/needle unit Vialon®. Becton Dickinson Vascular Access)
- ✓ Catéter 22G y 20G (Jelco®)
- ✓ Tapón de catéter (Plastimed®)
- ✓ Cinta hipoalergénica 2,5 (Micropore®)
- ✓ Cinta de tela adhesiva 5 cm (Printex®)
- ✓ Venda elástica autoadherente 5 cm (Aurinc®)
- ✓ Collar isabelino
- ✓ Solución fisiológica estéril (Laboratorio Ramallo)
- ✓ Heparina 5000 UI/ml (Duncan®)

IV.II.1.b. Metodología para la administración del antibiótico y toma de muestras

IV.II.1.b.a. Administración de la clindamicina

- Vía endovenosa: Se colocó un catéter 22G en la vena cefálica antebraquial derecha o izquierda. El volumen de antibiótico calculado para cada animal se diluyó en 3 ml de solución fisiológica estéril y se administró en el lapso de tres minutos. Finalizado este procedimiento, se lavó el catéter con solución fisiológica estéril y posteriormente se retiró.
- Vía oral en ayuno: Se realizó un ayuno sólido de 12 horas (dejando el agua siempre a disposición). El comprimido de 400 mg se fraccionó según el peso de cada perro, aproximando la dosis a 10 mg/kg. Se administró vía oral, a cada uno de los animales, la fracción correspondiente de comprimido y a continuación se les dio agua (10 ml) con jeringa para garantizar la deglución del mismo.
- Vía oral con alimento: En primer lugar, los animales recibieron la ración de alimento correspondiente a la primera comida del día (100 gramos de su alimento balanceado), luego se les administró la droga tal como fue descrito en el ítem anterior.

IV.II.1.b.b. Toma de muestras

A todos los animales se les colocó un catéter 20G en la vena cefálica antebraquial derecha o izquierda (contralateral a la utilizada para la administración endovenosa,

cuando correspondía). A partir del mismo se tomaron las muestras sanguíneas, un volumen de 2,5 ml por muestra con jeringas heparinizadas. Luego de cada extracción el catéter se lavó con 0,1 a 0,2 ml de solución de heparina 10 UI/ml. El catéter se retiró finalizado el día de trabajo y el muestreo correspondiente a la hora 24 se tomó de vena yugular (evitando así dejar colocado el catéter más tiempo del necesario), también con jeringa de 3 ml heparinizada.

Se tomaron un total de 16 muestras en tiempos predeterminados: 0; 0,083; 0,16; 0,33; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 12 y 24 horas de administrado el antibiótico.

IV.II.1.b.c. Acondicionamiento y conservación de las muestras

Cada muestra se centrifugó durante 15 minutos a 1500 rpm y el sobrenadante (plasma) se separó en tubos Eppendorf® rotulados para su posterior almacenamiento en freezer a -20°C hasta su procesamiento.

IV.II.2. Felinos

IV.II.2.a. Materiales utilizados

IV.II.2.a.a. Animales

Se trabajó con 6 felinos adultos común europeo, 4 hembras y 2 machos, castrados, pertenecientes a la Cátedra de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Estos se alojan en el mismo recinto y bajo las mismas condiciones ambientales. Recibían alimento balanceado calidad súper Premium, 50 a 90 g/día y agua, ambos *ad libitum*. Al momento del estudio, los animales se encontraban clínicamente sanos, desparasitados y con el plan de vacunación completo. El peso promedio de los gatos fue de $4,2 \pm 0,7$ kg. Ninguno de ellos recibió tratamiento antibiótico durante al menos 3 meses previos al primero de los experimentos.

IV.II.2.a.b. Fármacos y dosificación

Se empleó para la vía de administración endovenosa clindamicina fosfato (Dalacin C Fosfato Clindamicina® Pfizer Manufacturing Belgium, NV-Puurs, Bélgica). Solución

inyectable 150 mg/ml. Dosis: 10 mg/kg. La dosis elegida se basó en información bibliográfica (Brown y col., 1989; Boothe y col., 1996).

Para la administración oral se utilizó clindamicina clorhidrato, cápsulas de 300mg (Dalacin C Clindamicina® Pfizer PGM, Pocé sur Cisse, Francia). El contenido de la cápsula se fraccionó mediante balanza de precisión según la dosis total individualizada para cada gato y se envasó en cápsulas de gelatina nº4. Dosis empleada: 15 mg/kg. (Brown y col., 1989; Boothe y col., 1996; Lappin y col., 2017).

IV.II.2.a.c. Administración de la clindamicina, toma y conservación de las muestras

- ✓ Agujas estériles descartables (21 G x 1" Euromix®)
- ✓ Alcohol etílico 96° (Purocol®)
- ✓ Algodón hidrófilo
- ✓ Balanza para pesar los animales
- ✓ Centrífuga (Presvac®)
- ✓ Freezer -20°C (Electrolux)
- ✓ Gradillas para tubos tipo Khan y para tubos tipo Eppendorf
- ✓ Heladera (Patrick Fagor)
- ✓ Jeringas estériles descartables de 3 y 10 ml (Webest®)
- ✓ Jeringas estériles descartables de 1 ml (Neojet®)
- ✓ Parafilm "M"®
- ✓ Peladora eléctrica (Oster®)
- ✓ Pipetas Pasteur
- ✓ Planilla para tabulación de datos
- ✓ Solución yodo povidona 10% (Pervinox®, Laboratorio Phoenix, Argentina)
- ✓ Tubos plásticos descartables (12 x 75 mm) (DVS®)
- ✓ Microtubos 1,5 ml (Axygen®)
- ✓ Catéter para vías centrales Intracath® (Intracath® with wire stylet I.V. catheter/needle unit Vialon®. Becton Dickinson Vascular Access)
- ✓ Catéter 22G y 20G (Jelco®)
- ✓ Tapón de catéter (Plastimed®)
- ✓ Cinta hipoalergénica 2,5 (Micropore®)
- ✓ Cinta de tela adhesiva 5 cm (Printex®)
- ✓ Venda tipo cambric 5 cm (Printex®)
- ✓ Venda elástica autoadherente 5 cm (Aurinc®)

- ✓ Solución fisiológica estéril (Laboratorio Ramallo)
- ✓ Heparina 5000 UI/ml (Duncan®)

IV.II.2.b. Metodología para la administración del antibiótico y toma de muestras

IV.II.2.b.a. Administración de la clindamicina

- Vía endovenosa: Se colocó un catéter 22G en la vena cefálica antebraquial derecha o izquierda. El volumen de antibiótico calculado para cada animal se diluyó en 3 ml de solución fisiológica estéril para lograr una concentración aproximada de 10 mg/ml y se administró a una velocidad de 10 mg/minuto. Finalizado este procedimiento se retiró el catéter.
- Vía oral en ayuno: Se realizó un ayuno sólido de 12 horas (dejando el agua siempre a disposición). Se administró la cápsula con la dosis correspondiente del antibiótico por vía oral y luego se les suministró 6 ml de agua con jeringa con el fin de garantizar la deglución de la misma, evitar la disolución de la cápsula en el esófago y la posible producción de estenosis esofágica por irritación local (Westfall y col., 2001; Beatty y col., 2006).
- Vía oral luego de recibir una ración de alimento: Se le administró a cada gato la ración de alimento correspondiente a su primer comida del día (7 a 9 gramos de alimento balanceado). Posteriormente recibieron la cápsula con el antibiótico tal como fue descrito en el ítem anterior.

IV.II.2.b.b. Toma de muestras

Para la toma de las muestras sanguíneas se utilizó un catéter central Intracath® ubicado en vena yugular. La metodología para la colocación del mismo se describe en el Anexo I. Este catéter permaneció colocado durante 15 días en cada gato, tiempo en el cual se realizaron las 3 experiencias farmacocinéticas. Se mantuvo permeable infundiendo 0,2 a 0,3 ml de solución de heparina (10 UI/ml) luego de cada muestreo y al finalizar el día de trabajo. Para cada cinética se tomaron un total de 16 muestras en tiempos predeterminados: 0; 0,083; 0,16; 0,33; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 12 y 24 horas de administrado el antibiótico. El volumen de las muestras fue de 1,3 -1,4 ml de sangre, los primeros 0,2 ml se devolvían nuevamente al animal para evitar una posible dilución de la muestra con restos de solución heparinizada contenida en la luz del catéter. Este dispositivo de uso en medicina humana, es de un biomaterial

denominado Vialon®, que permite su colocación durante períodos prolongados debido a la baja a nula acción irritante sobre el endotelio.

IV.II.2.b.c. Acondicionamiento y conservación de las muestras

Cada muestra se centrifugó durante 15 minutos a 1500 rpm y el sobrenadante (plasma) se separó en tubos Eppendorf® rotulados. Los mismos se almacenaron en freezer a -20°C hasta su procesamiento.

IV.II.3. Diseño experimental

Tanto en los felinos como en los caninos se realizó un diseño cruzado (2x2x2) de manera que todos los individuos recibieron aleatoriamente los 3 tratamientos (administración endovenosa, oral en ayuno y oral luego de ser alimentados). El período de washout entre cada experiencia fue de 15 días en perros y 5 días en gatos.

IV.II.4. CICUAL

Este trabajo se encuentra enmarcado dentro del proyecto “Antimicrobianos en medicina veterinaria: farmacocinética, farmacodinamia, impacto en el marco de una salud” el cual cuenta con la aprobación del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL), de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA, protocolo N° 2010/22.

IV.II.5. Materiales y metodología para la extracción y cuantificación de la clindamicina en plasma

IV.II.5.a. Materiales

IV.II.5.a.a. Equipo de detección

Cromatógrafo líquido de alta performance Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000® equipado con bomba gradiente modelo HPG-3200SD e interface UCI-50. Inyector manual Rheodyne® con loop de 20 µl. Detector Gilson UV/Vis 151. Para el procesamiento de los cromatogramas se utilizó el software Chromeleon 6.8®.

IV.II.5.a.b. Fase estacionaria

Columna Phenomenex Luna® C₁₈ de fase reversa longitud 250 mm, diámetro interno 4,6 mm y tamaño de partícula 5 µ. Precolumna C18 4 x 3,0 mm.

IV.II.5.a.c. Fase móvil

La fase móvil se constituyó con un buffer fosfato monosódico Merck® y ácido fosfórico 85% Mallinckrodt® en agua bidestilada. Para la fracción orgánica se utilizó acetonitrilo grado HPLC Sintorgan®.

IV.II.5.a.d. Extracción

Acetonitrilo grado HPLC Sintorgan® y diclorometano grado HPLC Sintorgan®. Para la puesta a punto del método se empleó plasma blanco canino y felino.

IV.II.5.a.e. Material de laboratorio

- ✓ Balanza analítica de precisión (Ohaus®)
- ✓ Centrífuga (Presvac®)
- ✓ Agitador Vortex con regulación de velocidad (Fbr® Decalab)
- ✓ Freezer -20°C (Electrolux)
- ✓ Estufa de secado (Ionomex®)
- ✓ Pipetas de vidrio de 1 ml
- ✓ Pipetas automáticas 0,2; 1 y 5 ml (Eppendorf®)
- ✓ Probetas de vidrio de 50, 500 y 1000 ml
- ✓ Pipeta Pasteur
- ✓ pHmetro (Hanna instruments®)
- ✓ Soluciones buffer (calibre) pH 4 y 7 (Biopack®)
- ✓ Puntas pipetas automáticas 200 y 1000 µl (Kartell Spa®)
- ✓ Puntas pipetas automáticas 5000 µl (Eppendorf®)
- ✓ Tubos de vidrio para centrífuga de 15 ml con tapón a rosca
- ✓ Tubos de vidrio cónicos 15ml
- ✓ Gradillas
- ✓ Kitasato
- ✓ Bomba de vacío (Silfab®, Argentina)
- ✓ Membrana filtrante nylon 0,45 µ 47mm (Gamafil®)
- ✓ Agitador magnético (Hanna®)
- ✓ Baño termostático (Ionomex®)

- ✓ Campana de extracción
- ✓ Tubo de nitrógeno
- ✓ Jeringa 1 ml (Neojet®)
- ✓ Aguja Hamilton® roma de 51 mm con adaptador luer.

IV.II.5.b. Metodología

IV.II.5.b.a. Puesta a punto y validación del método para la extracción y cuantificación de la clindamicina en plasma canino y felino

La determinación de la clindamicina en plasma se realizó mediante la técnica de separación por cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) y detección UV. Para el método utilizado se adaptaron dos técnicas cromatográficas. La composición de la fase móvil, el rango de detección UV y la velocidad de flujo se tomaron del trabajo realizado por Mifsud y col. (2014) para la detección de la droga en plasma humano. Mientras que la técnica de extracción se obtuvo a partir del trabajo descrito por Batzias y col. (2004) en plasma canino.

IV.II.5.b.a.a. Curva de calibración

Para determinar las concentraciones de la clindamicina en plasma canino y felino se construyeron curvas estándar en plasma de ambas especies con concentraciones conocidas del antimicrobiano. El plasma blanco canino y felino se obtuvo de animales sanos, sin tratamiento antibiótico previo y en condiciones similares a los que participaron en el estudio. Para la preparación de la curva estándar se confeccionó primero una solución de stock de clindamicina clorhidrato 1000 µg/ml. Se tomaron 400 µl de esta solución y se resuspendieron en 600 µl de agua destilada, dando una concentración final de 400 µg/ml. De esta segunda solución se separaron 100 µl (40 µg) que se mezclaron con 900 µl de plasma blanco canino o felino según corresponda, vortexeando durante algunos segundos. De esta manera se obtuvo una concentración de 40 µg/ml de clindamicina y se continuó con diluciones seriadas en base 2, del antimicrobiano hasta alcanzar los 0,156 µg/ml.

La curva de calibración en fase móvil se construyó de la misma manera que la curva estándar en plasma, utilizando fase móvil como diluyente del antibiótico.

Las concentraciones de trabajo fueron: 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,313 y 0,156 µg/ml.

IV.II.5.b.a.b. Descripción del método analítico

Se empleó un equipo HPLC con detector UV en modo isocrático. La fase móvil estaba compuesta por un buffer fosfato 0,02M y acetonitrilo en proporción 72:28 (v/v). El sistema buffer fosfato tiene un $pK_a = 2,15$ en solución acuosa, siendo éste el que mejor se ajusta al pH requerido para nuestra solución ($pH = 2,9$). La concentración 0,02M se logró disolviendo 2,39 g de fosfato monosódico en 1 litro de agua calidad HPLC. Se corrigió con ácido fosfórico (85% en solución) hasta disminuir el pH a 2,9, con el agregado de 0,4 ml del ácido. La lectura del pH se realizó con pH-metro previamente calibrado con 2 soluciones estándar, una neutra ($pH = 7$) y la otra ácida ($pH = 4$). Una vez constituida la fase móvil se filtró a través de membranas de $0,45 \mu$ de porosidad y se desgasificó empleando un kitasato acoplado a una bomba vacío y colocado sobre un agitador magnético. La fase estacionaria fue una columna Phenomenex Luna® C18 de fase reversa ($250 \times 4,6$ mm) y tamaño de partícula 5μ con precolumna C18 ($4 \times 3,0$ mm). La velocidad de flujo fue de 1,5 ml/min y la detección del antibiótico se realizó a una longitud de onda de 195 nm. Cada muestra o punto de curva se inyectó en el equipo por duplicado (triplicado para la validación del método) con un volumen de 0,1 ml.

IV.II.5.b.a.c. Extracción

El proceso de extracción se aplicó por igual sobre la curva estándar en plasma adicionado con clindamicina en concentraciones conocidas para la validación del método como sobre las muestras problema. Las muestras plasmáticas almacenadas en freezer ($-20^{\circ}C$) se descongelaron en heladera el día correspondiente a su procesamiento y luego fueron acondicionadas a temperatura ambiente previo al momento de la extracción.

En un tubo cónico de vidrio se colocaron 0,5 ml de plasma (muestra canina o felina) y sobre el mismo se agregó 1ml de acetonitrilo, la mezcla se vortexeó durante 1 minuto y luego centrifugó a 3500 rpm durante 10 minutos. Las proteínas precipitan en forma de botón blanquecino en el fondo del tubo mientras que el antimicrobiano queda solubilizado en la fracción líquida. Este sobrenadante se separó en un tubo cónico a rosca al que se le agregó 6 ml de diclorometano (extracción líquido-líquido), se vortexeó 1 minuto y centrifugó 10 minutos a 3500 rpm. La porción superior acuosa se descartó con pipeta tipo Pasteur y los 6 ml inferiores se traspasaron a un tubo cónico de vidrio. Por último se realizó el evaporado del solvente bajo un flujo de nitrógeno y a

baño María (45°C). Para su detección las muestras se reconstituyeron con 0,5 ml de fase móvil y vortexearon 1 minuto.

IV.II.5.b.a.d. Validación del método cromatográfico

La validación del método cromatográfico se realizó según las normas establecidas por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos en: Bioanalytical Method Validation. Guidance for Industry. (U.S Department of Health and Human Services [HHS]. Food and Drug Administration [FDA]. Center for Drug Evaluation and Research [CDER]. Center for Veterinary Medicine [CVM], 2018)

Los criterios de validación utilizados fueron:

Selectividad: Asegura que, para el tiempo de retención del analito, no existan componentes en plasma que interfieran con la señal de los mismos. Para esto se procesaron 6 plasmas blanco de distintos individuos.

Linealidad: Es la relación existente entre la concentración del antibiótico y la respuesta obtenida (área). Debe ser lineal dentro del rango de concentraciones de trabajo. La concentración máxima debe estar al menos un 50% por encima de los límites superior e inferior esperados. Para esto se construyeron 5 curvas de calibración en fase móvil y 3 curvas de calibración en plasma. Cada punto de curva estándar se analizó por triplicado. El grado de ajuste se estimó a través del cálculo del coeficiente de regresión lineal (programa GraphPad Prism 5®) y la prueba de falta de ajuste (test de ANOVA para la regresión), (programa InfoStat®).

Precisión: Describe la variabilidad del método frente al análisis repetido del analito dentro del mismo día (intradía) y en distintos días (interdía). El método es preciso cuando el coeficiente de variación (C.V.) no supera el 15% para todos los puntos de la curva estándar y hasta el 20% para la dilución del límite de cuantificación. El C.V. se calculó como el D.E./Media*100.

Exactitud: Corresponde a la diferencia observada (error) entre el resultado de concentración de analito obtenido por el método y el verdadero valor. Al igual que para la precisión, todos los valores deben presentar un error menor al 15% (rango 85 – 115% del valor teórico) y de 20% (rango 80 – 120% del valor teórico) para el límite de cuantificación. Se calcula, para cada punto de concentración, como el área observada/área esperada*100.

Límite de cuantificación: Se acepta como límite de cuantificación al último punto de la curva estándar, siempre que la señal detectada sea al menos 5 veces mayor a la emitida por la línea de base, con una precisión y exactitud por debajo de 20%. Se evaluaron 3 concentraciones: 0,625; 0,313 y 0,156 $\mu\text{g/ml}$ tanto para la fase móvil como para el plasma.

Límite de detección: Corresponde a la mínima concentración detectable, no cuantificable, es decir, que no cumple con los criterios de precisión y exactitud descriptos anteriormente. Para su determinación se evaluaron 3 concentraciones: 0,625; 0,313 y 0,156 $\mu\text{g/ml}$.

Recuperación: Compara la respuesta obtenida por el detector al analizar una muestra de plasma adicionada con clindamicina y extraída, con respecto a las mismas concentraciones en fase móvil. Admite cualquier valor siempre que el mismo sea consistente, preciso y reproducible (precisión y exactitud menor al 15%). Para esto se construyeron, extrajeron y analizaron, en 3 diferentes días, 3 curvas estándar en plasma y en fase móvil. Cada punto de curva se analizó por triplicado. Las concentraciones empleadas para los cálculos de recuperación fueron: 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 y 0,313 $\mu\text{g/ml}$.

IV.II.5.b.a.e. Determinación de las concentraciones plasmáticas de la clindamicina

Se construyó una curva de calibración promedio que relaciona las áreas del analito en función de las distintas concentraciones del antibiótico comprendidas entre 20 $\mu\text{g/ml}$ y 0,3 $\mu\text{g/ml}$.

Se obtuvo la curva de calibración graficando en escala aritmética los valores obtenidos de la relación área del analito en función de la concentración del antimicrobiano, determinándose finalmente la ecuación que la definiera. Para ello se utilizó un programa computarizado, (GraphPad Prism 5®), el cual calcula la curva de regresión lineal por el método de los mínimos cuadrados, asegurando el mejor ajuste de los puntos observados a la recta teórica.

Cada muestra problema da como resultado un cromatograma con un pico al tiempo de retención del antibiótico (analito). El área de dicho pico se extrapola a la curva previamente validada obteniéndose la concentración correspondiente. Este valor de concentración se corrige por el porcentaje de extracción previamente calculado ya sea para caninos o felinos, según corresponda.

IV.II.5.b.a.f. Determinación de la estabilidad de la clindamicina conservada a -20°C

Se almacenó un patrón de clindamicina junto con las muestras plasmáticas a -20°C, para evaluar su estabilidad. Se compararon mediante regresión lineal la curva estándar realizada inicialmente (curva 1 inicial) con la curva estándar almacenada (curva 2), durante 6 meses, y procesada junto con el último animal analizado.

IV.II.6. Construcción de la curva de disposición, análisis farmacocinético y análisis estadístico

IV.II.6.a. Materiales

- ✓ Phoenix WinNonlin 8.0®
- ✓ GraphPad Prism 5®
- ✓ Planilla Excel®

IV.II.6.b. Metodología

A partir de las concentraciones obtenidas de las distintas muestras plasmáticas se construyeron las curvas de disposición, graficando la concentración plasmática del antimicrobiano en función del tiempo para cada vía de administración y especie.

El análisis farmacocinético de los datos se realizó mediante el programa computarizado Phoenix WinNonlin 8.0®. Para la selección del modelo y el número de compartimientos que mejor describiera el comportamiento del fármaco se tuvieron en cuenta el análisis de los residuales, la correlación entre los valores observados y estimados por el modelo (Gabrielsson y Weiner, 1994) y las pruebas estadísticas de mínima parsimonia: criterio de Akaike (Yamaoka y col., 1978) y de Schwartz (Schwartz, 1978).

$$\text{Criterio de Akaike (AIC)} = N_{\text{obs}} \cdot \ln \text{WRSS} + 2 N_p$$

Donde “ N_{obs} ” es el número de observaciones, “ $\ln \text{WRSS}$ ” es el logaritmo neperiano de la suma de cuadrados de los residuales pesados ($\sum W (y_{\text{obs}} - y_{\text{calc}})^2$) y “ N_p ” es el número de parámetros del modelo.

$$\text{Criterio de Schwartz (SC)} = N_{\text{obs}} \cdot \ln \text{WRSS} + \frac{1}{2} \cdot N_p \cdot \ln N_{\text{obs}}$$

Donde “ N_{obs} ” es el número de observaciones, “ $\ln \text{WRSS}$ ” es el logaritmo neperiano de la suma de cuadrados de las residuales pesadas ($\sum W (y_{\text{obs}} - y_{\text{calc}})^2$) y N_p es el número de parámetros del modelo.

La curva de disposición plasmática de la clindamicina fue modelada según la ecuación multiexponencial:

$$C_p = \sum Y_i e^{-\lambda_i t}$$

Donde C_p representa la concentración plasmática del antimicrobiano al tiempo t ; Y_i ($\mu\text{g/ml}$) es el coeficiente del i ésimo término exponencial y λ_i (por hora) es el exponente del i ésimo término exponencial.

Se realizó el análisis no compartimental de las curvas de disposición de la clindamicina administrada a perros y gatos para el cálculo del ABC_{0-t} y el TMR_{0-t} para la vía endovenosa y vías orales y el MAT para las vías orales. El resultado de este análisis se muestra en el Anexo IV.

ABC_{0-t} se calculó usando la regla de los trapecoides, desde el tiempo 0 hasta el tiempo de la última concentración medida.

$$\text{TMR}_{0-t} = \text{ABMC}_{0-t} / \text{ABC}_{0-t}$$

$$\text{MAT} = \text{TMR}_{0-t \text{ po}} - \text{TMR}_{0-t \text{ ev}}$$

IV.II.6.b.a. Administración endovenosa de la clindamicina

Según los criterios considerados, el modelo que mejor ajustó a la curva de disposición plasmática tras la administración endovenosa fue para todos los felinos y caninos biexponencial y describe un modelo bicompartimental abierto:

$$C_p = A e^{-\alpha \cdot t} + B e^{-\beta \cdot t}$$

C_p ($\mu\text{g/ml}$) representa la concentración plasmática del antimicrobiano al tiempo t .

A y B ($\mu\text{g/ml}$) son las concentraciones de la droga extrapoladas al tiempo 0 de la primera y segunda fase de disposición plasmática, respectivamente.

α y β (h^{-1}) son las respectivas pendientes de las fases de distribución y eliminación de la curva de disposición.

Para un mejor ajuste del modelo en gatos, las concentraciones observadas fueron ponderadas y el pesaje escogido fue la inversa de la concentración calculada ($1/x$) mientras que en perros el pesaje fue la inversa de la concentración calculada al cuadrado ($1/x^2$).

Los estimadores iniciales se obtuvieron utilizando el método de los residuales (Gibaldi y Perrier, 1982). Luego, estos estimadores fueron redeterminados mediante regresión no lineal.

Los parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante las ecuaciones clásicas asociadas con el análisis compartimental (Gibaldi y Perrier, 1982).

IV.II.6.b.a.a. Modelo bicompartimental abierto para la administración endovenosa

Las vidas medias de distribución ($t_{1/2d}$), de eliminación ($t_{1/2el}$) y eliminación desde el compartimiento central ($t_{1/2(10)}$) fueron calculadas, respectivamente, según:

- ✓ $t_{1/2d} = 0,693 / \alpha$
- ✓ $t_{1/2el} = 0,693 / \beta$
- ✓ $t_{1/2(10)} = 0,693 / k_{10}$

La concentración plasmática al tiempo 0 (C_{p0}) se calculó como:

- ✓ $C_{p0} = A + B$.

La constante de primer orden de la velocidad de eliminación, desde el compartimiento central (k_{10}), se calculó según la fórmula:

- ✓ $k_{10} = (A + B) / (A / \alpha + B / \beta)$

La constante de primer orden de la velocidad de transferencia de la droga libre, desde el compartimiento central al periférico (k_{12}), se calculó como:

$$\checkmark k_{12} = (\text{alfa} + \text{beta}) - (k_{21} - k_{10})$$

Para el cálculo de la constante de primer orden de la velocidad de transferencia de la droga libre, desde el compartimiento periférico al central (k_{21}), se utilizó la fórmula:

$$\checkmark k_{21} = (\text{alfa} \cdot \text{beta}) / k_{10}$$

Para calcular el volumen aparente del compartimiento central (V_c), se utilizó la fórmula:

$$\checkmark V_c = \text{dosis} / (A + B)$$

El volumen aparente de distribución en el estado estacionario (V_{ss}) fue calculado mediante la fórmula:

$$\checkmark V_{ss} = \text{CI} / \text{TMR}$$

El área bajo la curva concentración plasmática en función del tiempo desde el tiempo 0 hasta el infinito ($ABC_{0-\infty}$) se calculó usando la regla de los trapecoides (desde el tiempo 0 hasta el tiempo de la última concentración que pudo cuantificarse) y se extrapoló al infinito. Para esto último se sumó el triángulo final, que se calculó como la última concentración/beta.

El clearance corporal total (CI) fue calculado según la fórmula:

$$\checkmark \text{CI} = \text{Dosis} / \text{ABC}_{0-\infty}$$

El tiempo medio de residencia (TMR) se calculó por la regla de los trapecoides extrapolando a infinito:

$$\checkmark \text{TMR} = \text{ABMC}_{0-\infty} / \text{ABC}_{0-\infty}$$

Donde $\text{ABMC}_{0-\infty}$ es el área bajo la curva del primer momento.

IV.II.6.b.b. Administración oral de la clindamicina. Modelo monocompartimental abierto.

El modelo que mejor ajustó a las curvas de disposición plasmática de la clindamicina luego de su administración oral en felinos y caninos, fue monoexponencial y describe un modelo monocompartimental abierto:

$$\checkmark C_p = F / V_c [k_{01} / (k_{01} - k_{10})]^{(-k_{10} \cdot t) - (-k_{01} \cdot t)}$$

C_p es la concentración plasmática en el tiempo t

F es la biodisponibilidad

V_c es el volumen del compartimiento central

k_{01} y k_{10} son las constantes de primer orden de las fases inicial (absorción) y terminal (eliminación), respectivamente

Para un mejor ajuste del modelo las concentraciones observadas fueron ponderadas y el pesaje escogido fue la inversa de la concentración calculada ($1/x$).

Los parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante ecuaciones tradicionales (Gibaldi y Perrier, 1982).

La concentración plasmática máxima (C_{max}) y el tiempo máximo (T_{max}) se calcularon a partir de la curva de disposición.

La vida media de absorción se calculó como:

$$\checkmark t_{1/2a}: 0,693 / k_{01}$$

La vida media de eliminación se calculó:

$$\checkmark t_{1/2el}: 0,693 / k_{10}$$

El área bajo la curva ($ABC_{0-\infty}$) se calculó de la misma manera que para la administración endovenosa.

La biodisponibilidad (F) se calculó corrigiendo la fórmula por la diferente dosificación empleada para la vía endovenosa respecto a la oral para cada animal:

$$\checkmark F (\%) = (ABC_{0-\infty po} * Dosis_{ev}) / (ABC_{0-\infty ev} * Dosis_{po}) * 100$$

IV.II.6.b.c. Análisis estadístico

Para determinar diferencias entre los parámetros farmacocinéticos entre vías de administración, especie, animales ayunados vs. animales con alimento se realizaron diferentes análisis estadísticos. El parámetro farmacocinético $t_{1/2el}$ se analizó mediante un test de ANOVA con un post test de Tukey. Los parámetros k_{12} , k_{21} , C_{max} , T_{max} , F , k_{01} , k_{10} y $t_{1/2a}$ se analizaron mediante el test t de student. La diferencia se consideró significativa cuando $p < 0,05$.

Para establecer la relación entre las $ABC_{0-\infty}$ de las vías parenterales de caninos respecto a felinos se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Relación entre } ABC_{0-\infty} = ABC_{0-\infty \text{ perro}} * \text{dosis po}_{\text{gato}} / ABC_{0-\infty \text{ gato}} * \text{dosis po}_{\text{perro}}$$

IV.III. Farmacodinamia

El estudio farmacodinámico de la clindamicina en caninos y felinos comprende las siguientes etapas:

- Relevamiento del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas bacterianas aisladas de infecciones en caninos y felinos a la clindamicina a través de pruebas de susceptibilidad *in vitro*: concentración inhibitoria mínima (CIM).
- Determinación de interacciones farmacológicas *in vitro* entre la clindamicina y otros antibióticos de uso frecuente en pequeños animales (ampicilina, doxiciclina, gentamicina y enrofloxacina) mediante la técnica del tablero de damas o checkerboard.

IV.III.1. Materiales

IV.III.1.a. Antimicrobianos

- ✓ Clindamicina: Dalacin C Clindamicina® (Clindamicina clorhidrato). Laboratorio Pfizer, Buenos Aires, Argentina.
- ✓ Ampicilina: Trifacilina 1000 Ampicilina® (Ampicilina sódica). Laboratorio Bagó, La Rioja, Argentina.
- ✓ Gentamicina: Gentamicina Richet® (Sulfato de gentamicina). Laboratorio Richet, Buenos Aires, Argentina.
- ✓ Doxiciclina: Vibramicina Doxiciclina® (Hiclato de Doxiciclina). Laboratorio Pfizer, Buenos Aires, Argentina.
- ✓ Enrofloxacina: Baytril® (Enrofloxacina base). Laboratorio Bayer, Buenos Aires, Argentina.

IV.III.1.b. Material biológico

Microorganismo estándar para el control de las técnicas de CIM y tablero de damas para los estafilococos: *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 y para los estreptococos: *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619 (CLSI, 2018).

Las bacterias patógenas fueron provistas por un laboratorio microbiológico veterinario privado “Diagnotest”, que recibe muestras de Capital Federal y Gran Buenos Aires,

(Chanas 1185, El Palomar, Provincia de Buenos Aires). Las bacterias fueron aisladas y tipificadas en dicho lugar. Los datos de los microorganismos, especie animal afectada y origen de la muestra (sitio de infección) se muestran en la Tabla IV.1.

Tabla IV.1. Microorganismos causantes de infección en caninos y felinos clasificados según género y especie, especie animal de la que fueron aislados y fuente de infección.

Microorganismo	Especie animal	Origen
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>		
755167	Canino	Lesión dérmica
949024	Canino	Lesión dérmica
949579	Canino	Lesión dérmica
949632	Canino	Lesión dérmica
949694	Canino	Lesión dérmica
948314	Canino	Secreción ótica
948404	Canino	Secreción ótica
948816	Canino	Secreción ótica
949078	Canino	Secreción ótica
949421	Canino	Secreción ótica
949665	Canino	Secreción ótica
949714	Canino	Secreción ótica
949816	Canino	Secreción ótica
948520	Felino	Absceso piel
949585	Felino	Absceso piel
948233	Felino	Secreción ótica
<i>Staphylococcus aureus</i>		
776514	Felino	Absceso nasal
<i>Streptococcus spp.</i>		
948346	Canino	Fondo de vagina
947565	Canino	Secreción ótica
947681	Felino	Orina

IV.III.1.c. Medios de cultivo

- ✓ Agar Mueller-Hinton (Britania® Buenos Aires, Argentina)
- ✓ Caldo cerebro-corazón (Britania® Buenos Aires, Argentina)
- ✓ Caldo Mueller-Hinton (Britania® Buenos Aires, Argentina)

IV.III.1.d. Material de laboratorio

- ✓ Agitador Vortex con regulación de velocidad (Fbr, Decalab®)
- ✓ Destilador (Rolco®)
- ✓ Agua destilada
- ✓ Autoclave (VZ®)
- ✓ Balanza analítica de precisión (Ohaus®)
- ✓ Ansa de tungsteno
- ✓ Espátula de Drigalsky
- ✓ Alcohol etílico 96° (Purocol®)
- ✓ Estufa de cultivo (SAN-JOR®)
- ✓ Estufa de esterilización (SAN-JOR®)
- ✓ Estufa de secado (Ionomex®)
- ✓ Cuba de microaerobiosis
- ✓ Gradillas para tubos de ensayo
- ✓ Gradillas para tubos de vidrio Khan
- ✓ Heladera (Patrick, Fagor®)
- ✓ Mechero Bunsen
- ✓ Nefelómetro de Mc Farland estándar patrón de turbidez 0,5
- ✓ Placas de petri de 10 cm de diámetro
- ✓ Planillas para tabulación de datos
- ✓ Tapones plásticos autoclavables
- ✓ Tubos de ensayo de 10 cm y 15 cm
- ✓ Tubos de vidrio Khan
- ✓ Erlenmeyer de 125 ml y 250 ml.
- ✓ Pipetas automáticas 0,2; 1 y 5 ml (Eppendorf®)
- ✓ Puntas pipetas automáticas 200 y 1000 µl (Kartell Spa®)
- ✓ Puntas pipetas automáticas 5000 µl (Eppendorf®)
- ✓ Sangre fresca de carnero

IV.III.2. Metodología para la determinación de la CIM

IV.III.2.a. Fundamento

La técnica empleada para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana a un antibiótico, mediante la determinación de su CIM, fue la de macrodilución en caldo. El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones de las normas CLSI (2018).

La técnica se basa en enfrentar una serie de concentraciones decrecientes del antimicrobiano a una concentración estándar del microorganismo a evaluar. Luego de su incubación (tiempo y temperatura determinada) se procede a la lectura de la CIM correspondiente al tubo con menor concentración de antibiótico en el que no se observa desarrollo bacteriano visible. Acorde al valor de CIM obtenido se clasifica al microorganismo como sensible, intermedio o resistente. Los rangos de concentración a evaluar para los distintos antibióticos y microorganismos, y sus puntos de corte se tomaron a partir de los establecidos por el CLSI para aislamientos animales (CLSI, 2015) o de humanos (CLSI, 2019) para aquellos microorganismos o antimicrobianos no definidos en la sección veterinaria.

IV.III.2.b. Solución del antimicrobiano

En primer lugar se confeccionó una solución de stock de clindamicina de 1000 µg/ml que fue almacenada en distintos viales a -20°C hasta su utilización.

IV.III.2.c. Curva estándar

Cada día de procesamiento se descongeló un vial de la solución de stock y se preparó la curva estándar, en condiciones de esterilidad y al abrigo de la llama. El rango de concentración a evaluar se tomó a partir de los puntos de corte establecidos por el CLSI para aislamientos animales (CLSI, 2015). La concentración más alta probada se seleccionó por ser la primera que permite clasificar un microorganismo como resistente a este antimicrobiano. De manera que las concentraciones inferiores quedaran comprendidas dentro del rango de intermedios o sensibles, ver Tabla IV.2.

La curva estándar se preparó realizando diluciones seriadas en base 2 del antimicrobiano en caldo Mueller-Hinton, con un volumen final de 1 ml. La

concentración en cada tubo Khan fue el doble de la deseada ya que posteriormente se diluyó con el mismo volumen de inóculo.

1ml del caldo empleado se reserva en un tubo extra y es utilizado como control de esterilidad.

IV.III.2.d. Inóculo

Estafilococos: el día previo a la determinación de la CIM fueron sembrados sobre agar Mueller-Hinton por agotamiento en superficie y cultivados en estufa a 34°C. Luego de 24 horas de incubación se tomó con ansa estéril una colonia y se resuspendió en un tubo con caldo Mueller-Hinton hasta lograr una turbidez semejante a la de 0,5 del nefelómetro de Mc Farland, correspondiente a una concentración de 1×10^8 UFC/ml.

Streptococos: el día previo a la determinación de la CIM se resuspendió una colonia en caldo cerebro corazón e incubó a 34°C en microaerobiosis (5-10% CO₂) durante 24 horas. Para lograr la misma concentración de inóculo que en el caso de los estafilococos se tomó un cierto volumen de este inóculo y se resuspendió en un nuevo tubo con caldo Mueller-Hinton.

Los pasos siguientes se continuaron de igual manera para ambos microorganismos. El inóculo de concentración equivalente a 0,5 Mc Farland, se diluyó en proporción 1:100 en caldo Mueller-Hinton estéril. 1ml de esta nueva solución se colocó dentro de cada tubo Khan (aquellos que contenían las diferentes concentraciones de antimicrobiano) y dentro de un caldo blanco (con el mismo volumen que los tubos de la curva estándar) para control del inóculo.

Para controlar la correcta densidad de inóculo, se tomaron 100 µl del tubo control y se realizaron 4 diluciones seriadas 1:10 en caldo Mueller-Hinton. A su vez, 100 µl de cada uno de estos tubos se distribuyeron uniformemente con espátula de Drigalsky sobre 4 placas de 10 cm con agar Mueller-Hinton.

El tiempo transcurrido entre la preparación del inóculo y su utilización no fue superior a 15 minutos. Evitando de esta manera que la multiplicación de los microorganismos modificara la concentración del inóculo de trabajo.

IV.III.2.e. Cultivo

Tanto los tubos con las distintas concentraciones de antibiótico e inóculo, el tubo control de esterilidad del caldo y las placas control para el recuento de colonias se incubaron a 34°C durante 16-20 horas para los estafilococos y 20-24 horas para los estreptococos, estos últimos en condiciones de microaerobiosis (5-10% CO₂).

IV.III.2.f. Lectura y determinación de la sensibilidad antimicrobiana

Pasado el tiempo de incubación se procedió a la lectura de la prueba, siendo la CIM la menor concentración de antibiótico capaz de inhibir el desarrollo bacteriano visible, observado como turbidez del caldo. Los puntos de corte para determinar la sensibilidad de los estafilococos y estreptococos a la clindamicina se tomaron del CLSI para aislamientos animales (CLSI, 2015). La Tabla IV.2 Muestra los valores de referencia.

Tabla IV.2. Criterios de interpretación del perfil de susceptibilidad antimicrobiana para estafilococos y estreptococos según el valor de CIM (µg/ml) obtenido acorde al valor de corte establecido por el CLSI (2015) para la clindamicina.

Antimicrobianos	Criterio de interpretación de la CIM (µg/ml)		
	Sensible	Intermedio	Resistente
ESTAFILOCOCOS			
Clindamicina	≤0,5	1-2	≥4
ESTREPTOCOCOS			
Clindamicina	≤0,5	1-2	≥4

IV.III.2.g. Validación

Para la validación de la metodología se tuvieron en cuenta 3 parámetros:

- ✓ CIM del microorganismo control dentro del rango establecido por el CLSI (2015).
- ✓ Control de esterilidad: permite verificar que se haya trabajado en condiciones de esterilidad durante los distintos pasos. El tubo de caldo control debe dar negativo al crecimiento bacteriano (sin turbidez).

- ✓ Control de inóculo: verifica que el inóculo de trabajo utilizado contenga el número adecuado de unidades formadoras de colonias (UFC). El valor de recuento de colonias debe arrojar un promedio de 5×10^5 UFC/ml (aceptándose un rango de 1 a 10×10^5 UFC/ml) para las placas 1 a 3 e incontables para la placa 4 (CLSI, 2018). El número de colonias por placa fue corregido previamente por el factor de dilución correspondiente a cada una.

Los valores obtenidos de CIM fueron descriptos a través de:

- ✓ Valores absolutos
- ✓ Frecuencia relativa (expresada en porcentaje)
- ✓ Moda
- ✓ CIM₅₀: valor de CIM que acumula al 50 % de las bacterias estudiadas
- ✓ CIM₉₀: valor de CIM que acumula al 90 % de las bacterias estudiadas

IV.III.3. Metodología para la realización del Tablero de damas o Checkerboard

IV.III.3.a. Fundamento

El análisis de interacciones farmacológicas *in vitro* entre la clindamicina y otros antimicrobianos se realizó mediante el método “Tablero de damas” o “Checkerboard” (Pillai y col., 2005). El método se basa en exponer una concentración estandarizada del microorganismo en estudio a la combinación de concentraciones decrecientes de los 2 antibióticos con el fin de evaluar el tipo de interacción que se produce: sinergismo, indiferencia o antagonismo. En medicina veterinaria frecuentemente se utilizan antibióticos en forma conjunta ya sea por la presencia de enfermedades infecciosas coexistentes o cuadros clínicos polimicrobianos en los que se indica la combinación de fármacos. A partir de esto y con el fin de evaluar la interacción con clindamicina, se seleccionaron los antimicrobianos: gentamicina, enrofloxacin, ampicilina y doxiciclina para infecciones producidas por estafilococos y ampicilina y doxiciclina por estreptococos (Beco y col., 2013; Sainz y col., 2015; Lappin y col., 2017; Tasker y col., 2018; Jessen y col., 2019; Weese y col., 2019).

El tablero de damas requiere en primer lugar la determinación de la CIM de cada bacteria en estudio para ambos antibióticos a cruzar. Como fue descripto por Pillai y

col. (2005) el método presenta un error de 2 diluciones por ende, el sinergismo o antagonismo, se establece cuando se produce la disminución o el aumento, respectivamente, de al menos 2 veces la CIM del microorganismo en estudio. Para permitir la detección de estas interacciones el tablero debe incluir concentraciones 4 veces por encima y por debajo a la CIM del microorganismo. Las concentraciones decrecientes del antimicrobiano 1 se ubican en las columnas mientras que las del antimicrobiano 2 en las filas, con la misma cantidad de inóculo en cada uno de los tubos. Luego de incubado, cada columna evaluará la modificación de la CIM de la bacteria para el antibiótico 1 en presencia de concentraciones decrecientes del segundo antimicrobiano y a la inversa para las filas. El primer tubo sin desarrollo bacteriano visible de cada fila o columna corresponde al valor de CIM (modificado o no) para dicha bacteria para cada antimicrobiano.

Para estandarizar estos resultados se construyó el índice de FIC (concentración fraccionaria inhibitoria) (Elion y col., 1954; Hall y col., 1983) que pondera la CIM para cada punto de interacción antimicrobiana del tablero asignándole un valor en base al cual se determina si corresponde a una interacción tipo sinergismo, indiferencia o antagonismo.

IV.III.3.b. Determinación de la CIM para los antimicrobianos en estudio

Para determinar la CIM de los antimicrobianos de uso frecuente en medicina de pequeños animales para los microorganismos patógenos destinados al estudio de interacción, se aplicó la misma técnica descrita en el ítem anterior para la determinación de la CIM de clindamicina.

Los puntos particulares a considerar en esta sección fueron:

- ✓ La doxiciclina, gentamicina y enrofloxacin se almacenaron en viales a -20°C como solución de stock de 1000 µg/ml. La ampicilina conservada en freezer no es estable, de manera que la solución de stock de 1000 µg/ml se preparó inmediatamente previo a su utilización.
- ✓ Los puntos de corte para determinar la sensibilidad a estos antibióticos y el rango de concentraciones estudiado, se definió para la ampicilina, gentamicina y enrofloxacin a partir de los puntos de corte establecidos por el CLSI para aislamientos animales (CLSI, 2015) y para la doxiciclina, a partir del CLSI para

aislamientos de humanos (CLSI, 2019), estos valores se muestran en la Tabla IV.3.

Tabla IV.3. Criterios de interpretación del perfil de susceptibilidad antimicrobiana para estafilococos y estreptococos según el valor de CIM ($\mu\text{g/ml}$) obtenido acorde a los valores de corte establecidos por el CLSI (2015) para la ampicilina, enrofloxacina, gentamicina y por el CLSI (2019) para la doxiciclina.

Antimicrobianos	Criterio de interpretación de la CIM ($\mu\text{g/ml}$)		
	Sensible	Intermedio	Resistente
ESTAFILOCOCOS			
Ampicilina ^a	$\leq 0,25$	-	$\geq 0,5$
Enrofloxacina ^a	$\leq 0,5$	1-2	≥ 4
Gentamicina ^b	≤ 4	8	≥ 16
Doxiciclina ^a	$\leq 0,12$	0,25	$\geq 0,5$
ESTREPTOCOCOS			
Ampicilina ^a	$\leq 0,25$	-	-
Doxiciclina ^b	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1
^a CLSI, 2015 ^b CLSI, 2019			

IV.III.3.c. Soluciones de antimicrobianos

Partiendo de las soluciones de stock descritas en el ítem previo se confeccionaron 2 curvas estándar (curva A: clindamicina y curva B: doxiciclina, enrofloxacina, gentamicina o ampicilina) con diluciones seriadas en base 2. Se realizaron un total de 9 tubos ubicando la concentración correspondiente a la CIM en el tubo central (nº5) y un tubo numerado "10" conteniendo caldo Mueller-Hinton limpio, ver Figura IV.1. Todos fueron confeccionados con un volumen final de 10 ml y con concentraciones 4 veces superiores a las deseadas ya que posteriormente se diluirían al combinar los antimicrobianos y el inóculo.

IV.IV.3.d. Inóculo

La preparación del inóculo, al igual que su control, siguió las mismas reglas que establece el CLSI (2018), y tal cual se describió en el punto IV.III.2.d. Inóculo.

Para cada tablero de damas se armó un volumen de inóculo de 110ml.

IV.III.3.e. Confección del Tablero de damas

En una gradilla de tubos Khan se armó un cuadro de 10x10 tubos. En condiciones de esterilidad, frente a un mechero de bunsen y al abrigo de la llama, se colocaron 0,5 ml de la curva estándar dentro de cada tubo. Cada columna corresponde a un punto de la curva "A" (clindamicina), mientras que cada fila contiene un punto de curva "B" (doxiciclina, enrofloxacin, gentamicina o ampicilina). El resultado final fueron 100 combinaciones distintas de las diferentes concentraciones de antibiótico comprendidas en 4 unidades por encima y por debajo de la CIM. Dentro de esas combinaciones la última fila y columna se completó con el tubo "10" (caldo blanco) conteniendo sólo uno de los 2 antimicrobianos lo que permitiría obtener la CIM del antibiótico para el microorganismo en estudio Figura IV.1. Por último se colocó 1ml del inóculo en cada uno de los tubos Khan. El tiempo entre la preparación del inóculo y la incubación del tablero de damas completo no superó los 15 minutos para evitar variabilidad en la respuesta por desarrollo bacteriano.

Para controlar la esterilidad del caldo y densidad de inóculo se procedió de la misma manera que lo descrito para la determinación de la CIM (ver IV.III.2.g. Validación).

IV.III.3.f. Cultivo

Las gradillas conteniendo el tablero de damas y las placas control para el recuento de colonias se incubaron a 34°C durante 16-20 horas para los estafilococos y 20-24 horas para los estreptococos, estos últimos en condiciones de microaerobiosis (5-10% CO₂).

IV.III.3.g. Lectura

Cumplido el tiempo de incubación se procedió a la lectura del tablero. Se identificaron aquellos tubos con desarrollo bacteriano visible y aquellos sin crecimiento (caldo limpio), con estos datos se construyó un esquema del tablero de damas para cada interacción señalando con color los casilleros en los que se observó desarrollo bacteriano, para su posterior análisis.

IV.III.3.h. Validación

El método se validó siguiendo los mismos parámetros que los propuestos para la determinación de la CIM (CLSI, 2018) (ver IV.III.2.g. Validación).

IV.III.3.i. Interpretación y análisis del Tablero de damas

La interpretación del tablero de damas se realizó mediante el cálculo del índice FIC (Elion y col., 1954; Hall y col., 1983). El índice FIC se calculó para cada punto del checkerboard mediante la sumatoria de las fracciones parciales de la CIM del antimicrobiano "A" en combinación con el antimicrobiano "B" sobre la CIM del antimicrobiano "A" sola, más la CIM del antimicrobiano "B" en combinación con el antimicrobiano "A" sobre la CIM del antimicrobiano "B" sola. Ver Figura IV.1.

$$\sum \text{FIC} = \text{FIC "Antimicrobiano A"} + \text{FIC "Antimicrobiano B"}$$

$$\sum \text{FIC} = \frac{\text{CIM A en combinación con B}}{\text{CIM A}} + \frac{\text{CIM B en combinación con A}}{\text{CIM B}}$$

Luego de la lectura e interpretación del tablero de damas se obtuvo para cada microorganismo y combinación antibiótica evaluada un rango de valores de FIC para su posterior análisis.

El efecto de la combinación de antibióticos sobre el crecimiento bacteriano se dividió en tres posibles interacciones: sinergismo, indiferencia y antagonismo. Considerando sinergismo cuando $\sum \text{FIC} \leq 0,5$, indiferencia o no interacción $0,5 < \sum \text{FIC} \leq 4$ y antagonismo cuando $\sum \text{FIC} > 4$ (Odds, 2003).

Bonapace y col. (2002) describieron y analizaron 4 métodos para la interpretación de los resultados arrojados por el checkerboard. Los primeros 3 priorizan la detección de un tipo de interacción, mientras que el cuarto propone un método de screening rápido para definir la presencia de sinergismo o antagonismo. Por este motivo se utilizaron los 3 primeros métodos para describir las interacciones farmacológicas observadas entre clindamicina y ampicilina/ doxiciclina/ gentamicina/ enrofloxacin.

- ✓ "ΣFIC promedio": Calcula el promedio de las ΣFIC para cada microorganismo e interacción antibiótica, considerando la mínima concentración de cada tubo sin desarrollo visible en todas las filas y columnas. Da un resultado global sobre la interacción, clasificándola como sinergismo, indiferencia o antagonismo según

el promedio obtenido. Presenta como desventaja que subestima la aparición de sinergismo o antagonismo cuando éstas ocurren ante una combinación puntual de concentraciones.

- ✓ “ Σ FIC mínima”: Al igual que el anterior también toma un valor puntual, la menor Σ FIC del tablero, para definir la interacción antimicrobiana. Se utiliza para identificar sinergismo.
- ✓ “ Σ FIC Fila y Columna”: Considera una Σ FIC única, correspondiente a la primer línea de tubos (menor concentración) sin desarrollo visible en toda la fila y en toda la columna. Ese valor de Σ FIC define si la interacción corresponde a un sinergismo, antagonismo o indiferencia. Este método detecta la presencia de antagonismo entre los antimicrobianos en estudio.
- ✓ “ Σ FIC Dos tubos”: Considera la presencia de turbidez en, únicamente, dos combinaciones de antibióticos, define sinergismo cuando la combinación $\frac{1}{4}$ CIM de ambos antimicrobianos NO tiene crecimiento visible y antagonismo cuando la combinación 2CIM de ambos antibióticos tiene crecimiento visible.

Figura IV.1. Aplicación del cálculo de FIC al Tablero de damas según el patrón de crecimiento microbiano. Cada casillero representa la sumatoria (fila y columna) de las FIC para dicha intersección. ■ Sinergismo $\Sigma FIC \leq 0,5$, ■ Indiferencia $0,5 < \Sigma FIC \leq 4$ y ■ antagonismo $\Sigma FIC > 4$

ANTIBIÓTICO 2	0	0 ATB 2				CIM Clin					
	9	0,0625 CIM	8,063	4,063	2,063	1,063	0,563	0,313	0,188	0,125	
	8	0,125 CIM	8,125	4,125	2,125	1,125	0,625	0,375	0,25	0,188	
	7	0,25 CIM	8,25	4,25	2,25	1,25	0,75	0,5	0,375	0,313	
	6	0,5 CIM	8,5	4,5	2,5	1,5	1	0,75	0,625	0,563	
	5	1 CIM	9	5	3	2	1,5	1,25	1,125	1,063	CIM Atm 2
	4	2 CIM	10	6	4	3	2,5	2,25	2,125	2,063	
	3	4 CIM	12	8	6	5	4,5	4,25	4,125	4,063	
	2	8 CIM	16	12	10	9	8,5	8,25	8,125	8,063	
	1	16 CIM	8 CIM	4 CIM	2 CIM	1 CIM	0,5 CIM	0,25 CIM	0,125 CIM	0,0625 CIM	0 ATB Clin
	Tubos nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0
	CLINDAMICINA										

IV.IV. Integración farmacocinética/farmacodinámica

IV.IV.1. Materiales

- ✓ GraphPad Prism 5®
- ✓ Planilla Excel®

IV.IV.2. Metodología

La clindamicina fue un antimicrobiano inicialmente clasificado como tiempo dependiente, para luego ser reclasificado como independiente de la concentración con prolongado efecto persistente, tal como fue descripto en la introducción. Los parámetros de integración FC/FD empleados fueron:

- ✓ $t > \text{CIM}$

Donde t es el tiempo, expresado en horas, durante el cual las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen por encima de la CIM (valor de 1CIM_{50} , 2CIM_{50} , 4CIM_{50} obtenidas en este trabajo a partir de las cepas de *Staphylococcus* spp. aisladas en pequeños animales y el valor de corte establecido por el CLSI (2015) para estafilococos de origen animal sensibles a clindamicina ($0,5 \mu\text{g/ml}$).

El mismo se calculó a través de la siguiente ecuación:

$$t > \text{CIM} = \ln [\text{Dosis} / (V_d * \text{CIM})] * t_{1/2el} / \ln 2.$$

El segundo predictor de eficacia calculado fue:

- ✓ $\text{ABC}_{0-24} / \text{CIM}$

Donde ABC_{0-24} es el área bajo la curva de disposición plasmática obtenida en este estudio en caninos y felinos para las 3 experiencias realizadas. La CIM corresponde al valor de CIM_{50} obtenido en este trabajo para las cepas de *Staphylococcus* spp. aisladas en pequeños animales y al valor de corte establecido por el CLSI (2015) para estafilococos de origen animal sensibles a clindamicina ($0,5 \mu\text{g/ml}$).

IV.IV.2.a. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los predictores de eficacia $t > \text{CIM}$ (considerando 1CIM_{50} , 2CIM_{50} , 4CIM_{50} y $\text{CIM}=0,5 \mu\text{g/ml}$) y $\text{ABC}_{0-24}/\text{CIM}$ (considerando 1CIM_{50} y $\text{CIM}=0,5 \mu\text{g/ml}$) para la administración oral de clindamicina en ayunas y luego de recibir alimento, se realizó mediante la prueba t de student para muestras pareadas (paramétrico).

V. RESULTADOS

V. RESULTADOS

V.I. Farmacocinética

V.I.1. Validación del método para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en plasma

Los resultados de la validación del método se presentan en la Tabla V.1.

El método cumple con los requisitos de selectividad, linealidad, precisión inter e intra-día y exactitud hasta el valor de curva de 0,3 µg/ml. Los resultados del análisis de precisión (coeficientes de variación intra-día e inter-día) y exactitud para la curva estándar, porcentajes de extracción y límites de cuantificación de la clindamicina en fase móvil y plasma canino y felino se presentan en el Anexo II.

Selectividad: No se detectaron picos cuantificables al tiempo de retención de la clindamicina, correspondiente a 3 - 3,2 minutos, en ninguno de los plasmas blanco analizados de caninos y felinos Figura V.1 y V.2.

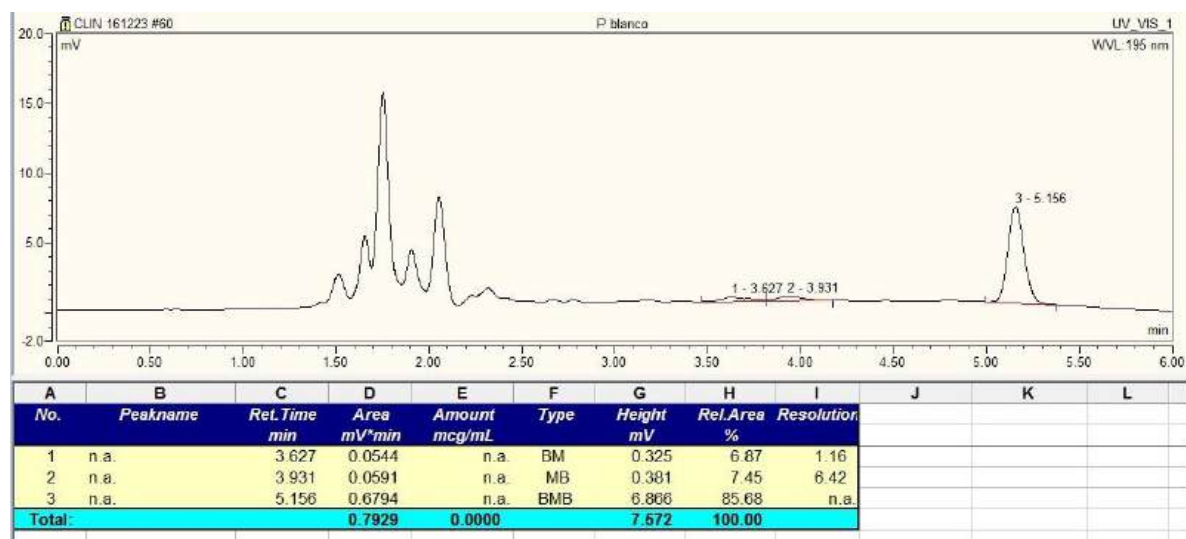


Figura V.1. Cromatograma correspondiente a una muestra de plasma canino sin antibiótico (blanco) que define la selectividad del método, no detectándose picos cuantificables de otros analitos en el tiempo de retención de la clindamicina (3 a 3,2 minutos).

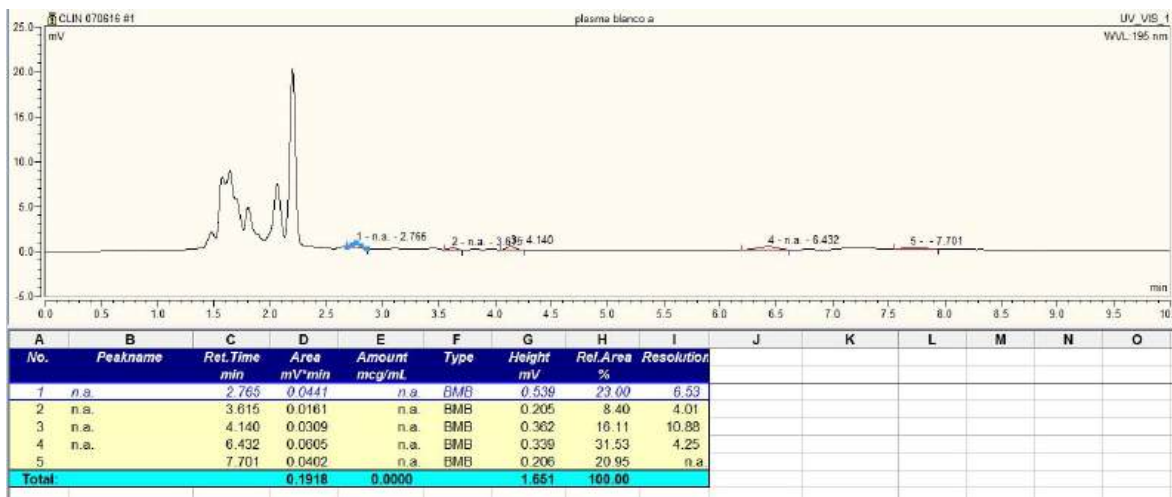


Figura V.2. Cromatograma correspondiente a una muestra de plasma felino sin antibiótico (blanco) que define la selectividad del método, no detectándose picos cuantificables de otros analitos en el tiempo de retención de la clindamicina (3 a 3,2 minutos).

Linealidad: Mediante un análisis de ANOVA se estableció que la regresión lineal para la curva estándar fue significativa ($p < 0,0001$) con un R^2 de 1, en el rango de concentraciones de 20 $\mu\text{g/ml}$ a 0,3 $\mu\text{g/ml}$.

Tabla V.1. Resultados de los parámetros evaluados para la validación del método analítico para la determinación de la clindamicina en plasma canino y felino mediante HPLC.

Tiempo total de corrida: 5 minutos.					
Tiempo de retención de la clindamicina: 3,1 ± 0,1 minutos (Figura V.3, V.4 y V.5).					
PARÁMETROS OBTENIDOS A PARTIR DE LA CURVA ESTÁNDAR EN FASE MÓVIL					
Curva estándar fase móvil	FM1	FM2	FM3	FM4	FM5
Linealidad (R ²)	0,9999	0,9999	0,9996	0,9997	0,9994
Prueba de falta de ajuste (ANOVA)	Regresión lineal significativa (p<0,0001) con un R ² de 1, en el rango de concentraciones de 20 µg/ml a 0,3 µg/ml				
Precisión intra-día (CV%)	0,38-4,15	0,53-2,84	0,53-3,29	0,80-6,46	0,1-2,47
Precisión inter-día (CV%)	4,24-13-34				
Exactitud (rango)	98,1-102,9	98,9-106,3	99-107,4	80-102,11	84,7-101,3
Límite de cuantificación	0,3 µg/ml CV% 12,8 Exactitud% 14,7				
Límite de detección	0,15 µg/ml				
Prueba de estabilidad de la clindamicina a -20°C					
Curva estándar	C1		C2		
Linealidad	0,9999		0,9998		
Pendiente (mV*min*ml/µg)	0,147885				
Ordenada al origen (µg/ml)	0,0100201				
PARÁMETROS OBTENIDOS A PARTIR DE LA VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA EN PLASMA DE PERRO					
Curva estándar plasma perro	ppA		ppB		ppC
Linealidad	0,9928		0,9975		0,9935
Prueba de falta de ajuste (ANOVA)	Regresión lineal significativa (p<0,0001) con un R ² de 1 para cada curva individual y R ² 0,99 para las tres en conjunto, en el rango de concentraciones de 20 µg/ml a 0,3 µg/ml.				
Límite de cuantificación	0,3 µg/ml CV% 9,7 Exactitud% 18,4				
Límite de detección	0,15 µg/ml				
Recuperación	68,6% D.E. 6,6 CV% 9,1				

Tabla V.1. Continúa

Tiempo total de corrida: 5 minutos.			
Tiempo de retención de la clindamicina: 3,1 ± 0,1 minutos (Figura V.3, V.4 y V.5).			
PARÁMETROS OBTENIDOS A PARTIR DE LA VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA EN PLASMA DE GATO			
Curva estándar plasma gato	pgA	pgB	pgC
Linealidad	0,9921	0,9953	0,9956
Prueba de falta de ajuste (ANOVA)	Regresión lineal significativa ($p < 0,0001$) con un R^2 de 0,99 para cada curva individual y R^2 0,98 para las tres en conjunto, en el rango de concentraciones de 20 $\mu\text{g/ml}$ a 0,3 $\mu\text{g/ml}$.		
Límite de cuantificación	0,3 $\mu\text{g/ml}$ CV% 4,9 Exactitud% 6,1		
Límite de detección	0,15 $\mu\text{g/ml}$		
Recuperación	77,6% D.E. 6,6 CV% 8,5		

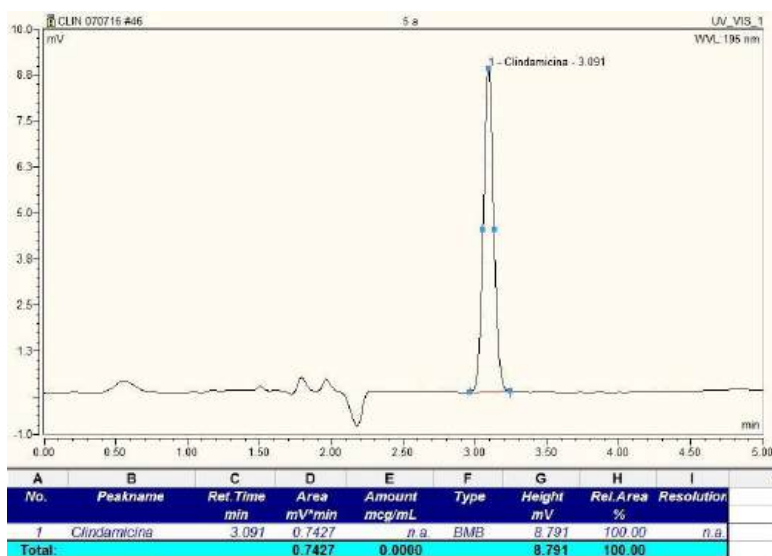


Figura V.3. Cromatograma correspondiente a la concentración de 5 $\mu\text{g/ml}$ de la curva estándar de la clindamicina en fase móvil. El pico presentó un tiempo de retención de 3,091 minutos con un área de 0,7427 mV.min.

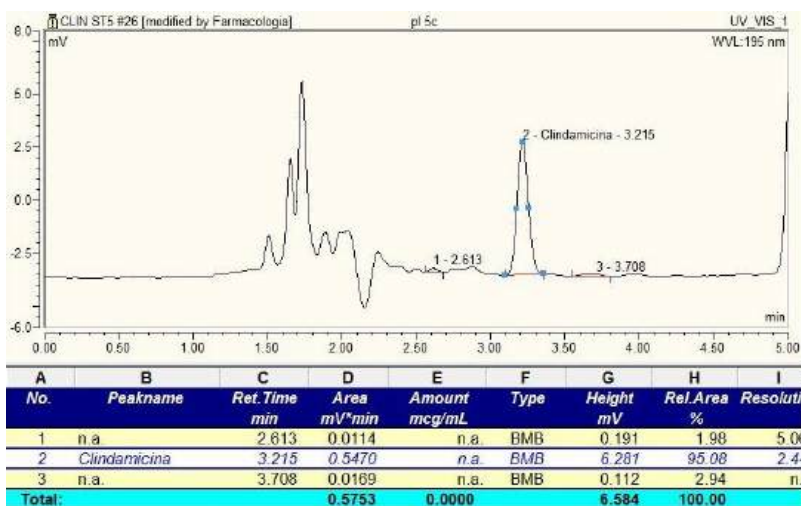


Figura V.4. Cromatograma correspondiente a la concentración de 5 µg/ml de la curva estándar de la clindamicina en plasma canino. El pico presentó un tiempo de retención de 3,215 minutos con un área de 0,5470 mV.min.

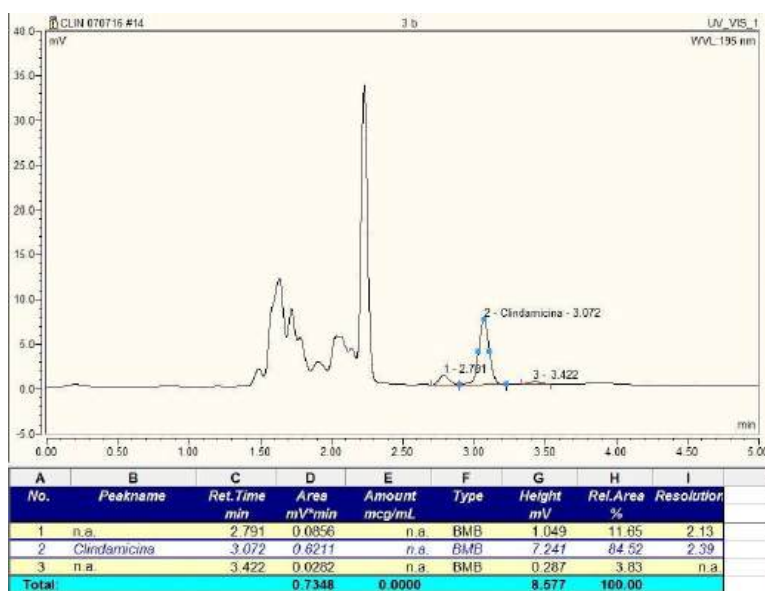


Figura V.5. Cromatograma correspondiente a la concentración de 5 µg/ml de la curva estándar de la clindamicina en plasma felino. El pico presentó un tiempo de retención de 3,072 minutos con un área de 0,6211 mV.min.

V.I.2. Análisis farmacocinético de las concentraciones plasmáticas de la clindamicina en perros

No se observaron efectos adversos en ninguno de los caninos durante o posterior a la administración de la clindamicina tanto por vía endovenosa como por vía oral (en ayunas o con alimento).

Las concentraciones plasmáticas de la clindamicina en perros luego de su administración por vía endovenosa (10 mg/kg), oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) en ayuno y luego de recibir una ración de alimento se muestran en las Tablas V.2, V.3 y V.4, respectivamente.

Tabla V.2. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en perros*, administrada por vía endovenosa (10 mg/kg) (valores individuales, media y desvío estándar, D.E.).

Tiempo (horas)	Concentración de clindamicina ($\mu\text{g/ml}$)							
	T	F	C	Q	P	R	Media	D.E.
0,08	12,43	11,05	7,90	8,33	13,38	12,70	10,96	2,34
0,16	10,73	10,15	8,45	8,57	11,10	12,57	10,26	1,57
0,33	9,06	8,84	5,29	5,50	9,65	11,40	8,29	2,41
0,50	7,77	8,33	5,99	6,69	6,69	11,42	7,82	1,96
0,75	7,06	7,07	5,02	5,31	7,09	9,64	6,86	1,65
1,00	6,40	6,64	4,95	4,70	5,40	9,83	6,32	1,89
1,50	6,05	5,00	3,07	4,94	6,37	5,93	5,23	1,21
2,00	4,70	6,14	2,91	3,92	5,15	7,58	5,07	1,65
3,00	3,91	4,66	2,32	4,15	4,78	7,05	4,48	1,54
4,00	2,79	4,35	2,09	3,71	4,65	5,28	3,81	1,20
6,00	1,97	1,95	1,03	1,46	1,67	3,92	2,00	1,00
8,00	1,02	1,41	0,83	1,22	1,50	2,64	1,44	0,64
10,00	0,67	0,57	0,54	0,61	0,09 ^a	1,75	0,82	0,52
12,00	0,83 ^b	1,04 ^b	0,42	0,60	0,04 ^a	1,28 ^b	0,84	0,34
24,00	1,53 ^b	0,98 ^b	0,38 ^b	0,39 ^b	0,02 ^a	1,21 ^b	0,75	0,58

* Las letras T, F, C, Q, P y R corresponden a cada perro (inicial del nombre).

^a Valor por debajo del límite de cuantificación.

^b Valor no incluido en el análisis farmacocinético de la curva de disposición y será discutido posteriormente en la sección correspondiente.

Tabla V.3. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en perros*, luego de ser administrada por vía oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) en ayunas (valores individuales, media y desvío estándar, D.E.).

Tiempo (horas)	Concentración de clindamicina ($\mu\text{g/ml}$)							Media	D.E.
	T	F	C	Q	P	R			
0,08	0,66	---	---	---	0,54	---	0,60	0,09	
0,16	1,64	---	0,15	---	3,21	0,21 ^a	1,31	1,45	
0,33	3,39	0,19	3,24	2,25	5,05	0,34	2,41	1,89	
0,50	3,13	1,69	3,59	2,77	5,43	0,25 ^a	2,81	1,75	
0,75	3,14	4,62	3,54	2,95	5,56	2,19	3,67	1,23	
1,00	3,17	4,52	2,94	3,26	5,01	3,78	3,78	0,83	
1,50	2,99	3,05	2,52	3,70	DP	3,22	3,10	0,43	
2,00	1,94	2,83	1,84	3,08	4,35	3,25	2,88	0,93	
3,00	1,61	2,42	1,30	1,81	4,01	2,06	2,20	0,96	
4,00	1,61	2,87	0,88	1,55	3,49	2,17	2,10	0,96	
6,00	0,61	1,25	0,76	0,84	2,65	1,16	1,21	0,74	
8,00	---	0,53	0,30	0,33	1,04	0,72	0,58	0,31	
10,00	---	0,34	0,47	0,33	---	0,34	0,37	0,07	
12,00	1,65 ^b	0,27 ^a	0,57 ^b	0,13 ^a	0,73	0,19 ^a	0,98	0,58	
24,00	1,47 ^b	0,21 ^a	0,38 ^b	0,07 ^a	0,34 ^b	0,05 ^a	0,42	0,53	

* Las letras T, F, C, Q, P y R corresponden a cada perro (inicial del nombre).

DP dato perdido.

^a Valor por debajo del límite de cuantificación.

^b Valor no incluido en el análisis farmacocinético de la curva de disposición y será discutido posteriormente en la sección correspondiente.

Tabla V.4. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en perros*, administrada por vía oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) luego de recibir una ración de alimento (valores individuales, media y desvío estándar, D.E.).

Tiempo (horas)	Concentración de clindamicina ($\mu\text{g/ml}$)							Media	D.E.
	T	F	C	Q	P	R			
0,08	0,67	0,66	0,67	0,94	---	---	0,73	0,14	
0,16	1,66	2,34	2,11	2,20	---	0,68	1,80	0,68	
0,33	2,79	4,23	2,57	1,56	---	3,64	2,96	1,03	
0,50	3,20	4,78	4,09	2,98	---	4,11	3,83	0,74	
0,75	2,63	4,39	3,40	3,12	---	3,89	3,49	0,68	
1,00	2,63	4,29	2,93	2,88	0,33	3,83	2,82	1,37	
1,50	2,41	3,77	2,86	2,43	0,38	3,65	2,58	1,23	
2,00	1,90	3,25	1,06	1,94	0,71	2,84	1,95	0,98	
3,00	1,50	3,07	1,75	2,04	0,95	2,69	2,00	0,78	
4,00	0,84	1,96	1,04	1,76	2,90	2,66	1,86	0,83	
6,00	0,33	1,39	DP	1,05	3,73	0,83	1,47	1,32	
8,00	---	0,71	DP	0,61	2,86	0,67	1,21	1,10	
10,00	---	0,63	0,31	0,49	1,77	0,36	0,71	0,60	
12,00	0,07 ^a	0,63 ^b	0,27 ^a	0,52 ^b	0,89	0,35	0,60	0,23	
24,00	0,45 ^b	0,80 ^b	0,25 ^a	0,12 ^a	0,63	0,19 ^a	0,41	0,27	

* Las letras T, F, C, Q, P y R corresponden a cada perro (inicial del nombre).

DP dato perdido.

^a Valor por debajo del límite de cuantificación.

^b Valor no incluido en el análisis farmacocinético de la curva de disposición y será discutido posteriormente en la sección correspondiente.

Las concentraciones por debajo del límite de cuantificación que se informan en las tablas no se utilizaron en el cálculo de la media y D.E., ni en el análisis farmacocinético.

Las curvas promedio (\pm D.E.) de la disposición plasmática de la clindamicina después de su administración endovenosa, oral en ayunas y luego de recibir alimento a perros se muestran en las Figuras V.6 y V.7, respectivamente. En el canino "P", luego de la administración de la droga por vía oral con alimento se observó un retraso importante en la absorción, por este motivo se decidió no incluir este animal en la Figura V.7 y se

muestra en forma individual en la Figura V.8. El análisis farmacocinético y la obtención de los parámetros correspondientes se hizo a partir de cada curva individual.

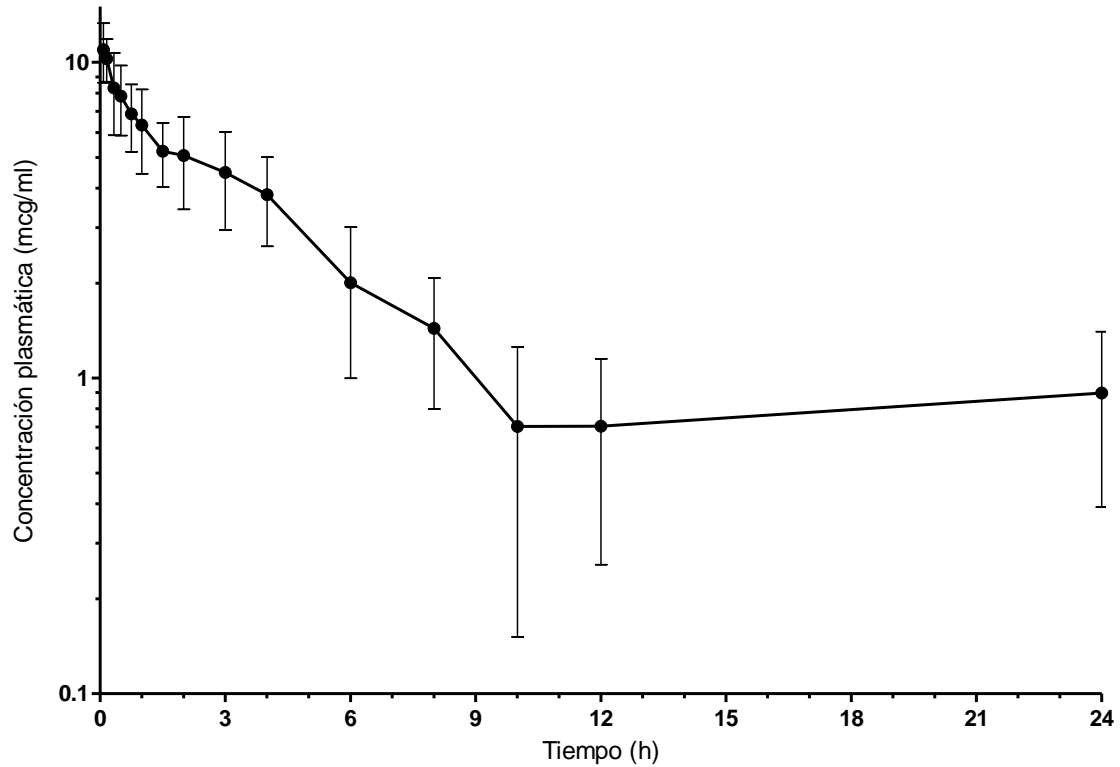


Figura V.6. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa en perros (media \pm D.E.) (n = 6).

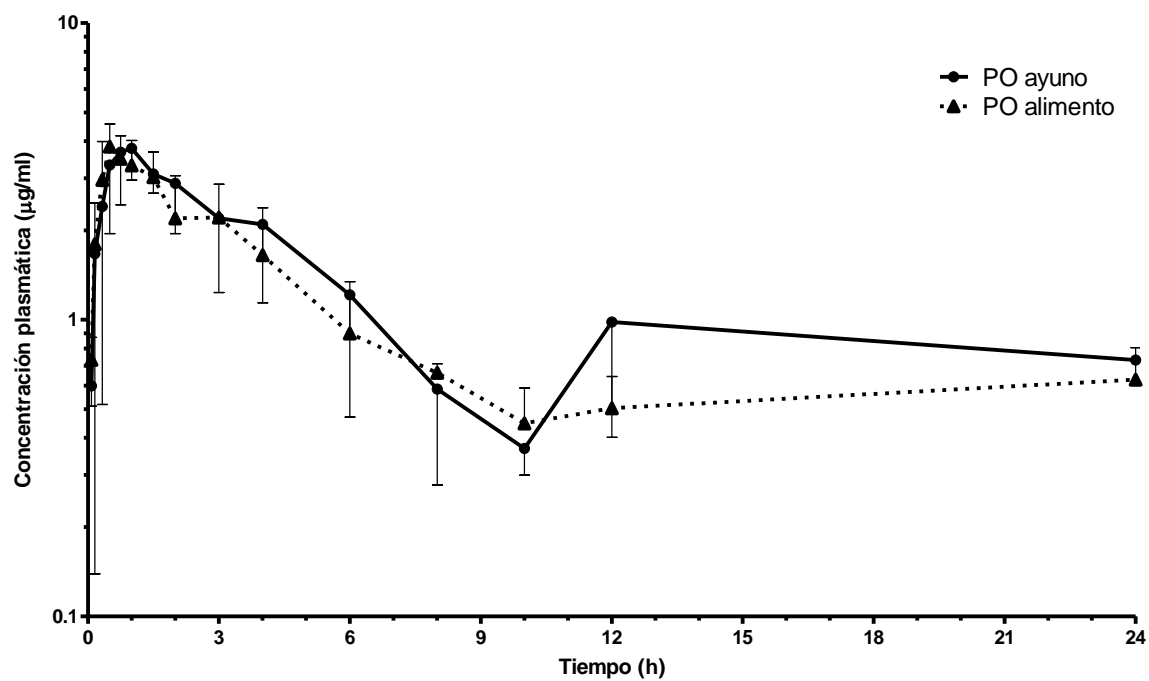


Figura V.7. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) por vía oral en ayunas ($n=6$) y con alimento ($n=5$) en perros (media \pm D.E.).

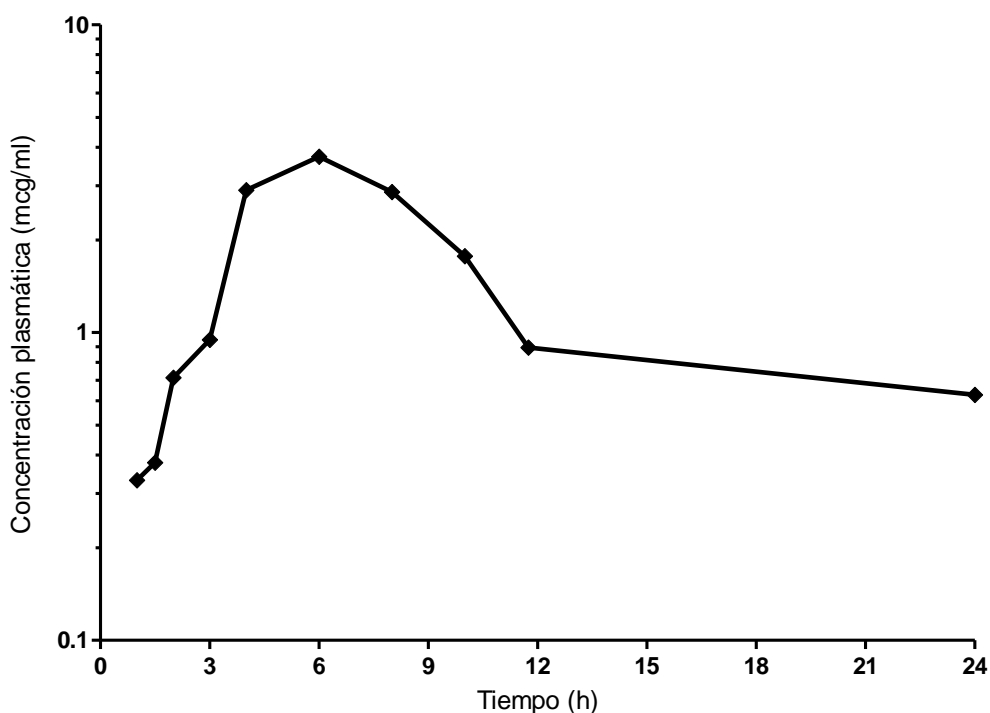


Figura V.8. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina (7,5 mg/kg) por vía oral luego de una ración de alimento al canino "P".

Para el estudio farmacocinético de los datos se optó por un análisis compartimental. El análisis de la curva de disposición plasmática de la clindamicina administrada por vía endovenosa a perros ajustó a un modelo bicompartimental. Mientras que, tras la administración oral, ajustó a un modelo monocompartimental. El modelo se seleccionó según el análisis de los residuales, la correlación entre los valores observados y los predichos y según los criterios de mínima parsimonia. Los resultados de los criterios de Akaike y Schwartz y de la correlación se muestran en el ANEXO III (en la Tabla AIII.1., para la administración endovenosa y en las Tablas AIII.2. y AIII.3., para las vías orales sin y con alimento).

Los parámetros farmacocinéticos resultantes del análisis de las curvas de disposición para las vías endovenosa, oral en ayunas y con alimento en caninos, se muestran en las Tablas V.5., V.6., y V.7., respectivamente. Como consecuencia de la absorción tan retardada observada en el canino "P" tras la administración oral de la droga luego de

recibir una ración de alimento, el perfil cinético fue muy diferente del resto de los animales, lo que imposibilitó su comparación. Teniendo en cuenta además que los puntos correspondientes a la fase de eliminación no fueron suficientes para un correcto análisis farmacocinético, se decidió excluirlo del análisis. Ver Figura V.8.

Tabla V.5. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa a perros*, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos luego de ser ajustados a un modelo bicompartimental abierto

Parámetro	Unidad	C	F	P	Q	R	T	Media	D.E.
A	µg/ml	4,58	4,09	8,99	3,29	3,09	6,26	5,05	2,24
B	µg/ml	4,21	7,94	8,32	6,91	10,83	8,00	7,70	2,15
Alfa	h ⁻¹	1,64	3,73	6,47	7,53	2,67	4,22	4,38	2,25
Beta	h ⁻¹	0,20	0,19	0,21	0,22	0,18	0,24	0,21	0,02
ABC _{0-∞}	h*µg/ml	23,40	42,31	41,04	31,55	61,58	34,47	39,06	13,00
ABC _{0-t} **	h*µg/ml	21,67	35,72	33,59	29,81	52,02	31,54	34,06	10,04
t _{1/2(10)}	h	1,85	2,44	1,64	2,14	3,07	1,68	2,13	0,55
t _{1/2d}	h	0,42	0,19	0,11	0,09	0,26	0,16	0,21	0,12
t _{1/2el}	h	3,39	3,60	3,30	3,12	3,87	2,86	3,36	0,35
k ₁₀	h ⁻¹	0,38	0,28	0,42	0,32	0,23	0,41	0,34	0,08
k ₁₂	h ⁻¹	0,57	1,11	3,04	2,26	0,51	1,58	1,51 ^a	0,99
k ₂₁	h ⁻¹	0,89	2,53	3,22	5,17	2,11	2,48	2,73 ^a	1,42
K ₁₂ /k ₂₁	-	0,65	0,44	0,94	0,44	0,24	0,64	0,56	0,24
Cp ₀	µg/ml	8,79	12,03	17,32	10,21	13,92	14,26	12,75	3,07
V _c	l/kg	1,14	0,83	0,58	0,98	0,72	0,70	0,82	0,20
Cl	l/h/kg	0,43	0,24	0,24	0,32	0,16	0,29	0,28	0,09
ABMC	h*h*µg/ml	102,60	214,17	189,06	140,10	337,40	136,33	186,61	83,97
TMR	h	4,38	5,06	4,61	4,44	5,48	3,96	4,65	0,54
V _{ss}	l/kg	1,87	1,20	1,12	1,41	0,89	1,15	1,27	0,34

* Las letras C, F, P, Q, R y T corresponden a cada perro (inicial del nombre).

** Parámetro obtenido del análisis no compartimental.

^aDiferencias estadísticamente significativas (p < 0,05).

Tabla V.6. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) por vía oral en ayunas a perros*, valores individuales, media y desvío estándar (D.E), obtenidos luego de ser ajustado aun modelo monocompartimental abierto.

Parámetro	Unidad	C	F	P	Q	R	T	Media	D.E.
k_{01}	h^{-1}	4,80	1,06	3,30	1,98	0,97	3,68	2,63	1,54
k_{10}	h^{-1}	0,23	0,33	0,20	0,32	0,31	0,31	0,28	0,06
$ABC_{0-\infty}$	$h^*\mu g/ml$	15,26	19,55	34,36	14,94	17,09	13,07	19,04	7,82
ABC_{0-t}^{**}	$h^*\mu g/ml$	11,17	17,52	26,90	14,07	15,74	11,05	16,08	5,88
$t_{1/2a}$	h	0,14	0,65	0,21	0,35	0,71	0,19	0,38	0,25
$t_{1/2el}$	h	3,06	2,08	3,50	2,14	2,23	2,21	2,54	0,59
t_{max}	h	0,67	1,59	0,91	1,09	1,73	0,73	1,12	0,45
C_{max}	$\mu g/ml$	2,97	3,83	5,69	3,40	3,10	3,26	3,71	1,01
$F(\%)$	%	71,73	48,08	110,46	56,37	42,23	45,51	62,39	25,81

* Las letras C, F, P, Q, R y T corresponden a cada perro (inicial del nombre).

** Parámetro obtenido del análisis no compartimental.

Tabla V.7. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) por vía oral a perros luego de recibir una ración de alimento, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos luego de ser ajustado a un modelo monocompartimental abierto.

Parámetro	Unidad	C	F	Q	R	T	Media	D.E.
k_{01}	h^{-1}	4,51	3,76	4,90	2,76	3,48	3,88	0,85
k_{10}	h^{-1}	0,32	0,24	0,20	0,26	0,41	0,29	0,08
$ABC_{0-\infty}$	$h^*\mu g/ml$	12,34	22,20	16,56	19,45	9,62	16,03	5,12
ABC_{0-t}^{**}	$h^*\mu g/ml$	12,11	19,94	14,26	18,71	8,77	14,76	4,62
$t_{1/2a}$	h	0,15	0,18	0,14	0,25	0,20	0,19	0,04
$t_{1/2el}$	h	2,16	2,86	3,50	2,65	1,68	2,57	0,69
t_{max}	h	0,63	0,78	0,68	0,94	0,70	0,75	0,12
C_{max}	$\mu g/ml$	3,24	4,45	2,87	3,97	2,98	3,50	0,68
$F(\%)$	%	56,42	53,00	64,00	49,28	32,63	51,07	17,25

* Las letras C, F, Q, R y T corresponden a cada canino (inicial del nombre).

** Parámetro obtenido del análisis no compartimental.

V.I.3. Análisis estadístico de la farmacocinética de la clindamicina administrada a perros

Se contrastaron los valores de los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego de la administración de la clindamicina a perros por vía endovenosa, por vía oral en ayunas y luego de recibir alimento. El parámetro $t_{1/2el}$, para los tres grupos, se analizó mediante un test de ANOVA con un post test de Tukey. Los parámetros C_{max} , T_{max} , F , k_{01} , k_{10} y $t_{1/2a}$, para las vías orales con y sin alimento, se analizaron mediante el test t de student.

Comparando la $t_{1/2el}$ entre la vía endovenosa vs las vías orales no se observaron diferencias significativas para este parámetro. Por otro lado la presencia de alimento en el tubo digestivo en caninos produjo modificaciones significativas ($p < 0,05$) en el proceso de absorción, aumentando la velocidad del mismo y reflejándose en los parámetros T_{max} , k_{01} y $t_{1/2a}$. Resultando, la administración de la clindamicina con alimento, en una menor $t_{1/2a}$ y T_{max} y una mayor k_{01} , respecto a la administración en ayunas. Estas diferencias se muestran en la Figura V.9. La administración del antibiótico vía oral con alimento no produjo modificaciones sobre los procesos cinéticos restantes, no detectándose diferencias entre las C_{max} , F , k_{10} y $t_{1/2el}$. Los resultados del análisis estadístico se muestran en la Tabla V.8.

Tabla V.8. Comparación y análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos de la clindamicina (media \pm D.E.) en caninos*, administrada vía endovenosa (10 mg/kg) y vía oral (8,3 \pm 1,1 mg/kg) en ayunas y luego de recibir alimento.

Parámetro	Unidad	Vía endovenosa	Vía oral en ayunas	Vía oral con alimento
		Media \pm D.E.	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.
k_{01}	h^{-1}	-	2,63 \pm 1,54	3,88 \pm 0,85 ^a
k_{10}	h^{-1}	-	0,28 \pm 0,06	0,29 \pm 0,08
$t_{1/2a}$	h	-	0,38 \pm 0,25	0,19 \pm 0,04 ^a
$t_{1/2el}$	h	3,36 \pm 0,35	2,54 \pm 0,59	2,57 \pm 0,69
t_{max}	h	-	1,12 \pm 0,45	0,75 \pm 0,12 ^a
C_{max}	$\mu g/ml$	-	3,71 \pm 1,01	3,50 \pm 0,68
F(%)	%	-	62,39 \pm 25,81	51,07 \pm 17,25

^aDiferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

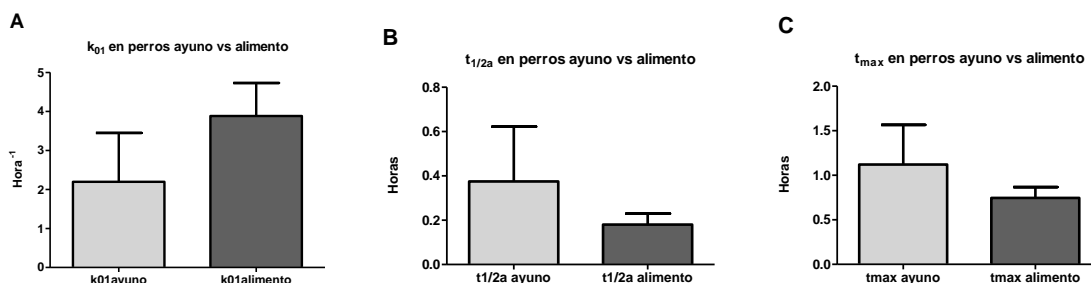


Figura V.9. Comparación de los parámetros farmacocinéticos en los que se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), entre la administración oral (8,3 \pm 1,1 mg/kg) de la clindamicina a perros en ayunas y luego de recibir una ración de alimento. A: corresponde a la k_{01} B: corresponde a la $t_{1/2a}$. C: corresponde al t_{max} .

V.I.4. Análisis farmacocinético de las concentraciones plasmáticas de la clindamicina en gatos

Tras la administración de la droga en las diferentes experiencias no se observaron efectos colaterales clínicamente significativos en ninguno de los gatos. Algunos animales presentaron signología digestiva luego de la administración de la clindamicina, particularmente en ayunas, 2 animales vomitaron 2 horas posteriores a la toma del antimicrobiano (gato F y J) y 3 animales presentaron una deposición pastosa (gato G, H, I). El gato H también tuvo una deposición pastosa tras la administración por vía endovenosa. Estos signos clínicos resultaron hechos aislados que remitieron sin la necesidad de instaurar tratamiento médico alguno.

Las concentraciones plasmáticas de la clindamicina en gatos luego de su administración por vía endovenosa (10 mg/kg), oral (15 mg/kg) en ayuno y luego de recibir una ración de alimento se muestran en las Tabla V.9, Tabla V.10 y Tabla V.11, respectivamente.

Tabla V.9. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en gatos*, luego de ser administrada por vía endovenosa (10 mg/kg) (valores individuales, media y desvío estándar, D.E.).

Tiempo (horas)	Concentración de clindamicina (µg/ml)							
	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
0,08	11,71	8,22	DP	9,24	DP	DP	9,72	2,10
0,16	9,04	7,65	11,81	8,42	DP	8,06	9,00	2,17
0,33	5,62	7,52	10,28	7,53	5,77	8,06	7,47	1,71
0,50	5,83	6,48	9,82	7,18	5,30	7,37	7,00	1,59
0,75	4,94	5,05	8,14	6,27	4,17	7,31	5,98	1,53
1,00	3,78	4,17	8,26	5,46	2,53	6,24	5,07	2,03
1,50	4,36	4,10	7,55	4,17	2,80	6,35	4,89	1,73
2,00	3,36	3,23	3,77	3,51	2,22	4,13	3,37	0,65
3,00	2,14	3,72	4,08	2,71	1,16	3,45	2,88	1,09
4,00	1,45	1,09	2,94	1,99	1,09	3,55	2,02	1,03
6,00	0,81	0,83	1,52	1,15	0,42	2,85	1,27	0,86
8,00	0,12 ^a	0,37	1,19	0,55	0,12 ^a	0,85	0,74	0,42
10,00	0,02 ^a	0,01 ^a	0,77	0,25 ^a	0,01 ^a	0,86	0,81	0,39
12,00	---	0,12 ^a	0,56	0,27 ^a	0,04 ^a	0,62	0,59	0,26
24,00	---	---	1,00 ^b	0,02 ^a	---	0,16 ^a	---	---

* Las letras F, G, H, I, J y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

DP Dato perdido.

^a Valor por debajo del límite de cuantificación.

^b Valor no incluido en el análisis farmacocinético de la curva de disposición y será discutido posteriormente en la sección correspondiente.

Tabla V.10. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en gatos*, luego de ser administrada por vía oral (15 mg/kg) en ayunas (valores individuales, media y desvío estándar, D.E.).

Tiempo (horas)	Concentración de clindamicina (µg/ml)							
	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
0,08	0,19 ^a	1,90	0,56	3,97	4,19	1,68	2,46	1,68
0,16	3,73	4,18	3,39	4,45	4,22	2,97	3,82	0,57
0,33	5,86	7,17	4,02	5,08	5,96	3,87	5,33	1,26
0,50	6,10	7,26	4,12	7,12	5,20	3,32	5,52	1,60
0,75	5,89	6,17	3,51	6,56	5,61	5,12	5,48	1,08
1,00	6,23	4,85	4,76	6,50	6,54	4,45	5,55	0,97
1,50	5,69	5,53	4,38	4,89	3,22	3,93	4,61	0,95
2,00	4,90	5,32	2,19	5,07	1,81	3,47	3,79	1,54
3,00	3,74	3,25	1,90	3,72	1,81	2,50	2,82	0,87
4,00	DP	3,38	1,18	3,02	1,22	1,72	2,10	1,03
6,00	3,21	3,48	0,76	2,70	0,62	0,98	1,96	1,31
8,00	2,67	2,48	0,51	1,68	0,27 ^a	0,75	1,62	1,03
10,00	2,14	0,70	0,35	1,30	0,08 ^a	1,52 ^b	1,12	0,78
12,00	1,54	0,38	2,52 ^b	1,05	0,01 ^a	0,77 ^b	0,99	0,89
24,00	0,22 ^a	0,13 ^a	0,27 ^a	0,46 ^b	0,07 ^a	0,04 ^a	---	---

* Las letras F, G, H, I, J y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

DP Dato perdido.

^a Valor por debajo del límite de cuantificación.

^b Valor no incluido en el análisis farmacocinético de la curva de disposición y será discutido posteriormente en la sección correspondiente

Tabla V.11. Concentraciones plasmáticas de la clindamicina en gatos*, administrada por vía oral (15 mg/kg) luego de recibir una ración de alimento (valores individuales, media y desvío estándar, D.E.).

Tiempo (horas)	Concentración de clindamicina (µg/ml)							
	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
0,08	0,02 ^a	0,04 ^a	0,45	0,43	0,35	DP	0,41	0,21
0,16	0,31	1,68	3,53	3,84	0,79	DP	2,03	1,59
0,33	3,47	4,29	5,36	4,72	DP	4,52	4,47	0,69
0,50	4,57	5,19	6,03	6,31	0,89	5,48	4,75	1,99
0,75	5,54	2,37	5,32	6,18	1,42	4,82	4,27	1,92
1,00	6,73	5,07	5,87	5,00	1,87	4,36	4,82	1,66
1,50	5,26	6,19	5,63	4,09	1,58	3,84	4,43	1,66
2,00	4,14	5,59	4,92	4,24	1,66	3,01	3,93	1,40
3,00	3,88	5,71	4,38	2,99	1,62	2,31	3,48	1,48
4,00	2,74	4,74	3,05	2,41	0,99	3,18	2,85	1,22
6,00	1,87	3,32	3,84	1,41	1,49	1,15	2,18	1,12
8,00	1,21	2,19	2,97	0,80	2,33	0,96	1,74	0,87
10,00	0,77	1,75	1,64	0,41	2,20	0,39	1,19	0,77
12,00	0,93 ^b	1,31	0,87	0,24 ^a	1,86	0,27 ^a	1,07	0,62
24,00	0,83 ^b	0,29 ^a	0,81 ^b	0,15 ^a	0,17 ^a	---	---	---

* Las letras F, G, H, I, J y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

DP Dato perdido.

^a Valor por debajo del límite de cuantificación.

^b Valor no incluido en el análisis farmacocinético de la curva de disposición y será discutido posteriormente en la sección correspondiente.

Las concentraciones por debajo del límite de cuantificación se informan, pero no se utilizaron en el cálculo de la media y D.E., ni en el análisis farmacocinético.

Las curvas promedio (± D.E.) de la disposición plasmática de la clindamicina después de su administración endovenosa, oral en ayunas y luego de una ración de alimento a gatos se muestran en las Figuras V.10 y V.11, respectivamente. El felino "J" presentó una absorción errática luego de recibir el antimicrobiano con la ración de alimento, por lo tanto no se incluyó en la figura V.11 y su curva de disposición se muestra en la Figura V.12.

El análisis farmacocinético se hizo a partir de cada curva individual.

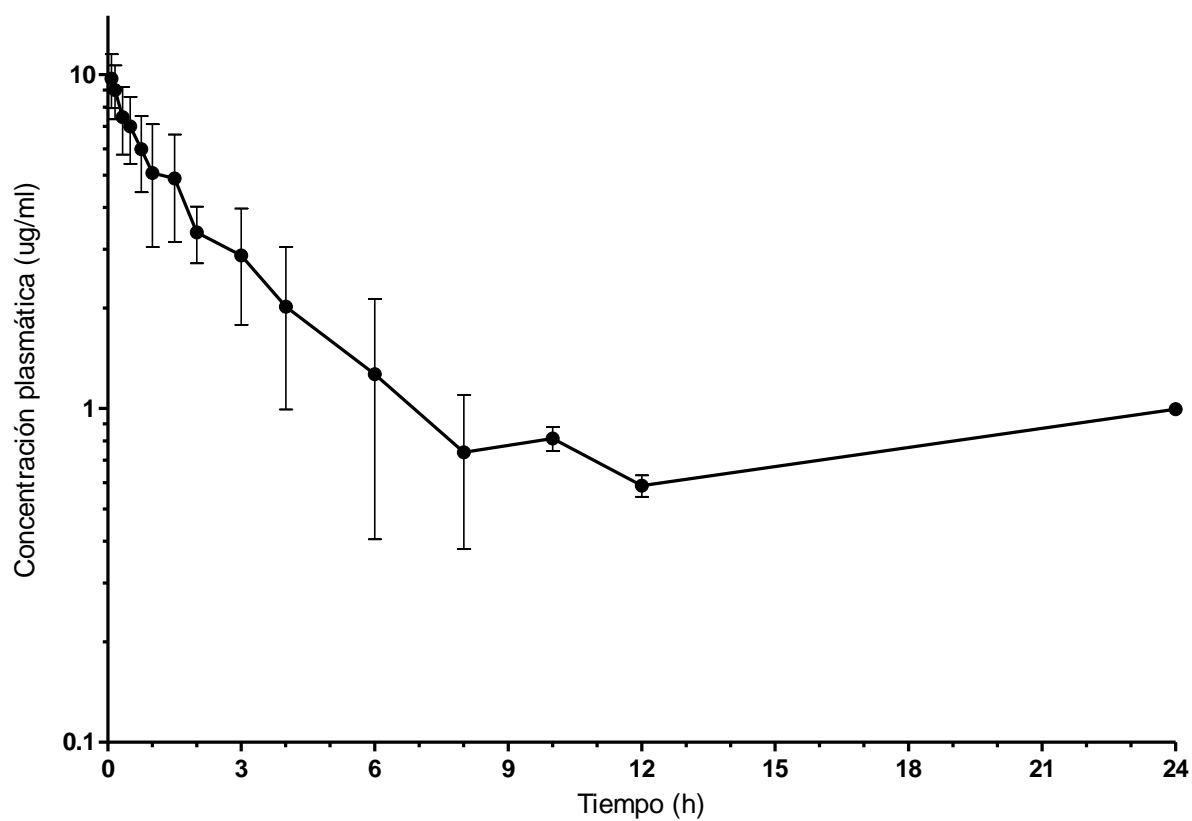


Figura V.10. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa en gatos (media \pm D.E.) (n = 6).

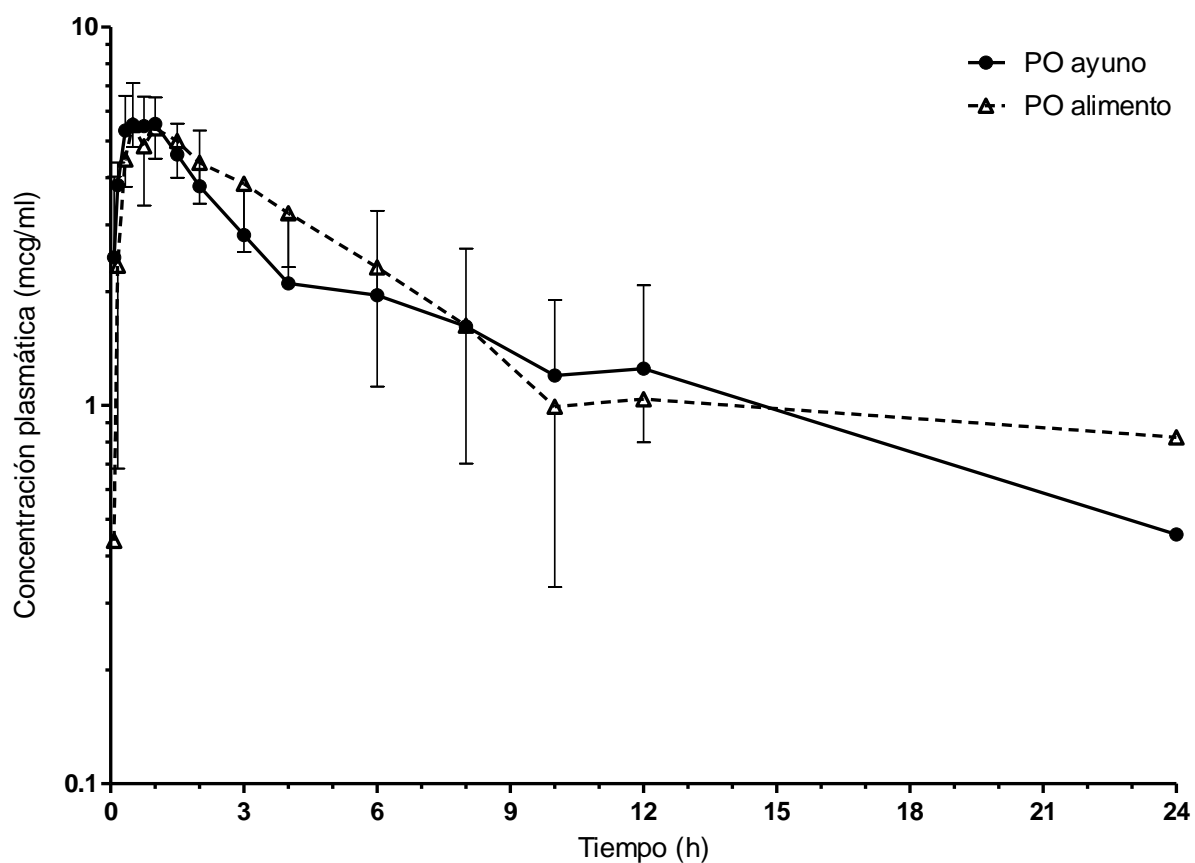


Figura V.11. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina (15 mg/kg) en gatos por vía oral en ayunas (n=6) y luego de ser alimentados (n=5) (media \pm D.E.).

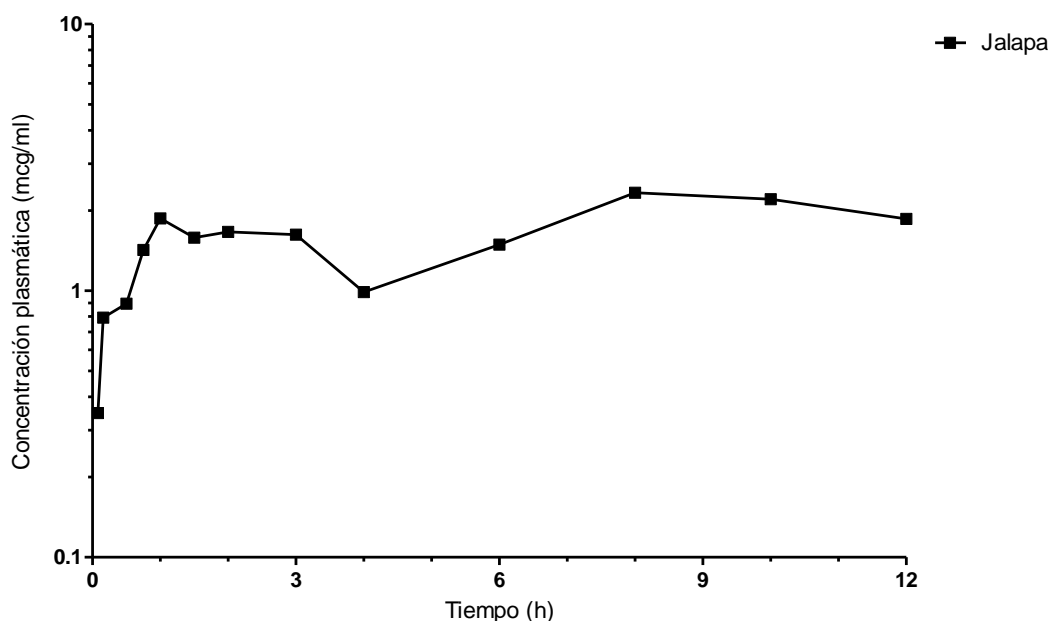


Figura V.12. Concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración de la clindamicina (15 mg/kg) al felino "J" por vía oral luego de recibir una ración de alimento.

Para el estudio farmacocinético de los datos se optó por un análisis compartimental. El análisis de la curva de disposición plasmática de la clindamicina administrada por vía endovenosa a gatos se ajustó a un modelo bicompartimental en los 6 animales mientras que tras la administración oral ajustó a un modelo monocompartimental. El modelo se seleccionó según el análisis de los residuales, la correlación entre los valores observados y los predichos y según los criterios de mínima parsimonia. Los resultados de los criterios de Akaike y Schwartz y de la correlación se muestran en el ANEXO III (en la Tabla AIII.4, para la administración endovenosa y en las Tablas AIII.5 y AIII.6, para las vías orales en ayunas y luego de recibir una ración de alimento, respectivamente).

Los parámetros farmacocinéticos resultantes del análisis de las curvas de disposición para las vías endovenosa, oral en ayunas y luego de ser alimentados de la clindamicina administrada a gatos, se muestran en las Tablas V.12, V.13, y V.14, respectivamente.

No se pudieron calcular los parámetros farmacocinéticos para la administración oral de la clindamicina luego de recibir una ración de alimento en el animal J ya que presentó una absorción errática manteniendo concentraciones constantes, en meseta, durante todo el tiempo muestreado (ver Figura V.12.).

Tabla V.12. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa a gatos*, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos luego de ser ajustados a un modelo bicompartimental abierto.

Parámetro	Unidad	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
A	µg/ml	11,80	2,46	7,71	3,47	5,39	1,52	5,39	3,84
B	µg/ml	6,34	6,71	4,83	6,16	4,35	7,39	5,96	1,15
alfa	h⁻¹	9,25	3,33	0,69	1,48	2,79	1,17	3,12	3,17
beta	h⁻¹	0,35	0,34	0,18	0,29	0,38	0,21	0,29	0,08
ABC_{0-∞}	h*µg/ml	19,52	20,51	37,36	23,65	13,42	36,82	25,22	9,78
ABC_{0-t}**	h*µg/ml	17,33	19,29	34,58	21,86	11,96	33,85	23,15	9,17
t_{1/2(10)}	h	0,75	1,55	2,07	1,70	0,96	2,87	1,65	0,77
t_{1/2d}	h	0,07	0,21	1,00	0,47	0,25	0,59	0,43	0,33
t_{1/2el}	h	2,00	2,04	3,77	2,40	1,83	3,33	2,56	0,80
k₁₀	h⁻¹	0,93	0,45	0,34	0,41	0,73	0,24	0,51	0,26
k₁₂	h⁻¹	5,21	0,69	0,16	0,31	0,99	0,13	1,25^a	1,97
k₂₁	h⁻¹	3,46	2,53	0,38	1,05	1,46	1,01	1,65^a	1,14
K₁₂/k₂₁	-	1,51	0,27	0,43	0,30	0,68	0,13	0,55	0,50
Cp₀	µg/ml	18,14	9,17	12,54	9,63	9,74	8,90	11,35	3,57
V_c	l/kg	0,55	1,09	0,80	1,04	1,03	1,12	0,94	0,22
CI	l/h/kg	0,51	0,49	0,27	0,42	0,74	0,27	0,45	0,18
ABMC	h*h*µg/ml	52,66	58,50	158,76	75,28	31,06	171,99	91,37	59,19
TMR	h	2,70	2,85	4,25	3,18	2,31	4,67	3,33	0,93
V_{ss}	l/kg	1,38	1,39	1,14	1,35	1,72	1,27	1,37	0,20

* Las letras F, G, H, I, J y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

** Parámetro obtenido del análisis no compartimental.

^aDiferencias estadísticamente significativas (p < 0,05) (sin considerar al gato "F" en el análisis).

Tabla V.13. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (15 mg/kg) por vía oral en ayunas a gatos*, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos luego de ser ajustados a un modelo monocompartmental abierto.

Parámetro	Unidad	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
k_{01}	h^{-1}	6,20	5,98	4,26	8,94	8,61	4,36	6,39	2,01
k_{10}	h^{-1}	0,12	0,18	0,33	0,17	0,47	0,28	0,26	0,13
$ABC_{0-\infty}$	$h^*\mu g/ml$	54,01	40,29	16,05	40,06	15,35	19,63	30,90	16,10
ABC_{0-t}^{**}	$h^*\mu g/ml$	39,87	35,55	15,06	34,20	14,06	17,15	25,98	11,76
$t_{1/2a}$	h	0,11	0,12	0,16	0,08	0,08	0,16	0,12	0,04
$t_{1/2el}$	h	5,79	3,95	2,13	4,07	1,47	2,49	3,32	1,59
t_{max}	h	0,65	0,61	0,65	0,45	0,36	0,67	0,57	0,13
C_{max}	$\mu g/ml$	5,98	6,35	4,22	6,31	6,13	4,53	5,59	0,95
F(%)	%	184,44	130,93	28,64	112,93	76,23	35,54	94,78	59,84

* Las letras F, G, H, I, J y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

** Parámetro obtenido del análisis no compartimental.

Tabla V.14. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (15 mg/kg) por vía oral a gatos* luego de recibir una ración de alimento, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos luego de ser ajustados a un modelo monocompartmental abierto.

Parámetro	Unidad	F	G	H	I	K	Media	D.E.
k_{01}	h^{-1}	1,95	1,81	3,76	4,03	7,32	3,77	2,23
k_{10}	h^{-1}	0,25	0,15	0,14	0,28	0,24	0,21	0,06
$ABC_{0-\infty}$	$h^*\mu g/ml$	28,83	49,89	45,53	23,80	23,51	34,31	12,51
ABC_{0-t}^{**}	$h^*\mu g/ml$	26,16	40,53	39,43	22,72	20,99	29,97	9,34
$t_{1/2a}$	h	0,35	0,38	0,18	0,17	0,09	0,24	0,12
$t_{1/2el}$	h	2,73	4,63	4,79	2,44	2,94	3,51	1,12
t_{max}	h	1,20	1,50	0,90	0,71	0,49	0,96	0,40
C_{max}	$\mu g/ml$	5,40	5,97	5,78	5,53	4,94	5,52	0,39
F(%)		98,46	162,14	81,25	67,09	42,56	90,30	45,08

* Las letras F, G, H, I y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

** Parámetro obtenido del análisis no compartimental.

V.I.5. Análisis estadístico de la farmacocinética de la clindamicina administrada a gatos

Se contrastaron los valores de los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego de la administración de la clindamicina a gatos por vía endovenosa, por vía oral en ayunas y luego de recibir alimento. El parámetro $t_{1/2el}$, para los tres grupos, se analizó mediante un test de ANOVA con un post test de Tukey. Los parámetros C_{max} , T_{max} , F , k_{01} , k_{10} y $t_{1/2a}$, para la vía oral con y sin alimento, se analizaron mediante el test t de student.

La $t_{1/2el}$ no presentó diferencias significativas entre la vía endovenosa y las vías enterales. La presencia de alimento en el tubo digestivo en felinos produjo modificaciones significativas ($p < 0,05$) en el proceso de absorción de la clindamicina, disminuyendo la velocidad de la misma y evidenciándose esto en los parámetros T_{max} , k_{01} y $t_{1/2a}$. Así fue como la administración del antibiótico con alimento produjo una mayor $t_{1/2a}$ y T_{max} , mientras que la k_{01} resultó menor, respecto a la administración en ayunas. Estas diferencias se muestran en la Figura V.13. La administración oral de la clindamicina con alimento no produjo modificaciones sobre los procesos cinéticos restantes, no encontrándose diferencias entre las C_{max} , F , k_{10} y $t_{1/2el}$. Los resultados del análisis estadístico se muestran en la Tabla V.15.

Tabla V.15. Comparación y análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos de la clindamicina (media ± D.E.) en felinos, administrada vía endovenosa (10 mg/kg) y vía oral (15 mg/kg) en ayunas y luego de recibir alimento.

Parámetro	Unidad	Vía endovenosa	Vía oral en ayunas	Vía oral con alimento
		Media ± D.E.	Media ± D.E.	Media ± D.E.
k_{01}	h^{-1}	-	6,39 ± 2,01	3,77 ± 2,23 ^a
k_{10}	h^{-1}	-	0,26 ± 0,13	0,21 ± 0,06
$t_{1/2a}$	h	-	0,12 ± 0,04	0,24 ± 0,12 ^a
$t_{1/2el}$	h	2,56 ± 0,80	3,32 ± 1,59	3,51 ± 1,12
t_{max}	h	-	0,57 ± 0,13	0,96 ± 0,40 ^a
C_{max}	$\mu g/ml$	-	5,59 ± 0,95	5,52 ± 0,39
$F(\%)$	%	-	94,78 ± 59,84	90,30 ± 45,08

^a Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

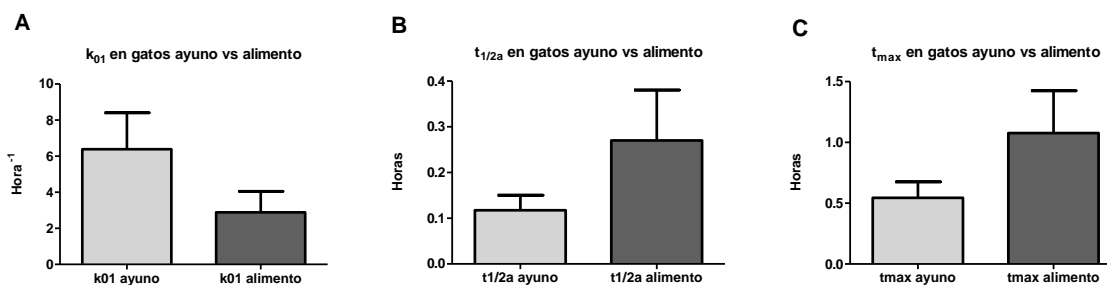


Figura V.13. Comparación de los parámetros farmacocinéticos en los que se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), entre la administración oral (15 mg/kg) de la clindamicina a gatos en ayunas y luego de recibir una ración de alimento. A: corresponde a la k_{01} . B: corresponde a la $t_{1/2a}$. C: corresponde al t_{max} .

V.I.6. Comparación estadística de la farmacocinética de la clindamicina entre caninos y felinos

Para analizar las diferencias en el perfil farmacocinético de la clindamicina entre caninos y felinos, se realizó la prueba t de student sobre los principales parámetros. También se analizaron las diferencias que produjo el alimento sobre la absorción oral de la clindamicina empleando la misma prueba.

No se observaron diferencias significativas entre perros y gatos en V_c y V_{ss} . Si se encontraron diferencias significativas en los parámetros $ABC_{0-\infty}$, $t_{1/2el}$, CI y TMR, siendo en perros superior el $ABC_{0-\infty}$, la $t_{1/2el}$ y el TMR e inferior su CI, respecto a los gatos. Resultando en una eliminación más lenta en caninos en comparación a los felinos. Estos resultados se muestran en la Tabla V.16 y Figura V.14.

En relación a la etapa de absorción, ocurrió de forma más lenta en perros, hallándose diferencias significativas en los parámetros k_{01} , $t_{1/2a}$ y t_{max} . La k_{01} resultó menor en caninos mientras que la $t_{1/2a}$ y el t_{max} fueron superiores a los valores encontrados en los felinos. Los resultados se muestran en la Tabla V.17 y los parámetros con diferencias estadísticamente significativas se muestran en la Figura V.15.

Por último, al evaluar estos mismos parámetros para la administración oral del antibiótico pero sumando la variable alimento, solo se encontraron diferencias significativas en la F, siendo ésta menor en los perros respecto a los gatos. Los resultados se muestran en la Tabla V.18 y en la Figura V.15.

Se compararon también las áreas de las vías orales (corregidas por la dosis) en caninos respecto a felinos, tanto en ayuno como luego de alimentados, dando un valor de 1,11 en condición de ayuno y 0,84 luego de recibir alimento.

Tabla V.16. Comparación y análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego de la administración endovenosa de la clindamicina (10 mg/kg) a caninos y felinos.

Parámetro	Unidad	Vía endovenosa perros	Vía endovenosa gatos
		Media ± D.E.	Media ± D.E.
$ABC_{0-\infty}$	$h \cdot \mu g/ml$	39,06 ± 13,00	25,22 ± 9,78 ^a
$t_{1/2el}$	h	3,36 ± 0,35	2,56 ± 0,80 ^a
V_c	l/kg	0,82 ± 0,20	0,94 ± 0,22
V_{ss}	l/kg	1,27 ± 0,34	1,37 ± 0,20
k_{12}	h^{-1}	1,51 ± 0,99	1,25 ± 1,97
k_{21}	h^{-1}	2,73 ± 1,42	1,65 ± 1,14
K_{12}/k_{21}	-	0,56 ± 0,24	0,55 ± 0,50
CI	l/h/kg	0,28 ± 0,09	0,45 ± 0,18 ^a
TMR	h	4,65 ± 0,54	3,33 ± 0,93 ^a

^a Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

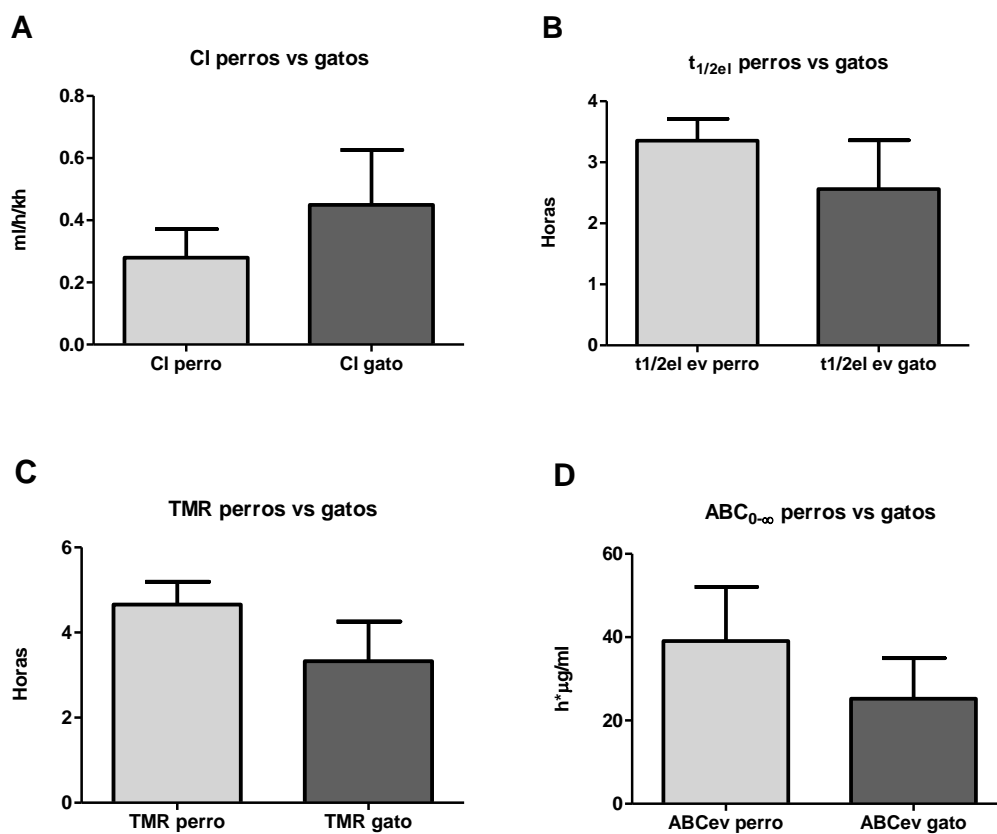


Figura V.14. Comparación de los parámetros farmacocinéticos en los que se encontraron diferencias estadísticamente significativas, obtenidos luego de la administración endovenosa (10 mg/kg) de la clindamicina a perros y gatos. A: corresponde al Cl. B: corresponde a la t_{1/2el}. C: Corresponde al TMR. D: Corresponde al ABC_{0-∞}.

Tabla V.17. Comparación y análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego de la administración oral en ayunas de la clindamicina a caninos ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) y felinos (15 mg/kg).

Parámetro	Unidad	Vía oral en ayuno perros	Vía oral en ayuno gatos
		Media \pm D.E.	Media \pm D.E.
k_{01}	h^{-1}	$2,63 \pm 1,54$	$6,39 \pm 2,01^a$
$t_{1/2a}$	h	$0,38 \pm 0,25$	$0,12 \pm 0,04^a$
t_{max}	h	$1,12 \pm 0,45$	$0,57 \pm 0,13^a$
F(%)	%	$62,39 \pm 25,81$	$94,78 \pm 59,84$

^a Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

Tabla V.18. Comparación y análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos luego de la administración oral de la clindamicina, luego de recibir una ración de alimento, a caninos ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) y felinos (15 mg/kg).

Parámetro	Unidad	Vía oral en ayuno perros	Vía oral en ayuno gatos
		Media \pm D.E.	Media \pm D.E.
k_{01}	h^{-1}	$3,88 \pm 0,85$	$3,77 \pm 2,23$
$t_{1/2a}$	h	$0,19 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,12$
t_{max}	h	$0,75 \pm 0,12$	$0,96 \pm 0,40$
F(%)	%	$51,07 \pm 17,25$	$90,30 \pm 45,08^a$

^a Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

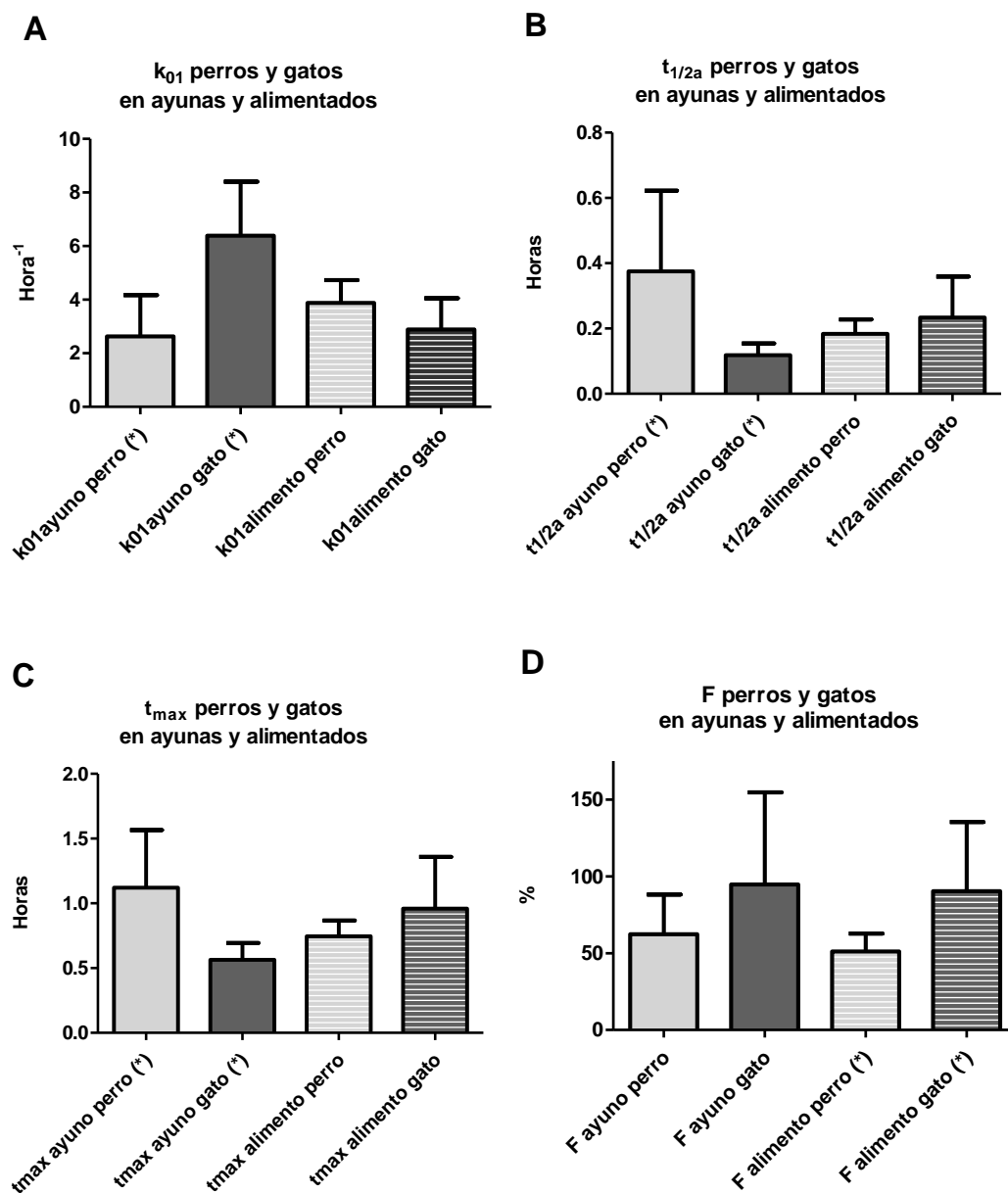


Figura V.15. Comparación de los parámetros farmacocinéticos en los que se encontraron diferencias estadísticamente significativas, obtenidos luego de la administración oral de la clindamicina a perros ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) y gatos (15 mg/kg), en ayunas y luego de recibir una ración de alimento. (*) Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). A: corresponde a la k_{01} . B: corresponde a la $t_{1/1a}$. C: corresponde al t_{max} . D: corresponde a la F.

V.II. Farmacodinamia

V.II.1. Resultados de los parámetros farmacodinámicos estudiados

V.II.1.a. Resultados de la determinación de la CIM

Todos los criterios de validez para la determinación de la CIM se cumplieron tal cual lo indicado por la CLSI (2018). Los valores de la CIM de las cepas control estuvieron siempre dentro del rango estipulado. El tubo para control de esterilidad (tubo n° 10) resultó siempre límpido mientras que el del control de inóculo (tubo n° 9) evidenció siempre desarrollo. Todos los recuentos bacterianos se mantuvieron entre 1×10^5 y 1×10^6 UFC/ml.

En las Tabla V.19 se muestran los valores de CIM obtenidos para los estafilococos y estreptococos analizados, su categorización según los criterios de interpretación y valores de corte establecidos por la CLSI (2015). La Tabla V.20 resume los parámetros farmacodinámicos obtenidos a través de la expresión de los resultados de susceptibilidad en valores absolutos y frecuencia relativa (en porcentaje), la CIM₅₀, CIM₉₀ y la moda.

Tabla V.19. Estafilococos y estreptococos estudiados, especie animal en que se aislaron, sitio de infección, valor de CIM obtenida y clasificación de susceptibilidad según los valores de corte establecidos por el CLSI (2015).

Microorganismo	Código	Especie animal	Sitio de infección	CIM (µg/ml)
Estafilococos				
<i>S. aureus</i>	776514	Felino	Absceso nasal	0,12 ^S
<i>S. pseudintermedius</i>	755167	Canino	Lesión dérmica	0,12 ^S
<i>S. pseudintermedius</i>	949632	Canino	Lesión dérmica	0,12 ^S
<i>S. pseudintermedius</i>	948314	Canino	Secreción ótica	0,12 ^S
<i>S. pseudintermedius</i>	948404	Canino	Secreción ótica	0,12 ^S
<i>S. pseudintermedius</i>	948816	Canino	Secreción ótica	0,12 ^S
<i>S. pseudintermedius</i>	949665	Canino	Secreción ótica	0,12 ^S
<i>S. pseudintermedius</i>	949078	Canino	Secreción ótica	0,12 ^S
<i>S. pseudintermedius</i>	948233	Felino	Secreción ótica	0,12 ^S
<i>S. pseudintermedius</i>	949585	Felino	Absceso piel	0,12 ^S
<i>S. pseudintermedius</i>	949579	Canino	Lesión dérmica	1 ^I
<i>S. pseudintermedius</i>	949694	Canino	Lesión dérmica	>4 ^R
<i>S. pseudintermedius</i>	949024	Canino	Lesión dérmica	>4 ^R
<i>S. pseudintermedius</i>	949714	Canino	Secreción ótica	>4 ^R
<i>S. pseudintermedius</i>	949421	Canino	Secreción ótica	>4 ^R
<i>S. pseudintermedius</i>	949816	Canino	Secreción ótica	>4 ^R
<i>S. pseudintermedius</i>	948520	Felino	Absceso piel	>4 ^R
Estreptococos				
<i>Streptococcus</i> spp.	948346	Canino	Fondo de vagina	0,12 ^S
<i>Streptococcus</i> spp.	947565	Canino	Secreción ótica	0,5 ^S
<i>Streptococcus</i> spp.	947681	Felino	Orina	0,12 ^S

S. aureus y *S. pseudintermedius* corresponden a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudintermedius*, respectivamente.

S: sensible, I: intermedio, R: resistente.

Tabla V.20. Resumen del perfil de susceptibilidad de estafilococos y estreptococos causantes de infección en pequeños animales, expresados como valor absoluto, frecuencia relativa (porcentaje), CIM₅₀, CIM₉₀ y moda.

	n	S	I	R	CIM ₅₀	CIM ₉₀	Moda
<i>S. pseudintermedius</i>*	16	9 (56%)	1 (6%)	6 (38%)	0,12	>4	0,12
<i>S. aureus</i>	1	1 (100%)	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus spp.</i>	3	3 (100%)	-	-	-	-	-

S. aureus y *S. pseudintermedius* corresponden a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudintermedius*, respectivamente.

S: sensible, I: intermedio, R: resistente.

*Las medidas de resumen se determinaron solo para *S. pseudintermedius* debido al número de aislamientos estudiados.

V.II.1.b. Resultados del Tablero de Damas

Para la validación del método, se siguieron los mismos criterios anteriormente enunciados para la determinación de la CIM. El valor de CIM de las cepas control, los controles de esterilidad e inóculo y el recuento bacteriano se cumplieron tal como fue descrito en la sección anterior.

Los valores de CIM de los microorganismos que serían estudiados en el tablero de damas para evaluar la interacción entre la clindamicina y otros antimicrobianos de uso frecuente en clínica de pequeños animales: ampicilina, doxiciclina, gentamicina y enrofloxacin, se muestran en la Tabla V.21.

Tal cual como fue descrito en la sección IV.III.3.i. Interpretación y análisis del tablero de damas, la interpretación del tablero de damas se realizó mediante el cálculo del índice denominado concentración fraccionaria inhibitoria (FIC). De los 4 métodos propuestos para el análisis de la interacción antimicrobiana, “ Σ FIC promedio”, “ Σ FIC mínima”, “ Σ FIC Fila y Columna” y “ Σ FIC Dos tubos”, se eligieron los primeros 3 para este trabajo, ya que son los que mejor representan los resultados de este método. Los resultados según estos métodos de análisis se muestran en las Tablas V.22, V.23 y V.24 para los estafilococos y en las Tablas V.25, V.26 y V.27 para los estreptococos.

Tabla V.21. Resultados de la CIM de la clindamicina y de los antimicrobianos a combinar en el Tablero de damas (ampicilina, doxiciclina, gentamicina y enrofloxacina), para los microorganismos estudiados.

Microorganismo	CIM (µg/ml)				
	CLI	AMP	DOX	GEN	ENR
Estafilococos					
<i>S. aureus</i> 776514	0,12	0,06	0,06	0,5	0,12
<i>S. pseudintermedius</i> 755167	0,12	0,06	0,03	0,25	0,06
<i>S. pseudintermedius</i> 948314	0,12	0,03	0,03	0,12	0,06
<i>S. pseudintermedius</i> 949585	0,12	0,25	0,03	0,12	0,12
<i>S. pseudintermedius</i> 949632	0,12	0,06	0,06	0,25	0,50
Estreptococos					
<i>Streptococcus</i> spp. 947565	0,5	1	0,06	-	-
<i>Streptococcus</i> spp. 947681	0,12	0,015	0,06	-	-

CLI: Clindamicina. AMP: Ampicilina. DOX: Doxiciclina. GEN: Gentamicina. ENR: Enrofloxacina.

S. aureus y *S. pseudintermedius* corresponden a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudintermedius*, respectivamente.

Tablas V.22. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estafilococos expresados mediante el método de análisis “ΣFIC promedio” y sus valores de ΣFIC (media y D.E.) correspondientes. Puntos de corte: Sinergismo ΣFIC≤0,5, Indiferencia 0,5 < ΣFIC ≤ 4 y Antagonismo ΣFIC>4.

Clindamicina con:	ΣFIC promedio					Media	D.E.	Interacción
	STA1	STA2	STA3	STA4	STA5			
Ampicilina	1,00	0,88	1,12	1,01	1,01	1,00	0,09	Indiferencia
Doxiciclina	0,56	0,66	0,56	0,66	0,56	0,60	0,05	Indiferencia
Gentamicina	0,75	0,93	0,92	0,84	1,01	0,89	0,10	Indiferencia
Enrofloxacina	1,25	0,95	1,29	1,26	1,26	1,20	0,14	Indiferencia

STA1: *S. aureus* 776514

STA2: *S. pseudintermedius* 755167

STA3: *S. pseudintermedius* 948314

STA4: *S. pseudintermedius* 949585

STA5: *S. pseudintermedius* 949632

Tablas V.23. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estafilococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC mínima” y sus valores de Σ FIC (media y D.E.) correspondientes. Puntos de corte: Sinergismo Σ FIC \leq 0,5, Indiferencia $0,5 < \Sigma$ FIC \leq 4 y Antagonismo Σ FIC $>$ 4.

Clindamicina con:	“ Σ FIC mínima”					Media	D.E.	Interacción
	STA1	STA2	STA3	STA4	STA5			
Ampicilina	0,75	0,53	1	0,75	0,75	0,76	0,17	Indiferencia
Doxiciclina	0,50	0,50	0,5	0,5	0,38	0,48	0,05	Sinergismo
Gentamicina	0,38	0,56	0,75	0,63	0,75	0,61	0,15	Indiferencia
Enrofloxacina	1,06	0,63	1,13	1,06	1,06	0,99	0,20	Indiferencia

STA1: *S. aureus* 776514

STA2: *S. pseudintermedius* 755167

STA3: *S. pseudintermedius* 948314

STA4: *S. pseudintermedius* 949585

STA5: *S. pseudintermedius* 949632

Tablas V.24. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estafilococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC Fila y Columna” y sus valores de Σ FIC (media y D.E.) correspondientes. Puntos de corte: Sinergismo Σ FIC \leq 0,5, Indiferencia $0,5 < \Sigma$ FIC \leq 4 y antagonismo Σ FIC $>$ 4.

Clindamicina con:	“ Σ FIC Fila y Columna”					Media	D.E.	Interacción
	STA1	STA2	STA3	STA4	STA5			
Ampicilina	2	1,5	2	1,5	2	1,80	0,27	Indiferencia
Doxiciclina	1	1,5	1	1	1,25	1,15	0,22	Indiferencia
Gentamicina	1,5	1,5	2	2	2	1,80	0,27	Indiferencia
Enrofloxacina	2	2	2	2	2	2,00	0,00	Indiferencia

STA1: *S. aureus* 776514

STA2: *S. pseudintermedius* 755167

STA3: *S. pseudintermedius* 948314

STA4: *S. pseudintermedius* 949585

STA5: *S. pseudintermedius* 949632

Tablas V.25. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estreptococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC promedio” y sus valores de Σ FIC (media y D.E.) correspondientes. Puntos de corte: Sinergismo Σ FIC \leq 0,5, Indiferencia $0,5 < \Sigma$ FIC \leq 4 y Antagonismo Σ FIC $>$ 4.

Clindamicina con:	Σ FIC promedio		Media	D.E.	Interacción
	STE 947565	STE 947681			
Ampicilina	1,02	1,11	1,06	0,06	Indiferencia
Doxiciclina	0,65	0,64	0,64	0,01	Indiferencia

STE: *Streptococcus* spp.

Tablas V.26. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estreptococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC mínima” y sus valores de Σ FIC (media y D.E.) correspondientes. Puntos de corte: Sinergismo Σ FIC \leq 0,5, Indiferencia $0,5 < \Sigma$ FIC \leq 4 y Antagonismo Σ FIC $>$ 4.

Clindamicina con:	“ Σ FIC mínima”		Media	D.E.	Interacción
	STE 947565	STE 947681			
Ampicilina	0,75	1,00	0,88	0,18	Indiferencia
Doxiciclina	0,50	0,50	0,50	0,00	Sinergismo

STE: *Streptococcus* spp.

Tablas V.27. Resultados de la interacción entre la clindamicina y los otros antimicrobianos en estudio sobre el crecimiento de estreptococos expresados mediante el método de análisis “ Σ FIC Fila y Columna” y sus valores de Σ FIC (media y D.E.) correspondientes. Puntos de corte: Sinergismo Σ FIC \leq 0,5, Indiferencia $0,5 < \Sigma$ FIC \leq 4 y Antagonismo Σ FIC $>$ 4.

Clindamicina con:	“ Σ FIC Fila y Columna”		Media	D.E.	Interacción
	STE 947565	STE 947681			
Ampicilina	1	2	1,50	0,71	Indiferencia
Doxiciclina	2	2	2,00	0,00	Indiferencia

STE: *Streptococcus* spp.

V.III. Integración farmacocinética/farmacodinámica

V.III.1. FC/FD en caninos

El análisis farmacocinético/farmacodinámico para la clindamicina administrada a caninos se realizó mediante el cálculo de los predictores de eficacia $t > CIM$ y ABC_{0-24}/CIM .

El tiempo en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM_{50} y el valor de CIM establecido como punto de corte por la CLSI (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina, luego de ser administrada a caninos vía endovenosa (10 mg/kg), oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) en ayunas y luego de ser alimentados se muestran en las Tablas V.28, V.29 y V.30, respectivamente.

El valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM correspondiente al área bajo la curva luego de la administración endovenosa (10 mg/kg), oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) en ayunas y luego de recibir una ración de alimento de la clindamicina a perros medida en 24 horas sobre la CIM_{50} obtenida a partir de los microorganismos aislados y la CIM establecida como punto de corte por la CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la droga se muestran en las Tablas V.31, V.32 y V.33, respectivamente.

Tabla V.28. Tiempo (h) en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM_{50} luego de ser administrada vía endovenosa (10 mg/kg) a perros*.

Perros Endovenoso	Tiempo (h)							Media	D.E.
	C	F	P	Q	R	T			
0,12 µg/ml -1CIM₅₀-	20,66	22,16	22,29	18,86	22,86	19,07	20,99	1,73	
0,25 µg/ml -2CIM₅₀-	17,07	18,62	18,80	15,60	18,97	16,05	17,52	1,48	
0,50 µg/ml^a -4CIM₅₀-	13,68	22,16	15,50	12,52	15,29	13,19	15,39	3,52	

* Las letras C, F, P, Q, R y T corresponden a cada perro (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.29. Tiempo (h) en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM₅₀ luego de ser administrada por vía oral (8,3 ± 1,1 mg/kg) en ayunas a perros*.

Perros Oral ayuno	Tiempo (h)							Media	D.E.
	C	F	P	Q	R	T			
0,12 µg/ml -1CIM ₅₀ -	14,96	12,07	20,37	11,35	12,11	11,34	13,70	3,53	
0,25 µg/ml -2CIM ₅₀ -	11,72	9,86	16,66	9,08	9,75	9,00	11,01	2,94	
0,50 µg/ml ^a -4CIM ₅₀ -	8,66	12,07	13,16	6,94	7,52	6,79	9,19	2,75	

* Las letras C, F, P, Q, R y T corresponden a cada perro (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.30. Tiempo (h) en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM₅₀ luego de ser administrada vía oral (8,3 ± 1,1 mg/kg) a perros* que recibieron una ración de alimento.

Perros Oral alimento	Tiempo (h)							Media	D.E.
	C	F	Q	R	T				
0,12 µg/ml -1CIM ₅₀ -	10,90	15,69	16,70	14,33	8,47	13,22	3,44		
0,25 µg/ml -2CIM ₅₀ -	8,61	12,66	3,23	11,52	6,69	8,54	3,79		
0,50 µg/ml ^a -4CIM ₅₀ -	6,45	15,69	9,50	8,87	5,01	9,10	4,10		

* Las letras C, F, Q, R y T corresponden a cada perro (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.31. Valor del parámetro ABC₀₋₂₄/CIM obtenido luego de administrar la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa a caninos, con el valor de CIM₅₀ de estafilococos aislados y el valor de CIM establecido como punto de corte para estafilococos por la CLSI (CLSI, 2015) en perros*.

Perros Endovenoso	ABC ₀₋₂₄ /CIM							Media	D.E.
	C	F	P	Q	R	T			
0,12 µg/ml -CIM ₅₀ -	194,99	352,56	341,99	262,95	513,18	287,22	325,48	108,29	
0,50 µg/ml ^a -CIM CLSI-	46,80	84,61	82,08	63,11	123,16	68,93	78,12	25,99	

* Las letras C, F, P, Q, R y T corresponden a cada perro (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por la CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.32. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM obtenido luego de administrar la clindamicina por vía oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) en ayunas a caninos, con el valor de CIM_{50} de estafilococos aislados y el valor de CIM establecido como punto de corte para estafilococos por la CLSI en perros* (CLSI, 2015).

Perros Oral ayuno	ABC_{0-24}/CIM							
	C	F	P	Q	R	T	Media	D.E.
0,12 µg/ml -CIM₅₀-	127,13	162,89	286,34	124,51	142,38	108,88	158,69	65,15
0,50 µg/ml^a -CIM CLSI-	30,51	39,09	68,72	29,88	34,17	26,13	38,08	15,64

* Las letras C, F, P, Q, R y T corresponden a cada perro (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por la CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.33. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM obtenido luego de administrar la clindamicina por vía oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) a caninos luego de ser alimentados, con el valor de CIM_{50} de estafilococos aislados y el valor de CIM establecido como punto de corte para estafilococos por la CLSI en perros* (CLSI, 2015).

Perros Oral con alimento	ABC_{0-24}/CIM						
	C	F	Q	R	T	Media	D.E.
0,12 µg/ml -CIM₅₀-	102,86	184,98	137,99	162,11	80,13	133,61	42,65
0,50 µg/ml^a -CIM CLSI-	24,69	44,40	33,12	38,91	19,23	32,07	10,24

* Las letras C, F, Q, R y T corresponden a cada perro (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

V.III.1.a. Análisis estadístico de los predictores de eficacia FC/FD en caninos

Se contrastaron mediante una prueba t de student los valores de los predictores de eficacia obtenidos luego de la administración de la clindamicina a perros por vía oral en ayunas y luego de recibir alimento. Los parámetros comparados fueron el $t > CIM$, considerando $1CIM_{50}$, $2CIM_{50}$ y $4CIM_{50}$ y el ABC_{0-24}/CIM , considerando $1CIM_{50}$ y la CIM de

0,5 µg/ml correspondiente al valor de corte para estafilococos sensibles a clindamicina en caninos por el CLSI (2015).

No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en los valores de $t > CIM$ ni en los de ABC_{0-24}/CIM cuando la clindamicina fue administrada vía oral en ayunas o luego de alimentados. Los resultados se muestran en las Tablas V.34 y V.35, respectivamente.

Tabla V.34. Comparación y análisis estadístico del predictor de eficacia $t > CIM$ para la clindamicina administrada vía oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) a perros en ayunas y luego de ser alimentados.

	$t > CIM$ para la clindamicina en ayunas		$t > CIM$ para la clindamicina con alimento	
	Media	D.E.	Media	D.E.
0,12 µg/ml -1CIM₅₀-	13,70	3,53	13,22	3,44
0,25 µg/ml -2CIM₅₀-	11,01	2,94	8,54	3,79
0,50 µg/ml^a -4CIM₅₀-	9,19	2,75	9,10	4,10

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.35. Comparación y análisis estadístico del predictor de eficacia ABC_{0-24}/CIM para la clindamicina administrada vía oral ($8,3 \pm 1,1$ mg/kg) a perros en ayunas y luego de ser alimentados.

	ABC_{0-24}/CIM para la clindamicina en ayunas		ABC_{0-24}/CIM para la clindamicina con alimento	
	Media	D.E.	Media	D.E.
0,12 µg/ml -CIM₅₀-	158,69	65,15	133,61	42,65
0,50 µg/ml^a -CIM CLSI-	38,08	15,64	32,07	10,24

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

V.III.2. FC/FD en felinos

Al igual que en caninos, el análisis farmacocinético/farmacodinámico para la clindamicina administrada a felinos se realizó mediante el cálculo de los predictores de eficacia $t > CIM$ y ABC_{0-24}/CIM .

El tiempo en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM_{50} ($1CIM_{50}$, $2CIM_{50}$, $4CIM_{50}$) y la CIM establecida como punto de corte por la CLSI en caninos (CLSI, 2015) luego de ser administrada por vía endovenosa (10 mg/kg), oral (15 mg/kg) en ayunas y luego de ser alimentados los gatos se muestran en las Tablas V.36, V.37 y V.38, respectivamente.

El valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM correspondiente al área bajo la curva luego de la administración de la clindamicina por vía endovenosa (10 mg/kg), oral (15 mg/kg) en ayunas y luego de recibir una ración de alimento a gatos medida en 24 horas sobre la CIM_{50} obtenida a partir de los microorganismos aislados y la CIM establecida como punto de corte por la CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina se muestran en las Tablas V.39, V.40 y V.41, respectivamente.

Tabla V.36. Tiempo (h) en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM_{50} y la CIM establecida como punto de corte por la CLSI (CLSI, 2015), luego de ser administrada vía endovenosa (10 mg/kg) a gatos*.

Gatos	Tiempo (h)							
	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
0,12 µg/ml -1CIM₅₀-	15,66	13,96	27,47	16,58	12,67	22,65	18,17	5,72
0,25 µg/ml -2CIM₅₀-	13,54	11,80	23,48	14,04	10,73	19,13	15,45	4,88
0,50 µg/ml^a -4CIM₅₀-	11,54	9,76	19,71	11,64	8,90	15,80	12,89	4,10

* Las letras F,G, H, I J y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.37. Tiempo (h) en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM₅₀ y la CIM establecida como punto de corte por la CLSI (CLSI, 2015), luego de ser administrada vía oral (15 mg/kg) en ayunas a gatos*.

Gatos Oral ayuno	Tiempo (h)							
	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
0,12 µg/ml -1CIM₅₀-	33,30	23,23	11,60	23,72	8,70	13,72	19,05	9,31
0,25 µg/ml -2CIM₅₀-	27,17	19,05	9,34	19,41	7,14	11,09	15,53	7,63
0,50 µg/ml^a -4CIM₅₀-	21,38	15,10	7,21	15,34	5,67	8,60	12,22	6,05

* Las letras F,G, H, I J y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.38. Tiempo (h) en que las concentraciones plasmáticas de la clindamicina se mantienen sobre la CIM₅₀ y la CIM establecida como punto de corte por la CLSI (CLSI, 2015), luego de ser administrada vía oral (15 mg/kg) a gatos* alimentados.

Gatos Oral alimento	Tiempo (h)							
	F	G	H	I	K	Media	D.E.	
0,12 µg/ml -1CIM₅₀-	16,19	27,59	27,67	14,19	16,25	20,38	6,67	
0,25 µg/ml -2CIM₅₀-	13,30	22,69	22,60	11,61	13,14	16,67	5,50	
0,50 µg/ml^a -4CIM₅₀-	10,57	18,06	17,81	9,17	10,20	13,16	4,39	

* Las letras F,G, H, I y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.39. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM , obtenido luego de la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa a gatos*, considerando el valor de CIM_{50} de estafilococos aislados y el valor de CIM establecido como punto de corte para estafilococos por la CLSI (CLSI, 2015) en caninos.

Gatos Endovenoso	ABC_{0-24}/CIM							
	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
0,12 µg/ml -CIM₅₀-	162,69	170,95	311,32	197,08	111,86	306,87	210,13	81,50
0,50 µg/ml^a -CIM CLSI-	39,04	41,03	74,72	47,30	26,85	73,65	50,43	19,56

* Las letras F,G, H, I J y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.40. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM obtenido luego de administrar la clindamicina (15 mg/kg) por vía oral en ayunas a gatos*, considerando el valor de CIM_{50} de estafilococos aislados y el valor de CIM establecido como punto de corte para estafilococos por la CLSI en caninos (CLSI, 2015).

Gatos Oral ayuno	ABC_{0-24}/CIM							
	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
0,12 µg/ml -CIM₅₀-	450,09	335,74	133,73	333,84	127,90	163,60	257,48	134,14
0,50 µg/ml^a -CIM CLSI-	108,02	80,58	32,09	80,12	30,70	39,26	61,80	32,19

* Las letras F,G, H, I J y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.41. Valor del parámetro ABC_{0-24}/CIM obtenido luego de administrar la clindamicina (15 mg/kg) por vía oral a gatos* luego de ser alimentados, considerando el valor de CIM_{50} de estafilococos aislados y el valor de CIM establecido como punto de corte para estafilococos por la CLSI en caninos (CLSI, 2015).

Gatos Oral con alimento	ABC_{0-24}/CIM						
	F	G	H	I	K	Media	D.E.
0,12 $\mu\text{g/ml}$ - CIM_{50} -	240,26	415,77	379,42	198,32	195,89	285,93	104,24
0,50 $\mu\text{g/ml}^a$ -CIM CLSI-	57,66	99,79	91,06	47,60	47,01	68,62	25,02

* Las letras F,G, H, I y K corresponden a cada gato (inicial del nombre).

^a El valor de CIM 0,5 $\mu\text{g/ml}$ corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a clindamicina.

V.III.2.a. Análisis estadístico de los predictores de eficacia FC/FD en gatos

Se contrastaron mediante una prueba t de student los valores de los predictores de eficacia obtenidos luego de la administración de la clindamicina a gatos por vía oral en ayunas y luego de recibir alimento. Los parámetros comparados fueron el $t > CIM$, considerando $1CIM_{50}$, $2CIM_{50}$ y $4CIM_{50}$ para la vía oral en ayunas y luego de alimentados respectivamente. Al igual que se hizo con el ABC_{0-24}/CIM , considerando $1CIM_{50}$ y la CIM de 0,5 $\mu\text{g/ml}$ correspondiente al valor de corte para estafilococos sensibles a clindamicina en caninos por el CLSI (2015).

No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en los valores de $t > CIM$ cuando la clindamicina fue administrada vía oral en ayunas o luego de alimentados. Así como tampoco se obtuvieron diferencias significativas en los predictores ABC_{0-24}/CIM en ambas condiciones. Los resultados se muestran en la Tablas V.42 y V.43, respectivamente.

Tabla V.42. Comparación y análisis estadístico del predictor de eficacia $t > \text{CIM}$ para la clindamicina administrada vía oral (15 mg/kg) a gatos en ayunas y luego de ser alimentados.

	$t > \text{CIM}$ para la clindamicina en ayunas		$t > \text{CIM}$ para la clindamicina con alimento	
	Media	D.E.	Media	D.E.
0,12 µg/ml -1CIM₅₀-	19,05	9,31	20,38	6,67
0,25 µg/ml -2CIM₅₀-	15,53	7,63	16,67	5,50
0,50 µg/ml^a -4CIM₅₀-	12,22	6,05	13,16	4,39

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

Tabla V.43. Comparación y análisis estadístico del predictor de eficacia $\text{ABC}_{0-24}/\text{CIM}$ para la clindamicina administrada vía oral (15 mg/kg) a gatos en ayunas y luego de ser alimentados.

	$\text{ABC}_{0-24}/\text{CIM}$ para la clindamicina en ayunas		$\text{ABC}_{0-24}/\text{CIM}$ para la clindamicina con alimento	
	Media	D.E.	Media	D.E.
0,12 µg/ml -CIM₅₀-	257,48	134,14	285,93	104,24
0,50 µg/ml^a -CIM CLSI-	61,80	32,19	68,62	25,02

^a El valor de CIM 0,5 µg/ml corresponde también al valor de corte establecido por el CLSI en caninos (CLSI, 2015) para estafilococos sensibles a la clindamicina.

VI. DISCUSIÓN

VI. DISCUSIÓN

VI.I. Materiales y métodos

VI.I.1. Animales

Para cumplir con el objetivo de describir la farmacocinética de la clindamicina en caninos y felinos luego de ser administrada vía endovenosa, oral en ayunas y oral después de recibir una ración de alimento se incluyó, para ambas especies estudiadas, un grupo homogéneo de animales, raza, edad, peso, correspondientes a las dos especies en estudio y bajo las mismas condiciones ambientales para minimizar la variación individual que pudiera presentarse (National Research Council, 2011). El número de animales en cada grupo fue 6, número estándar para estudios farmacocinéticos en animales (Brown y col., 1989; Lavy y col., 1999; Batzias y col., 2005; Saridomichelakis y col., 2011). Todos los individuos de ambas especies fueron adultos jóvenes. Los caninos, raza Beagle, tenían 2 a 4 años de edad, y pertenecían al Área de Caniles de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Del total de 6 perros, 4 fueron machos y 2 hembras, teniendo representación de ambos sexos en el estudio. Los felinos, común europeo, de 3 años de edad, castrados, pertenecientes a la Cátedra de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Del total de 6 gatos, 2 fueron machos y 4 hembras, todos castrados. Todos los animales fueron criados en condiciones controladas, tanto ambiente como alimentación y con estado sanitario óptimo (vacunación, desparasitación y análisis de sangre). Ninguno de ellos recibió tratamiento antimicrobiano alguno, ni con otro tipo de fármacos, que pudiera interferir con el estudio, durante los 90 días previos al inicio del estudio.

VI.I.1.a. CICUAL

Este trabajo se encuentra enmarcado dentro del proyecto “Antimicrobianos en medicina veterinaria: farmacocinética, farmacodinamia, impacto en el marco de una salud” el cual cuenta con la aprobación del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL), de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA, protocolo N° 2010/22.

VI.I.2. Protocolo de trabajo

VI.I.2.a. Diseño

Un segundo objetivo de este trabajo fue evaluar posibles modificaciones en los parámetros farmacocinéticos luego de administrar la clindamicina con y sin alimento. Para su cumplimiento se realizó un diseño cruzado para disminuir la variabilidad individual y poder calcular la biodisponibilidad oral bajo estas condiciones (Weber y col., 1980; Boothe y col., 1996; Batzias y col., 2005; European Medicines Agency [EMA] y Committee for Medicinal Products for Human Use [CHMP], 2010; Saridomichelakis y col., 2011). Se empleó un período de lavado de 15 días en caninos y 5 días en felinos, ambos superando el tiempo sugerido: al menos 5 vidas medias, para asegurar que las concentraciones plasmáticas luego de la primera administración del fármaco hayan caído por debajo del límite de detección previo a la siguiente administración (Brown y col., 1989; Boothe y col., 1996; Lavy y col., 1999; Batzias y col., 2004; EMA y CHMP, 2010; Saridomichelakis y col., 2011). En caninos el tiempo entre administraciones fue superior lo que permitió un tiempo de descanso mayor de las venas cefálicas antebraquiales, además de intercalar de derecha a izquierda el miembro anterior canalizado. En gatos el tiempo de lavado fue más breve, con el objetivo de mantener el catéter yugular colocado durante el menor tiempo posible.

VI.I.2.b. Dosis

Para la vía endovenosa en ambas especies se empleó una dosis de 10 mg/kg. Ésta coincide con la dosis utilizada en los estudios farmacocinéticos en los que se administró la clindamicina a perros (Lavy y col., 1999; Batzias y col., 2005) y gatos (Passini y col., 2017) por esta vía.

Para la vía oral en caninos se utilizó una dosis comprendida entre los 5 a 10 mg/kg dando un promedio de $8,3 \pm 1,1$ mg/kg ya que se optó por fraccionar una formulación veterinaria (comprimidos de 400mg de clindamicina), y corregirla luego por el peso de cada animal. Esta dosis se encuentra dentro del rango empleado en caninos para el estudio farmacocinético de la clindamicina administrada vía oral: 5,5 y 11 mg/kg (Saridomichelakis y col., 2011), 11 mg/kg (Batzias y col., 2005) y en las guías para el tratamiento antibiótico

de infecciones bacterianas en piel y vías respiratorias (Beco y col., 2013; Hillier y col., 2014; Lappin y col., 2017; Dear, 2020). En estas últimas se indica, para caninos, a una dosis de 5,5 a 10 mg/kg u 11 mg/kg para piel y 10 mg/kg para vías aéreas.

Para la vía oral en felinos se utilizó una dosis de 15 mg/kg. En este caso se optó por fraccionar el contenido de cápsulas de 300mg, formulación para humanos, en cápsulas de gelatina pequeñas conteniendo los mg totales por animal. Esta dosis se encuentra dentro del rango empleado en felinos para el estudio farmacocinético de la clindamicina administrada vía oral: 5,5; 11 y 22 mg/kg (Brown y col., 1989), 11 mg/kg (Boothe y col., 1996) y en la guía para el tratamiento antibiótico de infecciones respiratorias cuya indicación en felinos es de 10 a 15 mg/kg (Lappin y col., 2017; Dear, 2020).

VI.I.2.c. Vías de administración

Uno de los objetivos de esta tesis fue evaluar si la presencia de alimento en el tubo digestivo modifica la biodisponibilidad oral de la clindamicina en caninos y felinos. Para ello, el antimicrobiano se administró vía endovenosa, oral en ayunas y oral luego de recibir una ración de alimento.

VI.I.2.c.a. Vía endovenosa

La administración endovenosa de la clindamicina debe realizarse en forma lenta para evitar efectos adversos: bloqueo neuromuscular o alteraciones cardíacas (Wright y Collier, 1976; Fiekers y col., 1979; Dizajmehr y col., 2019). En función a esto y según indicación del laboratorio (Pfizer, 2011), para ambas especies se diluyó la dosis total calculada en 3 a 4ml de solución fisiológica y fue administrada en un lapso de 3 a 4 minutos.

VI.I.2.c.b. Vía oral

Otro de los efectos adversos descritos con la administración de la clindamicina oral fue el desarrollo de esofagitis tanto en gatos como en medicina humana, a partir de los cuales se sugirió la administración posterior de agua para favorecer la deglución (Sutton y

Gosnold, 1977; Levine, 1999; Beatty y col., 2006). Para ello en felinos se administró la cápsula oral y luego 6ml de agua con jeringa, y en caninos el comprimido fraccionado por peso y luego 10ml de agua con jeringa (Westfall y col., 2001; Beatty y col., 2006).

En la experiencia con comida se decidió reproducir lo que ocurriría en condiciones normales, que los animales reciban la cantidad y tipo de alimento tal cual como se hace diariamente. En cuanto a los perros su ración diaria se divide en dos comidas de 100 gramos cada una, una por la mañana y otra por la tarde. Mientras que los felinos tienen alimentación *ad libitum*, con lo cual se calculó la ingesta en gramos por ración y se les ofreció esa cantidad: 7 a 9 gramos/ración. Para estandarizar el consumo se consideraron los hábitos alimenticios del gato, que varía entre 10 a 20 pequeñas raciones diarias, el requerimiento calórico correspondiente a 40 a 66 kcal/kilo/24h en gatos castrados y su equivalente en gramos del alimento balanceado que reciben 50 a 90 g/diarios (Bradshaw, 2006; Sadek y col., 2018). Esto coincide con un estudio realizado por Kane y col. (1981) en cual observaron que un gato adulto come en promedio 16 raciones diarias de alimento seco con un peso promedio de 5,8 g/ración.

VI.1.2.d. Alimentación durante el ensayo

El agua estuvo a disposición para todos los animales durante todo el estudio. Para los 3 ensayos se les realizó un ayuno sólido de 12h. Cuando la clindamicina debía administrarse por vía endovenosa u oral en ayunas los animales fueron alimentados a las 4 horas de iniciada la experiencia para evitar interferir en la etapa de absorción (para la vía oral en ayunas) dado que las C_{max} reportadas en estudios previos oscilan entre 1 a 3h (Sinkula y col., 1973; Sun y Hsi, 1973; Boothe y col., 1996; Batzias y col., 2005; Saridomichelakis y col., 2011; Ortega y col., 2016). Cuando la clindamicina debía administrarse con alimento, los animales recibieron su ración correspondiente inmediatamente previo a la administración del antibiótico, como fue descrito en el ítem anterior.

En lo que restó del día de trabajo, a los caninos, se les respetó su siguiente horario de alimentación a las 11 horas de iniciada la experiencia. Mientras que a los felinos se les dejó el alimento *ad libitum*. El objetivo, en ambos casos, fue mantener el hábito alimenticio de rutina.

VI.1.2.e. Muestreo plasmático

Los puntos de muestreo se tomaron procurando poder describir los tres procesos: absorción, distribución y eliminación, cuando correspondan, tomando como referencia otros estudios farmacocinéticos realizados en caninos y felinos (Brown y col., 1989; Boothe y col., 1996; European Medicines Agency [EMA] y Committee for Veterinary Medicinal Products, 1999; Batzias y col., 2005; Saridomichelakis y col., 2011). Se consideraron también los lineamientos de la Agencia Europea de Medicamentos (European Medicines Agency [EMA], 1987) que sugiere un muestreo de al menos 2 a 3 vidas medias del fármaco para lograr una apropiada definición entre las vidas medias de distribución y eliminación.

Los resultados obtenidos en los tres ensayos demuestran que el protocolo que se siguió para la toma de muestras fue adecuado, ya que se abarcó durante todo el período de muestreo concentraciones plasmáticas, hasta valores por debajo del límite de cuantificación, llegando al menos a obtener 3 vidas medias de eliminación, permitiendo caracterizar correctamente todas las fases intervinientes en los procesos farmacocinéticos.

VI.1.3. Metodología analítica

La metodología analítica utilizada para la cuantificación de la clindamicina en plasma canino y felino se realizó mediante la técnica de separación por cromatografía líquida de alta performance (HPLC) acoplado a un sistema de detección UV. Se combinaron dos técnicas cromatográficas descritas por Mifsud y col. (2014) y Batzias y col. (2004). De la primera se tomó la composición de la fase móvil, el rango de detección UV y la velocidad de flujo mientras que de la segunda se tomó el proceso de extracción.

Para la selección del método se estudiaron diversas técnicas propuestas (Liu y col., 1997; Cho y col., 2005; Na-Bangchang y col., 2006; Platzer y White, 2006; Batzias y col., 2004; Mifsud y col., 2014). Todas estas técnicas emplearon acetonitrilo como solvente orgánico y la mayoría de ellas utilizó el buffer fosfato para la fracción acuosa de la fase móvil (Liu y col., 1997; Na-Bangchang y col., 2006; Batzias y col., 2004; Mifsud y col., 2014). Se decidió optar por esta combinación y descartar las otras técnicas, la descrita por Cho y

col. (2005) empleaba una fase móvil compuesta por acetonitrilo y cloruro de tetrabutilamonio mientras que Platzer y White (2006) combinaron acetonitrilo con un buffer carbonato.

La proporción utilizada de solvente orgánico:buffer fue 72:28, similar a la propuesta por Mifsud y col. (2014), 71:29, la cual permitió optimizar el tiempo de retención a 3 minutos con una amplia separación entre el pico obtenido para la clindamicina y el frente de corrida.

La longitud de onda varió en los diferentes estudios entre 195nm (Batzias y col., 2004; Mifsud y col., 2014), 204nm (Liu y col., 1997) y 210nm (Na-Bangchang y col., 2006), las cuales se evaluaron para este trabajo durante la puesta a punto de la metodología, obteniéndose una mejor definición de pico y relación área/concentración a 195nm.

En cuanto al método de extracción, el único trabajo desarrollado para la detección de la clindamicina en plasma animal (canino) fue el de Batzias y col. (2004) el cual precipitó las proteínas plasmáticas con acetonitrilo (1:2), centrifugó y el sobrenadante se traspasó a un tubo cónico al que se le agregó diclorometano, vortereó y centrifugó nuevamente para una extracción líquido-líquido. El antibiótico se solubiliza en la fracción orgánica debiendo descartar la capa superior acuosa y procediendo luego a evaporar el solvente (bajo flujo de nitrógeno a baño María) para luego resuspenderlo en fase móvil. Debido a la complejidad de este método y volumen de solventes requeridos se evaluó también el propuesto por Mifsud y col. (2014) para plasma humano. En el mismo solo se precipitaron las proteínas plasmáticas con acetonitrilo y luego se evaporó el sobrenadante con nitrógeno a baño María y se reconstituyó con fase móvil. Como estándar interno se utilizó fenobarbital. Esta metodología no resultó reproducible para plasma canino y felino ya que se obtenían cromatogramas sucios y con picos que interferían en los tiempos de retención de la clindamicina. Finalmente se optó por el método publicado por Batzias y col. (2004) y descrito anteriormente. La recuperación fue del 68%, aunque menor a la publicada por Batzias y col. (2004), 93%, cumplió con los criterios de validación para este punto (U.S Department of Health and Human Services [HHS]; Food and Drug Administration [FDA]; Center for Drug Evaluation and Research [CDER]; Center for Veterinary Medicine [CVM], 2018).

El límite de cuantificación fue de 0,1 µg/ml en fase móvil y 0,3 µg/ml en plasma canino y felino. El límite de detección fue 0,078 µg/ml. El límite de cuantificación alcanzado en plasma con precisión y exactitud fue superior al propuesto por algunos trabajos, 0,08 µg/ml en plasma canino Batzias y col. (2004), 0,07 µg/ml (Na-Bangchang y col., 2006), 0,2 µg/ml (Liu y col., 1997; Mifsud y col., 2014). Probablemente esta diferencia se haya debido a la imposibilidad de concentrar la muestra al reconstituir con fase móvil debido a una limitación en el volumen mínimo que el equipo permitía utilizar. Sin embargo, este límite de cuantificación permitió la detección, cuantificación y construcción de la curva de disposición plasmática de la clindamicina para los tiempos de muestreo propuestos y fue adecuado para el cumplimiento de los objetivos de esta tesis.

Las pruebas de validez del método analítico (linealidad, precisión, exactitud y límite de cuantificación) cumplió con los requisitos propuestos para la cuantificación de analitos en plasma (US HHS; FDA; CDER; CVM, 2018). Las concentraciones plasmáticas obtenidas se encontraron dentro del rango de concentraciones escogido para la validación del método analítico.

La clindamicina resultó estable almacenada en freezer a -20°C por hasta al menos 6 meses. Este resultado concuerda con estudios previos realizados con este antibiótico donde se reportó el mismo método de almacenamiento (Brown y col., 1989; Lavy y col., 1999; Saridomichelakis y col., 2011; Ortega y col., 2016).

VI.II. Farmacocinética

VI.II.1. Análisis farmacocinético

VI.II.1.a. Modelo farmacocinético

VI.II.1.a.a. Vía endovenosa

El análisis farmacocinético de la curva de disposición plasmática de la clindamicina luego de su administración vía endovenosa a perros y gatos ajustó a un modelo bicompartimental abierto para ambas especies, acorde al análisis de los residuales, la correlación entre los valores observados y los predichos y los criterios de mínima parsimonia, Akaike y Schwartz (Schwartz, 1978; Yamaoka y col., 1978; Gabrielsson y

Weiner, 1994). Existe un solo trabajo que estudia la clindamicina administrada por vía endovenosa a perros. En el mismo, de los 12 animales en estudio, 5 ajustaron a un modelo bicompartimental mientras que 7 lo hicieron a uno monocompartimental (Lavy y col., 1999). En walabís y humanos la clindamicina vía endovenosa ajustó también a un modelo bicompartimental abierto (Eller y col., 1989; Watson y col., 2017).

Existe un estudio en humanos, realizado por Bouazza y col. (2012), donde el modelo seleccionado fue monocompartimental para todos los individuos, mientras que estudios en otras especies, caninos (Batzias y col., 2005), felinos (Passini y col., 2017), ratas (Yang y Lee, 2007), las curvas de disposición fueron analizadas mediante métodos no compartimentales.

VI.II.1.a.b. Vía oral

Luego de la administración oral de la clindamicina a caninos y felinos, según los criterios de Akaike y Schwartz (Schwartz, 1978; Yamaoka y col., 1978), el modelo que mejor ajustó para todos los animales fue el monocompartimental abierto. Este resultado estuvo en concordancia con el obtenido en caninos por Ortega y col. (2016) y en otras especies como son aves (palomas) y humanos (Lenarduzzi y col., 2011; Bouazza y col., 2012). Existen otros estudios realizados en caninos, felinos, cerdos y humanos (Brown y col., 1989; Gatti y col., 1993; Boothe y col., 1996; Batzias y col., 2005; Carrasco-Portugal y col., 2008; Saridomichelakis y col., 2011; Goode y col., 2019) que fueron descriptos mediante un análisis no compartimental.

VI.II.1.b. Administración endovenosa

Tras la administración de la clindamicina por vía endovenosa a caninos, la misma se distribuyó rápidamente según lo expresado por la constante que rige este proceso (alfa) $4,38 \pm 2,25 \text{ h}^{-1}$ y por su vida media de distribución ($t_{1/2d}$) $0,21 \pm 0,12 \text{ h}$. En los 6 felinos este proceso fue algo más lento, siendo su constante alfa $3,12 \pm 3,17 \text{ h}^{-1}$ y su $t_{1/2d}$ $0,43 \pm 0,33 \text{ h}$.

Estudios farmacocinéticos previos reportaron una distribución en caninos levemente más rápida que la obtenida en este trabajo, y aún más que la obtenida en gatos, con una $t_{1/2d}$ de 11 minutos (equivalente a 0,18 h) (Lavy y col., 1999). En orden de velocidad creciente en el proceso de distribución le siguió la especie walabí, con una pendiente alfa de $4,36 \text{ h}^{-1}$ y una $t_{1/2d}$ de 0,16 h (Watson y col., 2017). Y en último lugar se encuentra la especie humana con un valor alfa reportado en $5,83 \text{ h}^{-1}$ (Eller y col., 1989).

La clindamicina presentó una distribución amplia y similar tanto en caninos como felinos. En perros el V_c fue de $0,82 \pm 0,2 \text{ l/kg}$ y el V_{ss} de $1,27 \pm 0,34 \text{ l/kg}$, mientras que en gatos el V_c fue de $0,94 \pm 0,22 \text{ l/kg}$ y el V_{ss} de $1,37 \pm 0,2 \text{ l/kg}$. Estos resultados fueron ligeramente superiores a los reportados previamente en caninos por Lavy y col. (1999), con un V_c de $0,56 \text{ l/kg}$ y V_{ss} $0,86 \text{ l/kg}$ y difieren ampliamente del volumen reportado por Batzias y col. (2005), V_{ss} $2,48 \text{ l/kg}$. En otras especies estudiadas el volumen de distribución fue similar al obtenido en este trabajo, rondando siempre el valor de 1 l/kg , volumen esperable para un fármaco liposoluble como es este antimicrobiano. El V_{ss} en cerdos fue de $1,26 \text{ l/kg}$ (Kuroha y col., 2001), en walabís $0,9 \text{ l/kg}$ (Watson y col., 2017), en ratas $1,4 \text{ l/kg}$ (Yang y Lee, 2007) y en humanos $1,1 \text{ l/kg}$ (Plaisance y col., 1989), $0,79 \text{ l/kg}$ (Gatti y col., 1993), (V_c) $66,2 \text{ l}$ (Bouazza y col., 2012).

Al comparar las constantes de velocidad de pasaje desde el compartimiento central al periférico en los caninos encontramos que k_{12} ($1,51 \pm 0,99 \text{ h}^{-1}$) es significativamente menor que k_{21} ($2,73 \pm 1,42 \text{ h}^{-1}$) por lo tanto, la distribución desde el compartimiento central al periférico se produjo más lentamente que el retorno desde el mismo (k_{12}/k_{21} : $0,56$), dando cuenta esto, de que la clindamicina no tendría mayor afinidad por los elementos tisulares. En felinos, considerando los 6 animales, la velocidad de pasaje del compartimiento central al periférico (k_{12} $1,25 \pm 1,97 \text{ h}^{-1}$) y del periférico al central ($1,65 \pm 1,14 \text{ h}^{-1}$), no presentó diferencias significativas. Sin embargo al excluir al gato "F" del análisis, la diferencia fue estadísticamente significativa, al igual que como ocurre en perros. La relación k_{12}/k_{21} en gatos fue de $0,55$.

En walabís y humanos ocurrió al revés la velocidad de difusión hacia los tejidos fue superior a la de regreso, siendo esta diferencia mayor en humanos. Las constantes fueron respectivamente k_{12} $2,11 \text{ h}^{-1}$ y k_{21} $1,24 \text{ h}^{-1}$ y k_{12} $3,51 \text{ h}^{-1}$ y k_{21} $0,73 \text{ h}^{-1}$ (Eller y col., 1989; Watson y col., 2017).

En cuanto a los parámetros que caracterizan a los procesos de eliminación de las drogas, clearance (Cl), vida media de eliminación ($t_{1/2el}$) y tiempo medio de residencia (TMR), se observó una eliminación significativamente más rápida en felinos respecto a caninos. En relación a la depuración plasmática de la clindamicina el Cl en caninos fue de $0,28 \pm 0,09$ l/h/kg mientras que en felinos fue significativamente superior, $0,45 \pm 0,18$ l/h/kg. El valor de Cl en caninos en el presente estudio resultó algo inferior a los reportados en la misma especie con anterioridad, 6,1 ml/min/kg (equivalente a 0,37 l/h/kg) y 0,5 l/h/kg (Lavy y col., 1999; Batzias y col., 2005). Por el contrario, fueron similares a los valores de Cl obtenidos en humanos (0,27 l/h/kg, 0,28 l/h/kg y 7,9 l/h, 15,2 l/h, 25,9 l/h con un peso promedio de 70kg) (Townsend y Baker, 1987; Eller y col., 1989; Plaisance y col., 1989; Gatti y col., 1993; Bouazza y col., 2012).

Por otro lado el Cl en felinos ($0,45 \pm 0,18$ l/h/kg) tuvo un valor similar al reportado en caninos 6,1 ml/min/kg (equivalente a 0,37 l/h/kg) y 0,5 l/h/kg (Lavy y col., 1999; Batzias y col., 2005), en walabís (450,3 ml/h/kg) (Watson y col., 2017) y en gatos luego de administrar la clindamicina oral con un valor de Cl corregido por la biodisponibilidad igual a 6,98 ml/min/kg (equivalente a 0,42 l/kg/h) (Brown y col., 1989).

El valor de $t_{1/2el}$ en perros fue de $3,36 \pm 0,35$ h mientras que en gatos fue de $2,56 \pm 0,8$ h. Ambos parámetros se encuentran dentro del rango reportado en estudios anteriores en caninos, 124 min (equivalente a 2,07 h) y 4,37 h (Lavy y col., 1999; Batzias y col. (2005). En otras especies la $t_{1/2el}$ fue menor, ratas 49,8 min (equivalente a 0,83 h), walabís 1,79 h, y humanos 2,1 h y 2,9 h (Plaisance y col., 1989; Gatti y col., 1993; Yang y Lee, 2007; Watson y col., 2017).

En correspondencia con el Cl y la $t_{1/2el}$, las moléculas del antimicrobiano presentaron un mayor TMR en caninos ($4,65 \pm 0,54$ h) respecto a los felinos ($3,33 \pm 0,93$ h). Manteniéndose también dentro del rango reportado en caninos previamente, 143 min (equivalente a 2,4 h) y 5,1 h (Lavy y col., 1999; Batzias y col., 2005). En otras especies el TMR fue menor, ratas 36 min (equivalente a 0,6 h), walabís 1,99 h y humanos 2,9 h (Gatti y col., 1993; Yang y Lee, 2007; Watson y col., 2017).

El $ABC_{0-\infty}$ en caninos fue un 57% mayor en comparación con los felinos. Este parámetro coincide con los obtenidos en otros estudios en caninos a dosis similares con los felinos, 1457 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, 24,28 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ y 22,52 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ (Lavy y col., 1999; Batzias y col., 2005),

también con el valor del parámetro calculado para walabís (44,42 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$), y corregido por la dosis ya que fue el doble (20 mg/kg) de la administrada a los animales en este estudio. El ABC difiere ampliamente en humanos, tomando valores de 39,7 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ (300 mg totales y peso promedio 70 kg, equivalente a 4,3 mg/kg) (Eller y col., 1989), 0,063 mg.h/ml (600 mg totales y peso promedio 73 kg, equivalente a 8,2 mg/kg) (Plaisance y col., 1989) y 31,8 mg.h/l (600 mg totales y peso promedio 73 kg, equivalente a 8,2 mg/kg) (Gatti y col., 1993). Este último estudio se aproximaría al parámetro calculado en caninos en este trabajo, considerando la dosis corregida por el peso. Se observaron grandes diferencias también con las ratas siendo su ABC 1240 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$ (equivalente a 20,7 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$) a una dosis 5 veces superior a la empleada en este trabajo (50 mg/kg) (Yang y Lee, 2007). En su conjunto estas observaciones contribuyen a la comprensión de las diferencias entre especies en el comportamiento farmacocinético de la clindamicina.

VI.II.1.c. Administración oral en ayunas

La velocidad de absorción oral de la clindamicina fue rápida en caninos y significativamente mayor en felinos, acorde a los parámetros que evalúan esta etapa. Siendo en caninos su k_{01} $2,63 \pm 1,54 \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2a}$ $0,38 \pm 0,25 \text{ h}$ y t_{max} $1,12 \pm 0,45 \text{ h}$. Mientras que en felinos estos parámetros resultaron: k_{01} $6,39 \pm 2,01 \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2a}$ $0,12 \pm 0,04 \text{ h}$ y t_{max} $0,57 \pm 0,13 \text{ h}$.

Siendo la absorción un proceso tan variable los t_{max} reportados en otras especies estuvieron entre 0,25 a 3 h. Sin embargo, los valores obtenidos en este trabajo se encontraron dentro del rango reportado para ambas especies. En caninos varió entre 1 a 3,2 h (Sinkula y col., 1973; Sun y Hsi, 1973; Batzias y col., 2005; Saridomichelakis y col., 2011; Ortega y col., 2016) mientras que en felinos fue de 0,5 a 1,5 h (Brown y col., 1989; Boothe y col., 1996). El t_{max} en otros animales fue de 3,5 h en cerdos (Goode y col., 2019), 0,5 h en palomas (Lenarduzzi y col., 2011), 0,25 h en ratas (Yang y Lee, 2007) y 0,8 a 1,08 h en humanos (Gatti y col., 1993; Carrasco-Portugal y col., 2008).

En cuanto a la velocidad de absorción, solo se reportó en aves k_{01}/h : 18,2 (Lenarduzzi y col., 2011) y en humanos k_a : $3,28 \text{ h}^{-1}$ y $t_{1/2a}$: 0,27 h (de Haan y col., 1972).

La C_{max} en perros fue de $3,71 \pm 1,01 \mu\text{g/ml}$ con una dosis de $8,3 \pm 1,1 \text{ mg/kg}$ (F% 62,4), mientras que en gatos fue de $5,59 \pm 0,95 \mu\text{g/ml}$ con una dosis de 15 mg/kg (F% 94,8). Este parámetro coincide con el hallado en estas especies en estudios previos, en caninos una dosis oral de 5 mg/kg presentó una C_{max} de 1928 ng/ml y a 11 mg/kg , 3051 ng/ml y $3,25 \mu\text{g/ml}$ (Batzias y col., 2005; Saridomichelakis y col., 2011). En felinos 11 mg/kg vía oral en cápsulas tuvo una $C_{m\acute{a}x}$ superior, $7,37 \mu\text{g/ml}$ (Boothe y col., 1996). En cerdos y humanos a dosis similares los valores también coinciden con los hallados en este estudio. Cerdos (15 mg/kg) $3,52 \mu\text{g/ml}$ y humanos (600 mg orales con un peso de 59 y 68 kg , equivalente a $10,1 \text{ mg/kg}$ y $8,8 \text{ mg/kg}$) $5,94 \mu\text{g/ml}$ y $5,15 \mu\text{g/ml}$ (Carrasco-Portugal y col., 2008; Goode y col., 2019).

En caninos, el $ABC_{0-\infty}$ (corregida por la dosis) luego de la administración oral del antibiótico, fue de $23,66 \pm 11,24 \mu\text{g.h/ml}$ (corregida), mientras que para la vía endovenosa este parámetro tomó el valor de $39,06 \pm 13,00 \mu\text{g.h/ml}$. Como resultante de esto, la F oral de la clindamicina en perros fue del $62,39 \pm 25,81 \%$.

Estudios previos en caninos reportaron valores algo superiores, con una F% de $72,55\%$ y $87,9\%$ ambos con una menor variabilidad, $11,3\%$ y $9,8\%$, respectivamente (Sun y Hsi, 1973; Batzias y col., 2005). En humanos, este parámetro tomó valores entre $0,53$ y $0,876$ (Gatti y col., 1993; Bouazza y col., 2012), mientras que en ratas la absorción oral fue muy baja con una biodisponibilidad del $30,1\%$ (Yang y Lee, 2007).

En felinos, la biodisponibilidad oral de la clindamicina fue del $94,78 \pm 59,84 \%$. La amplia variabilidad en este parámetro se debió al amplio rango de valores obtenidos que variaron entre $28,64\%$ (gato H) y $184,44\%$ (gato F). Esta mayor biodisponibilidad absoluta en gatos ocurrió a expensas de 3 animales con un valor de F superior al 100% , siendo los más extremos el gato "F" y "G" con valores de 184% y 130% respectivamente. Es difícil explicar esta diferencia tan amplia. Analizando estos 3 individuos, puede observarse que fueron los que presentaron las $t_{1/2el}$ más prolongadas así como los mayores TMR, es probable que la recirculación enterohepática, proceso que será discutido en la sección siguiente, sea el responsable de aumentar el tiempo de permanencia del fármaco en el organismo y por ende influir dichos parámetros. Por otro lado, particularmente en gatos se empleó una dosis mayor vía oral (15 mg/kg) respecto a la endovenosa (10 mg/kg). Si bien el cálculo de biodisponibilidad se realizó corrigiendo el $ABC_{0-\infty}$ por la dosis, esto no consideraría una mayor proporción de recirculación del fármaco (Toutain y Bousquet-

Mélou, 2004^a, Malik y col., 2016). Podría existir también un fenómeno de flip-flop en estos animales ya que los 3 presentaron una vida media superior luego de administrada la clindamicina vía oral respecto a la vía endovenosa, sin embargo, al analizar las k_{01} y k_{10} tanto endovenosa como oral no se observa la inversión de estas constantes (Toutain y Bousquet-Mélou, 2004^b).

La eliminación de la droga luego de su administración oral no mostró diferencias significativas comparada con la vía endovenosa en ninguna de las 2 especies en estudio. En caninos la $t_{1/2el}$ fue de $2,54 \pm 0,59$ h y en felinos fue de $3,32 \pm 1,59$ h.

Las $t_{1/2el}$ luego de una administración oral reportadas en estudios previos en caninos son algo superiores a las obtenidas en este trabajo. Un mismo estudio con dos dosis diferentes, 5 y 11 mg/kg, informó una $t_{1/2}$ de 4,25 h y 9,92 h (Saridomichelakis y col., 2011) mientras que Batzias y col. (2005) informaron una $t_{1/2}$ de 4,37 h (11 mg/kg).

VI.II.1.d. Recirculación enterohepática

Al estudiar las curvas de disposición plasmática de la clindamicina, particularmente en caninos, encontramos concentraciones elevadas en los últimos puntos de muestreo (11 h, 24 h) en la mayoría de los perros, todas por fuera de la pendiente de eliminación del antimicrobiano y similar en los tres tratamientos (ev 5/6 animales, oral en ayunas 3/6 animales y oral con alimento 4/6 animales). En gatos, si bien algunos animales presentaron esta misma característica en su curva de disposición, el número de individuos fue menor: ev 1/6 gatos, oral en ayunas 3/6 gatos y oral con alimento 2/6 gatos. Esta tendencia común sugeriría la existencia de recirculación enterohepática del antimicrobiano.

Este hallazgo coincide con reportes previos realizados en caninos, Sun y Hsi (1973) quienes encontraron un pico pequeño en la curva de disposición luego de que los animales fueran alimentados. Y Lavy y col. (1999) quienes atribuyeron una biodisponibilidad superior al 100% para la vía subcutánea a una posible recirculación enterohepática.

Por otro lado, las características químicas, particularmente del metabolito conjugado de la clindamicina, apoyan esta observación. Se estudió en medicina humana que las

moléculas que sufren este proceso son aquellas de peso molecular superior a 400 g/mol y polares, siendo 411 g/mol para los metabolitos demetilados y 441 g/mol para los oxidados, mientras que la conjugación con glucurónico aumenta en 200 g/mol el volumen de la molécula y la polaridad de la misma. Estas modificaciones favorecen la excreción biliar de los metabolitos, los cuales, una vez en el intestino se escinden a su forma activa mediante glucuronidasas bacterianas, quedando disponibles para reabsorberse (Malik y col., 2016; Szultka-Mlynska y Buszewski, 2016).

VI.II.2. Comparación de la farmacocinética de la clindamicina entre perros y gatos

VI.II.2.a. Vía endovenosa comparada

Al comparar estadísticamente los principales parámetros calculados para la vía de administración endovenosa en caninos y felinos se determinó que existen diferencias significativas en los parámetros que evalúan la eliminación de la droga y el $ABC_{0-\infty}$, mientras que los parámetros V_c y V_{ss} , encargados de evaluar la distribución, no arrojaron diferencias entre estas 2 especies.

En relación a la eliminación, el gato depuró el antibiótico del organismo con mayor velocidad respecto al perro. Se encontraron diferencias en el CI, $t_{1/2el}$ y TMR también se encontraron diferencias significativas en la cantidad total de fármaco en el organismo estimado con el $ABC_{0-\infty}$. Todos estos parámetros se relacionan estrictamente entre sí, ya que el cálculo del CI y TMR incluyen al $ABC_{0-\infty}$ en su fórmula, lo mismo ocurre con la $t_{1/2el}$, parámetro híbrido modificado por variaciones tanto del volumen de distribución como del clearance, mientras que el $ABC_{0-\infty}$ se obtiene en forma directa a partir de la curva de disposición por el método de los trapecoides.

Analizando esto y considerando que la distribución fue semejante entre perros y gatos podríamos atribuir las diferencias estrictamente a variaciones en la depuración del fármaco del organismo. Como se describió en la introducción, el metabolismo hepático y excreción biliar es la principal ruta de eliminación de la clindamicina, siendo la excreción renal activa menor al 10% del antimicrobiano administrado (Sun, 1973).

Encontrar discrepancias en esta etapa es esperable, ya que es sabido que el metabolismo hepático de fármacos y sus sistemas enzimáticos involucrados son responsables de amplias diferencias entre especies animales (Watkins y Klaassen, 1986; Fink-Gremmels, 2008).

Como se describió anteriormente la clindamicina se elimina principalmente por metabolismo hepático mediante reacciones de S-oxidación, N-demetilación y conjugación con glucurónico, demostradas en caninos, humanos y ratas (Sun, 1973; Wynalda y col., 2003).

Existen 2 posibles factores que podrían explicar la menor velocidad de eliminación de la clindamicina en caninos respecto a felinos. Como se explicó en la sección anterior, es posible que el antimicrobiano realice un ciclo enterohepático que aporte a un mayor tiempo de permanencia en el organismo. Por otro lado, debido a la deficiencia en el sistema enzimático uridinadifosfato glucuroniltransferasa que presentan los felinos (Gregus y col., 1983; Court, 2013), es probable que la eliminación mediante glucuronoconjugación sea más relevante en caninos y por ende una mayor recirculación enterohepática para dicha especie.

Este déficit enzimático en los gatos nos permitiría inferir que estos animales derivan el metabolismo de casi la totalidad del antimicrobiano a las dos reacciones restantes, las vías de S-oxidación y N-demetilación, dado que no existe reporte de otros sistemas enzimáticos involucrados en la eliminación de la clindamicina en animales y humanos (Sun, 1973; Brodasky y col., 1977; Wynalda y col., 2003; Szultka-Mlynska y Buszewski, 2016).

Analizando este mismo parámetro para la lincomicina, antimicrobiano del que derivó la clindamicina, se encontró que la vida media en caninos y felinos difiere de la misma manera, 4,1 h y 3,56 h, respectivamente [Röstel y col. (s.f.); Albarelllos y col., 2011a]. Sin embargo, no existen trabajos que caractericen la eliminación de la lincomicina en estas especies o en humanos para establecer relación con el metabolismo, un único estudio realizado en perros encontró que la extracción hepática para ambos antimicrobianos rondaba el 24-30% mientras que la renal era del 20-32% para lincomicina y 3-9% para clindamicina (Brown y col., 1975).

Estudiando otros fármacos, Court (2013) encontró un fenómeno similar con el piroxicam en caninos, humanos y felinos. Este fármaco presenta una mayor vida media de eliminación en las primeras dos especies y menor en el gato. Postuló que el felino presentaría una mejor eficiencia en el metabolismo oxidativo del piroxicam por lo cual la vida media en esta especie es menor. En caninos y humanos el piroxicam se eliminaría mediante oxidación principalmente y algunos de sus metabolitos son conjugados con ácido glucurónico. Por otro lado, previamente, había sido demostrada la recirculación enterohepática de este fármaco en perros y humanos, no así en gatos. En otro estudio comparativo entre especies se demostró también que las reacciones microsomaes oxidativas son similares entre perros y gatos, y algo superior por parte de esta última especie sobre determinadas moléculas (Gregg y col., 1983).

Por otro lado, la eritromicina es un antimicrobiano macrólido que se elimina casi en su totalidad vía metabolismo hepático. Las reacciones involucradas en esta etapa son demetilación, mediadas también por el CYP3A4 (en humanos), procesos de oxidación e hidrólisis (Kirst y Sides, 1989), similar a lo que ocurre con la clindamicina. Trabajos realizados con eritromicina en caninos y felinos arrojaron una $t_{1/2el}$ de 1,35 h en perros y 0,75 h en gatos, observándose también una eliminación más lenta para los primeros (Albarellos y col., 2008; Albarellos y col., 2011b).

Un mayor metabolismo con ácido glucurónico en el canino, una posible recirculación enterohepática y la posibilidad de una mayor capacidad oxidativa del felino podrían explicar las diferencias en la eliminación del fármaco del organismo entre estas dos especies.

VI.II.2.b. Vía oral comparada

Al comparar estadísticamente los parámetros obtenidos para la fase de absorción entre perros y gatos se encontraron diferencias significativas en la k_{01} , $t_{1/2a}$ y el t_{max} . Observándose una rápida y temprana absorción en felinos, con una k_{01} 3 veces superior para los perros (0,38 h vs. 0,12 h) y un t_{max} del doble (1,12 h vs. 0,57 h). Es probable que una de las causas de variación de este parámetro sea la forma farmacéutica empleada. En perros se utilizaron comprimidos mientras que, a los gatos, se les administró cápsulas. Es sabido que la forma farmacéutica influye sobre la absorción de un fármaco, por

ejemplo las formas sólidas, deben sufrir procesos físicos para que el principio activo se solubilice en el tubo digestivo y quede disponible para absorberse. Es así que la liberación del principio activo desde el comprimido puede verse afectada tanto por las distintas etapas de fabricación: mezcla, granulación, compresión como por los excipientes utilizados (Sabnis 1999; Adeleye, 2019). Por otro lado, un estudio realizado por Uhumwangho y Okor (2007) sobre las características de disolución de cápsulas y comprimidos de paracetamol demostró que las cápsulas tenían una mayor constante de disolución, es decir un menor tiempo. También encontró que la composición de los excipientes en los comprimidos, no así en las cápsulas, influía en la disgregación de los mismos, favoreciendo o no este proceso. De manera que una lenta disgregación del comprimido, podría estar relacionado con este retraso en la absorción oral de la clindamicina en ayunas en caninos. Si bien en ambas especies, al ser carnívoras, el comportamiento fisiológico del tubo digestivo es similar, es probable que exista también alguna diferencia entre las mismas ya que reportes previos de t_{max} en felinos fueron de 0,5 a 1,5 h mientras que en caninos se obtuvieron tiempos mayores con un rango de 1 a 3 h (Sinkula y col., 1973; Sun y Hsi, 1973; Boothe y col., 1996; Batzias y col., 2005; Saridomichelakis y col., 2011; Herdt y Sayegh, 2013; Ortega y col., 2016).

En cuanto a la biodisponibilidad oral en ayunas, si bien existen diferencias marcadas entre perros ($F\% 61 \pm 26$) y gatos ($F\% 94 \pm 59$), no se han encontrado diferencias significativas, probablemente por el amplio desvío que presentó este parámetro. Por otro lado, a pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas, la menor biodisponibilidad oral de la clindamicina en caninos podría deberse también a la forma farmacéutica (comprimido), como se explicó anteriormente. Existen reportes anteriores, en la misma especie, que informaron resultados algo superiores para este parámetro 72 – 88%, administrando la clindamicina oral en cápsulas (Sun y Hsi, 1973; Batzias y col., 2005).

VI.II.3. Comparación de la farmacocinética de la clindamicina administrada luego de una ración de alimento

La descripción realizada previamente sobre el comportamiento farmacocinético de la clindamicina en perros y gatos, nos permite obtener un patrón de comparación para

identificar variaciones que pudieran ocurrir al administrar este antimicrobiano con una ración de alimento, analizar sus posibles causas y consecuencias.

En ambas especies la presencia de alimento en el tubo digestivo produjo modificaciones estadísticamente significativas en el tiempo y velocidad de absorción del antimicrobiano sin afectar la magnitud de la misma ni su eliminación.

Sin embargo, los cambios ocurrieron en forma opuesta, en los caninos la clindamicina se absorbió en forma más rápida y temprana al administrarla luego de recibir una ración de alimento respecto a su administración en ayunas, mientras que en los felinos se observó un retraso en la absorción oral en los animales alimentados con respecto a los animales que se encontraban en ayunas, es por ello que se discutirá cada especie por separado en las siguientes secciones. La presencia de alimento en el tubo digestivo en ambas especies también ocasionó un comportamiento diferente en las $ABC_{0-\infty}$. Al relacionar el $ABC_{0-\infty}$ de los caninos respecto a la de los felinos (para lo cual el parámetro se estandarizó por la dosis oral administrada a cada especie) se observó que esta proporción tomó un valor de 1,11 en ayunas vs 0,83 luego de alimentados. Esto significaría que a igual dosis, en ayunas, los perros tendrían un área 11% mayor a los gatos mientras que con alimento ocurriría lo opuesto, siendo el área un 17% menor.

VI.II.3.a. Clindamicina con alimento en perros

En caninos se observó una pendiente de absorción más pronunciada, con un menor t_{max} . Los parámetros comparados son, clindamicina en ayunas: k_{01} $2,63 \pm 1,54 \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2a}$ $0,38 \pm 0,25 \text{ h}$ y t_{max} $1,12 \pm 0,45 \text{ h}$, clindamicina luego de recibir una ración de alimento: k_{01} $3,88 \pm 0,85 \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2a}$ $0,19 \pm 0,04 \text{ h}$ y t_{max} $0,75 \pm 0,12 \text{ h}$.

La presencia de alimento no modificó la cantidad total de fármaco absorbido, su biodisponibilidad, ni la concentración máxima alcanzada. Los resultados comparados en caninos fueron ABC_{ayuno} $19,04 \pm 7,82 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, $ABC_{alimento}$ $16,03 \pm 5,12 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, $F\%_{ayuno}$ $61,87 \pm 26,09$, $F\%_{alimento}$ $50,35 \pm 17,22$, $C_{max \text{ ayuno}}$ $3,71 \pm 1,01 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}$ y $C_{max \text{ alimento}}$ $3,50 \pm 0,68 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}$.

Según lo descripto en la introducción era esperable que ocurra un retraso en la absorción de la clindamicina en presencia de alimento debido a sus características químicas, o que

no existieran modificaciones en la cinética del antimicrobiano en ayunas y con alimento tal como se publicó en otros estudios en medicina humana (Meyers y col., 1969; Birkenmeyer y Kagan, 1970). Sin embargo, los resultados de este trabajo demuestran que, en caninos, la presencia de comida en el tubo digestivo mejoró su velocidad de absorción.

Es probable que la formulación sea responsable de este fenómeno. Como se describió en la sección anterior numerosos factores de la forma farmacéutica sólida pueden determinar la cantidad y velocidad de fármaco que se solubiliza en los líquidos del tubo digestivo quedando disponible para absorberse, y los mismos pueden modificarse por interacción con comida o con los procesos fisiológicos que desencadena la digestión. Se demostró que la presencia de alimento en el estómago, el pH, los movimientos sincrónicos encargados de la digestión podrían favorecer la disgregación del comprimido, liberación y disolución del principio activo en la fracción líquida del contenido gástrico (Williams y col., 1996). A su vez, durante la digestión, la fracción líquida y partículas pequeñas menores a 1 – 2 mm, pasan en forma casi inmediata al intestino mientras que la porción sólida lo hace posteriormente (luego de hasta 3-4 horas luego). Este fenómeno podría generar que a medida que se desintegra el comprimido, el principio activo que se libera y solubiliza, pase inmediatamente al intestino donde será absorbido (Davis y col., 1986; Fleisher y col., 1999; Herdt y Sayegh, 2013). En este caso la presencia de alimento en tubo digestivo produciría una mejor disgregación y disolución del comprimido, y por ende un menor t_{max} y $t_{1/2a}$ y mayor k_{01} respecto a la administración del mismo comprimido en ayunas.

Otro factor que apoyaría esta diferencia atribuida a la formulación, y por ende a la velocidad y cantidad en que el principio activo se disgrega del mismo es que, al comparar los parámetros que evalúan la absorción oral de la clindamicina con alimento en perros y en gatos, no existen diferencias significativas entre los parámetros k_{01} , $t_{1/2a}$ y t_{max} , como si las había en ayunas. Probablemente el alimento homogenizó el comportamiento del fármaco y su forma farmacéutica (disgregación y disolución) en estómago, logrando un pasaje uniforme en ambas especies, en velocidad y cantidad hacia intestino donde fue absorbido. Por otro lado, esto también produjo una menor variabilidad en los parámetros que evalúan la absorción. Particularmente sobre la biodisponibilidad, esta menor variabilidad permitió demostrar diferencias significativas entre la $F_{alimento}$ de caninos y felinos, siendo del $50 \pm 17 \%$ para los primeros y $90 \pm 45 \%$. A diferencia de lo ocurrido en

ayunas, donde la diferencia no resultó estadísticamente significativa (F_{ayuno} perros 62 ± 26 % y F_{ayuno} gatos 95 ± 60 %), como se mencionó anteriormente.

Esta menor variabilidad en los parámetros cinéticos con alimento, se atribuiría por un lado a que el tiempo de vaciado gástrico es uno de los principales factores que influyen sobre la tasa de absorción, demostrado en caninos (Sabnis, 1999). Por otro lado, Fleisher y col. (1999) encontraron en medicina humana, que para fármacos de alta permeabilidad (como se clasifica la clindamicina) puede existir una mayor variabilidad en la absorción en ayunas respecto a individuos alimentados. Esto ocurre porque en ayunas el vaciado gástrico se rige por ciclos de movimientos que generan ondas peristálticas cada 90 a 120 minutos mientras que los ciclos de contracción musculares durante el proceso digestivo son regulares y frecuentes. Estas últimas, sumadas a la contracción del píloro, son las encargadas de retener y procesar el contenido sólido y permitir la salida constante del líquido hacia el duodeno durante la digestión. No existen reportes del efecto del alimento sobre la variabilidad en la cinética oral de fármacos en caninos y felinos pero si están descritos estos ciclos de movimiento de la capa muscular del estómago en ayunas, bajo el nombre de complejo motor interdigestivo, que ocurren en pequeños animales con una frecuencia de una a dos horas con el fin de volcar el contenido gástrico hacia el duodeno en el animal en ayunas (Sabnis, 1999; Herdt y Sayegh, 2013). En perros se demostró la variabilidad que produce el administrar un fármaco en ayunas, particularmente el celiprolol, según la fase del complejo motor interdigestivo en que se encuentre el estómago, en el momento de recibir la droga (Lipka y col., 1995).

La activación del proceso de digestión debido a la presencia de alimento en perros, generaría ciclos de contracción de la musculatura lisa gástrica regulares y frecuentes que homogenizarían, en primer lugar, la concentración o cantidad de fármaco solubilizado en forma uniforme en los líquidos gástricos, a partir del comprimido. Y en segundo lugar, la velocidad de pasaje del principio activo hacia el intestino. De esta manera el proceso de absorción ocurriría en forma más uniforme y por ende los parámetros farmacocinéticos resultantes tendrían una menor variabilidad.

VI.II.3.b. Clindamicina con alimento en gatos

En felinos las diferencias se orientaron, en forma significativa, hacia una menor velocidad de absorción y mayor tiempo máximo cuando la droga se administró luego de la ración de alimento. Los parámetros comparados son, clindamicina en ayunas: k_{01} $6,39 \pm 2,01 \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2a}$ $0,12 \pm 0,04 \text{ h}$ y t_{max} $0,57 \pm 0,13 \text{ h}$, clindamicina con alimento: k_{01} $3,77 \pm 2,23 \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2a}$ $0,24 \pm 0,12 \text{ h}$ y t_{max} $0,96 \pm 0,40 \text{ h}$.

La presencia de alimento no modificó la cantidad total de fármaco absorbido, su biodisponibilidad, ni la concentración máxima alcanzada. Los resultados comparados en felinos fueron ABC_{ayuno} $30,9 \pm 16,10 \text{ } \mu\text{g.h/ml}$ vs. $ABC_{alimento}$ $34,31 \pm 12,51 \text{ } \mu\text{g.h/ml}$, $F\%_{ayuno}$ $94,78 \pm 59,84$ vs. $F\%_{alimento}$ $90,3 \pm 45,08$, $C_{max\ ayuno}$ $5,59 \pm 0,95 \text{ } \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{max\ alimento}$ $5,52 \pm 0,39 \text{ } \mu\text{g/ml}$.

Las diferencias observadas en gatos coinciden con lo descrito en la introducción en relación a este tema y lo esperado según las características químicas de la clindamicina y su clasificación biofarmacéutica (BCS por sus siglas en inglés).

Tal como se reportó en este trabajo en gatos, en medicina humana McGehee y col. (1968), encontraron un retraso en la absorción oral de la clindamicina administrada con alimento, sin cambios en la C_{max} . Similar ocurrió al administrar clindamicina palmitato una hora posterior al alimento, también en humanos, encontrando un retraso en el t_{max} sin diferencias en la C_{max} , particularmente en este estudio observaron también un leve aumento del $ABC_{0-\infty}$ (De Haan y col., 1972).

Como se describió en la introducción son numerosos los factores, tanto físico-químicos como fisiológicos, que pueden influir sobre la cinética de un fármaco al administrarlo oral con alimento. A diferencia de lo propuesto en caninos, debido a la mejor disolución que presenta la forma farmacéutica utilizada en este caso, cápsulas, las mismas no interferirían con el proceso de liberación del principio activo hacia la luz del tubo digestivo.

Es probable que el retraso en el proceso de absorción del antimicrobiano al administrarlo oral con alimento a gatos, sin influir sobre la cantidad total absorbida, se deba al retraso en el vaciado gástrico y en un segundo orden de importancia al aumento de pH estomacal consecuente a la presencia de alimento. Esto se fundamenta por un lado porque, en felinos, el tiempo medio en que el estómago vacía la porción líquida del alimento es de 51

a 80 minutos mientras que la sólida lo hace en 104 a 220 minutos (Gould y col., 1990). El tránsito gástrico depende de la composición de alimento, su densidad, la distensión del estómago y la activación de diversos receptores intestinales que limitan la velocidad de este proceso. Estos factores así como la interacción del fármaco con las partículas de alimento, su solubilidad o suspensión en el fluido gástrico generan un retraso en el pasaje de las drogas hacia intestino donde serán absorbidas, y particularmente influye en fármacos de absorción rápida como es la clindamicina (Fleisher y col., 1999; Welling, 1977; Williams y col., 1996; Sabnis, 1999; Herdt y Sayegh, 2013). Por otro lado, en medicina humana, se estudió que el vaciado gástrico es el factor principal que regula la absorción de los fármacos pertenecientes a la clase 1 del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS), dentro de la cual se ubica este antimicrobiano tanto en medicina humana como en veterinaria (Wu y Benet, 2005; Papich y Martinez, 2015). Un segundo factor, probablemente de menor relevancia debido a la elevada solubilidad de la clindamicina, es la influencia del pH de los jugos gástricos. Los fármacos bases débiles presentan tasas de disolución más lentas en presencia de pH más altos como ocurre cuando el alimento alcanza el estómago (Williams y col., 1996; Fleisher y col., 1999; Sabnis, 1999).

Por último que no se hayan detectado diferencias significativas en la biodisponibilidad oral de la clindamicina administrada con alimento podría considerarse una ventaja al momento de su administración. Tal como fue descrito en la introducción este antimicrobiano puede causar esofagitis en gatos cuando se la utiliza por vía oral, para prevenir este efecto adverso se sugiere la administración de agua o alimento para favorecer su correcta deglución (Graham y col., 2000). Considerando estos resultados los gatos podrían comer una ración de alimento luego de recibir el antibiótico previniendo la aparición de esofagitis sin interferir con la eficacia del antibiótico.

VI.III. Farmacodinamia

VI.III.1. Cepas estudiadas

Tal y como se describe en el apartado de materiales y métodos, se emplearon para esta etapa cepas bacterianas causantes de enfermedad en caninos y felinos. Los principales sitios de infección a partir de donde se aislaron estos microorganismos fueron piel y oído, y con un menor número de muestras, abscesos, vagina y orina. El origen geográfico de estos aislamientos es Ciudad de Buenos Aires y Gran Buenos Aires.

En este estudio se analizaron un total de 20 cepas, 17 correspondientes a estafilococos (*S. pseudintermedius* n=16 y *S. aureus* n=1) y 3 a *Streptococcus* spp. Si bien este número no es suficiente para establecer el valor de CIM poblacional para este antimicrobiano en esta región (CLSI, 2016), consideramos suficientes las cepas para cumplir los objetivos de este trabajo y poder relevar el perfil de susceptibilidad bacteriana a la clindamicina, calcular los predictores de eficacia integrando los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos obtenidos, y establecer interacciones farmacológicas entre la clindamicina y otros antimicrobianos de uso frecuente en pequeños animales.

En relación al género y especie de las bacterias obtenidas en trabajo, (con predominancia de *S. pseudintermedius* y un número muy bajo de *S. aureus* y *Streptococcus* spp.) y los sitios de infección a partir de los cuales se tomaron las muestras, (piel, oído y en menor proporción abscesos y vagina). Se ha reportado previamente en infecciones causadas por cocos grampositivos en pequeños animales que el microorganismo principalmente aislado es el estafilococo siendo el estreptococo un agente ocasional. El estreptococo, particularmente *S. canis*, es comensal normal de piel, oídos y mucosas como faringe, vías respiratorias altas y genitales. Siendo aislado como agente etiológico de procesos infecciosos en condiciones particulares como son felinos inmunosuprimidos, cachorros o gerontes, como ocurre con gatitos neonatos infectados a partir de este microorganismo presentes en el canal vaginal de la madre o pacientes felinos positivos a VIF o VILEF. En caninos también fue reportado como agente oportunista en vaginitis, otitis, onfaloflebitis y poliartritis, estos últimos en cachorros malnutridos o de ambientes poco higiénicos. También se reportó su hallazgo en abscesos caudados por mordeduras de caninos y felinos. Muchos de estos procesos infecciosos no llegan a un diagnóstico definitivo, solo

empírico, por el amplio uso y elevada susceptibilidad a penicilinas que logran la cura clínica sin necesidad de realizar cultivos y aislamientos y por otro lado al ser un habitante normal de la flora bacteriana muchas veces es aislado en cultivos, así como se encuentran en pacientes sanos, sin ser necesariamente el agente causal (Foster y Martin, 2011; Greene y Prescott, 2012; Weese, 2013; Frymus y col., 2015; Rothe y col., 2015; Nocera y col., 2021). Un estudio retrospectivo realizado por Nocera y col. (2021) en Italia, encontró que solo un 8% de las piodermias y otitis en caninos eran causadas por *Streptococcus* spp., mientras que en felinos dicho porcentaje fue del 5%. Los estreptococos tienen mayor relevancia como agente etiológico de neumonías siendo los porcentajes de aislamiento de 6 a 21% en perros y 20% en gatos (Macdonald y col., 2003; Dear, 2020). Particularmente en este trabajo no recibimos bacterias aisladas en infecciones de pulmón.

Similar situación ocurre con la proporción de *S. pseudintermedius* vs. *S. aureus*. Por un lado el *S. pseudintermedius* es el habitante normal de piel y oído presente en mayor proporción en el microbioma canino y felino mientras que el *S. aureus* se encuentra en cantidad nula en la mayoría de los caninos y puede ser comensal en felinos. Esto coincide con reportes de sobrecrecimiento del *S. pseudintermedius* en diferentes dermatopatías (dermatitis atópicas, de contacto, seborreicas, alérgicas) tanto en perros como en gatos, y con reportes de aislamiento, siendo este coco el aislado en mayor porcentaje en procesos infecciosos de piel (Weese, 2013; Ludwig y col., 2016; Older y col., 2017; Bierowiec y col., 2019; Nocera y col., 2021). En cuanto al *S. aureus*, el hallazgo como agente causal de infecciones de piel en caninos es bajo a nulo (Ludwig y col., 2016; Bierowiec y col., 2019; Nocera y col., 2021), mientras que en felinos hubo más discrepancias. El estudio publicado por Nocera y col. (2021) encontró en esta especie una frecuencia de aparición de *S. aureus* algo superior a la de *S. pseudintermedius*, mientras que Ludwig y col. (2016), aisló 49 *S. pseudintermedius* y 29 *S. aureus* causantes de dermatitis en gatos.

Finalmente, en cuanto a la elevada proporción de bacterias estudiadas en perros en relación a la menor cantidad de bacterias aisladas en gatos, el recuento de cepas coincide con reportes previos tanto en Buenos Aires como en otras ciudades. En Ciudad de Buenos Aires y Gran Buenos Aires, un estudio retrospectivo encontró que de los *S. pseudintermedius* aislados en oído 1197 correspondían a caninos mientras que solo 60 a

felinos, similar ocurrió en muestras de piel, siendo 493 de origen canino y 18 felino (Rumi y col., 2021). Otro estudio retrospectivo realizado en Nápoles, Italia, encontró que de 170 muestras de otitis remitidas, el 97% correspondían a caninos y solo el 3% a felinos, mientras que de piodermias (n=62) la proporción fue 77% de caninos y 23% de felinos (Nocera y col., 2021). Lo mismo sucedió en un trabajo realizado por Ludwig y col. (2016) quienes analizaron un total de 605 cepas de *S. pseudintermedius*, de las cuales 556 correspondían a caninos y 49 a felinos. La frecuencia de procesos infecciosos de piel con cocos como agentes causal ocurriría en mayor proporción en caninos respecto a felinos ya que es probable que tanto el *S. pseudintermedius* como el *S. aureus* tengan una menor capacidad de adherencia a los corneocitos felinos, lo que explicaría la baja incidencia de dermatitis en esta especie respecto a la especie canina (Lu y McEwan, 2007; Woolley y col., 2008).

VI.III.2. Determinación de la CIM

Para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana y determinación de la CIM se utilizó el método de macrodilución en caldo, considerado el método de referencia. El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones de las normas CLSI (2018), cumpliéndose con todos los criterios de validez: la CIM de las cepas patrón siempre estuvieron en el rango especificado, tanto el control de esterilidad como el de inóculo fueron correctos (evidenciándose ausencia y presencia de crecimiento bacteriano, respectivamente) y el recuento bacteriano arrojó también un valor adecuado, encontrándose siempre dentro del rango indicado, 1×10^5 - 1×10^6 UFC/ml.

Para describir la sensibilidad de los microorganismos estudiados, se informaron los valores individuales de cada cepa, la CIM₅₀, CIM₉₀, la moda y la frecuencia relativa. Estos últimos cuatro parámetros fueron calculados solo para los *Staphylococcus pseudintermedius*, ya que el bajo número de los restantes microorganismos, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* spp. no permitió dicho análisis. En cuanto a los parámetros estadísticos, se seleccionaron aquellos que mejor resumen los resultados obtenidos. La CIM₅₀ y CIM₉₀ representan la concentración que inhibe el 50 y 90% de los aislamientos, respectivamente, y se emplearán posteriormente para el cálculo de los predictores de eficacia FC/FD. La moda es una medida de tendencia central que le da

importancia al valor de CIM que aparece con mayor frecuencia. Finalmente, la frecuencia relativa muestra el perfil de susceptibilidad expresado en porcentaje con respecto al total de las muestras estudiadas.

Si bien el número de microorganismos estudiados no permite un análisis poblacional, como se mencionó anteriormente, los resultados calculados permitieron comparar los hallazgos en este trabajo con otros estudios similares realizados en las mismas especies animales, así como también calcular los predictores de eficacia en función a las curvas de disposición plasmática y parámetros obtenidos también en este trabajo.

La moda calculada para la CIM del *S. pseudintermedius* fue 0,12 µg/ml y tomó el mismo valor que la CIM₅₀, mientras que la CIM₉₀ se encontró en valores superiores a 4 µg/ml.

Estos resultados coinciden con los valores de CIM, CIM₅₀ y CIM₉₀ para *S. pseudintermedius* de caninos y felinos, reportados por investigadores de distintas regiones de América y Europa. Dichos trabajos arrojaron un rango de valores de CIM, para microorganismos sensibles, comprendido entre 0,06 a 0,5 µg/ml, resultando la mayoría de los mismos entre 0,6 y 0,12 µg/ml mientras que los *S. pseudintermedius* resistentes presentaron valores de CIM superiores o iguales a 4 µg/ml (4, 8, 16, 32, 64, 128 µg/ml). A su vez, fueron pocos los microorganismos con valores de CIM reportados entre 1 y 2 µg/ml, tal como sucedió en nuestro caso. Lo mismo ocurrió con las CIM₅₀ y CIM₉₀ informadas en estas publicaciones, la CIM₅₀ reportada fue de 0,12 µg/ml mientras que la CIM₉₀ se ubicó dentro del rango de concentraciones que clasifica a los microorganismos como resistentes, es decir, mayor o igual a 4 µg/ml (4, 8 o 128 µg/ml), coincidiendo estos resultados con los obtenidos en este estudio (Holm y col., 2002; Ganiere y col., 2005; Hartmann y col., 2005; Abusleme Garay, 2009; Pfizer, 2014; Ludwig y col., 2016). Solo un trabajo realizado en Canadá, presentó una CIM₅₀ de 0,25 µg/ml y CIM₉₀ de 1 µg/ml (Rubin y col., 2011).

La resistencia reportada para *S. pseudintermedius* en pequeños animales en Argentina, en otros países de América Latina y en Europa varía entre un 40 a 60%. Dicho rango también coincide con los resultados hallados en este estudio, con un 38% de microorganismos resistentes (56% sensibles y 6% con sensibilidad intermedia), acorde a los criterios de interpretación del perfil de susceptibilidad antimicrobiana, según el valor de CIM (µg/ml) y los puntos de corte establecidos por el CLSI (2015).

En cuanto a nuestra región geográfica, el perfil de susceptibilidad encontrado en este caso para *S. pseudintermedius* es similar al reportado por Rumi y col. (2021) y Vigo y col. (2015), para el mismo microorganismo, aislados a partir de oído, piel, vagina y otros tejidos de caninos y felinos de la Ciudad de Buenos Aires, Gran Buenos Aires y Ciudad de La Plata con porcentajes de resistencia de 40% a 43%. Y algo inferior a los porcentajes reportados para microorganismos causantes de infección netamente en piel, con un 60% y 66% de resistencia (Giacoboni y col., 2017; Rumi y col., 2021). En América Latina, en Brasil, también se reportó una resistencia del 60% mientras que en Chile y Perú solo del 25-28%, aunque estos últimos, corresponden a trabajos realizados en 2009 (Abusleme Garay, 2009; Antúnez y col., 2009.; Siqueira y col., 2014). En relación a los países europeos, la resistencia reportada para *S. pseudintermedius* aislados en piel y tejidos blandos se presenta en un rango similar al encontrado también en este estudio con porcentajes del 38% y 41 a 50% en Países Bajos e Italia, respectivamente. Mientras que en otras regiones los porcentajes fueron inferiores, no superando el 25% (Ganiere y col., 2005; Larsen y col., 2015; Ludwig y col., 2016; Jessen y col., 2019; van Damme y col., 2020; Nocera y col., 2021).

VI.III.3. Tablero de Damas

Para estudiar el tipo de interacción farmacológica que ocurre *in vitro* entre la clindamicina y otros antimicrobianos se realizó el método “Tablero de damas” o “Checkerboard” (Pillai y col., 2005).

La selección de los antimicrobianos con los que podría ser necesario combinar la clindamicina en una situación clínica en perros y gatos, se realizó en función a los indicados como primera línea para el tratamiento de infecciones sistémicas, como son sepsis, infecciones en piel, urinarias, respiratorias, digestivas, infestaciones por hemoparásitos, etc. Eligiendo el antimicrobiano representativo de su correspondiente grupo químico (Beco y col., 2013; Sainz y col., 2015; Lappin y col., 2017; Tasker y col., 2018; Jessen y col., 2019; Weese y col., 2019).

Dado que esta técnica tiene como punto de partida la determinación de la CIM del microorganismo en estudio para todos los antimicrobianos a evaluar, se siguieron los criterios de validación y recomendaciones de las normas CLSI (2018), cumpliéndose con

todo lo requerido y tal como se explicó en la sección anterior: la determinación de la CIM de las cepas patrón, los tubos control de esterilidad y de inóculo, y el recuento bacteriano.

Todas las cepas incluidas en el estudio de interacción resultaron sensibles a los antimicrobianos evaluados, según los puntos de corte establecidos por el CLSI (CLSI, 2015; CLSI, 2019).

El resultado de la interacción de la clindamicina con ampicilina, doxiciclina, gentamicina y enrofloxacin se analizó mediante el cálculo del índice “Concentración fraccionaria inhibitoria (FIC)” y los métodos “ Σ FIC promedio”, “ Σ FIC mínima” y “ Σ FIC Fila y Columna”. Tal como se describió en materiales y métodos el “ Σ FIC promedio” sirve para evaluar el tipo de interacción existente entre 2 antimicrobianos en forma global pero subestima la aparición de sinergismo o antagonismo en combinaciones puntuales de concentraciones. Para ello se eligió complementar este método con el de “ Σ FIC mínima” y “ Σ FIC Fila y Columna” cuyo fin es la detección de sinergismo y antagonismo, respectivamente, en cruces de concentración puntuales (Elion y col., 1954; Hall y col., 1983; Bonapace y col., 2002).

El resultado de los tres métodos empleados para el análisis de la interacción de la clindamicina con ampicilina, doxiciclina, gentamicina y enrofloxacin para estafilococos y ampicilina y doxiciclina para estreptococos fue indiferencia. La combinación clindamicina con doxiciclina fue la excepción, dando un resultado de sinergismo a través del método “ Σ FIC mínima”, tanto sobre estafilococos como estreptococos.

No existen reportes previos sobre la interacción entre la clindamicina y la doxiciclina. Sí los hay con betalactámicos, (pero no con ampicilina), y los resultados fueron similares a los hallados en este trabajo. Un estudio realizado por Simon y Littschwager (1985), sobre la interacción de clindamicina con ceftazidima sobre *S.aureus* y *S. epidermidis*, en el tablero de damas, demostró la presencia de un efecto aditivo, indiferencia o sinérgico, sin hallar antagonismo. Similar ocurrió con clindamicina combinada con diferentes aminoglucósidos frente a *S. aureus* en la cual se demostró sinergismo en algunos casos e indiferencia en otros (Fass y col., 1974; Watanakunakorn y Glotzbecker, 1974). En cuanto a la interacción clindamicina con fluoroquinolonas, la misma se estudió mediante el tablero de damas solo sobre anaerobios, encontrando también indiferencia en casi la

totalidad de las cepas estudiadas (solo 2 arrojaron sinergismo) (Ednie y col., 2000). No hay estudios sobre cocos grampositivos.

El tablero de damas estudia la interacción de los antimicrobianos en función a la detección de modificaciones que se producen en la CIM de un antibiótico por la presencia de otro. Esto podría considerarse un factor limitante si se deseara conocer el efecto de la interacción sobre la muerte bacteriana, para lo cual deberíamos recurrir a un segundo ensayo complementario, realizando Curvas de Muerte Bacteriana.

No existe método *in vitro* para la evaluación de combinaciones de antimicrobianos que presente una buena correlación clínica, por ende deben tenerse ciertas consideraciones al extrapolarlo al uso *in vivo*. En primer lugar el sinergismo o antagonismo no son características absolutas, dependen de la especie y cepa bacteriana, ocurre en un rango de concentraciones y puede definirse en función del crecimiento o muerte bacteriana según sea el método empleado. Por otro lado, en el paciente, la farmacocinética y las propiedades físico-químicas de cada antimicrobiano determinan el grado de difusión al sitio de acción de cada uno, en qué concentraciones y durante cuánto tiempo se mantienen. Por último el sistema inmune juega un rol fundamental para la resolución de los procesos infecciosos particularmente cuando se emplean antimicrobianos bacteriostáticos. Para el uso particular de la clindamicina combinada con los antibióticos evaluados en este trabajo, el Tablero de Damas considera la especie y cepa bacteriana y el efecto logrado con diferentes concentraciones de ambos antimicrobianos, concentraciones comprendidas alrededor del rango de su CIM. Por otro lado este método evalúa solo el efecto bacteriostático, sabiendo que la clindamicina puede comportarse como bactericida sobre algunos microorganismos o que, como bacteriostático, podría interferir con el efecto bactericida de los antibióticos clasificados como tal, sin poder evidenciarlo en los resultados. Esto último podría resultar poco efectivo o perjudicial en pacientes que presenten compromiso de su sistema inmune.

La terapéutica antimicrobiana debe realizarse idealmente como monoterapia, excepto en situaciones particulares como son procesos infecciosos mixtos o infecciones simultáneas o agente etiológico desconocido para, luego del aislamiento y antibiograma, desescalar los antibióticos. Para estos casos la clindamicina podría combinarse con la doxiciclina sin afectar la eficacia del tratamiento antibiótico. Lo mismo sucedería al combinar la clindamicina con los antibióticos bactericidas, ampicilina, gentamicina y enrofloxacin,

teniendo particular atención en pacientes con enfermedades o bajo tratamientos inmunosupresores o pacientes graves en los cuales la respuesta del sistema inmune podría estar disminuida, pudiendo verse afectada la eficacia de estos antimicrobianos sobre el *S. pseudintermedius*, microorganismo evaluado en este trabajo.

VI.IV. Integración farmacocinética/farmacodinámica (FC/FD)

Una correcta integración entre las características farmacocinéticas y farmacodinámicas de la clindamicina, en cada especie animal empleada, permite optimizar su uso terapéutico considerando tanto la dosis como el intervalo posológico con el fin de alcanzar la cura clínica, bacteriológica, minimizar la aparición de efectos tóxicos y disminuir la aparición de cepas resistentes.

Como se describió en la introducción la clindamicina fue un antimicrobiano inicialmente clasificado como de eficacia tiempo dependiente, y posteriormente se lo ubicó dentro de los de eficacia independiente de su concentración y con prolongado efecto persistente (Toutain y col., 2002; McKellar y col., 2004; Asín-Prieto y col., 2015; Ahmad y col., 2016; Jessen y col., 2019). Esto llevó también a modificar el predictor de eficacia con el cual se evalúa, siendo inicialmente el $t > \text{CIM} \geq 40\text{-}60\%$ del intervalo posológico, para luego algunos autores proponer también el $\text{ABC}_{0\text{-}24}/\text{CIM}$. (Klepser y col., 1997; Craig, 2001; Toutain y col., 2002; McKellar y col., 2004; Mouton y col., 2005; Levison y Levison, 2009; Ahmad y col., 2016; Ahmad y col., 2017). Sin embargo, todavía, no se determinó un valor del corte para este último predictor (Lewis y col., 1999; Canut Blasco y col., 2015).

Por este motivo, en el presente estudio, se decidió estimar ambos predictores de eficacia clínica y a partir de los mismos, proponer el intervalo posológico óptimo. Para el cálculo de los predictores de eficacia se decidió utilizar el valor de CIM_{50} obtenido en este trabajo, para el predictor de eficacia $t > \text{CIM}$, se utilizaron los valores de 1CIM_{50} , 2CIM_{50} y 4CIM_{50} (Craig, 1998). Tal como se explicó anteriormente, como el número de cepas estudiadas no es suficiente para una representación poblacional, se decidió también realizar el análisis FC/FD con la concentración establecida por el CLSI (2015) como punto de corte para estafilococos de origen animal sensibles a clindamicina, cuyo valor corresponde a $0,5 \mu\text{g/ml}$. En este estudio no fue posible emplear la CIM_{90} por tomar valores superiores a

4 µg/ml, concentraciones comprendidas dentro del rango de microorganismos resistentes (CLSI, 2015).

En caninos, la clindamicina administrada a 10 mg/kg por vía endovenosa alcanzó concentraciones plasmáticas por encima de 0,5 µg/ml ($4CIM_{50}$ y CIM_{CLSI}) durante más de 12 horas permitiendo un intervalo posológico de 24 horas ($t > CIM \geq 40-60\%$ del intervalo posológico). En cambio, con una dosis de 8,3 mg/kg vía oral las concentraciones se mantienen 12 horas por sobre la CIM considerado $1CIM_{50}$ tanto en ayunas como con alimento y $2 CIM_{50}$ en ayunas. Con un valor de $4CIM_{50}$ y $2CIM_{50}$ oral con alimento, las concentraciones no superan las 8-9 horas por sobre el valor de CIM y por ende el intervalo posológico óptimo debería reducirse a 12 horas. Al analizar estadísticamente el parámetro $t > 2CIM_{50}$ no se observaron diferencias significativas entre el valor calculado para la administración en ayunas respecto a la administración con comida (tampoco la hubo para los restantes valores de CIM_{50} utilizados). Probablemente, el desvío en este parámetro impidió obtener una diferencia significativa a este nivel. Los valores calculados para el predictor de eficacia $t > CIM$ y los intervalos posológicos propuestos, coinciden con reportes similares hechos en caninos, donde indicaron que dosis de 11 mg/kg vía oral mantienen concentraciones por sobre una CIM menor a 0,5 µg/ml entre un 58 a 100% con un intervalo posológico de 24 horas, mientras que para valores de CIM de 0,5 µg/ml o superior (2 µg/ml) el intervalo posológico debía ser de 12h (Batzias y col., 2005). En un segundo trabajo, clindamicina administrada vía oral a caninos también a una dosis de 11 mg/kg mantuvo concentraciones por sobre la CIM de 0,5 µg/ml durante 16 horas (Saridomichelakis y col., 2011).

En felinos, la clindamicina administrada a 10 mg/kg por vía endovenosa y 15 mg/kg por vía oral tanto en ayunas como con alimento produjo concentraciones plasmáticas por encima de 0,5 µg/ml o $4CIM_{50}$ durante más de 12 horas permitiendo un intervalo posológico de 24 horas ($t > CIM \geq 40-60\%$ del intervalo posológico). Estadísticamente tampoco se observaron diferencias entre los predictores calculados para la vía oral en ayunas y con alimento. Un estudio realizado en gatos encontró que la clindamicina administrada vía oral a gatos a 11 mg/kg mantiene concentraciones superiores a 0,4 µg/ml durante más de 12 horas proponiendo un intervalo posológico de 24 horas para el tratamiento de *S. aureus* (con dicho valor de CIM) (Brown y col., 1989). Mientras que en otro trabajo, a la misma dosis, obtuvieron concentraciones plasmáticas superiores a $4CIM$

(CIM=0,5 µg/ml) durante la primera hora y media, y superiores a 1CIM por 12 horas (Boothe y col., 1996).

Posteriormente varios autores clasificaron la eficacia de este antimicrobiano como independiente de su concentración y con prolongado efecto persistente, ya que se demostró que presenta un EPA que varía según especie bacteriana que varía entre 1 a 10 horas (Bundtzen y col., 1981; Vogelman y Craig, 1986; Craig y Vogelman, 1987; Vogelman y col., 1988; Kuenzi y col., 1987; Xue y col., 1996; Valdimarsdóttir y col., 1997; Athamna y col., 2004). Sugiriendo que el mejor predictor de eficacia clínica para este antimicrobiano sería ABC_{0-24}/CIM (Soriano García, 2002; Ambrose y col., 2007; Levison y Levison, 2009; Saridomichelakis y col., 2011; Papich, 2014; Asín-Prieto y col., 2015; Blasco y col., 2015; Ahmad y col., 2016; Ahmad y col., 2017).

Considerando una administración diaria, en caninos, los valores de ABC_{0-24}/CIM , CIM_{50} 0,12 µg/ml y CIM_{CLSI} 0,5 µg/ml, obtenidos luego de administrarles la clindamicina por vía endovenosa fueron 329 y 79, respectivamente. Mientras que para la vía oral en ayunas fueron 159 y 38, y vía oral luego de alimentados 133 y 61.

Considerando una administración diaria, en felinos, los valores de ABC_{0-24}/CIM , CIM_{50} 0,12 µg/ml y CIM_{CLSI} 0,5 µg/ml, obtenidos luego de administrarles la clindamicina por vía endovenosa fueron 210 y 50 respectivamente. Mientras que para la vía oral en ayunas fueron 257 y 62, y vía oral luego de alimentados, 286 y 69.

Para ambas especies, tampoco se encontraron diferencias significativas en el predictor ABC_{0-24}/CIM obtenido luego de la administración de la clindamicina oral en ayunas o con alimento.

Como se citó anteriormente, a pesar de ser el predictor de eficacia sugerido para este antimicrobiano, todavía no se estableció un valor del corte para el mismo (Lewis y col., 1999; Canut Blasco y col., 2015). Un único estudio en medicina humana calculó el ABC_{0-24}/CIM para 3 posologías de clindamicina vía endovenosa en humanos, 600 mg cada 8 horas, 300 mg cada 8 horas y 300 mg cada 12 horas, en base a dos aislamientos de *S. aureus*, con una CIM de 0,12 µg/ml, obteniendo un valor de parámetro de 1133; 575 y 358, respectivamente (Lewis y col., 1999). Mientras que en caninos en el estudio realizado por Saridomichelakis y col. (2011) encontraron que la clindamicina respondería

mejor al predictor ABC_{0-24}/CIM cuando es administrada a 11 mg/kg cada 24 horas respecto a administrarla a 5,5 mg/kg cada 12 horas.

VII. CONCLUSIONES

VII. CONCLUSIONES

- ✓ El método de HPLC resultó selectivo y específico para cuantificar las concentraciones plasmáticas de la clindamicina en caninos y felinos.
- ✓ Luego de la administración endovenosa de la clindamicina a caninos y felinos la misma se distribuyó rápidamente y en forma amplia en ambas especies. Este proceso no difirió en perros y gatos y en ambas especies fue levemente más lento que los parámetros reportados previamente en caninos. En cuanto a la eliminación, la misma ocurrió con mayor velocidad en gatos respecto a perros, probablemente debido a una diferencia en el metabolismo del fármaco. Estos parámetros estuvieron dentro del rango informado previamente, también en estudios realizados en caninos.
- ✓ La absorción oral de la clindamicina en ayunas fue rápida presentando una buena biodisponibilidad en ambas especies, siendo mayor en los gatos respecto a los perros.
- ✓ El alimento no modificó significativamente la biodisponibilidad oral del antimicrobiano en ninguna de las especies en estudio. Si se encontró un comportamiento distinto en la velocidad de absorción en perros y gatos, mientras que en los primeros el antimicrobiano administrado con comida se absorbió más rápido, en los segundos ocurrió lo contrario, viéndose enlentecido el proceso de absorción en presencia de alimento en tubo digestivo. Es probable que la forma farmacéutica sea la responsable de esta diferencia.
- ✓ La sensibilidad de las cepas de estafilococos estudiadas fue moderada y similar a lo reportado previamente por la bibliografía tanto en esta región como en otros países, señalando un porcentaje considerable de microorganismos resistentes a este antibiótico.
- ✓ Al combinar *in vitro* la clindamicina con otros antimicrobianos de uso frecuente en pequeños animales el resultado obtenido fue de indiferencia para todas las combinaciones excepto para la doxiciclina con la que se detectó sinergismo. El resultado de interacciones farmacodinámicas debe evaluarse en función a las limitaciones de cada técnica.

- ✓ El predictor de eficacia $t_{>CIM}$ resultó prolongado en ambas especies permitiendo en felinos un intervalo posológico de 24 horas a las dosis empleadas, mientras que en caninos el intervalo para la vía oral debiera reducirse a 12 horas.
- ✓ Al no existir valores de referencia en medicina humana como veterinaria para el predictor de eficacia ABC_{0-24}/CIM , pudieron establecerse valores en ambas especies con las dosis empleadas en este trabajo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AbouLaila, M.; Munkhjargal, T.; Sivakumar, T.; Ueno, A.; Nakano, Y.; Yokoyama, M.; Yoshinari, T.; Nagano, D.; Katayama, K.; El-Bahy, N.; Yokoyama, N.; Igarashi, I. (2012). Apicoplast-targeting antibacterials inhibit the growth of Babesia parasites. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56: 3196-3206.
2. Abusleme Garay, F.J. (2009). Aislamiento y análisis de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus intermedius* de perros con otitis externa. Tesis pregrado. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias Escuela de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chile. Santiago, Chile.
3. Adeleye, O.A. (2019). Relationship between compression pressure, mechanical strength and release properties of tablets. *Polymers in Medicine*, 49: 27-33.
4. Ahmad, I.; Huang, L.; Hao, H.; Sanders, P.; Yuan, Z. (2016). Application of PK/PD modeling in veterinary field: dose optimization and drug resistance prediction. *BioMed Research International*, 2016: 1-12.
5. Ahmad, I.; Huang, L.; Hao, H.; Sanders, P.; Yuan, Z. (2017). Corrigendum to "Application of PK/PD modeling in veterinary field: dose optimization and drug resistance prediction". *BioMed Research International*, 2017: 1-2.
6. Albarellos, G.A.; Bonafine, R.R.; Kreil, V.E.; Ambros, L.A.; Montoya, L.; Hallu, R.E. (2003) A non-surgical jugular catheterization technique for multiple blood sampling in cats. *Laboratory Animals*, 37: 188-192.
7. Albarellos, G.A.; Kreil, V.E.; Ambros, L.A.; Waxman, S.; Montoya, L.; Tarragona, L.; Rebuelto, M. (2008). Pharmacokinetics of erythromycin after the administration of intravenous and various oral dosage forms to dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 31: 496-500.
8. Albarellos, G.A.; Montoya, L.; Denamiel, G.A.A.; Velo, M.C.; Landoni, M.F. (2011a). Pharmacokinetics and bone tissue concentrations of lincomycin following intravenous and intramuscular administrations to cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 35: 534-540.

9. Albarellos, G.A.; Montoya, L.; Landoni, M.F. (2011b). Pharmacokinetics of erythromycin after intravenous, intramuscular and oral administration to cats. *The Veterinary Journal*, 187: 129-132.
10. Albert, K.S.; DeSante, K.A.; Welch, R.D.; DiSanto, A.R. (1978). Pharmacokinetic evaluation of a drug interaction between kaolin-pectin and clindamycin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 67: 1579-1582.
11. Álvarez-Pérez, S.; Blanco, J.L.; Harmanus, C.; Kuijper, E.J.; García, M.E. (2017). Prevalence and characteristics of *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* in dogs and cats attended in diverse veterinary clinics from the Madrid region. *Anaerobe*, 48: 47-55.
12. Amberg-Johnson, K.; Yeh, E. (2019). Host cell metabolism contributes to delayed-death kinetics of apicoplast inhibitors in *Toxoplasma gondii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63: 1646-1672.
13. Ambrose, P.G.; Bhavnani, S.M.; Rubino, C.M.; Louie, A.; Gumbo, T.; Forrest, A.; Drusano, G.L. (2007). Pharmacokinetics-pharmacodynamics of antimicrobial therapy: it's not just for mice anymore. *Clinical Infectious Diseases*, 44: 79-86.
14. Amidon, G.L.; Lennernäs, H.; Shah, V.P.; Crison, J.R. (1995). A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 12: 413-420.
15. Anderson, R.; Joone, G.; Van Rensburg, C.E.J. (1986). An *in vitro* investigation of the intracellular bioactivity of amoxicillin, clindamycin, and erythromycin for *Staphylococcus aureus*. *Journal of Infectious Diseases*, 153: 593-600.
16. Andreasen, J.J. (1987). *In vitro* susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated in Denmark to fourteen antimicrobial agents. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Series B: Microbiology*, 95: 189-192.
17. Antúnez, O.; Calle, S.; Morales, S.; Falcón, N.; Pinto, C. (2009). Frecuencia de patógenos aislados en casos clínicos de dermatitis bacteriana canina y su susceptibilidad antibiótica. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 20: 332-338.

18. Archer, J.R.; Romero, S.; Ritchie, A.E.; Hamacher, M.E.; Steiner, B.M.; Bryner, J.H.; Schell, R.F. (1988). Characterization of an unclassified microaerophilic bacterium associated with gastroenteritis. *Journal of Clinical Microbiology*, 26: 101-105.
19. Arditi, M.; Yogev, R. (1989). *In vitro* interaction between rifampin and clindamycin against pathogenic coagulase-negative staphylococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33: 245-247.
20. Argoudelis, A.D.; Coats, J.H.; Mason, D.J.; Sebek, O.K. (1969). Microbial transformation of antibiotics. III. *The Journal of Antibiotics*, 22: 309-314.
21. Asín-Prieto, E.; Rodríguez-Gascón, A.; Isla, A. (2015). Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 21: 319-329.
22. Athamna, A.; Athamna, M.; Medlej, B.; Bast, D.J.; Rubinstein, E. (2004). *In vitro* post-antibiotic effect of fluoroquinolones, macrolides, b-lactams, tetracyclines, vancomycin, clindamycin, linezolid, chloramphenicol, quinupristin/dalfopristin and rifampicin on *Bacillus anthracis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53: 609-615.
23. Baird, P.; Hughes, S.; Sullivan, M.; Willmot, I. (1978). Penetration into bone and tissues of clindamycin phosphate. *Postgraduate Medical Journal*, 54: 65-67.
24. Barrs, V.R.; Allan, G.S.; Martin, P.; Beatty, J.A.; Malik, R. (2005). Feline pyothorax: a retrospective study of 27 cases in Australia. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 7: 211-222.
25. Bartlett, J.G.; Sutter, V.L.; Finegold, S.M. (1972). Treatment of anaerobic infections with lincomycin and clindamycin. *New England Journal of Medicine*, 287: 1006-1010.
26. Bassaris, H.P.; Lianou, P.E.; Papavassiliou, J.T. (1984). Interaction of subminimal inhibitory concentrations of clindamycin and *Escherichia coli*: effects on adhesion and polymorphonuclear leukocyte function. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 13: 361-367.

27. Bassaris, H.P.; Lianou, P.E.; Skoutelis, A.T.; Papavassiliou, J.T. (1987). *In-vivo* effects of clindamycin on polymorphonuclear leucocyte phagocytosis and killing of gram-negative organisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 19: 467-473.
28. Batzias, G.C.; Delis, G.A.; Koutsoviti-Papadopoulou, M. (2004). A new HPLC/UV method for the determination of clindamycin in dog blood serum. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35: 545-554.
29. Batzias, G.C.; Delis, G.A.; Athanasiou, L.V. (2005). Clindamycin bioavailability and pharmacokinetics following oral administration of clindamycin hydrochloride capsules in dogs. *The Veterinary Journal*, 170: 339-345.
30. Beatty, J.A.; Swift, N.; Foster, D.J.; Barrs, V.R. (2006). Suspected clindamycin-associated oesophageal injury in cats: five cases. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 8: 412-419.
31. Beco, L.; Guaguère, E.; Méndez, C.L.; Noli, C.; Nuttall, T.; Vroom, M. (2013). Suggested guidelines for using systemic antimicrobials in bacterial skin infections: part 2—antimicrobial choice, treatment regimens and compliance. *The Veterinary Record*, 172: 156-160.
32. Benet, L.Z. (2013). The role of BCS (biopharmaceutics classification system) and BDDCS (biopharmaceutics drug disposition classification system) in drug development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102: 34-42.
33. Berg, J.N.; Scanlan, C.M.; Buening, G.M.; Fales, W.H.; Schmidt, D.A.; Wilson, J.C. (1984). Clinical models for anaerobic bacterial infections in dogs and their use in testing the efficacy of clindamycin and lincomycin. *American Journal of Veterinary Research*, 45: 1299-1306.
34. Biddau, M.; Sheiner, L. (2019). Targeting the apicoplast in malaria. *Biochemical Society Transactions*, 47: 973-983.
35. Bierowiec, K.; Korzeniowska-Kowal, A.; Wzorek, A.; Rypuła, K.; Gamian, A. (2019). Prevalence of *Staphylococcus* species colonization in healthy and sick cats. *BioMed Research International*, doi: 10.1155/2019/4360525. Accedido en junio de 2022.

36. Birkenmeyer, R.D.; Kagan, F. (1970). Lincomycin. XI. Synthesis and structure of clindamycin a potent antibacterial agent. *Journal of Medicinal Chemistry*, 13: 616-619.
37. Birkenmeyer, R.D.; Kroll, S.J.; Lewis, C.; Stern, K.F.; Zurenko, G.E. (1984). Synthesis and antimicrobial activity of clindamycin analogues: pirlimycin, a potent antibacterial agent. *Journal of Medicinal Chemistry*, 27:216-223.
38. Blasco, A.C.; Alfaro, L.A.; Reinoso, J.C.; Mestre, M.J.G.; Rodríguez-Gascón, A. (2015). Análisis farmacocinético-farmacodinámico en microbiología: herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33: 48-57.
39. Boeckh, M.; Lode, H.; Deppermann, K.M.; Grineisen, S.; Shokry, F.; Held, R.; Wernicke, K.; Koeppe, P.; Wagner, J.; Krasemann, G.; Krasemann, C. (1990). Pharmacokinetics and serum bactericidal activities of quinolones in combination with clindamycin, metronidazole, and ornidazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34: 2407-2414.
40. Bonapace, C.R.; Bosso, J.A.; Friedrich, L.V.; White, R.L. (2002). Comparison of methods of interpretation of checkerboard synergy testing. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*, 44: 363-366.
41. Booker, B.M.; Stahl, L.; Smith, P.F. (2004). *In vitro* antagonism with the combination of vancomycin and clindamycin against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Research in Clinical and Experimental Therapeutics*, 4: 385-395.
42. Boothe, D.M.; Brown, S.A.; Fate, G.D.; Pierce, P.A.; Hanson, B.J.; Al-Adhami, M.; Boothe, H.W.; Howe, L.B.; Nguyen, J. (1996). Plasma disposition of clindamycin microbiological activity in cats after single oral doses of clindamycin hydrochloride as either capsules or aqueous solution. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19: 491-494.
43. Boothe, D.M.; Boothe, H.W. (2015). Antimicrobial considerations in the perioperative patient. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 45: 585-608.
44. Bouazza, N.; Pestre, V.; Jullien, V.; Curis, E.; Urien, S.; Salmon, D.; Tréluyer, J.M. (2012). Population pharmacokinetics of clindamycin orally and

- intravenously administered in patients with osteomyelitis. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 74: 971-977.
45. Bowersock, T.L.; Wu, C.C.; Inskeep, G.A.; Chester, S.T. (2000). Prevention of bacteremia in dogs undergoing dental scaling by prior administration of oral clindamycin or chlorhexidine oral rinse. *Journal of Veterinary Dentistry*, 17: 11-16.
 46. Braden, T.D.; Johnson, C.A.; Wakenell, P.; Tvedten, H.W.; Mostosky, U.V. (1988). Efficacy of clindamycin in the treatment of *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 192: 1721-1725.
 47. Bradshaw, J.W. (2006). The evolutionary basis for the feeding behavior of domestic dogs (*Canis familiaris*) and cats (*Felis catus*). *The Journal of Nutrition*, 136: 1927S-1931S.
 48. Brady, C.A.; King, L.G. (2000). Postoperative management of the emergency surgery small animal patient. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 30: 681-698.
 49. Brisson-Noël, A.; Delrieu, P.; Samain, D.; Courvalin, P. (1988). Inactivation of lincosaminide antibiotics in *Staphylococcus*. Identification of lincosaminide O-nucleotidyltransferases and comparison of the corresponding resistance genes. *Journal of Biological Chemistry*, 263: 15880-15887.
 50. Brodasky, T.F.; Lewis, C.; Eble, T.E. (1977). Distribution and metabolism of antibiotics in the whole animal I. Clindamycin in the rat. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2: 149-156.
 51. Broom, J.; Woods, M.L. (2006). Management of bite injuries. *Australian Prescriber*, 29: 6-8.
 52. Brown, R.B.; Barza, M.; Bruschi, J.L.; Hashimoto, Y.; Weinstein, L. (1975). Pharmacokinetics of lincomycin and clindamycin phosphate in a canine model. *Journal of Infectious Diseases*, 131: 252-260.

53. Brown, S.A.; Dieringer, T.M.; Hunter, R.P.; Zaya, M.J. (1989). Oral clindamycin disposition after single and multiple doses in normal cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 12: 209-216.
54. Brown, S.A.; Zaya, M.J.; Dieringer, T.M.; Hunter, R.P.; Nappier, J.L.; Hoffman, G.A.; Yein, F.S. (1990). Tissue concentrations of clindamycin after multiple oral doses in normal cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 13: 270-277.
55. Büchler, A.C.; Rampini, S.K.; Stelling, S.; Ledergerber, B.; Peter, S.; Schweiger, A.; Ruef, C.; Zbinden, R.; Speck, R.F. (2014). Antibiotic susceptibility of *Clostridium difficile* is similar worldwide over two decades despite widespread use of broad-spectrum antibiotics: an analysis done at the University Hospital of Zurich. *BMC Infectious Diseases*, 14: 607.doi:10.1186/s12879-014-0607-z. Accedido en junio 2022.
56. Bula-Rudas, F.J.; Olcott, J.L. (2018). Human and animal bites. *Pediatrics in Review*, 39: 490–500.
57. Bulgin, M.S. (1988). Losses related to the ingestion of lincomycin-medicated feed in a range sheep flock. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 192: 1083-1086.
58. Bundtzen, R.W.; Gerber, A.U.; Cohn, D.L.; Craig, W.A. (1981). Postantibiotic suppression of bacterial growth. *Reviews of Infectious Diseases*, 3: 28-37.
59. Buriánková, K.; Doucet-Populaire, F.; Dorson, O.; Gondran, A.; Ghnassia, J.C.; Weiser, J.; Pernodet, J.L. (2004). Molecular basis of intrinsic macrolide resistance in the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48: 143-150.
60. Butler, A.L. (2011). Goal-directed therapy in small animal critical illness. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 41: 817-838.
61. Bystrzycka, W.; Moskalik, A.; Sieczkowska, S.; Manda-Handzlik, A.; Demkow, U.; Ciepiela, O. (2016). The effect of clindamycin and amoxicillin on neutrophil extracellular trap (NET) release. *Central-European Journal of Immunology*, 41: 1-5.

62. Cai, H.Y.; McDowall, R.; Parker, L.; Kaufman, E.I.; Caswell, J.L. (2018). Changes in antimicrobial susceptibility profiles of *Mycoplasma bovis* over time. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 83: 34-41.
63. Camps, M.; Arrizabalaga, G.; Boothroyd, J. (2002). An rRNA mutation identifies the apicoplast as the target for clindamycin in *Toxoplasma gondii*. *Molecular Microbiology*, 43: 1309-1318.
64. Canut Blasco, A.; Aguilar Alfaro, L.; Cobo Reinoso, J.; Jiménez Mestre, M.J.; Rodríguez-Gascón, A. (2015). Análisis farmacocinético-farmacodinámico en microbiología: herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33: 48-57.
65. Carrasco-Portugal, M.D.C.; Luján, M.; Flores-Murrieta, F.J. (2008). Evaluation of gender in the oral pharmacokinetics of clindamycin in humans. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 29: 427-430.
66. Carryn, S.; Chanteux, H.; Seral, C.; Mingeot-Leclercq, M.P.; Van Bambeke, F.; Tulkens, P.M. (2003). Intracellular pharmacodynamics of antibiotics. *Infectious Disease Clinics*, 17: 615-634.
67. Chadwick, P. (1971). Bacteriological assessment of clindamycin, a new lincomycin derivative. *Journal of Medical Microbiology*, 4: 529-534.
68. Chang, T.W.; Bartlett, J.G.; Gorbach, S.L.; Onderdonk, A.B. (1978). Clindamycin-induced enterocolitis in hamsters as a model of pseudomembranous colitis in patients. *Infection and Immunity*, 20: 526-529.
69. Chirino-Trejo, J.M.; Prescott, J.F. (1983). The identification and antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria from pneumonic cattle lungs. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 47: 270-275.
70. Cho, S.H.; Im, H.T.; Park, W.S.; Ha, Y.H.; Choi, Y.W.; Lee, K.T. (2005). Simple method for the assay of clindamycin in human plasma by reversed-phase high-performance liquid chromatography with UV detector. *Biomedical Chromatography*, 19: 783-787.

71. CLSI (2015). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 3rd ed. CLSI supplement VET01S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
72. CLSI (2016). Development of *in vitro* Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters. 4th ed. CLSI M23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
73. CLSI (2018). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
74. CLSI (2019). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 29th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
75. Court, M.H. (2013). Feline drug metabolism and disposition: pharmacokinetic evidence for species differences and molecular mechanisms. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 43: 1039-1054.
76. Craig, W.A. (1998). Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases*, 26: 1-10.
77. Craig, W.A. (2001). Does the dose matter?. *Clinical Infectious Diseases*, 33(Supplement_3): S233-S237.
78. Craig, W.A.; Vogelmann, B. (1987). The postantibiotic effect. *Annals of Internal Medicine*, 106: 900-902.
79. Crookshanks, J.L.; Taylor, S.M.; Haines, D.M.; Shelton, G.D. (2007). Treatment of canine pediatric *Neospora caninum* myositis following immunohistochemical identification of tachyzoites in muscle biopsies. *The Canadian Veterinary Journal*, 48: 506-508.
80. da Costa Reis, R.P.; Crisman, R.; Roser, M.; Malik, R.; Šlapeta, J. (2016). Neonatal neosporosis in a 2-week-old Bernese mountain dog infected with multiple *Neospora caninum* strains based on MS10 microsatellite analysis. *Veterinary Parasitology*, 221: 134-138.

81. Davies, H.D. (2000). When your best friend bites: a note on dog and cat bites. *Paediatrics & Child Health*, 5: 381-384.
82. Davis, S.S.; Hardy, J.G.; Fara, J.W. (1986). Transit of pharmaceutical dosage forms through the small intestine. *Gut*, 27: 886-892.
83. de Gouw, N.E.; Crul, J.F.; Vandermeersch, E.; Mulier, J.P.; van Egmond, J.; Van Aken, H. (1993). Interaction of antibiotics on pipecuronium-induced neuromuscular blockade. *Journal of Clinical Anesthesia*, 5: 212-215.
84. De Haan, R.M.; Bosch, W.D.V.; Metzler, C.M. (1972). Clindamycin serum concentrations after administration of clindamycin palmitate with food. *The Journal of Clinical Pharmacology and New Drugs*, 12: 205-211.
85. De Haan, R.M.; Metzler, C.M.; Schellenberg, D.; Vandenbosch, W.D. (1973). Pharmacokinetic studies of clindamycin phosphate. *The Journal of Clinical Pharmacology and New Drugs*, 13: 190-209.
86. de Vries, L.E.; Christensen, H.; Agerso, Y. (2012). The diversity of inducible and constitutively expressed erm (C) genes and association to different replicon types in staphylococci plasmids. *Mobile Genetic Elements*, 2: 72-80.
87. Dear, J.D. (2020). Bacterial pneumonia in dogs and cats: an update. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 50: 447-465.
88. Dernell, W.S. (1999). Treatment of severe orthopedic infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 29: 1261-1274.
89. Dizajmehr, S.G.; Fakari, F.R.; Jahangard, S.; Rajabi, E.; Ghasemian, M. (2019). Is sinus bradycardia a side effect of clindamycin in treatment of septic abortion? A case report. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 15:e68865.
90. Dow, S.W. (1988). Management of anaerobic infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 18: 1167-1182.
91. Dubey, J.P.; Vianna, M.C.B.; Kwok, O.C.H.; Hill, D.E.; Miska, K.B.; Tuo, W.; Velmurugan, G.B.; Conors, M.; Jenkins, M.C. (2007). Neosporosis in Beagle dogs: clinical signs, diagnosis, treatment, isolation and genetic characterization of *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, 149: 158-166.

92. Dubey, J.P.; Lindsay, D.S.; Lappin, M.R. (2009). Toxoplasmosis and other intestinal coccidial infections in cats and dogs. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 39: 1009-1034.
93. Duperval, R.; Bill, N.J.; Geraci, J.E.; Washington, J.A. (1975). Bactericidal activity of combinations of penicillin or clindamycin with gentamicin or streptomycin against species of viridans streptococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 8: 673-676.
94. Dutta, G.N.; Devriese, L.A. (1981). Macrolide-lincosamide-streptogramin resistance patterns in *Clostridium perfringens* from animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 19: 274-278.
95. Eagle, H.; Musselman, A.D. (1948). The rate of bactericidal action of penicillin *in vitro* as a function of its concentration, and its paradoxically reduced activity at high concentrations against certain organisms. *The Journal of Experimental Medicine*, 88: 99-131.
96. Easmon, C.S.; Crane, J.P. (1984). Cellular uptake of clindamycin and lincomycin. *British Journal of Experimental Pathology*, 65: 725-730.
97. Ednie, L.M.; Credito, K.L.; Khantipong, M.; Jacobs, M.R.; Appelbaum, P.C. (2000). Synergic activity, for anaerobes, of trovafloxacin with clindamycin or metronidazole: checkerboard and time–kill methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45: 633-638.
98. Eick, S.; Pfister, W.; Fiedler, D.; Straube, E. (2000). Clindamycin promotes phagocytosis and intracellular killing of periodontopathogenic bacteria by crevicular granulocytes: an *in vitro* study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46: 583-588.
99. Elion, G.B.; Singer, S.; Hitchings, G.H. (1954). Antagonists of nucleic acid derivatives VIII. Synergism in combinations of biochemically related antimetabolites. *Journal of Biological Chemistry*, 208: 477-488.
100. Eller, M.G.; Smith, R.L.; Phillips, J.P. (1989). Absorption kinetics of topical clindamycin preparations. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 10: 505-512.

101. Ellington, J.K.; Harris, M.; Hudson, M.C.; Vishin, S.; Webb, L.X.; Sherertz, R. (2006). Intracellular *Staphylococcus aureus* and antibiotic resistance: implications for treatment of staphylococcal osteomyelitis. *Journal of Orthopaedic Research*, 24: 87-93.
102. European Medicines Agency [EMA] (1987). Pharmacokinetic studies in man. 3CC3a. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/pharmacokinetic-studies-man_en.pdf. Accedido en octubre 2021.
103. European Medicines Agency [EMA]; Committee for Medicinal Products for Human Use [CHMP] (2010). Guideline on the investigation of Bioequivalence. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf. Accedido en octubre 2021.
104. European Medicines Agency [EMA]; Committee for Veterinary Medicinal Products (1999). Guidelines for the Conduct of Pharmacokinetic Studies in Target Animal Species. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guidelines-conduct-pharmacokinetic-studies-target-animal-species_en.pdf. Accedido en octubre 2021.
105. Faden, H.; Hong, J.J.; Ogra, P.L. (1985). *In-vivo* effects of clindamycin on neutrophil function. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 16: 649-657.
106. Fass, R.J.; Rotilie, C.A.; Prior, R.B. (1974). Interaction of clindamycin and gentamicin in vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 6: 582-587.
107. Fichera, M.E.; Bhopale, M.K.; Roos, D.S. (1995). In vitro assays elucidate peculiar kinetics of clindamycin action against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39: 1530-1537.
108. Fichera, M.E.; Ross, D.S. (1997). A plastid organelle as a drug target in apicomplexan parasites. *Nature*, 390: 407-409.
109. Fiekers, J.F.; Marshall, I.G.; Parsons, R.L. (1979). Clindamycin and lincomycin alter miniature endplate current decay. *Nature*, 281: 680-682.
110. Fink-Gremmels, J. (2008). Implications of hepatic cytochrome P450-related biotransformation processes in veterinary sciences. *European Journal of Pharmacology*, 585: 502-509.

111. Flaherty, J.F.; Rodondi, L.C.; Guglielmo, B.J.; Fleishaker, J.C.; Townsend, R.J.; Gambertoglio, J.G. (1988). Comparative pharmacokinetics and serum inhibitory activity of clindamycin in different dosing regimens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32: 1825-1829.
112. Flaherty, J.F.; Gatti, G.; White, J.; Bupp, J.; Borin, M.; Gambertoglio, J.G. (1996). Protein binding of clindamycin in sera of patients with AIDS. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40: 1134-1138.
113. Fleisher, D.; Li, C.; Zhou, Y.; Pao, L.H.; Karim, A. (1999). Drug, meal and formulation interactions influencing drug absorption after oral administration. *Clinical Pharmacokinetics*, 36: 233-254.
114. Fogdall, R.; Miller, R. (1974). Prolongation of a pancuronium-induced neuromuscular blockade by clindamycin. *Anesthesiology*, 41: 407-408.
115. Foster, S.F.; Martin, P. (2011). Lower respiratory tract infections in cats: reaching beyond empirical therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13: 313-332.
116. Francoz, D.; Fortin, M.; Fecteau, G.; Messier, S. (2005). Determination of *Mycoplasma bovis* susceptibilities against six antimicrobial agents using the E test method. *Veterinary Microbiology*, 105: 57-64.
117. Franzblau, S.G. (1991). *In vitro* activities of aminoglycosides, lincosamides, and rifamycins against *Mycobacterium leprae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35: 1232-1234.
118. Frymus, T.; Addie, D.D.; Boucraut-Baralon, C.; Egberink, H.; Gruffydd-Jones, T.; Hartmann, K.; Horzinek, M.C.; Hosie, M.J.; Lloret, A.; Lutz, A.; Marsilio, F.; Pennisi, M.G.; Radford, A.D. (2015). Streptococcal infections in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17: 620-625.
119. Gabel, A.; Schymik, G.; Mehmel, H.C. (1999). Ventricular fibrillation due to long QT syndrome probably caused by clindamycin. *American Journal of Cardiology*, 83: 813-815.

120. Gabrielsson, J.; Weiner, D. (1994). Interpretation of output. En Gabrielsson, J.; Weiner, D. Pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis, concepts and applications. Swedish Pharmaceutical Press, Estocolmo. Primera edición. VI: 105-114.
121. Ganiere, J.P.; Medaille, C.; Mangion, C. (2005). Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus intermedius* clinical isolates from canine pyoderma. Journal of Veterinary Medicine, Series B, 52: 25-31.
122. Garlando, F.; Täuber, M.G.; Lüthy, R. (1988). Endocarditis prophylaxis with amoxicillin, clindamycin or erythromycin? Serum bacteriostatic and bactericidal effect against *Streptococcus viridans*. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 113: 1087-1091.
123. Gatti, G.; Flaherty, J.; Bupp, J.; White, J.; Borin, M.; Gambertoglio, J. (1993). Comparative study of bioavailabilities and pharmacokinetics of clindamycin in healthy volunteers and patients with AIDS. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 37: 1137-1143.
124. Gatti, G.; Malena, M.; Casazza, R.; Borin, M.; Bassetti, M.; Cruciani, M. (1998). Penetration of clindamycin and its metabolite N-demethylclindamycin into cerebrospinal fluid following intravenous infusion of clindamycin phosphate in patients with AIDS. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 42: 3014-3017.
125. Gaukroger, P.; Roberts, J.; Manners, T. (1988). Infusion thrombophlebitis: a prospective comparison of 645 Vialon and Teflon cannulae in anaesthetic and postoperative use. Anaesthesia and Intensive Care, 16: 265-271.
126. Gemmell, C.G.; Peterson, P.K.; Schmeling, D.; Kim, Y.; Mathews, J.; Wannamaker, L.; Quie, P.G. (1981). Potentiation of opsonization and phagocytosis of *Streptococcus pyogenes* following growth in the presence of clindamycin. The Journal of Clinical Investigation, 67: 1249-1256.
127. Giacoboni, G.; Vinocur, F.; Fauret, N.; Grandinetti, J.; Manzuc, P. (2017). Detección de *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes a meticilina ya otros antimicrobianos de uso habitual en la clínica en piodermias caninas. Analecta Veterinaria, 37: 19-24.

128. Gibaldi, M.; Perrier, D. (1982) Pharmacokinetics, 2da ed. Marcel Dekker Inc., New York.
129. Gieling, F.; Peters, S.; Erichsen, C.; Richards, R.G.; Zeiter, S.; Moriarty, T.F. (2019). Bacterial osteomyelitis in veterinary orthopaedics: Pathophysiology, clinical presentation and advances in treatment across multiple species. *The Veterinary Journal*, 250: 44-54.
130. Girling, S.J.; Pizzi, R.; Naylor, A.D.; Richardson, D.; Richardson, U.; Harley, J.; Cole, G.B.; Brown, D.; Fraser, M.; Tillman, E.; Barclay, D. (2020). Use of clindamycin in Pallas'cats [*Otocolobus (felis) manul*] to reduce juvenile toxoplasmosis-associated mortality rates. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 51: 39-45.
131. Goode, G.A.; Wagh, S.J.; Irby, D.J.; Ma, D.; Jacobs, R.F.; Kearns, G.L.; Almoazen, H. (2019). Bioavailability testing of a newly developed clindamycin oral suspension in a pediatric porcine model. *Pharmaceutical Development and Technology*, 24: 1038-1043.
132. Gordon, R.C.; Regamey, C.; Kirby, W.M.M. (1973). Serum protein binding of erythromycin, lincomycin, and clindamycin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62: 1074-1077.
133. Gould, R.J.; Fioravanti, C.; Cook, P.G.; Solomon, H.F. (1990). A model of gastric emptying in cats shows solid emptying is promoted by MK-329: a CCK antagonist. *Journal of Nuclear Medicine*, 31: 1494-1499.
134. Graham, J.P.; Lipman, A.H.; Newell, S.M.; Roberts, G.D. (2000). Esophageal transit of capsules in clinically normal cats. *American Journal of Veterinary Research*, 61: 655-657.
135. Gray, J.E.; Weaver, R.N.; Moran, J.; Feenstra, E.S. (1974). The parenteral toxicity of clindamycin 2-phosphate in laboratory animals. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 27: 308-321. Greene, C.E.; Lappin, M.R.; Marks, A. (1992). Effect of clindamycin on clinical, hematological, and biochemical parameters in clinically healthy cats. *Journal of American Animal Health Association*, 29: 323–326.

136. Greene, C.E.; Prescott, J.F. (2012). Gram-Positive bacterial infections. En Greene, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. Elsevier, St Louis, Missouri. Cuarta edición. Capítulo 33: 325-340.
137. Gregus, Z.; Watkins, J.B.; Thompson, T.N.; Harvey, M.J.; Rozman, K.; Klaassen, C.D. (1983). Hepatic phase I and phase II biotransformations in quail and trout: comparison to other species commonly used in toxicity testing. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 67: 430-441.
138. Hall, M.J.; Middleton, R.F.; Westmacott, D. (1983). The fractional inhibitory concentration (FIC) index as a measure of synergy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 11: 427-433.
139. Hamdy, A.H.; Miller, C.C. (1971). Antibiotics for bovine mycoplasmas. *Journal of Dairy Science*, 54: 1541-1544.
140. Hand, W.L.; King-Thompson, N.L. (1982). Membrane transport of clindamycin in alveolar macrophages. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 21: 241-247.
141. Hand, W.L.; King-Thompson, N.L.; Steinberg, T.H. (1983). Interactions of antibiotics and phagocytes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 12: 1-11.
142. Hand, W.L.; Hand, D.L.; King-Thompson, N.L. (1990). Antibiotic inhibition of the respiratory burst response in human polymorphonuclear leukocytes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34: 863-870.
143. Hartmann, F.A.; White, D.G.; West, S.E.; Walker, R.D.; DeBoer, D.J. (2005). Molecular characterization of *Staphylococcus intermedius* carriage by healthy dogs and comparison of antimicrobial susceptibility patterns to isolates from dogs with pyoderma. *Veterinary Microbiology*, 108: 119-131.
144. Harvey, R.G.; Noble, W.C.; Ferguson, E.A. (1993). A comparison of lincomycin hydrochloride and clindamycin hydrochloride in the treatment of superficial pyoderma in dogs. *The Veterinary Record*, 132: 351-353.
145. Heman-Ackah, S.M. (1975a). Microbial kinetics of drug action against gram-positive and gram-negative organisms II: Effect of clindamycin on

- Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 64: 1612-1620.
146. Heman-Ackah, S.M. (1975b). Microbial kinetics of drug action against gram-positive and gram-negative organisms III: Effect of lincomycin and clindamycin combinations on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 64: 1621-1626.
147. Herdt, T.H., Sayegh A.I. (2013). Digestion and absorption: the nonfermentative processes. En: Klein B.G. Cunningham's textbook of veterinary physiology. Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. Quinta edición. Capítulo: 30: 297-319.
148. Herr, R.R.; Slomp, G. (1967). Lincomycin. II. Characterization and gross structure. Journal of the American Chemical Society, 89: 2444-2447.
149. Hillier, A.; Lloyd, D.H.; Weese, J.S.; Blondeau, J.M.; Boothe, D.; Breitschwerdt, E.; Guardabassi, L.; Papich, M.G.; Rankin, S.; Turnidge, J.D.; Sykes, J.E. (2014). Guidelines for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases). Veterinary Dermatology, 25: 163-e43.
150. Holm, B.R.; Petersson, U.; Mörner, A.; Bergström, K.; Franklin, A.; Greko, C. (2002). Antimicrobial resistance in staphylococci from canine pyoderma: a prospective study of first-time and recurrent cases in Sweden. Veterinary Record, 151: 600-605.
151. Hoogeterp, J.J.; Mattie, H.; van Furth, R. (1993). Activity of erythromycin and clindamycin in an experimental *Staphylococcus aureus* infection in normal and granulocytopenic mice: a comparative *in vivo* and *in vitro* study. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 25: 123-132.
152. Horinouchi, S.; Byeon, W.H.; Weisblum, B. (1983). A complex attenuator regulates inducible resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramin type B antibiotics in *Streptococcus sanguis*. Journal of Bacteriology, 154: 1252-1262.

- 153.Howard, R.J.; Soucy, D.M. (1983). Potentiation of phagocytosis of *Bacteroides fragilis* following incubation with clindamycin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 12: 63-68.
- 154.Howe, L.M.; Boothe, H.W. (2006). Antimicrobial use in the surgical patient. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 36: 1049-1060.
- 155.Hu, H.; Ramezanpour, M.; Hayes, A.J.; Liu, H.; Psaltis, A.J.; Wormald, P.; Vreugde, S. (2019). Sub-Inhibitory clindamycin and azithromycin reduce *S. aureus* exoprotein induced toxicity, inflammation, barrier disruption and invasion. *Journal of Clinical Medicine*, 8: 1617-1623.
- 156.Ikenoue, N.; Saitsu, Y.; Shimoda, M.; Kokue, E. (2000). Disease-induced alterations in plasma drug-binding proteins and their influence on drug binding percentages in dogs. *Veterinary Quarterly*, 22: 43-49.
- 157.Israili, Z.H.; Dayton, P.G. (2001). Human alpha-1-glycoprotein and its interactions with drugs. *Drug Metabolism Reviews*, 33: 161-235.
- 158.Jackson, L.C.; Pacchiana, P.D. (2004). Common complications of fracture repair. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 19: 168-179.
- 159.Jacobs, M.R. (2001). Optimization of antimicrobial therapy using pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *Clinical Microbiology and Infection*, 7: 589-596.
- 160.Jessen, L.R.; Damborg, P.P.; Spohr, A.; Sorensen, T.M.; Langhorn, R.; Goericke-Pesch, S.K.; Houser, G.; Willesen, J.; Schjærff, M.; Eriksen, T.; Jensen, V.F.; Guardabassi, L. (2019). Antibiotic use guidelines for companion animal practice. 2nd edition. Companion Animal Group, Danish Veterinary Association. https://www.ddd.dk/media/2175/assembled_final.pdf. Accedido en junio 2022.
- 161.Joiner, K.A.; Lowe, B.R.; Dzink, J.L.; Bartlet, J.G. (1981). Antibiotic levels in infected and sterile subcutaneous abscesses in mice. *Journal of Infectious Diseases*, 143: 487-494.
- 162.Kadlec, K.; Schwarz, S. (2010). Identification of a plasmid-borne resistance gene cluster comprising the resistance genes *erm* (T), *dfrK*, and *tet* (L) in a

- porcine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54: 915-918.
163. Kane, E.; Rogers, Q.R.; Morris, J.G. (1981). Feeding behavior of the cat fed laboratory and commercial diets. *Nutrition Research*, 1: 499-507.
164. Kays, M.B.; White, R.L.; Gatti, G.; Gambertoglio, J.G. (1992). *Ex vivo* protein binding of clindamycin in sera with normal and elevated α 1-acid glycoprotein concentrations. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 12: 50-55.
165. Khodabandeh, M.; Mohammadi, M.; Abdolsalehi, M.R.; Alvandimanesh, A.; Gholami, M.; Bibalan, M.H.; Pournajaf, A.; Kafshgari, R.; Rajabnia, R. (2019). Analysis of resistance to macrolide–lincosamide–streptogramin B among mecA-positive *staphylococcus aureus* isolates. *Osong Public Health and Research Perspectives*, 10: 25-31.
166. Kirst, H.A.; Sides, G.D. (1989). New directions for macrolide antibiotics: pharmacokinetics and clinical efficacy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33: 1419-1422.
167. Kislak, J.W. (1972). The susceptibility of *Bacteroides fragilis* to 24 antibiotics. *Journal of Infectious Diseases*, 125: 295-299.
168. Klempner, M.S.; Styrt, B. (1981). Clindamycin uptake by human neutrophils. *Journal of Infectious Diseases*, 144: 472-479.
169. Klepser, M.E.; Banevicius, M.A.; Quintiliani, R.; Nightingale, C.H. (1996). Characterization of bactericidal activity of clindamycin against *Bacteroides fragilis* via kill curve methods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40: 1941-1944.
170. Klepser, M.E.; Nicolau, D.P.; Quintiliani, R.; Nightingale, C.H. (1997). Bactericidal activity of low-dose clindamycin administered at 8- and 12- hour intervals against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Bacteroides fragilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41: 630-635.

171. Knights, C.B.; Mateus, A.; Baines, S.J. (2012). Current British veterinary attitudes to the use of perioperative antimicrobials in small animal surgery. *Veterinary Record*. doi: 10.1136/vr.100292.
172. Krausse, R.; Schubert, S. (2010). *In-vitro* activities of tetracyclines, macrolides, fluoroquinolones and clindamycin against *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* ssp. isolated in Germany over 20 years. *Clinical Microbiology and Infection*, 16: 1649-1655.
173. Kropec, A.; Daschner, F. (1989). In vitro activity of fleroxacin and 14 other antimicrobials against slime- and non-slime-producing *Staphylococcus epidermidis*. *Chemotherapy*, 35: 351-354.
174. Kuenzi, B.; Segessenmann, C.H.; Gerber, A.U. (1987). Postantibiotic effect of roxithromycin, erythromycin, and clindamycin against selected gram-positive bacteria and *Haemophilus influenzae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 20: 39-46.
175. Kuroha, M.; Son, D.S.; Shimoda, M. (2001). Effects of altered plasma α -1-acid glycoprotein levels on pharmacokinetics of some basic antibiotics in pigs: simulation analysis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 24: 423-431.
176. Lainesse, C.; Boyse, S.; Doucet, M.; (2007). One-step method for catheterising the jugular vein of cats to enable repeated blood sampling. *Veterinary Record*, 161: 221-225.
177. LaPlante, K.L.; Leonard, S.N.; Andes, D.R.; Craig, W.A.; Rybak, M.J. (2008). Activities of clindamycin, daptomycin, doxycycline, linezolid, trimethoprim-sulfamethoxazole, and vancomycin against community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with inducible clindamycin resistance in murine thigh infection and *in vitro* pharmacodynamic models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52: 2156-2162.
178. Lappin, M.R.; Blondeau, J.; Boothe, D.; Breitschwerdt, E.B.; Guardabassi, L.; Lloyd, D.H.; Papich, M.G.; Rankin, S.C.; Sykes, J.E.; Turnidge, J.; Weese, J. S. (2017). Antimicrobial use guidelines for treatment of respiratory tract disease in dogs and cats: antimicrobial guidelines working group of the International

- Society for Companion Animal Infectious Diseases. Journal of Veterinary Internal Medicine, 31: 279-294.
- 179.Larruskain, J.; Idigoras, P.; Marimón, J.M.; Pérez-Trallero, E. (2011). Susceptibility of 186 *Nocardia* sp. isolates to 20 antimicrobial agents. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 55: 2995-2998.
- 180.Larsen, J. (1997). Acute colitis in adult horses. A review with emphasis on aetiology and pathogenesis. Veterinary Quarterly, 19: 72-80.
- 181.Larsen, R.; Boysen, L.; Berg, J.; Guardabassi, L.; Damborg, P. (2015). Lincosamide resistance is less frequent in Denmark in *Staphylococcus pseudintermedius* from first-time canine superficial pyoderma compared with skin isolates from clinical samples with unknown clinical background. Veterinary Dermatology, 26: 202-205.
- 182.Lavelly, J.A. (2006). Pediatric neurology of the dog and cat. The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice, 36: 475-501.
- 183.Lavy, E.; Ziv, G.; Shem-Tov, M.; Glickman, A.; Dey, A. (1999). Pharmacokinetics of clindamycin HCl administered intravenously, intramuscularly and subcutaneously to dogs. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 22: 261-265.
- 184.Lawhon, S.D.; Taylor, A.; Fajt, V.R. (2013). Frequency of resistance in obligate anaerobic bacteria isolated from dogs, cats, and horses to antimicrobial agents. Journal of Clinical Microbiology, 51: 3804-3810.
- 185.Leclercq, R. (2002). Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. Clinical Infectious Diseases, 34: 482-492.
- 186.Leclercq, R.; Courvalin, P. (1991). Intrinsic and unusual resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics in bacteria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 35: 1273-1276.
- 187.Lee, J.H.; Lee, S.I.; Chung, C.J.; Lee, J.H.; Lee, S.C.; Choi, S.R.; Oh, J.N.; Bae, J.Y. (2013). The synergistic effect of gentamicin and clindamycin on

- rocuronium-induced neuromuscular blockade. Korean Journal of Anesthesiology, 64: 143-151.
188. Lees, P.; Aliabadi, F.S.; Toutain, P. L. (2004). PK-PD modelling: an alternative to dose titration studies for antimicrobial drug dosage selection. Journal of Regulatory Affairs, 15: 175-180.
189. Leigh, D.A. (1981). Antibacterial activity and pharmacokinetics of clindamycin. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 7: 3-9.
190. Lell, B.; Kremsner, P.G. (2002). Clindamycin as an antimalarial drug: review of clinical trials. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46: 2315-2320.
191. Lemmen, S.; Kropec, A.; Engels, I.; Busse, A.; Daschner, F. D. (1993). MIC and serum bactericidal activity of clindamycin against methicillin-resistant and-sensitive staphylococci. Infection, 21: 407-409.
192. Lenarduzzi, T.; Langston, C.; Ross, M.K. (2011). Pharmacokinetics of clindamycin administered orally to pigeons. Journal of Avian Medicine and Surgery, 25: 259-265.
193. Levine, M.S. (1999). Drug-induced disorders of the esophagus. Abdominal Imaging, 24: 3-8.
194. Levison, M.E.; Levison, J.H. (2009). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibacterial agents. Infectious Disease Clinics, 23: 791-815.
195. Lewin, C.S.; Smith, J.T. (1989). Interactions of the 4-quinolones with other antibacterials. Journal of Medical Microbiology, 29: 221-227.
196. Lewis, R.E.; Klepser, M.E.; Ernst, E.J.; Lund, B.C.; Biedenbach, D.J.; Jones, R.N. (1999). Evaluation of low-dose, extended-interval clindamycin regimens against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* using a dynamic *in vitro* model of infection. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43: 2005-2009.
197. Li, R.C.; Lee, S.W.; Kong, C.H. (1997). Correlation between bactericidal activity and postantibiotic effect for five antibiotics with different mechanisms of action. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 40: 39-45.

- 198.Li, X.Z.; Nikaido, H. (2009). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 69: 1555-1623.
- 199.Lim, L.; McFadden, G.I. (2010). The evolution, metabolism and functions of the apicoplast. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365: 749-763.
- 200.Lin, E.C.; Chueh, L.L.; Lin, C.N.; Hsieh, L.E.; Su, B.L. (2012). The therapeutic efficacy of two antibabesial strategies against *Babesia gibsoni*. *Veterinary Parasitology*, 186: 159-164.
- 201.Lipka, E.; Lee, I.D.; Langguth, P.; Spahn-Langguth, H.; Mutschler, E.; Amidon, G.L. (1995). Celiprolol double-peak occurrence and gastric motility: nonlinear mixed effects modeling of bioavailability data obtained in dogs. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 23: 267-286.
- 202.Litster, A.; Allen, J.; Mohamed, A.; He, S. (2011). Risk factors for delays between intake and veterinary approval for adoption on medical grounds in shelter puppies and kittens. *Preventive Veterinary Medicine*, 101: 107-112.
- 203.Littlewood, D.; Lakhani, K.H.; Paterson, S.; Wood, J.L.; Chanter, N. (1999). Clindamycin hydrochloride and clavulanate-amoxicillin in the treatment of canine superficial pyoderma. *Veterinary Record*, 144: 662-665.
- 204.Liu, C.M.; Chen, Y.K.; Yang, T.H.; Hsieh, S.Y.; Hung, M.H.; Lin, E.T. (1997). High-performance liquid chromatographic determination of clindamycin in human plasma or serum: application to the bioequivalency study of clindamycin phosphate injections. *Journal of Chromatography B*, 696: 298-302.
- 205.Lozano, C.; Aspiroz, C.; Rezusta, A.; Gómez-Sanz, E.; Simon, C.; Gómez, P.; Ortega, C.; Revillo, M.J.; Zarazaga, M.; Torres, C. (2012). Identification of novel vga (A)-carrying plasmids and a Tn5406-like transposon in meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* of human and animal origin. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 40: 306-312.
- 206.Lu, Y.F.; McEwan, N.A. (2007). Staphylococcal and micrococcal adherence to canine and feline corneocytes: quantification using a simple adhesion assay. *Veterinary Dermatology*, 18: 29-35.

207. Ludwig, C.; de Jong, A.; Moyaert, H.; El Garch, F.; Janes, R.; Klein, U.; Morrissey, I.; Thiry, J.; Youala, M. (2016). Antimicrobial susceptibility monitoring of dermatological bacterial pathogens isolated from diseased dogs and cats across Europe (ComPath results). *Journal of Applied Microbiology*, 121: 1254-1267.
208. Macdonald, E.S.; Norris, C.R.; Berghaus, R.B.; Griffey, S.M. (2003). Clinicopathologic and radiographic features and etiologic agents in cats with histologically confirmed infectious pneumonia: 39 cases (1991–2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223: 1142-1150.
209. MacPhail, C.M. (2007). Medical and surgical management of pyothorax. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 37: 975-988.
210. Mader, J.T.; Adams, K.; Morrison, L. (1989). Comparative evaluation of cefazolin and clindamycin in the treatment of experimental *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in rabbits. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33: 1760-1764.
211. Magerlein, B.J.; Birkenmeyer, R.D.; Kagan, K. (1966). Chemical modification of lincomycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 6: 727-736.
212. Magerlein, B.J.; Birkenmeyer, R.D.; Herr, R.R.; Kagan, F. (1967). Lincomycin. V. Amino acid fragment. *Journal of the American Chemical Society*, 89: 2459-2464.
213. Magerlein, B.J. (1971). Modification of lincomycin. *Advances in Applied Microbiology*, 14: 185-229.
214. Malik, M.Y.; Jaiswal, S.; Sharma, A.; Shukla, M.; Lal, J. (2016). Role of enterohepatic recirculation in drug disposition: cooperation and complications. *Drug Metabolism Reviews*, 48: 281-327.
215. Marks, M.I. (1975). *In vitro* activity of clindamycin and other antimicrobials against gram-positive bacteria and *Hemophilus influenzae*. *Canadian Medical Association Journal*, 112: 170-173.
216. Matzov, D.; Eyal, Z.; Benhamou, R.I.; Shalev-Benami, M.; Halfon, Y.; Krupkin, M.; Zimmerman, E.; Rozenberg, H.; Bashan, A.; Fridman, M.; Yonath, A.

- (2017). Structural insights of lincosamides targeting the ribosome of *Staphylococcus aureus*. *Nucleic Acids Research*, 45: 10284-10292.
217. McDonald, P.J.; Wetherall, B.L.; Pruul, H. (1981). Postantibiotic leukocyte enhancement: increased susceptibility of bacteria pretreated with antibiotics to activity of leukocytes. *Reviews of Infectious Diseases*, 3: 38-44.
218. McGehee, R.F.; Smith, C.B.; Wilcox, C.; Finland, M. (1968). Comparative studies of antibacterial activity *in vitro* and absorption and excretion of lincomycin and clinimycin. *American Journal of Medicine Science*, 256: 279-292.
219. McKellar, Q.A.; Sanchez Bruni, S.F.; Jones, D.G. (2004). Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27: 503-514.
220. Meyers, B.R.; Kaplan, K.; Weinstein, L. (1969). Microbiological and pharmacological behavior of 7-chlorolincomycin. *Applied Microbiology*, 17: 653-657.
221. Mifsud, M.; Vella, J.; Ferrito, V.; Serracino-Inglott, A.; Azzopardi, L.; Sammut Bartolo, N.; LaFerla, G.; Sammut, C. (2014). A simple HPLC-UV method for the determination of clindamycin in human plasma. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6: 697-704.
222. Milatovic, D.; Braveny, I.; Verhoef, J. (1983). Clindamycin enhances opsonization of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 24: 413-417.
223. Moodley, A.; Damborg, P.; Nielsen, S.S. (2014). Antimicrobial resistance in methicillin susceptible and methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* of canine origin: literature review from 1980 to 2013. *Veterinary Microbiology*, 171: 337-341.
224. Morar, M.; Bhullar, K.; Hughes, D.W.; Junop, M.; Wright, G.D. (2009). Structure and mechanism of the lincosamide antibiotic adenylyltransferase LinB. *Structure*, 17: 1649-1659.

225. Morozowich, W.; Karnes, H.A. (2007). Case study: clindamycin 2-phosphate, a prodrug of clindamycin. En: Stella, V.J.; Borchardt, R.T.; Hageman, M.J.; Oliyai, R.; Maag, H.; Tilley, J.W. Prodrugs. Biotechnology: pharmaceutical aspects. Springer. Nueva York. Volumen V. Capítulo 5.6: 1207-1219.
226. Mouton, J.W.; Dudley, M.N.; Cars, O.; Derendorf, H.; Drusano, G.L. (2005). Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55: 601-607.
227. Mueller, M.; de la Peña, A.; Derendorf, H. (2004). Issues in pharmacokinetics and pharmacodynamics of anti-infective agents: kill curves versus MIC. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48: 369-377.
228. Murray, C.K.; Ellis, M.W.; Hospenthal, D.R. (2004). Susceptibility of *Leptospira* serovars to antimalarial agents. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 71: 685-686.
229. Na-Bangchang, K.; Banmairuroi, V.; Kamanikom, B.; Kiod, D. (2006). An alternative high-performance liquid chromatographic method for determination of clindamycin in plasma. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 37: 177-184.
230. Nandini, M.K.; Vishwakarma, P.; Kamran, C.A. (2016). New therapeutic protocol for canine babesiosis: A case report. *Journal of Dairy Veterinary and Animal Research*, 3: 1-3.
231. Nastro, L.J.; Finegold, S.M. (1972). Bactericidal activity of five antimicrobial agents against *Bacteroides fragilis*. *Journal of Infectious Diseases*, 126: 104-107.
232. National Research Council (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition*. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/12910>.
233. Neemuchwala, A.; Soares, D.; Ravirajan, V.; Marchand-Austin, A.; Kus, J.V.; Patel, S.N. (2018). *In vitro* antibiotic susceptibility pattern of non-diphtheriae *Corynebacterium* isolates in Ontario, Canada, from 2011 to 2016. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62: e01776-17. doi.org/10.1128/AAC.01776-17.

234. Negro, V.B.; Hernández, S.Z.; Pereyra, A.; Rodríguez, D.I.; Ciappesoni, J.L.; Saccomanno, D.M.; Toriggia, P.G.; Carloni, G. (2012). Bacterias subgingivales aisladas de perros con enfermedad periodontal y su susceptibilidad a antimicrobianos. Primera comunicación en la República Argentina. *InVet*, 14: 141-149.
235. Neu, H.C.; Prince, A.; Neu, C.O.; Garvey, G.J. (1977). Incidence of diarrhea and colitis associated with clindamycin therapy. *Journal of Infectious Diseases*, 135: 120-125.
236. Niemiec, B.A. (2008). Periodontal disease. *Topics in Companion Animal Medicine*, 23: 72-80.
237. Nocera, F.P.; Ambrosio, M.; Fiorito, F.; Cortese, L.; De Martino, L. (2021). On Gram-positive-and Gram-negative-bacteria-associated canine and feline skin infections: A 4-year retrospective study of the University Veterinary Microbiology Diagnostic Laboratory of Naples, Italy. *Animals*, doi: 10.3390/ani11061603.
238. Odds, F.C. (2003). Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52: 1-1.
239. Older, C.E.; Diesel, A.; Patterson, A.P.; Meason-Smith, C.; Johnson, T.J.; Mansell, J.; Suchodolski, J.S.; Rodrigues Hoffmann, A. (2017). The feline skin microbiota: The bacteria inhabiting the skin of healthy and allergic cats. *PLoS One*, 12: e0178555. doi: 10.1371/journal.pone.0178555.
240. Ortega, E.; Gutiérrez, L.; Bernad, M.J.; Salmerón, F.; Juárez, I.; Vargas, D. (2016). Evaluation of different oral formulations of clindamycin extended release in dogs. *Drug Research*, 67: 32-37.
241. Pankey, G.A.; Sabath, L.D. (2004). Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram-positive bacterial infections. *Clinical Infectious Diseases*, 38: 864-870.
242. Pankuch, G.A.; Jacobs, M.R.; Appelbaum, P.C. (1993). Susceptibilities of 428 gram-positive and-negative anaerobic bacteria to Bay y3118 compared with their susceptibilities to ciprofloxacin, clindamycin, metronidazole, piperacillin,

- piperacillin-tazobactam, and ceftiofur. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37: 1649-1654.
243. Panzer, J.D.; Brown, D.C.; Epstein, W.L.; Lipson, R.L.; Mahaffey, H.W.; Atkinson, W.H. (1972). Clindamycin levels in various body tissues and fluids. *The Journal of Clinical Pharmacology and New Drugs*, 12: 259-262.
244. Papich, M.G. (2003). Antimicrobial therapy for gastrointestinal diseases. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 19: 645-663.
245. Papich, M.G. (2014). Pharmacokinetic–pharmacodynamic (PK–PD) modeling and the rational selection of dosage regimes for the prudent use of antimicrobial drugs. *Veterinary Microbiology*, 171: 480-486.
246. Papich, M.G. (2018). Chloramphenicol and derivatives, macrolides, lincosamides and miscellaneous antimicrobials. En Riviere, J.E.; Papich, M.G. *Veterinary Pharmacology & Therapeutics*. John Wiley and Sons, Inc. Hoboken, Nueva Jersey. Décima edición. Capítulo 36: 903-952.
247. Papich, M.G.; Davis, L.E. (1986). Drug therapy during pregnancy and in the neonate. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 16: 525-538.
248. Papich, M.G.; Martinez, M.N. (2015). Applying biopharmaceutical classification system (BCS) criteria to predict oral absorption of drugs in dogs: challenges and pitfalls. *American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 17: 948-964.
249. Paradelis, A.G.; Triantaphyllidis, C.J.; Mironidou, M.; Crassaris, L.G.; Karachalios, D.N.; Giala, M.M. (1988). Interaction of aminoglycoside antibiotics and calcium channel blockers at the neuromuscular junctions. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 10: 687-690.
250. Passini, S.; Montoya, L.; Lupi, M.; Lorenzini, P.; Landoni, M.F.; Albarellos, G. (2017). Plasma and tissue clindamycin antimicrobial activity after parenteral administration to cats under surgical conditions. *Veterinary Science Development*, 7: 40-43.

251. Pfefferkorn, E.R.; Nothnagel, R.F.; Borotz, S.E. (1992). Parasitocidal effect of clindamycin on *Toxoplasma gondii* grown in cultured cells and selection of a drug-resistant mutant. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36: 1091-1096.
252. Pfefferkorn, E.R.; Borotz, S.E. (1994). Comparison of mutants of *Toxoplasma gondii* selected for resistance to azithromycin, spiramycin, or clindamycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38: 31-37.
253. Pfizer (2011). Dalacin C Fosfato Clindamicina. Solución inyectable.
254. Pfizer (2014). Antirobe. Clindamycin hydrochloride capsules, USP.
255. Pharmacia and Upjohn Company (s.f.). Cleocin HCl®. Clindamycin hydrochloride capsules, USP.
256. Philipson, A.; Sabath, L.D.; Charles, D. (1973). Transplacental passage of erythromycin and clindamycin. *New England Journal of Medicine*, 288: 1219-1221.
257. Phillips, I.; Fernandes, R.; Warren, C. (1970). *In-vitro* comparison of erythromycin, lincomycin, and clindamycin. *British Medical Journal*, 2: 89-90.
258. Picardi, J.L.; Lewis, H.P.; Tan, J.S.; Phair, J.P. (1975). Clindamycin concentrations in the central nervous system of primates before and after head trauma. *Journal of Neurosurgery*, 43: 717-720.
259. Pillai, S.K.; Moellering, Jr., R.C.; Eliopoulos, G.M. (2005). Antimicrobial combinations. Lorian, V. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. Quinta edición, 9: 365-440.
260. Plaisance, K.I.; Drusano, G.L.; Forrest, A.; Townsend, R.J.; Standiford, H.C. (1989). Pharmacokinetic evaluation of two dosage regimens of clindamycin phosphate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33: 618-620.
261. Platzer, D.J.; White, B.A. (2006). Development and validation of a gradient HPLC method for the determination of clindamycin and related compounds in a novel tablet formulation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 84-88.

- 262.Plenderleith, R.W. (1988). Treatment of cattle, sheep and horses with lincomycin: case studies. *The Veterinary Record*, 122: 112-113.
- 263.Plumb, D.C. (2004). Drugs in neonates: principles and guesses. In *Proceedings of the Annual Conference*, 307-315.
- 264.Poole, K. (2005). Efflux-mediated antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56: 20-51.
- 265.Ralph, E.D.; Amatrieks, Y.E. (1980). Potentially synergistic antimicrobial combinations with metronidazole against *Bacteroides fragilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 17: 379-382.
- 266.Reed, N. (2014). Chronic rhinitis in the cat. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 44: 33-50.
- 267.Rehg, J.E.; Pakes, S.P. (1982). Implication of *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* iota toxins in experimental lincomycin-associated colitis of rabbits. *Laboratory Animal Science*, 32: 253-257.
- 268.Rezanka, T.; Spizek, J.; Sigler, K. (2007). Medicinal use of lincosamides and microbial resistance to them. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry, Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Infective Agents*, 6: 133-144.
- 269.Rimmer, D.M.; Sales, J.E.L. (1978). Lincomycin and clindamycin. *Antibiotics and Chemotherapy*, 25:204-216.
- 270.Roberts, M.C.; Brown, M.B. (1994). Macrolide-lincosamide resistance determinants in streptococcal species isolated from the bovine mammary gland. *Veterinary Microbiology*, 40: 253-261.
- 271.Roberts, M.C.; Sutcliffe, J.; Courvalin, P.; Jensen, L.B.; Rood, J.; Seppala, H. (1999). Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43: 2823-2830.
- 272.Roberts, M.C. (2004). Resistance to macrolide, lincosamide, streptogramin, ketolide, and oxazolidinone antibiotics. *Molecular Biotechnology*, 28: 47-62.

273. Ross, J.I.; Eady, E.A.; Cove, J.H.; Jones, C.E.; Ratyal, A.H.; Miller, Y.W.; Vyakrnam, S.; Cunliffe, W.J. (1997). Clinical resistance to erythromycin and clindamycin in cutaneous propionibacteria isolated from acne patients is associated with mutations in 23S rRNA. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41: 1162-1165.
274. Röstel, B.; Zmudzki, J.; MacNeil, J. (s.f.) Lincomycin. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 59-74.
275. Rothe, K.; Tsokos, M.; Handrick, W. (2015). Animal and human bite wounds. *Deutsches Ärzteblatt International*, 112: 433-443.
276. Rubin, J.E.; Ball, K.R.; Chirino-Trejo, M. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from various animals. *The Canadian Veterinary Journal*, 52: 153.
277. Rumi, M.V.; Nuske, E.; Mas, J.; Argüello, A.; Gutkind, G.; Di Conza, J. (2021). Antimicrobial resistance in bacterial isolates from companion animals in Buenos Aires, Argentina: 2011–2017 retrospective study. *Zoonoses and Public Health*, 68: 516-526.
278. Ruzauskas, M.; Couto, N.; Kerziene, S.; Siugzdiniene, R.; Klimiene, I.; Virgailis, M.; Pomba, C. (2015). Prevalence, species distribution and antimicrobial resistance patterns of methicillin-resistant staphylococci in Lithuanian pet animals. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57: 27-33.
279. Sabnis, S. (1999). Factors influencing the bioavailability of peroral formulations of drugs for dogs. *Veterinary Research Communications*, 23: 425-447.
280. Sadek, T.; Hamper, B.; Horwitz, D.; Rodan, I.; Rowe, E.; Sundahl, E. (2018). Feline feeding programs: Addressing behavioural needs to improve feline health and wellbeing. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20: 1049-1055.
281. Sainz, Á.; Roura, X.; Miró, G.; Estrada-Peña, A.; Kohn, B.; Harrus, S.; Solano-Gallego, L. (2015). Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis. Europe. *Parasites & Vectors*, 8: 1-20.
282. Sales, J.E.L.; Sutcliffe, M.; O'Grady, F. (1973). Excretion of clindamycin in the bile of patients with biliary tract disease. *Chemotherapy*, 19: 11-15.

283. Saribas, Z.; Tunckanat, F.; Pinar, A. (2006). Prevalence of erm genes encoding macrolide-lincosamide-streptogramin (MLS) resistance among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in a Turkish university hospital. *Clinical Microbiology and Infection*, 12: 797-799.
284. Saridomichelakis, M.N.; Anthanasiou, L.V.; Salame, M.; Chatzis, M.K.; Katsoudas, V.; Pappas, I.S. (2011). Serum pharmacokinetics of clindamycin hydrochloride in normal dogs when administered at two dosage regimens. *Veterinary Dermatology*, 22: 429-435.
285. Saridomichelakis, M.N.; Athanasiou, L.V.; Chatzis, M.K.; Salame, M.; Katsoudas, V.; Pappas, I.S. (2013). Concentrations of clindamycin hydrochloride in homogenates of normal dog skin when administered at two oral dosage regimens. *Veterinary Quarterly*, 33: 7-12.
286. Schaumann, R.; Ackermann, G.; Pless, B.; Claros, M.C.; Goldstein, E.J.; Rodloff, A.C. (2000). *In vitro* activities of fourteen antimicrobial agents against obligately anaerobic bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16: 225-232.
287. Schentag, J.J.; Nix, D.E.; Adelman, M.H. (1991). Mathematical examination of dual individualization principles (I): relationships between AUC above MIC and area under the inhibitory curve for cefmenoxime, ciprofloxacin, and tobramycin. *Drug Interaction and Clinical Pharmacy: Annals of Pharmacotherapy*. 25: 1050-1057.
288. Schlievert, P.M.; Kelly, J.A. (1984). Clindamycin-induced suppression of toxic-shock syndrome-associated exotoxin production. *Journal of Infectious Diseases*, 149: 471-474.
289. Schlünzen, F.; Zarivach, R.; Harms, J.; Bashan, A.; Tocilj, A.; Albrecht, R.; Yonath, A.; Francois, F. (2001). Structural basis for the interaction of antibiotics with the peptidyl transferase centre in eubacteria. *Nature*, 413: 814-821.
290. Schroeder, W.; Bannister, B.; Hoeksema, H. (1967). Lincomycin. III. Structure and stereochemistry of the carbohydrate moiety. *Journal of the American Chemical Society*, 89: 2448-2453.

291. Schwartz, G. (1978). Estimating the dimension of a model. *Annals of Statistics*, 6: 461-464.
292. Scott, D.W.; Beningo, K.E.; Miller Jr, W.H.; Rothstein, E. (1998). Efficacy of clindamycin hydrochloride capsules for the treatment of deep pyoderma due to *Staphylococcus intermedius* infection in dogs. *The Canadian Veterinary Journal*, 39: 753-756.
293. Seaberg, L.S.; Parquette, A.R.; Gluzman, I.Y.; Phillips Jr, G.W.; Brodasky, T.F.; Krogstad, D.J. (1984). Clindamycin activity against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*. *Journal of Infectious Diseases*, 150: 904-911.
294. Senhorinho, G.N.; Nakano, V.; Liu, C.; Song, Y.; Finegold, S.M.; Avila-Campos, M.J. (2012). Occurrence and antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas* spp. and *Fusobacterium* spp. in dogs with and without periodontitis. *Anaerobe*, 18: 381-385.
295. Senturk, S.; Cetin, C.; Temizel, M.; Ozel, E. (2007). Evaluation of the clinical efficacy of subconjunctival injection of clindamycin in the treatment of naturally occurring infectious bovine keratoconjunctivitis. *Veterinary Ophthalmology*, 10: 186-189.
296. Shrestha, B.; Rana, S.S. (2014). D test: a simple test with big implication for *Staphylococcus aureus* macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance pattern. *Nepal Medical College Journal*, 16: 88-94.
297. Silva, J.O.; Reis, A.C.M.; Quesada-Gómez, C.; Pinheiro, A.Q.; Freire, R.S.; Oriá, R.B.; de Carvalho, C.B.M. (2014). *In vitro* effect of antibiotics on biofilm formation by *Bacteroides fragilis* group strains isolated from intestinal microbiota of dogs and their antimicrobial susceptibility. *Anaerobe*, 28: 24-28.
298. Silva, R.C.; Machado, G.P. (2016). Canine neosporosis: perspectives on pathogenesis and management. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 7: 59-70.
299. Silverstein, D.; Otto, C.M. (2012). Sepsis. En Greene, C. E. *Infectious diseases of the dog and cat*. Elsevier, St Louis, Missouri. Cuarta edición. Capítulo 36: 359-363.

- 300.Simon, C.; Littschwager, G. (1985). *In vitro* activity of ceftazidime in combination with other antibiotics. *Infection*, 13: 184-189.
- 301.Sinkula, A.A.; Morozowich, W.; Rowe, E.L. (1973). Chemical modification of clindamycin: synthesis and evaluation of selected esters. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62: 1106-1111.
- 302.Siqueira, E.G.M.; Rahal, S.C.; Ribeiro, M.G.; Paes, A.C.; Listoni, F.P.; Vassalo, F.G. (2014). Exogenous bacterial osteomyelitis in 52 dogs: a retrospective study of etiology and *in vitro* antimicrobial susceptibility profile (2000–2013). *Veterinary Quarterly*, 34: 201-204.
- 303.Smart, R.F.; Ramsden, D.A.; Gear, M.W.; Nicol, A.; Lennox, W.M. (1976). Severe pseudomembranous colitis after lincomycin and clindamycin. *British Journal of Surgery*, 63: 25-29.
- 304.Snyder, R.J.; Wilkowske, C.J.; Washington, J.A. (1975). Bactericidal activity of combinations of gentamicin with penicillin or clindamycin against *Streptococcus mutans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 7: 333-335.
- 305.Son, D.S.; Osabe, M.; Shimoda, M.; Kokue, E. (1998). Contribution of alpha 1-acid glycoprotein to species difference in lincosamides-plasma protein binding kinetics. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 21: 34-40.
- 306.Soriano García, F. (2002). Aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos para la lectura interpretada del antibiograma. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 20: 407-412.
- 307.Soriano García, F.; Zapardiel, J.; Nieto, E. (1995). Antimicrobial susceptibilities of *Corynebacterium* species and other non-spore-forming gram-positive bacilli to 18 antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39: 208-214.
- 308.Soriano García, A.; Jurado, A.; Marco, F.; Almela, M.; Ortega, M.; Mensa, J. (2005). Actividad *in vitro* de linezolid, moxifloxacino, levofloxacino, clindamicina y rifampicina solos o en combinación, frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. *Revista Española de Quimioterapia*, 18: 168-172.

309. Spangler, S.K.; Jacobs, M.R.; Appelbaum, P.C. (1997). Bactericidal activity of DU-6859a compared to activities of three quinolones, three beta-lactams, clindamycin, and metronidazole against anaerobes as determined by time-kill methodology. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41: 847-849.
310. Srednik, M.E. (2017). Susceptibilidad frente a cocos gram positivo en animales de compañía. *Memorias del XVII Congreso Nacional de AVEACA*, 17: 84-85.
311. Sriskandan, S.; McKee, A.; Hall, L.; Cohen, J. (1997). Comparative effects of clindamycin and ampicillin on superantigenic activity of *Streptococcus pyogenes*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 40: 275-277.
312. Steen, B.; Rane, A. (1982). Clindamycin passage into human milk. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 13(5): 661-664.
313. Steininger, C.; Willinger, B. (2016). Resistance patterns in clinical isolates of pathogenic Actinomyces species. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71: 422-427.
314. Stevens, D.L.; Higbee, J.W.; Oberhofer, T.R.; Everett, E.D. (1979). Antibiotic susceptibilities of human isolates of *Pasteurella multocida*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 16: 322-324.
315. Stevens, D.L.; Maier, K.A.; Mitten, J.E. (1987). Effect of antibiotics on toxin production and viability of *Clostridium perfringens*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 31: 213-218.
316. Stevens, D.L.; Gibbons, A.E.; Bergstrom, R.; Winn, V. (1988). The Eagle effect revisited: efficacy of clindamycin, erythromycin, and penicillin in the treatment of streptococcal myositis. *Journal of Infectious Diseases*, 158: 23-28.
317. Stevens, D.L.; Bryant, A.E.; Hackett, S.P. (1995). Antibiotic effects on bacterial viability, toxin production, and host response. *Clinical Infectious Diseases*, 20: 154-157.
318. Stevens, D.L.; Madaras-Kelly, K.J.; Richards, D.M. (1998). *In vitro* antimicrobial effects of various combinations of penicillin and clindamycin against four strains

- of *Streptococcus pyogenes*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42: 1266-1268.
319. Suepaul, S.M.; Carrington, C.; Campbell, M.; Borde, G.; Adesiyun, A.A. (2015). Antimicrobial susceptibility of *Leptospira* isolates from dogs and rats to 12 antimicrobial agents. *Tropical Biomedicine*, 32: 1-10.
320. Summers, J.F.; Brodbelt, D.C.; Forsythe, P.J.; Loeffler, A.; Hendricks, A. (2012). The effectiveness of systemic antimicrobial treatment in canine superficial and deep pyoderma: a systematic review. *Veterinary Dermatology*, 23: 305-329.
321. Sun, F.F. (1973). Metabolism of clindamycin II: Urinary excretion products of clindamycin in rat and dog. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62: 1657-1662.
322. Sun, F.F.; Hsi, R.S.P. (1973). Metabolism of clindamycin I: absorption and excretion of clindamycin in rat and dog. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62: 1265-1269.
323. Sutton, D.R.; Gosnold, J.K. (1977). Oesophageal ulceration due to clindamycin. *British Medical Journal*, 1: 1598.
324. Sykes, J.E. (2014). ISCAID Antimicrobial use guidelines. *World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings, 2014*. <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=12886&catId=57153&id=7054708>
325. Szultka-Mlynska, M.; Buszewski, B. (2016). Study of in-vitro metabolism of selected antibiotic drugs in human liver microsomes by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408: 8273-8287.
326. Tabbara, K.F.; O'connor, G.R. (1975). Ocular tissue absorption of clindamycin phosphate. *Archives of Ophthalmology*, 93: 1180-1185.
327. Tasker, S.; Hofmann-Lehmann, R.; Belák, S.; Frymus, T.; Addie, D.D.; Pennisi, M.G.; Boucraut-Baralon, C.; Egberink, K.; Hartmann, K.; Hosie, M.J.; Lloret, A.; Marsilio, F.; Radford, A.D.; Thiry, E.; Truyen, U.; Möstl, K. (2018).

- Haemoplasmosis in cats: European guidelines from the ABCD on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20: 256-261.
328. Torres-Henderson, C.; Hesser, J.; Hyatt, D.R.; Hawley, J.; Brewer, M.; Lappin, M.R. (2014). Pilot study to evaluate the role of *Mycoplasma* species in cat bite abscesses. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16: 997-1000.
329. Toutain, P.L.; Bousquet-Mélou, A. (2004)^a. Bioavailability and its assessment. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27: 455-466.
330. Toutain, P. L.; Bousquet-mélou, A. (2004)^b. Plasma terminal half-life. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27: 427-439.
331. Toutain, P.L.; del Castillo, J.R.; Bousquet-Mélou, A. (2002). The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Research in Veterinary Science*, 73: 105-114.
332. Toutain, P.L.; Pelligand, L.; Lees, P.; Bousquet-Mélou, A.; Ferran, A.A.; Turnidge, J.D. (2021). The pharmacokinetic/pharmacodynamic paradigm for antimicrobial drugs in veterinary medicine: Recent advances and critical appraisal. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 44: 172-200.
333. Townsend, R.J.; Baker, R.P. (1987). Pharmacokinetic comparison of three clindamycin phosphate dosing schedules. *Drug Intelligence & Clinical Pharmacy*, 21: 279-281.
334. Trepanier, L.A. (2013). Rational use of presurgical antibiotics. *World Small Animal Veterinary Association Congress Proceedings 2013*, 1-4.
335. Troxel, M.T. (2009). Infectious neuromuscular diseases of dogs and cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24: 209-220.
336. Uhumwangho, M.U.; Okor, R.S. (2007). A comparative study of the dissolution characteristics of capsule and tablet dosage forms of melt granulations of paracetamol - diluent effects. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 64: 73-79.
337. U.S Department of Health and Human Services [HHS]; Food and Drug Administration [FDA]; Center for Drug Evaluation and Research [CDER] (2002). Food-Effect Bioavailability and Fed Bioequivalence Studies.

<https://www.fda.gov/files/drugs/published/Food-Effect-Bioavailability-and-Fed-Bioequivalence-Studies.pdf>. Accedido en junio 2022.

- 338.U.S Department of Health and Human Services [HHS]; Food and Drug Administration [FDA]; Center for Drug Evaluation and Research [CDER]; Center for Veterinary Medicine [CVM] (2018). Bioanalytical Method Validation. Guidance for Industry. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioanalytical-method-validation-guidance-industry>. Accedido en junio 2022.
- 339.Valdimarsdóttir, M.; Erlendsdóttir, H.; Gudmundsson, S. (1997). Postantibiotic effects with *Bacteroides fragilis* determined by viable counts and CO₂ generation. *Clinical Microbiology and Infection*, 3: 82-88.
- 340.Valour, F.; Trouillet-Assant, S.; Riffard, N.; Tasse, J.; Flammier, S.; Rasigade, J.P.; Chidiac, C.; Vandenesch, F.; Ferry, T.; Laurent, F. (2015). Antimicrobial activity against intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59: 2029-2036.
- 341.van Damme, C.M.; Broens, E.M.; Auxilia, S.T.; Schlotter, Y.M. (2020). Clindamycin resistance of skin derived *Staphylococcus pseudintermedius* is higher in dogs with a previous antibiotic history. *Veterinary Dermatology*, 1-6. doi: 10.1111/vde.12854.
- 342.Van den Bogaard Jr., A.E.; Weidema, W.F. (1985). Antimicrobial prophylaxis in canine surgery. *Journal of Small Animal Practice*, 26: 257-266.
- 343.Van Vlem, B.; Vanholder, R.; De Paepe, P.; Vogelaers, D.; Ringoir, S. (1996). Immunomodulating effects of antibiotics: literature review. *Infection*, 24: 275-291.
- 344.Venditti, M.; Gelfusa, V.; Tarasi, A.; Brandimarte, C.; Serra, P. (1990). Antimicrobial susceptibilities of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34: 2038-2040.
- 345.Vigo, G.B.; Giacoboni, G.I.; Gagetti, P.S.; Pasterán, F.G.; Corso, A.C. (2015). Resistencia antimicrobiana y epidemiología molecular de aislamientos de *Staphylococcus pseudintermedius* de muestras clínicas de caninos. *Revista Argentina de Microbiología*, 47: 206-211.

346. Vishnurahav, R.B.; Pillai, U.N.; Ajithkumar, S.; Sabu, L. (2017). Efficacy study of clindamycin as potential monotherapy treatment plan for clinical case of dogs infected with *Babesia gibsoni*. Malaysian Journal of Veterinary Research, 8: 45-49.
347. Vogelman, B.; Craig, W.A. (1986). Kinetics of antimicrobial activity. The Journal of Pediatrics, 108: 835-840.
348. Vogelman, B.; Gudmundsson, S.; Turnidge, J.; Leggett, J.; Craig, W.A. (1988). *In vivo* postantibiotic effect in a thigh infection in neutropenic mice. Journal of Infectious Diseases, 157: 287-298.
349. Vosbeck, K.; James, P.R.; Zimmermann, W. (1984). Antibiotic action on phagocytosed bacteria measured by a new method for determining viable bacteria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 25: 735-741.
350. Wagner, J.; Jabbusch, M.; Eisenblätter, M.; Hahn, H.; Wendt, C.; Ignatius, R. (2003). Susceptibilities of *Campylobacter jejuni* isolates from Germany to ciprofloxacin, moxifloxacin, erythromycin, clindamycin, and tetracycline. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47: 2358-2361.
351. Watanakunakorn, C.; Glotzbecker, C. (1974). Enhancement of the effects of anti-staphylococcal antibiotics by aminoglycosides. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 6: 802-806.
352. Watkins III, J.B.; Klaassen, C.D. (1986). Xenobiotic biotransformation in livestock: comparison to other species commonly used in toxicity testing. Journal of Animal Science, 63: 933-942.
353. Watson, M.K.; Papich, M.G.; Chinnadurai, S.K. (2017). Pharmacokinetics of intravenous clindamycin phosphate in captive Bennett's wallabies (*Macropus rufogriseus*). Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 40: 682-686.
354. Weber, D.J.; Barbiere, A.R.; Lallinger, A.J.; Neff, A.W.; Pope, D.G. (1980). Pharmacokinetics of clindamycin following subcutaneous administration of clindamycin phosphate in the canine. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 3: 133-143.

355. Weber, R.S.; Raad, I.; Frankenthaler, R.; Hankins, P.; Byers, R.M.; Guillaumondegui, O.; Wolf, P.; Smith, T.; Goepfert, H. (1992). Ampicillin-sulbactam vs clindamycin in head and neck oncologic surgery: the need for gram-negative coverage. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 118: 1159-1163.
356. Weese, J.S. (2013). The canine and feline skin microbiome in health and disease. *Veterinary Dermatology*, 24: 137-e31.
357. Weese, J.S.; Blondeau, J.; Boothe, D.; Guardabassi, L.G.; Gumley, N.; Papich, M.; Rem Jessen, L.; Lappin, M.; Rankin, S.; Westropp, J.L.; Sykes, J. (2019). International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. *The Veterinary Journal*, 247: 8-25.
358. Weisblum, B. (1995a). Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39: 577-585.
359. Weisblum, B. (1995b). Insights into erythromycin action from studies of its activity as inducer of resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39: 797-805.
360. Weisblum, B.; Demohn, V. (1969). Erythromycin inducible resistance in *Staphylococcus aureus*: survey of antibiotic classes involved. *Journal of Bacteriology*, 98: 447-452.
361. Welling, P.G. (1977). Influence of food and diet on gastrointestinal drug absorption: a review. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 5: 291-334.
362. Westerman, E.L.; Williams, T.W.; Moreland, N. (1976). *In vitro* activity of josamycin against aerobic gram-positive cocci and anaerobes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 9: 988-993.
363. Westfall, D.S.; Twedt, D.C.; Steyn, P.F.; Oberhauser, E.B.; VanCleave, J.W. (2001). Evaluation of esophageal transit of tablets and capsules in 30 cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15: 467-470.

364. Whright, P.M.; Seiple, I.B.; Myers, A.G. (2014). The evolving role of chemical synthesis in antibacterial drug discovery. *Angewandte Chemie International Edition*, 53: 8840–8869.
365. Wijaya, A.; Wulansari, R.; Ano, H.; Makimura, S. (2001). Effect of clindamycin therapy on phagocytic and oxidative activity profiles of spleen mononuclear cells in *Babesia rodhaini*-infected mice. *Journal of Veterinary Medical Science*, 63: 563-566.
366. Williams, L.; Hill, D.P.; Davis, J.A.; Lowenthal, D.T. (1996). The influence of food on the absorption and metabolism of drugs: an update. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 21: 201-211.
367. Wittmann, S.; Artl, M.; Rothe, G.; Fröhlich, D. (2004). Differential effects of clindamycin on neutrophils of healthy donors and septic patients. *International Immunopharmacology*, 4: 929-937.
368. Woolley, K.L.; Kelly, R.F.; Fazakerley, J.; Williams, N.J.; Nuttall, T.J.; McEwan, N.A. (2008). Reduced in vitro adherence of *Staphylococcus* species to feline corneocytes compared to canine and human corneocytes. *Veterinary Dermatology*, 19: 1-6.
369. Wright, J.M.; Collier, B. (1976). Characterization of the neuromuscular block produced by clindamycin and lincomycin. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 54: 937-944.
370. Wu, C.Y.; Benet, L. Z. (2005). Predicting drug disposition via application of BCS: transport/absorption/elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. *Pharmaceutical Research*, 22: 11-23.
371. Wulansari, R.; Wijaya, A.; Ano, H.; Horii, Y.; Nasu, T.; Yamane, S.; Makimura, S. (2003). Clindamycin in the treatment of *Babesia gibsoni* infections in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 39: 558-562.
372. Wuthiekanun, V.; Amornchai, P.; Langla, S.; White, N.J.; Day, N.P.; Limmathurotsakul, D.; Peacock, S.J. (2015). Antimicrobial disk susceptibility testing of *Leptospira* spp. using *Leptospira* Vanaporn Wuthiekanun (LVW) agar. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 93: 241-243.

373. Wynalda, M.A.; Hutzler, J.M.; Koets, M.D.; Podoll, T.; Wienkers, L.C. (2003). *In vitro* metabolism of clindamycin in human liver and intestinal microsomes. *Drug Metabolism and Disposition*, 31: 878-887.
374. Xue, I.B.; Davey, P.G.; Phillips, G. (1996). Variation in postantibiotic effect of clindamycin against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and implications for dosing of patients with osteomyelitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40: 1403-1407.
375. Yajko, D.M.; Nassos, P.S.; Hadley, W.K. (1987). Broth microdilution testing of susceptibilities to 30 antimicrobial agents of *Mycobacterium avium* strains from patients with acquired immune deficiency syndrome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 31: 1579-1584.
376. Yamaoka, K.; Nakagawa, T.; Uno, T. (1978). Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 6: 165-175.
377. Yamamoto, K.; Kijima, M.; Yoshimura, H.; Takahashi, T. (2001). Antimicrobial susceptibilities of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from pigs with swine erysipelas in Japan, 1988–1998. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 48: 115-126.
378. Yamaro, T.; Oishi, K.; Yoshimine, H.; Tsuchihashi, Y.; Matsushima, K.; Nagatake, T. (2003). Fourteen-member macrolides promote the phosphatidylserine receptor-dependent phagocytosis of apoptotic neutrophils by alveolar macrophages. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47: 48-53.
379. Yang, S.H.; Lee, M.G. (2007). Dose-independent pharmacokinetics of clindamycin after intravenous and oral administration to rats: contribution of gastric first-pass effect to low bioavailability. *International Journal of Pharmaceutics*, 332: 17-23.
380. Yunus, M.; Horii, Y.; Makimura, S.; Smith, A.L. (2005). The relationship between the anticoccidial effects of clindamycin and the development of immunity in the *Eimeria pragensis*/mouse model of large intestinal coccidiosis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 67: 165-170.

381. Zabransky, R.J.; Johnston, J.A.; Hauser, K.J. (1973). Bacteriostatic and bactericidal activities of various antibiotics against *Bacteroides fragilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 3: 152-156.
382. Zeller, V.; Dzeing-Ella, A.; Kitzis, M.D.; Ziza, J.M.; Mamoudy, P.; Desplaces, N. (2010). Continuous clindamycin infusion, an innovative approach to treating bone and joint infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54: 88-92.
383. Zetner, K.; Schmidt, H.; Pfeiffer, S. (2003). Concentrations of clindamycin in the mandibular bone of companion animals. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine*, 4: 166-171.
384. Zhao, P.; Zhang, X.; Du, P.; Li, G.; Li, L.; Li, Z. (2017). Susceptibility profiles of *Nocardia* spp. to antimicrobial and antituberculous agents detected by a microplate Alamar Blue assay. *Scientific Reports*, 7: 43660. doi: 10.1038/srep43660.

IX. ANEXOS

IX.I. ANEXO I

Colocación catéter central Intracath® en vena yugular de los felinos

Metodología

La metodología para la colocación del catéter central yugular fue tomada a partir del trabajo publicado por Albarellos y col. (2003). Para la cateterización los animales fueron anestesiados con una combinación de tiletamina-zolazepam (Zelazol® laboratorio Zoetis) a razón de 4 mg/kg de tiletamina y 4 mg/kg de zolazepam por vía intramuscular. Posteriormente se realizó la preparación del campo mediante tricotomía completa alrededor del cuello y 3 lavados quirúrgicos, alternando peróxido de benzoilo 2% y alcohol. Se colocó al animal en decúbito lateral izquierdo y se ingurgitó la vena yugular presionando en la base de entrada al tórax. Se canalizó la vena con un primer catéter tipo Abbotcat® 20G siguiendo la técnica clásica de colocación de catéter en venas periféricas. Como punto de entrada a la vena yugular se tomó la distancia media entre la rama mandibular y la entrada del tórax. Una vez introducido el teflón se retiró el mandril y se colocó a través del mismo un segundo catéter denominado Intracath® (Intracath® with wire stylet I.V. catheter/needle unit Vialon® radiopaque material. Becton Dickinson Vascular Access, Sandy, Utah, USA) para vías centrales (Figura AI.1).

Este catéter, de uso en medicina humana, es de un biomaterial denominado Vialon®, que permite su colocación durante períodos prolongados de tiempo debido a su nula acción irritante sobre el endotelio. Tiene un largo total de 22 cm y debió introducirse en vena yugular unos 10 cm, esta distancia es lo suficientemente larga para evitar la formación de trombos pero sin ingresar a las cámaras cardíacas (Lainesse y col., 2007). Una vez colocado este catéter, se procedió a retirar el primero, en forma completa de la vena, y se acoplaron los conos de ambos por fuera del cuello del animal (Figura AI.2). Finalmente se extrajo el mandril del segundo catéter y se colocó un tapón para catéter. La sujeción al cuello se realizó colocando una tela adhesiva en forma de mariposa abarcando los 12 cm externos del catéter (incluyendo también al catéter 20G, los conos acoplados y el tapón) y se suturó con 2 puntos simples en relación al sitio de ingreso del catéter en piel (Figura AI.3). El extremo libre se adaptó a la curvatura del cuello del animal y se realizó un

vendaje en forma de collar, con cinta hipoalérgica (en contacto con la piel), luego con venda tipo Cambrio® y finalmente tela adhesiva, procurando dejar por fuera una porción del tapón para realizar la toma de muestras (Figura AI.4). La permeabilidad del catéter se comprobó y se mantuvo inyectando en el mismo 0,5 ml de solución de heparina 10 UI/ml en solución fisiológica, al iniciar y finalizar cada día de trabajo.

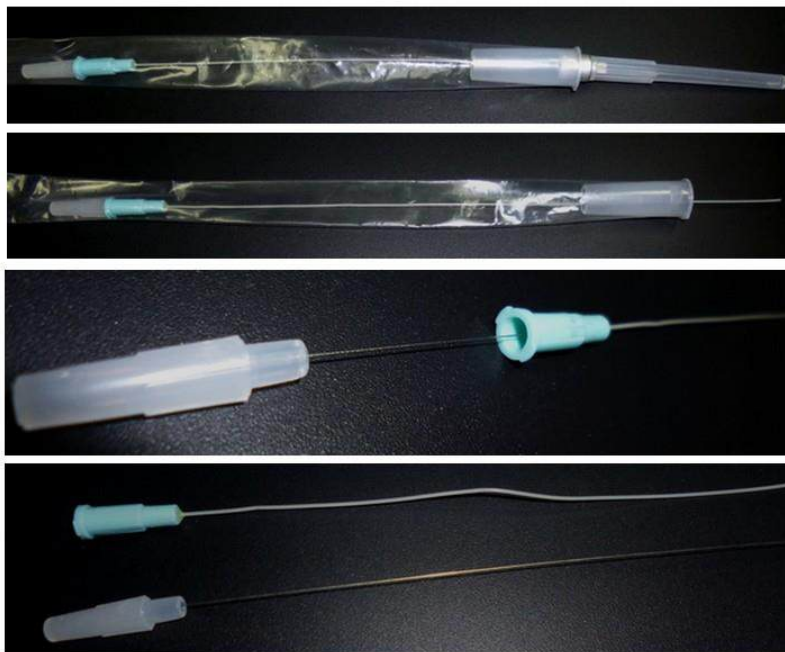


Figura AI.1. Catéter Intracath® con mandril interno.



Figura AI.1. Catéter para vía central colocado en vena yugular izquierda. El catéter 20G se utilizó para la venopunción, luego se introdujo el catéter definitivo de Vialon® a través del mismo. El catéter de teflón es finalmente retirado del cuello del gato y acoplados uno al otro para evitar movimiento.



Figura AI.2. Primera fijación del catéter con tela adhesiva cubriendo la porción externa del mismo y 2 puntos simples en el extremo próximo al sitio de entrada del catéter a piel.



Figura A1.3. Vendaje completo en forma de collar realizado con cinta hipoalergénica, venda tipo Cambric® y tela adhesiva. El tapón del catéter se deja libre para la toma de muestras.

Si bien Lainesse y col. (2007) señalaron que la longitud de catéter introducido en la vena yugular y cava anterior de los gatos debía ser de entre 7 a 10 cm, por lo que la longitud fuera del gato debería ser para nuestro trabajo, no menor de 10 cm y hasta 13 cm. Se decidió, al inicio del primer experimento, realizar un control radiológico en uno de los felinos del ensayo (Gato "K") para verificar su ubicación. Se indicaron 2 incidencias latero-lateral izquierda y ventro-dorsal (Figura A1.5). Para la realización de este estudio no fue necesario sedar al animal.



Figura A1.4. Radiografía de cuello y tórax incidencia latero-lateral izquierda (izquierda) y dorso-ventral (derecha). Distancia medida al atrio derecho 2,75 a 3,39 cm aproximadamente.

Resultados

Los gatos recibieron una única dosis anestésica para la colocación del catéter y no presentaron efectos colaterales durante la recuperación. Tampoco manifestaron cambios comportamentales y se adaptaron sin dificultad al vendaje realizado. No se observaron reacciones en piel durante ni posterior a la extracción de los mismos, ni sangrado o hematomas en el sitio de entrada. Los catéteres se mantuvieron permeables durante todo el tiempo en que fueron empleados (15 días) y pudieron tomarse la totalidad de las muestras sin dificultad.

El informe radiológico determinó una longitud interna de 8,05 cm (en línea recta) y 2,75 a 3,39 cm desde el extremo libre del catéter a la entrada del corazón (Figura 5). Retirado el catéter se midió la longitud exacta desde el sitio de entrada en piel que fue de 10,5 cm.

Discusión

La cateterización venosa central permitió muestreos prolongados, con el animal consciente durante todo el estudio permitiendo que el modelo experimental se asemeje más a la realidad y utilizando un material con mínimo a nulo efecto irritante sobre el endotelio. Esto lo diferencia de la metodología de cateterización periférica clásica en la cual el paciente debe permanecer entre 12 a 24 horas con el catéter colocado en uno de sus miembros siendo particularmente molesto e incómodo para esta especie animal. A su vez, el riesgo de flebitis con el catéter venoso central es prácticamente nulo porque el material del que está fabricado es no reactivo. Esta es una diferencia importante cuando se lo compara con los catéteres venosos periféricos hechos de Teflón®, siendo ésta una de las principales limitantes para el tiempo de permanencia de estos catéteres en las venas (Gaukroger y col., 1988).

IX.II. ANEXO II

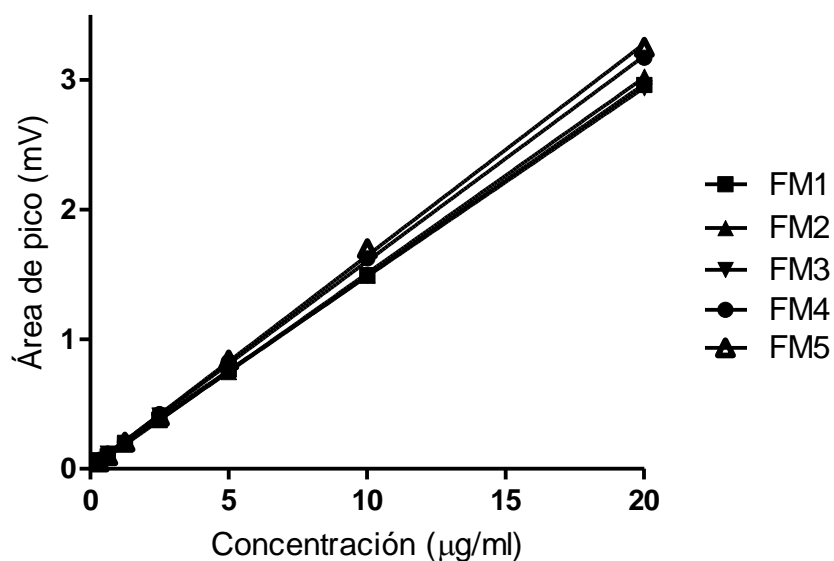


Figura All.1. Curvas estándar de la clindamicina en fase móvil. Curvas de regresión del área del pico en función de la concentración del antimicrobiano (FM1 $R^2 = 0,9999$, FM2 $R^2 = 0,9999$, FM3 $R^2 = 0,9996$, FM4 $R^2 = 0,9997$, FM5 $R^2 = 0,9994$).

Tabla All.1. Cálculo de la precisión intra-día del método cromatográfico para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en fase móvil. Coeficiente de variación intra-día (%) = (D.E. / promedio) x 100.

Concentración (µg/ml)	Área de pico FM1 (mV)			Área de pico FM2 (mV)			Área de pico FM3 (mV)		
	Promedio	D.E.	CV (%)	Promedio	D.E.	CV (%)	Promedio	D.E.	CV (%)
20,00	2,96	0,011	0,38	3,03	0,023	0,75	2,94	0,053	1,81
10,00	1,49	0,010	0,69	1,49	0,008	0,53	1,49	0,013	0,89
5,00	0,77	0,011	1,39	0,75	0,006	0,77	0,75	0,010	1,37
2,50	0,38	0,003	0,67	0,38	0,004	1,07	0,41	0,008	2,04
1,25	0,19	0,004	2,28	0,19	0,003	1,58	0,20	0,007	3,24
0,63	0,10	0,004	4,15	0,09	0,002	2,41	0,12	0,001	1,02
0,31	0,05	0,002	2,98	0,05	0,001	1,45	0,07	0,0004	0,53
0,16	0,02	0,001	2,79	0,02	0,001	2,84	0,02	0,006	3,29

Tabla AII.1. Continúa

Concentración (µg/ml)	Área de pico FM4 (mV)			Área de pico FM5 (mV)		
	Promedio	D.E.	CV (%)	Promedio	D.E.	CV (%)
20,00	3,17	0,030	0,94	3,25	0,031	0,96
10,00	1,62	0,024	1,47	1,70	0,015	0,88
5,00	0,83	0,007	0,80	0,84	0,009	1,01
2,50	0,42	0,010	2,45	0,40	0,009	2,17
1,25	0,21	0,010	4,60	0,21	0,004	1,95
0,63	0,11	0,007	6,46	0,10	0,000	0,10
0,31	0,05	0,0030	5,48	0,05	0,0013	2,47
0,16	nc	nc	Nc	nc	nc	Nc

nc: no calculado

Tabla AII.2. Cálculo de la precisión inter-día del método cromatográfico para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en fase móvil. Coeficiente de variación inter-día (%) = (D.E. / promedio) x 100.

Concentración (µg/ml)	Áreas de pico curva FM1, FM2, FM3, FM4, FM5 (mV)		
	Promedio	D.E.	CV (%)
20,00	3,07	0,136	4,45
10,00	1,56	0,096	6,15
5,00	0,79	0,044	5,55
2,50	0,40	0,021	5,16
1,25	0,20	0,008	4,24
0,63	0,10	0,009	9,06
0,31	0,05	0,007	13,34
0,16	0,02	0,002	11,02

Tabla AII.3. Cálculo de la exactitud del método cromatográfico para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en fase móvil. Exactitud (%) = (valor observado / valor real) x 100.

Concentración (µg/ml)	Exactitud (%) = (valor observado / valor real) x 100				
	FM1	FM2	FM3	FM4	FM5
20,00	99,72	100,29	99,72	99,54	99,15
10,00	100,44	98,97	100,56	101,30	103,30
5,00	102,86	99,13	100,41	102,11	101,73
2,50	99,87	101,03	107,42	102,11	96,54
1,25	100,01	101,62	99,94	95,75	95,80
0,63	98,85	101,74	107,21	90,21	90,49
0,31	98,16	106,32	103,50	80,02	84,74
0,16	64,24	96,27	21,45	nc	nc

nc: no calculado

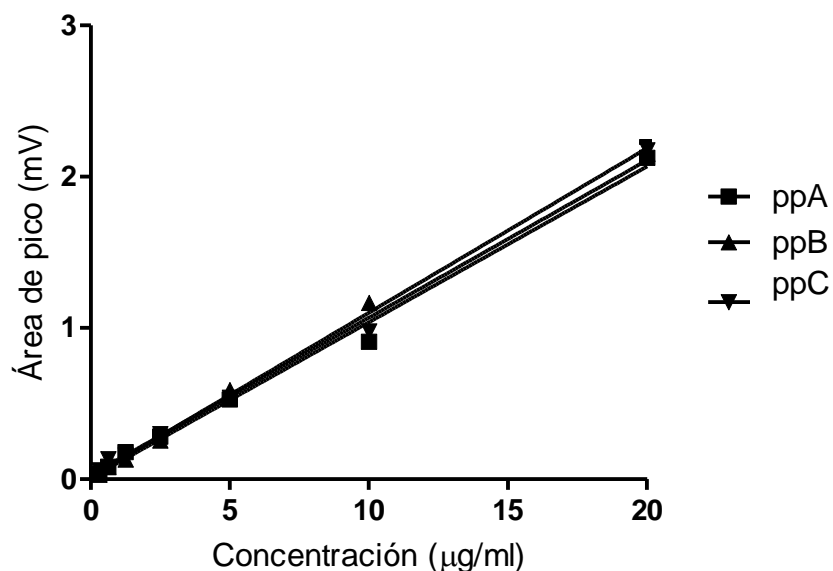


Figura AII.2. Curvas estándar de la clindamicina en plasma canino. Curvas de regresión del área del pico en función de la concentración del antimicrobiano (ppA $R^2 = 0,9928$, ppB $R^2 = 0,9975$, ppC $R^2 = 0,9945$).

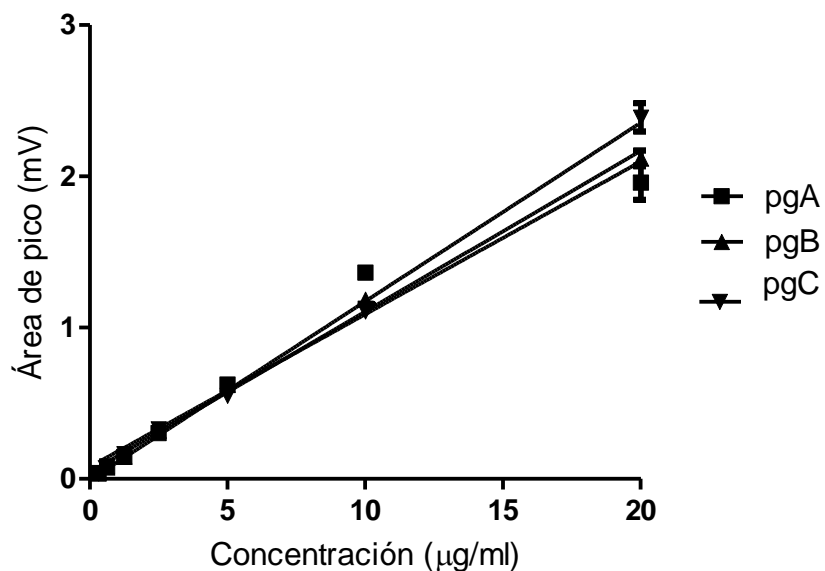


Figura All.3. Curvas estándar de la clindamicina en plasma felino. Curvas de regresión del área del pico en función de la concentración del antimicrobiano (pgA $R^2= 0,9621$, pgB $R^2 = 0,9953$, pgC $R^2 = 0.9956$).

Tabla All.4. Cálculo de la precisión intra-día del método cromatográfico para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en plasma canino. Coeficiente de variación intra-día (%) = (D.E. / promedio) x 100.

Concentración (µg/ml)	Área de pico pp1 (mV)			Área de pico pp2 (mV)			Área de pico pp3 (mV)		
	Promedio	D.E.	CV (%)	Promedio	D.E.	CV (%)	Promedio	D.E.	CV (%)
20,00	2,13	0,03	1,29	2,15	0,02	1,09	2,17	0,06	2,57
10,00	0,91	0,02	1,87	1,17	0,03	2,66	0,98	0,02	1,94
5,00	0,53	0,03	6,24	0,59	0,01	1,21	0,54	0,01	1,48
2,50	0,28	0,01	2,33	0,26	0,01	1,99	0,30	0,01	4,76
1,25	0,18	0,01	5,33	0,13	0,00	2,68	0,16	0,00	3,12
0,63	0,08	0,01	11,63	0,08	0,00	5,84	nc		
0,31	0,03	0,00	5,88	0,05	0,00	7,26	0,03	0,00	2,11

nc: no calculado

Tabla AII.5. Cálculo de la precisión inter-día del método cromatográfico para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en plasma canino. Coeficiente de variación inter-día (%) = (D.E. / promedio) x 100.

Concentración (µg/ml)	Áreas de pico curva pp1, pp2, pp3 (mV)		
	Promedio	D.E.	CV (%)
20,00	2,15	0,02	1,14
10,00	1,02	0,13	13,06
5,00	0,55	0,03	5,92
2,50	0,28	0,02	7,44
1,25	0,16	0,02	15,18
0,63	0,08	0,00	1,45
0,31	0,04	0,01	20,05

Tabla AII.6. Cálculo de la exactitud del método cromatográfico para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en plasma canino. Exactitud (%) = (valor observado / valor real) x 100.

Concentración (µg/ml)	Exactitud (%) = (valor observado / valor real) x 100		
	pp1	pp2	pp3
20,00	102,75	98,47	102,58
10,00	87,63	105,91	92,03
5,00	98,41	105,16	100,78
2,50	101,77	87,65	110,59
1,25	123,93	82,40	114,93
0,63	97,95	92,86	nc
0,31	80,00	117,72	81,70

nc: no calculado

Tabla All.7. Cálculo de la precisión intra-día del método cromatográfico para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en plasma felino. Coeficiente de variación intra-día (%) = (D.E. / promedio) x 100.

Concentración (µg/ml)	Área de pico pg1 (mV)			Área de pico pg2 (mV)			Área de pico pg3 (mV)		
	Promedio	D.E.	CV (%)	Promedio	D.E.	CV (%)	Promedio	D.E.	CV (%)
20,00	1,958	0,113	5,769	2,119	0,052	2,455	2,389	0,093	3,894
10,00	1,364	0,000	0,022	1,185	0,007	0,555	1,109	0,049	4,422
5,00	0,623	0,024	3,776	0,621	0,004	0,612	0,550	0,016	2,943
2,50	0,302	0,023	7,612	0,319	0,006	1,754	0,328	0,022	6,707
1,25	0,145	0,001	0,390	0,149	0,004	2,639	0,166	0,004	2,435
0,63	0,083	0,001	1,283	0,076	0,001	1,726	nc		
0,31	0,039	0,004	11,408	0,036	0,001	2,267	0,034	0,002	3,756

nc: no calculado

Tabla All.8. Cálculo de la precisión inter-día del método cromatográfico para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en plasma felino. Coeficiente de variación inter-día (%) = (D.E. / promedio) x 100.

Concentración (µg/ml)	Áreas de pico curva pg1, pg2, pg3 (mV)		
	Promedio	D.E.	CV (%)
20,00	2,155	0,218	10,105
10,00	1,220	0,131	10,742
5,00	0,598	0,041	6,931
2,50	0,316	0,013	4,091
1,25	0,153	0,011	7,085
0,63	0,079	0,005	6,850
0,31	0,036	0,003	7,034

Tabla AII.9. Cálculo de la exactitud del método cromatográfico para la determinación de las concentraciones de la clindamicina en plasma felino. Exactitud (%) = (valor observado / valor real) x 100.

Concentración (µg/ml)	Exactitud (%) = (valor observado / valor real) x 100		
	pg1	pg2	pg3
20,00	93,11	97,66	101,49
10,00	117,33	107,51	94,47
5,00	100,62	99,55	94,57
2,50	97,77	102,63	113,79
1,25	94,75	96,79	117,82
0,63	109,43	100,20	nc
0,31	105,51	98,79	119,03

nc: no calculado

Tabla AII.10. Cálculo del porcentaje de extracción (recuperación) de la clindamicina a partir de plasma canino.

Concentración (µg/ml)	Porcentajes de extracción (%)		
	ppA	ppB	ppC
20,00	67,054	65,733	70,159
10,00	nc	68,708	62,028
5,00	63,913	70,052	66,674
2,50	66,784	63,646	70,628
1,25	86,263	64,025	71,270
0,63	76,519	78,374	nc
0,31	61,700	58,090	71,600
Porcentaje de extracción promedio 68,6% D.E. 6,59 CV% 9,61			

nc: no calculado

Tabla AII.11. Cálculo del porcentaje de extracción (recuperación) de la clindamicina a partir de plasma felino.

Concentración (µg/ml)	Porcentajes de extracción (%)		
	pgA	pgB	pgC
20,00	66,149	70,017	79,062
10,00	91,329	79,459	72,875
5,00	81,186	83,290	71,634
2,50	80,390	84,130	80,835
1,25	77,073	78,575	72,352
0,63	86,005	80,799	nc
0,31	77,190	74,500	65,200
Porcentaje de extracción promedio 77,6% D.E. 6,57 CV% 8,47 nc: no calculado			

Tabla AII.12. Cálculo del límite de cuantificación en fase móvil, plasma canino y felino.

Concentración (µg/ml)	Área media	D.E.	CV%	Exactitud	LOQ
FASE MÓVIL					
0,6	0,102	0,01	10,70	6,50	
0,3	0,047	0,004	9,72	18,43	LOQ
0,15	nq	---	---	---	
PLASMA CANINO					
0,6	0,0811	0,0070	8,59	6,53	
0,3	0,0325	0,0034	10,55	19,86	LOQ
0,15	nq	---	---	---	
PLASMA FELINO					
0,6	0,0795	0,0014	1,78	14,65	
0,3	0,0369	0,0019	4,91	6,08	LOQ
0,15	nq	---	---	---	

nq: no cuantificable

LOQ: límite de cuantificación

IX.III. ANEXO III

Criterios de Akaike y Schwartz para el análisis farmacocinético de la clindamicina en perros

Tabla AIII.1. Valores individuales resultantes del cálculo de los criterios de mínima parsimonia y correlación entre valores observados y estimados, para la elección del modelo de análisis compartimental, tras la administración endovenosa de clindamicina a perros.

Modelo	DIAGNÓSTICO	C	F	P	Q	R	T
Monocompartimental	Akaike	-4,20	-2,50	-4,29	-9,70	-22,68	-13,30
	Schwartz	-2,92	-1,22	-3,32	-8,42	-21,40	-12,17
	Correlación	0,94	0,97	0,89	0,95	0,97	0,96
Bicompartimental	Akaike	-20,00	-1,91	-8,36	-8,34	-22,59	-34,70
	Schwartz	-17,44	0,64	-6,42	-5,78	-20,03	-32,44
	Correlación	0,98	0,99	0,97	0,97	0,98	0,99

Tabla AIII.2. Valores individuales resultantes del cálculo de los criterios de mínima parsimonia y correlación entre valores observados y estimados para la elección del modelo de análisis compartimental, tras la administración oral en ayunas de clindamicina a perros.

Modelo	DIAGNÓSTICO	C	F	P	Q	R	T
Monocompartimental	Akaike	20,39	19,37	8,68	-10,13	8,96	-1,02
	Schwartz	22,08	20,57	10,13	-8,94	9,86	0,17
	Correlación	0,88	0,81	0,96	0,98	0,91	0,95
Bicompartimental	Akaike	87,62	23,60	12,75	-8,99	NA	-4,26
	Schwartz	90,44	25,59	15,17	-7,00	NA	-2,27
	Correlación	0,44	0,81	0,96	0,98	NA	0,97

NA: no se logró el ajuste

Tabla AIII.3 Valores individuales resultantes del cálculo de los criterios de mínima parsimonia para la elección del modelo de análisis compartimental, tras la administración oral con alimento de clindamicina a perros.

Modelo	DIAGNÓSTICO	C	F	P	Q	R	T
Monocompartimental	Akaike	9,09	1,21	-9,63	0,34	10,47	-9,21
	Schwartz	10,29	2,90	-10,46	2,03	12,17	-8,01
	Correlación	0,91	0,98	0,99	0,92	0,95	0,97
Bicompartimental	Akaike	10,00	5,15	NA	4,50	14,45	NA
	Schwartz	11,99	7,98	NA	7,32	17,27	NA
	Correlación	0,93	0,98	NA	0,92	0,94	NA

NA: no se logró el ajuste

Criterios de Akaike y Schwartz para el análisis farmacocinético de la clindamicina en gatos

Tabla AIII.4. Valores individuales resultantes del cálculo de los criterios de mínima parsimonia y correlación entre valores observados y estimados, para la elección del modelo de análisis compartimental, tras la administración endovenosa de clindamicina a gatos.

Modelo	DIAGNÓSTICO	F	G	H	I	J	K
Monocompartimental	Akaike	15,99	8,04	10,14	-5,85	0,17	3,06
	Schwartz	16,79	9,00	11,27	-4,88	0,56	4,19
	Correlación	0,90	0,97	0,98	0,99	0,96	0,98
Bicompartimental	Akaike	-4,16	9,89	4,90	-28,14	-2,10	6,16
	Schwartz	-2,57	11,83	7,16	-26,20	-1,31	8,42
	Correlación	0,99	0,98	0,99	0,99	0,98	0,99

Tabla AIII.5. Valores individuales resultantes del cálculo de los criterios de mínima parsimonia y correlación entre valores observados y estimados, para la elección del modelo de análisis compartimental, tras la administración oral en ayunas de clindamicina a gatos.

Modelo	DIAGNÓSTICO	F	G	H	I	J	K
Monocompartimental	Akaike	-9,13	17,97	13,84	2,69	11,64	-3,33
	Schwartz	-7,68	19,89	15,54	4,61	12,83	-1,87
	Correlación	0,98	0,94	0,93	0,96	0,92	0,96
Bicompartimental	Akaike	17,33	20,63	NA	15,76	NA	NA
	Schwartz	19,75	23,46	NA	18,59	NA	NA
	Correlación	0,95	0,85	NA	0,96	NA	NA

NA: no se logró el ajuste

Tabla AIII.6. Valores individuales resultantes del cálculo de los criterios de mínima parsimonia y correlación entre valores observados y estimados, para la elección del modelo de análisis compartimental, tras la administración oral con alimento de clindamicina a gatos.

Modelo	DIAGNÓSTICO	F	G	H	I	K
Monocompartimental	Akaike	14,26	16,59	6,22	12,32	3,09
	Schwartz	15,71	18,28	8,13	14,02	4,28
	Correlación	0,94	0,85	0,94	0,96	0,97
Bicompartimental	Akaike	17,33	20,63	NA	15,76	NA
	Schwartz	19,75	23,46	NA	18,59	NA
	Correlación	0,95	0,85	NA	0,96	NA

NA: no se logró el ajuste

IX.IV. ANEXO IV

Análisis no compartimental en perros y gatos

Se muestran a continuación los resultados del análisis no compartimental de las curvas de disposición de la clindamicina administrada por vía endovenosa, oral en ayuno y oral luego de recibir una ración de alimento a perros y gatos.

Tabla AIV.1. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa a perros, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos mediante análisis no compartimental.

Parámetro	Unidad	C	F	Q	P	R	T	Media	D.E.
N_Samples		14,00	13,00	12,00	14,00	13,00	13,00	13,17	0,75
Dose	mg	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00
Rsq		0,98	0,96	0,91	0,96	1,00	1,00	0,97	0,03
Rsq_adjusted		0,98	0,95	0,90	0,96	1,00	0,99	0,96	0,04
Corr_XY		-0,99	-0,98	-0,95	-0,98	-1,00	-1,00	-0,98	0,02
No_points_lambda_z		8,00	8,00	10,00	12,00	3,00	10,00	8,50	3,08
Lambda_z	1/h	0,20	0,26	0,22	0,21	0,20	0,26	0,23	0,03
Lambda_z_intercept		1,43	2,25	2,14	1,88	2,58	2,13	2,07	0,39
Lambda_z_lower	h	1,50	1,00	0,33	0,33	6,00	0,50	1,61	2,20
Lambda_z_upper	h	12,00	10,00	8,00	12,00	10,00	10,00	10,33	1,51
HL_Lambda_z	h	3,47	2,67	3,09	3,24	3,44	2,70	3,10	0,35
Span		3,03	3,37	2,48	3,60	1,16	3,52	2,86	0,93
Tmax	h	0,16	0,08	0,08	0,16	0,08	0,08	0,11	0,04
Cmax	ug/ml	8,45	11,05	13,38	8,57	12,70	12,43	11,10	2,14
Cmax_D	kg*ug/ml/mg	0,85	1,11	1,34	0,86	1,27	1,24	1,11	0,21
C0	ug/ml	7,90	12,03	16,13	8,33	12,83	14,40	11,94	3,28
Tlast	h	12,00	10,00	8,00	12,00	10,00	10,00	10,33	1,51
Clast	ug/ml	0,42	0,57	1,50	0,60	1,75	0,67	0,92	0,56
Clast_pred	ug/ml	0,38	0,71	1,41	0,51	1,75	0,65	0,90	0,55
AUClast	h*ug/ml	21,67	35,72	33,59	29,81	52,02	31,54	34,06	10,04
AUClast_D	h*kg*ug/ml/mg	2,17	3,57	3,36	2,98	5,20	3,15	3,41	1,00
AUCall	h*ug/ml	21,67	35,72	33,59	29,81	52,02	31,54	34,06	10,04
AUCINF_obs	h*ug/ml	23,77	37,92	40,28	32,61	60,70	34,15	38,24	12,38
AUCINF_D_obs	h*kg*ug/ml/mg	2,38	3,79	4,03	3,26	6,07	3,42	3,82	1,24

Continúa Tabla AIV.1

AUC_%Extrap_obs	%	8,85	5,80	16,60	8,61	14,30	7,64	10,30	4,20
AUC_%Back_Ext_obs	%	2,66	2,43	2,93	2,04	1,68	3,14	2,48	0,55
Vz_obs	l/kg	2,11	1,02	1,11	1,43	0,82	1,14	1,27	0,46
CI_obs	l/h/kg	0,42	0,26	0,25	0,31	0,16	0,29	0,28	0,84
AUCINF_pred	h*ug/ml	23,56	38,45	39,88	32,17	60,73	34,07	38,14	12,47
AUCINF_D_pred	h*kg*ug/ml/mg	2,36	3,85	3,99	3,22	6,07	3,41	3,81	1,25
AUC_%Extrap_pred	%	8,06	7,10	15,78	7,34	14,33	7,41	10,00	3,95
AUC_%Back_Ext_pred	%	2,68	2,40	2,96	2,07	1,68	3,15	2,49	0,55
Vz_pred	l/kg	2,13	1,00	1,12	1,45	0,82	1,14	1,28	0,46
CI_pred	l/h/kg	0,42	0,26	0,25	0,31	0,16	0,29	0,28	0,85
AUMClast	h*h*ug/ml	71,59	110,16	91,69	104,73	183,09	92,06	108,89	38,72
AUMCINF_obs	h*h*ug/ml	107,36	140,62	174,99	151,54	312,94	128,33	169,30	73,92
AUMC_%Extrap_obs	%	33,32	21,66	47,60	30,89	41,49	28,26	33,87	9,34
AUMCINF_pred	h*h*ug/ml	103,89	148,00	170,11	144,13	313,28	127,13	167,76	74,65
AUMC_%Extrap_pred	%	31,09	25,57	46,10	27,34	41,56	27,59	33,21	8,54
MRTlast	h	3,30	3,08	2,73	3,51	3,52	2,92	3,18	0,32
MRTINF_obs	h	4,52	3,71	4,34	4,65	5,16	3,76	4,35	0,55
MRTINF_pred	h	4,41	3,85	4,27	4,48	5,16	3,73	4,32	0,51
Vss_obs	l/kg	1,90	0,98	1,08	1,42	0,85	1,10	1,22	0,38
Vss_pred	l/kg	1,87	1,00	1,07	1,39	0,85	1,10	1,21	0,37

Tabla AIV.2. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina ($8.3 \pm 1,1$ mg/kg) por vía oral en ayunas a perros, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos mediante análisis no compartimental.

Parámetro	Unidad	C	F	Q	P	R	T	Media	D.E.
N_Samples		12,00	11,00	11,00	11,00	10,00	11,00	11,00	0,63
Dose	mg	9,09	9,61	7,58	8,40	6,57	8,33	8,26	1,08
Rsqr		0,88	0,95	0,89	0,95	0,98	0,94	0,93	0,04
Rsqr_adjusted		0,86	0,94	0,86	0,94	0,97	0,93	0,92	0,04
Corr_XY		-0,94	-0,98	-0,94	-0,98	-0,99	-0,97	-0,97	0,02
No_points_lambda_z		9,00	8,00	6,00	6,00	6,00	8,00	7,17	1,33
Lambda_z	1/h	0,24	0,28	0,21	0,29	0,27	0,29	0,26	0,03
Lambda_z_intercept		1,18	1,74	1,95	1,57	1,71	1,39	1,59	0,28
Lambda_z_lower	h	0,75	1,00	1,00	2,00	2,00	0,50	1,21	0,64

Continúa Tabla AIV.2

Lambda_z_upper	h	10,00	10,00	8,00	10,00	10,00	6,00	9,00	1,67
HL_Lambda_z	h	2,85	2,51	3,34	2,36	2,59	2,37	2,67	0,37
Span		3,24	3,59	2,10	3,38	3,08	2,32	2,95	0,60
Tlag	h	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tmax	h	0,50	0,75	0,75	1,50	1,00	0,33	0,81	0,41
Cmax	ug/ml	3,59	4,62	5,56	3,70	3,78	3,39	4,11	0,83
Cmax_D	kg*ug/ml/mg	0,39	0,48	0,73	0,44	0,58	0,41	0,51	0,13
Tlast	h	10,00	10,00	8,00	10,00	10,00	6,00	9,00	1,67
Clast	ug/ml	0,47	0,34	1,04	0,33	0,34	0,61	0,52	0,28
Clast_pred	ug/ml	0,29	0,36	1,34	0,26	0,38	0,70	0,55	0,42
AUClast	h*ug/ml	11,17	17,52	26,90	14,07	15,74	11,05	16,08	5,88
AUClast_D	h*kg*ug/ml/mg	1,23	1,82	3,55	1,67	2,40	1,33	2,00	0,86
AUCall	h*ug/ml	11,17	17,52	26,90	14,07	15,74	11,05	16,08	5,88
AUCINF_obs	h*ug/ml	13,10	18,76	31,91	15,19	17,01	13,14	18,19	7,08
AUCINF_D_obs	h*kg*ug/ml/mg	1,44	1,95	4,21	1,81	2,59	1,58	2,26	1,03
AUC_%Extrap_obs	%	14,77	6,56	15,70	7,41	7,48	15,90	11,30	4,58
Vz_F_obs	l/kg	2,86	1,85	1,14	1,89	1,44	2,17	1,89	0,59
Cl_F_obs	l/h/kg	0,69	0,51	0,24	0,55	0,39	0,63	0,50	0,17
AUCINF_pred	h*ug/ml	12,34	18,83	33,35	14,95	17,16	13,44	18,34	7,73
AUCINF_D_pred	h*kg*ug/ml/mg	1,36	1,96	4,40	1,78	2,61	1,61	2,29	1,12
AUC_%Extrap_pred	%	9,53	6,91	19,34	5,87	8,29	17,76	11,28	5,79
Vz_F_pred	l/kg	3,03	1,85	1,09	1,92	1,43	2,12	1,91	0,66
Cl_F_pred	l/h/kg	0,74	0,51	0,23	0,56	0,38	0,62	0,51	0,18
AUMClast	h*h*ug/ml	34,78	60,65	86,88	43,04	57,34	25,64	51,39	21,86
AUMCINF_obs	h*h*ug/ml	62,10	77,41	151,11	58,13	74,82	45,32	78,15	37,60
AUMC_%Extrap_obs	%	44,00	21,65	42,50	25,97	23,36	43,43	33,49	10,86
AUMCINF_pred	h*h*ug/ml	51,39	78,37	169,58	54,80	76,90	48,13	79,86	45,84
AUMC_%Extrap_pred	%	32,32	22,62	48,76	21,46	25,43	46,73	32,89	12,13
MRTlast	h	3,11	3,46	3,23	3,06	3,64	2,32	3,14	0,46
MRTINF_obs	h	4,74	4,13	4,74	3,83	4,40	3,45	4,21	0,51
MRTINF_pred	h	4,16	4,16	5,08	3,67	4,48	3,58	4,19	0,55
MAT (calculado)	h	-0,19	0,38	0,50	-0,45	0,12	-0,60	-0,04	0,45

Tabla AIV.3. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina ($8.3 \pm 1,1$ mg/kg) por vía oral a perros luego de recibir una ración de alimento, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos mediante análisis no compartimental.

Parameter	Units	C	F	Q	R	T	Media	D.E.
N_Samples		11,00	13,00	9,00	13,00	11,00	12,20	1,10
Dose	mg	9,09	9,61	7,58	6,57	8,33	8,40	1,15
Rsq		0,85	0,98	0,96	0,95	0,98	0,95	0,05
Rsq_adjusted		0,82	0,97	0,94	0,95	0,98	0,94	0,07
Corr_XY		-0,92	-0,99	-0,98	-0,98	-0,99	-0,97	0,03
No_points_lambda_z		6,00	8,00	4,00	9,00	8,00	8,20	1,48
Lambda_z	1/h	0,23	0,23	0,24	0,24	0,40	0,26	0,08
Lambda_z_intercept		1,10	1,67	2,86	1,62	1,40	1,40	0,24
Lambda_z_lower	h	1,00	1,00	6,00	1,00	0,50	0,80	0,27
Lambda_z_upper	h	10,00	10,00	12,00	12,00	6,00	9,60	2,19
HL_Lambda_z	h	2,97	3,05	2,90	2,84	1,74	2,82	0,65
Span		3,03	2,95	2,07	3,88	3,17	3,15	0,44
Tlag	h	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tmax	h	0,50	0,50	6,00	0,50	0,50	0,55	0,11
Cmax	ug/ml	4,09	4,78	3,73	4,11	3,20	3,86	0,70
Cmax_D	kg*ug/ml/mg	0,45	0,50	0,49	0,63	0,38	0,47	0,10
Tlast	h	10,00	10,00	12,00	12,00	6,00	9,60	2,19
Clast	ug/ml	0,31	0,63	0,89	0,35	0,33	0,42	0,14
Clast_pred	ug/ml	0,29	0,55	0,99	0,27	0,37	0,39	0,12
AUClast	h*ug/ml	12,11	19,94	23,88	18,71	8,77	14,76	4,62
AUClast_D	h*kg*ug/ml/mg	1,33	2,07	3,15	2,85	1,05	1,80	0,70
AUCall	h*ug/ml	12,11	19,94	23,88	18,71	8,77	14,76	4,62
AUCINF_obs	h*ug/ml	13,44	22,71	27,60	20,14	9,60	16,52	5,22
AUCINF_D_obs	h*kg*ug/ml/mg	1,48	2,36	3,64	3,07	1,15	2,01	0,75
AUC_%Extrap_obs	%	9,89	12,22	13,49	7,11	8,62	10,51	3,01
Vz_F_obs	l/kg	2899,21	1864,10	1149,23	1335,51	2174,64	2159,58	601,42
Cl_F_obs	l/h/kg	0,68	0,42	0,27	0,33	0,87	559,21	215,12
AUCINF_pred	h*ug/ml	13,36	22,35	28,02	19,81	9,70	16,37	5,03
AUCINF_D_pred	h*kg*ug/ml/mg	1,47	2,33	3,70	3,02	1,16	1,99	0,73
AUC_%Extrap_pred	%	9,39	10,79	14,77	5,58	9,58	9,89	3,07
Vz_F_pred	l/kg	2915,35	1894,42	1132,29	1357,61	2151,61	2172,29	598,02
Cl_F_pred	l/h/kg	0,68	0,43	0,27	0,33	0,86	561,30	209,58
AUMClast	h*h*ug/ml	35,20	66,23	158,45	65,93	18,19	47,27	20,69

Continúa Tabla AIV.3

AUMCINF_obs	h*h*ug/ml	54,18	106,22	218,74	88,99	25,22	72,48	32,46
AUMC_%Extrap_obs	%	35,03	37,64	27,56	25,92	27,89	33,72	6,77
AUMCINF_pred	h*h*ug/ml	53,11	100,98	225,42	83,71	26,09	69,98	30,07
AUMC_%Extrap_pred	%	33,73	34,41	29,71	21,25	30,30	32,13	7,20
MRTlast	h	2,91	3,32	6,64	3,52	2,07	3,08	0,62
MRTINF_obs	h	4,03	4,68	7,92	4,42	2,63	4,20	0,98
MRTINF_pred	h	3,98	4,52	8,05	4,23	2,69	4,12	0,92
MAT (calculado)	h	-0,40	0,24	3,91	0,05	0,00	-0,19	0,43

Tabla AIV.4. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (10 mg/kg) por vía endovenosa a gatos, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos mediante análisis no compartimental.

Parámetro	Unidad	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
N_Samples		11,00	12,00	13,00	12,00	9,00	13,00	11,67	1,51
Dose	mg	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00
Rsqr		0,98	0,94	0,96	0,99	0,96	0,94	0,96	0,02
Rsqr_adjusted		0,97	0,93	0,95	0,99	0,95	0,93	0,95	0,02
Corr_XY		-0,99	-0,97	-0,98	-1,00	-0,98	-0,97	-0,98	0,01
No_points_lambda_z		7,00	8,00	9,00	8,00	7,00	9,00	8,00	0,89
Lambda_z	1/h	0,35	0,36	0,24	0,32	0,40	0,22	0,31	0,07
Lambda_z_intercept		1,84	1,92	2,12	1,98	1,55	2,03	1,91	0,20
Lambda_z_lower	h	0,75	0,75	1,00	0,75	0,75	1,00	0,83	0,13
Lambda_z_upper	h	6,00	8,00	12,00	8,00	6,00	12,00	8,67	2,73
HL_Lambda_z	h	2,00	1,92	2,90	2,17	1,73	3,16	2,31	0,58
Span		2,62	3,78	3,79	3,34	3,04	3,48	3,34	0,45
Tmax	h	0,08	0,08	0,16	0,08	0,33	0,16	0,15	0,10
Cmax	ug/ml	11,71	8,22	11,81	9,24	5,77	8,06	9,14	2,33
Cmax_D	kg*ug/ml/mg	1,17	0,82	1,18	0,92	0,58	0,81	0,91	0,23
C0	ug/ml	15,16	8,84	13,46	10,15	6,81	8,06	10,41	3,25
Tlast	h	6,00	8,00	12,00	8,00	6,00	12,00	8,67	2,73
Clast	ug/ml	0,81	0,37	0,56	0,55	0,42	0,62	0,55	0,16
Clast_pred	ug/ml	0,79	0,38	0,47	0,56	0,43	0,55	0,53	0,14
AUClast	h*ug/ml	17,33	19,29	34,58	21,86	11,96	33,85	23,15	9,17

Continúa Tabla AIV.4

AUClast_D	h*kg*ug/ml/mg	1,73	1,93	3,46	2,19	1,20	3,39	2,31	0,92
AUCall	h*ug/ml	17,33	19,29	34,58	21,86	11,96	33,85	23,15	9,17
AUCINF_obs	h*ug/ml	19,68	20,31	36,91	23,59	13,01	36,67	25,03	9,74
AUCINF_D_obs	h*kg*ug/ml/mg	1,97	2,03	3,69	2,36	1,30	3,67	2,50	0,97
AUC_%Extrap_obs	%	11,93	5,01	6,31	7,31	8,09	7,68	7,72	2,34
AUC_%Back_Ext_obs	%	5,46	3,36	5,48	3,29	15,96	3,52	6,18	4,90
Vz_obs	l/kg	1,47	1,36	1,13	1,33	1,92	1,24	1,41	0,27
Cl_obs	l/h/kg	0,51	0,49	0,27	0,42	0,77	0,27	0,46	0,18
AUCINF_pred	h*ug/ml	19,60	20,33	36,55	23,63	13,02	36,35	24,91	9,58
AUCINF_D_pred	h*kg*ug/ml/mg	1,96	2,03	3,65	2,36	1,30	3,63	2,49	0,96
AUC_%Extrap_pred	%	11,57	5,12	5,39	7,46	8,17	6,87	7,43	2,34
AUC_%Back_Ext_pred	%	5,49	3,36	5,53	3,28	15,95	3,55	6,19	4,89
Vz_pred	l/kg	1,47	1,36	1,14	1,33	1,92	1,25	1,41	0,27
Cl_pred	l/h/kg	0,51	0,49	0,27	0,42	0,77	0,28	0,46	0,18
AUMClast	h*h*ug/ml	31,82	42,38	107,07	51,29	20,76	120,18	62,25	41,30
AUMCINF_obs	h*h*ug/ml	52,68	53,32	144,78	70,49	29,69	166,79	86,29	55,81
AUMC_%Extrap_obs	%	39,61	20,53	26,05	27,23	30,10	27,95	28,58	6,28
AUMCINF_pred	h*h*ug/ml	51,96	53,58	138,98	70,92	29,78	161,50	84,45	53,08
AUMC_%Extrap_pred	%	38,76	20,91	22,96	27,68	30,32	25,58	27,70	6,36
MRTlast	h	1,84	2,20	3,10	2,35	1,74	3,55	2,46	0,72
MRTINF_obs	h	2,68	2,63	3,92	2,99	2,28	4,55	3,17	0,87
MRTINF_pred	h	2,65	2,64	3,80	3,00	2,29	4,44	3,14	0,82
Vss_obs	l/kg	1,36	1,29	1,06	1,27	1,75	1,24	1,33	0,23
Vss_pred	l/kg	1,35	1,30	1,04	1,27	1,76	1,22	1,32	0,24

Tabla AIV.5. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (15 mg/kg) por vía oral en ayunas a gatos, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos mediante análisis no compartimental.

Parámetro	Unidad	F	G	H	I	J	K	Media	D.E.
N_Samples		12,00	14,00	13,00	14,00	11,00	12,00	12,67	1,21
Dose	mg	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	0,00
Rsq		0,97	0,86	0,94	0,98	0,90	0,98	0,94	0,05
Rsq_adjusted		0,96	0,83	0,93	0,97	0,88	0,98	0,92	0,06
Corr_XY		-0,98	-0,93	-0,97	-0,99	-0,95	-0,99	-0,97	0,03
No_points_lambda_z		7,00	7,00	8,00	9,00	7,00	8,00	7,67	0,82
Lambda_z	1/h	0,11	0,24	0,29	0,16	0,42	0,28	0,25	0,11
Lambda_z_intercept		1,81	2,25	1,59	1,88	1,91	1,77	1,87	0,22
Lambda_z_lower	h	1,50	2,00	1,00	1,00	0,75	0,75	1,17	0,49
Lambda_z_upper	h	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	0,00
HL_Lambda_z	h	6,30	2,88	2,43	4,34	1,64	2,51	3,35	1,70
Span		1,67	3,47	4,53	2,53	6,85	4,48	3,92	1,82
Tlag	h	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tmax	h	1,00	0,50	1,00	0,50	1,00	0,75	0,79	0,25
Cmax	ug/ml	6,23	7,26	4,76	7,12	6,54	5,12	6,17	1,03
Cmax_D	kg*ug/ml/mg	0,42	0,48	0,32	0,47	0,44	0,34	0,41	0,07
Tlast	h	12,00	12,00	10,00	12,00	6,00	8,00	10,00	2,53
Clast	ug/ml	1,54	0,38	0,35	1,05	0,62	0,75	0,78	0,45
Clast_pred	ug/ml	1,63	0,53	0,28	0,96	0,54	0,64	0,76	0,48
AUClast	h*ug/ml	39,87	35,55	15,06	34,20	14,06	17,15	25,98	11,76
AUClast_D	h*kg*ug/ml/mg	2,66	2,37	1,00	2,28	0,94	1,14	1,73	0,78
AUCall	h*ug/ml	39,87	35,55	15,06	34,20	14,06	17,15	25,98	11,76
AUCINF_obs	h*ug/ml	53,84	37,14	16,28	40,78	15,53	19,85	30,57	15,71
AUCINF_D_obs	h*kg*ug/ml/mg	3,59	2,48	1,09	2,72	1,04	1,32	2,04	1,05
AUC_%Extrap_obs	%	25,94	4,27	7,49	16,12	9,52	13,60	12,82	7,69
Vz_F_obs	l/kg	2,53	1,68	3,23	2,30	2,29	2,74	2,46	0,52
Cl_F_obs	l/h/kg	0,28	0,40	0,92	0,37	0,97	0,76	0,62	0,30
AUCINF_pred	h*ug/ml	54,69	37,74	16,06	40,24	15,33	19,48	30,59	16,08
AUCINF_D_pred	h*kg*ug/ml/mg	3,65	2,52	1,07	2,68	1,02	1,30	2,04	1,07
AUC_%Extrap_pred	%	27,09	5,79	6,20	15,00	8,31	11,93	12,39	8,02
Vz_F_pred	l/kg	2,49	1,65	3,27	2,34	2,32	2,79	2,48	0,54
Cl_F_pred	l/h/kg	0,27	0,40	0,93	0,37	0,98	0,77	0,62	0,31
AUMClast	h*h*ug/ml	190,58	146,38	43,26	143,14	26,12	46,90	99,40	68,87
AUMCINF_obs	h*h*ug/ml	485,09	171,97	59,72	263,24	38,50	78,29	182,80	170,21

Continúa Tabla AIV.5

AUMC_%Extrap_obs	%	60,71	14,88	27,57	45,62	32,15	40,09	36,84	15,80
AUMCINF_pred	h*h*ug/ml	503,11	181,70	56,70	253,35	36,78	73,91	184,26	177,00
AUMC_%Extrap_pred	%	62,12	19,44	23,71	43,50	28,99	36,54	35,72	15,57
MRTlast	h	4,78	4,12	2,87	4,18	1,86	2,73	3,42	1,11
MRTINF_obs	h	9,01	4,63	3,67	6,46	2,48	3,94	5,03	2,35
MRTINF_pred	h	9,20	4,81	3,53	6,30	2,40	3,79	5,01	2,44
MAT (calculado)	h	2,94	1,92	-0,23	1,84	0,12	-0,82	0,96	1,48

Tabla AIV.6. Parámetros farmacocinéticos calculados tras la administración de la clindamicina (15 mg/kg) por vía oral a gatos luego de recibir una ración de alimento, valores individuales, media y desvío estándar (D.E.), obtenidos mediante análisis no compartimental.

Parameter	Units	F	G	H	I	K	Media	D.E.
N_Samples		12,00	13,00	14,00	13,00	11,00	12,60	1,14
Dose	mg	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	0,00
Rsq		0,99	0,99	0,85	0,99	0,93	0,95	0,06
Rsq_adjusted		0,99	0,98	0,82	0,99	0,91	0,94	0,08
Corr_XY		-1,00	-0,99	-0,92	-1,00	-0,96	-0,97	0,03
No_points_lambda_z		7,00	7,00	7,00	8,00	7,00	7,20	0,45
Lambda_z	1/h	0,22	0,16	0,15	0,27	0,25	0,21	0,05
Lambda_z_intercept		1,94	2,13	1,97	1,92	1,75	1,94	0,14
Lambda_z_lower	h	1,50	2,00	2,00	1,00	1,50	1,60	0,42
Lambda_z_upper	h	10,00	12,00	12,00	10,00	10,00	10,80	1,10
HL_Lambda_z	h	3,15	4,42	4,58	2,54	2,77	3,49	0,95
Span		2,69	2,26	2,18	3,55	3,06	2,75	0,57
Tlag	h	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Tmax	h	1,00	1,50	0,50	0,50	0,50	0,80	0,45
Cmax	ug/ml	6,73	6,19	6,03	6,31	5,48	6,15	0,45
Cmax_D	kg*ug/ml/mg	0,45	0,41	0,40	0,42	0,37	0,41	0,03
Tlast	h	10,00	12,00	12,00	10,00	10,00	10,80	1,10
Clast	ug/ml	0,77	1,31	0,87	0,41	0,39	0,75	0,38
Clast_pred	ug/ml	0,77	1,28	1,17	0,44	0,47	0,83	0,39
AUClast	h*ug/ml	26,16	40,53	39,43	22,72	20,99	29,97	9,34

Continúa Tabla AIV.6

AUClast_D	h*kg*ug/ml/mg	1,74	2,70	2,63	1,51	1,40	2,00	0,62
AUCall	h*ug/ml	26,16	40,53	39,43	22,72	20,99	29,97	9,34
AUCINF_obs	h*ug/ml	29,68	48,90	45,21	24,22	22,54	34,11	12,18
AUCINF_D_obs	h*kg*ug/ml/mg	1,98	3,26	3,01	1,61	1,50	2,27	0,81
AUC_%Extrap_obs	%	11,85	17,11	12,77	6,18	6,89	10,96	4,51
Vz_F_obs	l/kg	2,30	1,96	2,19	2,27	2,66	2,28	0,26
Cl_F_obs	l/h/kg	0,51	0,31	0,33	0,62	0,67	0,49	0,16
AUCINF_pred	h*ug/ml	29,68	48,68	47,14	24,35	22,87	34,54	12,47
AUCINF_D_pred	h*kg*ug/ml/mg	1,98	3,25	3,14	1,62	1,52	2,30	0,83
AUC_%Extrap_pred	%	11,86	16,74	16,34	6,69	8,24	11,97	4,58
Vz_F_pred	l/kg	2,30	1,96	2,10	2,26	2,62	2,25	0,25
Cl_F_pred	l/h/kg	0,51	0,31	0,32	0,62	0,66	0,48	0,16
AUMClast	h*h*ug/ml	91,97	187,48	184,22	70,67	69,95	120,86	60,00
AUMCINF_obs	h*h*ug/ml	143,16	341,25	291,63	91,11	91,71	191,77	117,07
AUMC_%Extrap_obs	%	35,76	45,06	36,83	22,44	23,72	32,76	9,55
AUMCINF_pred	h*h*ug/ml	143,19	337,19	327,54	92,91	96,33	199,43	123,01
AUMC_%Extrap_pred	%	35,77	44,40	43,76	23,94	27,38	35,05	9,30
MRTlast	h	3,52	4,63	4,67	3,11	3,33	3,85	0,74
MRTINF_obs	h	4,82	6,98	6,45	3,76	4,07	5,22	1,43
MRTINF_pred	h	4,82	6,93	6,95	3,82	4,21	5,35	1,50
MAT (calculado)	h	1,68	2,43	1,58	0,76	-0,22	1,25	1,01