

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **TESE** será disponibilizado somente a partir de 27/10/2023.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara
Programa de Pós-graduação em
Ciências Farmacêuticas



**AVALIAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DO LEVOFLOXACINO EM
EQUINOS E DO PERFIL ANTIBACTERIANO PARA CONSTRUÇÃO DO REGIME
POSOLÓGICO**

Evelin dos Santos Martins Teodoro

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Rosangela Gonçalves Peccinini

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni

ARARAQUARA
2021

T386a

Martins Teodoro, Evelin dos Santos.

Avaliação da farmacocinética do levofloxacino em equinos e do perfil antibacteriano para construção do regime posológico / Evelin dos Santos Martins Teodoro. – Araraquara: [S. n.], 2021.
90 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Rosângela Gonçalves Peccinini.

Coorientador: Carlos Alberto Hussni.

1. Antimicrobianos. 2. Fluoroquinolonas. 3. Levofloxacino. 4. Veterinária. 5. Equinos. 6. Saúde única. 7. CLAE. 8. Farmacocinética. 9. Farmacodinâmica. 10. Regime posológico. I. Peccinini, Rosângela Gonçalves, orient. II. Hussni, Carlos Alberto, coorient. III. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6

Esta ficha não pode ser modificada

EVELIN DOS SANTOS MARTINS TEODORO

**AVALIAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DO LEVOFLOXACINO EM EQUINOS E
DO PERFIL ANTIBACTERIANO PARA CONSTRUÇÃO DO REGIME
POSOLÓGICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Rosângela Gonçalves Peccinini

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni

ARARAQUARA
2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: AVALIAÇÃO DA FARMACOCINÉTICA DO LEVOFLOXACINO EM EQUINOS E DO PERFIL ANTIBACTERIANO PARA CONSTRUÇÃO DO REGIME POSOLÓGICO

AUTORA: EVELIN DOS SANTOS MARTINS TEODORO

ORIENTADORA: ROSANGELA GONCALVES PECCININI

COORIENTADOR: CARLOS ALBERTO HUSSNI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ROSANGELA GONCALVES PECCININI (Participação Virtual)
Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP Araraquara

Prof. Dr. CELSO ANTONIO RODRIGUES (Participação Virtual)
Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP

Dra. JULIANA DE MOURA ALONSO (Participação Virtual)
Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP

Prof. Dr. MICHEL LEANDRO DE CAMPOS (Participação Virtual)
Instituto de Ciências da Saúde / Universidade Federal do Mato Grosso - Campus Sinop

Profa. Dra. TAIS MARIA BAUAB (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Araraquara, 27 de outubro de 2021

RESUMO

O levofloxacin (LEV) é um antimicrobiano da classe fluoroquinolona, que pode ser eficaz em diversos tratamentos de infecções em equinos envolvendo bactérias Gram-negativas e algumas Gram-positivas. Entretanto, é comum na medicina veterinária, extrapolação empírica dos regimes posológicos humanos, o que pode levar ao uso inadequado do medicamento e contribuir para o desenvolvimento de resistência bacteriana. Com o objetivo de projetar um regime posológico racional, o LEV foi estudado em cavalos (n=6) após administração intravenosa e oral de uma dose única de 4 mg/kg. As concentrações do fármaco no plasma foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplado a um detector de espectrometria de massa. Através de análise compartimental, foram determinados os parâmetros farmacocinéticos. A concentração necessária para inibir 90% dos isolados bacterianos (CIM₉₀) foi avaliada para cepas padrão de bactérias comuns em infecções equinas. Os valores dos índices de eficácia antimicrobiana (ASC/CIM, C_{MÁX}/CIM, T>CIM) foram calculados e usados para determinar regimes de posológicos racionais para bactérias alvo. O *clearance* do LEV foi $6,86 \pm 2,09$ mL/min/kg e a meia-vida terminal de $3,84 \pm 0,52$ horas. A biodisponibilidade absoluta do LEV após administração oral foi de $73 \pm 19\%$. A CIM₉₀ foi de 0,016 µg/mL para *E. coli*, 0,25 µg/mL para *S. aureus* e *Salmonella* spp. e 0,625 µg/mL para *P. aeruginosa*. Considerando os valores dos pontos de corte dos índices de eficácia, um regime de dosagem de LEV de 4 mg/kg/dia é apropriado para tratar infecções por microrganismos Gram-negativos com CIM₉₀ $\leq 0,08$ µg/mL pela via oral e com CIM₉₀ $\leq 0,11$ µg/mL pela via intravenosa, assim como, tratar infecções por microrganismos Gram-positivos com CIM₉₀ $\leq 0,21$ µg/mL e 0,29 µg/mL pela via oral e intravenosa, respectivamente. Porém, é necessário um regime posológico com doses de 8,95 mg/kg/dia (via oral) e 12,26 mg/kg/dia (via intravenosa) para *S. aureus* e de 22,38 mg/kg/dia (via oral) e 30,66 mg/kg/dia (via intravenosa) para *P. aeruginosa*. Concluímos que, devido ao seu amplo espectro de atividade e comportamento farmacocinético favorável, o LEV tem potencial para tratar uma ampla variedade de infecções bacterianas em equinos.

Palavra-chave: Antimicrobianos, fluoroquinolonas, levofloxacino, veterinária, equinos, saúde única, CLAE, farmacocinética, farmacodinâmica, regime posológico.

ABSTRACT

Levofloxacin (LEV) is a fluoroquinolone antimicrobial, which can be effective in several treatments of Gram-negative and some Gram-positive bacterial infections in horses. However, empirical extrapolation of human dosage regimen is common in veterinary medicine, which might lead to inappropriate use of the drug and contribute to the development of bacterial resistance. In order to design a rational dosage regimen, LEV was studied in horses (n=6) after intravenous and oral administration of a single dose of 4 mg/kg. Drug concentrations in plasma were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) – tandem mass spectrometry detection method. The pharmacokinetic data were analyzed by a compartmental analysis. The minimum inhibitory concentration required to inhibit 90% of the bacteria (MIC₉₀) were assessed for standard strains bacteria common in equine infectious. The values of the antimicrobial efficacy indices (ASC/CIM, C_{MÁX}/CIM, T>CIM) were calculated. These data were used to determine rational dosage regimen for target bacteria. The clearance of LEV was 6.86 ± 2.09 mL/min/kg and the terminal half-life was 3,84 ± 0,52 hours. The absolute bioavailability of LEV after oral administration was 73 ± 19%. The CIM₉₀ was 0.016 µg/mL for *E. coli*, 0.25 µg/mL for *S. aureus* and *Salmonella* spp. and 0.625 µg/mL for *P. aeruginosa*. Considering the breakpoints values of the efficacy indices, a LEV dosage regimen of 4 mg/kg/day is appropriate to treat infections by Gram-negative microorganisms with MIC₉₀ ≤0.08 µg/mL by oral administration and with CIM₉₀ ≤0.11 µg/mL by intravenous administration, as well as, treating infections by Gram-positive microorganisms with MIC₉₀ ≤0.21 µg/mL and 0.29 µg/mL by intravenous and oral administration, respectively. However, a dosage regimen with doses of 8.95 mg/kg/day (orally) and 12.26 mg/kg/day (intravenously) for *S. aureus* and 22.38 mg/kg/day (orally) and 30.66 mg/kg/day (intravenously) for *P. aeruginosa*. We concluded that, due to its broad spectrum of activity and favorable pharmacokinetic behavior, LEV has the potential to treat a wide variety of bacterial infections in horses.

Key words: Antimicrobials, fluoroquinolones, levofloxacin, veterinary, equine, One Health, liquid chromatography, HPLC, pharmacokinetics, pharmacodynamics, dosage regimen.

SUMÁRIO

1	Introdução	18
2	Fundamentação Teórica	Erro! Indicador não definido.
2.1	Farmacologia dos antimicrobianos	Erro! Indicador não definido.
2.1.1	Farmacocinética	Erro! Indicador não definido.
2.1.2	Farmacodinâmica	Erro! Indicador não definido.
2.1.3	Modelo Farmacocinético-Farmacodinâmico (PK-PD)	Erro!
	Indicador não definido.	
2.2	Levofloxacino	Erro! Indicador não definido.
2.2.1	Características físico-químicas	Erro! Indicador não definido.
2.2.2	Indicação terapêutica e posologia	Erro! Indicador não definido.
2.2.3	Efeitos adversos	Erro! Indicador não definido.
2.2.4	Mecanismo de ação, efeito pós-antimicrobiano e resistência....	Erro!
	Indicador não definido.	
2.2.5	Farmacocinética do LEV em humanos	Erro! Indicador não definido.
2.2.6	Farmacocinética do LEV em animais	Erro! Indicador não definido.
2.2.7	Farmacodinâmica do LEV e seu uso na veterinária	Erro! Indicador não definido.
2.2.8	Farmacocinética-Farmacodinâmica do LEV	Erro! Indicador não definido.
3	Objetivos	Erro! Indicador não definido.
3.1	Objetivo geral	Erro! Indicador não definido.
3.2	Objetivos específicos	Erro! Indicador não definido.
4	Material e Métodos	Erro! Indicador não definido.
4.1	Soluções padrões, solventes e reagentes	Erro! Indicador não definido.
4.2	Equipamentos	Erro! Indicador não definido.

4.3	Correlatos.....	Erro! Indicador não definido.
4.4	Softwares	Erro! Indicador não definido.
4.5	Desenvolvimento do método bioanalítico.	Erro! Indicador não definido.
4.5.1	Sistema Cromatográfico	Erro! Indicador não definido.
4.5.2	Preparo da amostra	Erro! Indicador não definido.
4.6	Validação do método bioanalítico.....	Erro! Indicador não definido.
4.6.1	Seletividade	Erro! Indicador não definido.
4.6.2	Sensibilidade	Erro! Indicador não definido.
4.6.3	Efeito residual	Erro! Indicador não definido.
4.6.5	Curva de calibração (Linearidade)	Erro! Indicador não definido.
4.6.6	Precisão e Exatidão	Erro! Indicador não definido.
4.6.7	Recuperação	Erro! Indicador não definido.
4.6.8	Estabilidade de Armazenamento	Erro! Indicador não definido.
4.7	Protocolo Clínico	Erro! Indicador não definido.
4.7.1	Modelo Animal	Erro! Indicador não definido.
4.7.2	Desenho do estudo.....	Erro! Indicador não definido.
4.7.3	Administração dos fármacos.....	Erro! Indicador não definido.
4.7.4	Coleta de sangue.....	Erro! Indicador não definido.
4.7.5	Avaliação clínica	Erro! Indicador não definido.
4.8	Análise Farmacocinética	Erro! Indicador não definido.
4.9	Avaliação da atividade antibacteriana	Erro! Indicador não definido.
4.9.1	Microrganismos	Erro! Indicador não definido.
4.10	Modelo Farmacocinético-Farmacodinâmico (PK-PD)	Erro! Indicador não definido.
4.11	Construção do regime posológico	Erro! Indicador não definido.
4.12	Análise Estatística	Erro! Indicador não definido.
5	Resultados e Discussão.....	Erro! Indicador não definido.

5.1 Validação de método bioanalítico em plasma de equinos **Erro! Indicador não definido.**

5.1.1 Seletividade **Erro! Indicador não definido.**

5.1.2 Sensibilidade **Erro! Indicador não definido.**

5.1.3 Efeito residual **Erro! Indicador não definido.**

5.1.4 Curva de calibração **Erro! Indicador não definido.**

5.1.4 Precisão e exatidão **Erro! Indicador não definido.**

5.1.5 Recuperação **Erro! Indicador não definido.**

5.1.6 Estabilidade de armazenamento **Erro! Indicador não definido.**

5.2 Avaliação Clínica..... **Erro! Indicador não definido.**

5.3 Análise Farmacocinética (PK) **Erro! Indicador não definido.**

5.3.1 Plasma..... **Erro! Indicador não definido.**

5.4 Análise Farmacodinâmica (PD)..... **Erro! Indicador não definido.**

5.4.1 Determinação da CIM e CBM **Erro! Indicador não definido.**

5.5 Farmacocinética e farmacodinâmica (PK-PD) **Erro! Indicador não definido.**

5.6 Construção do Regime Posológico **Erro! Indicador não definido.**

6 Considerações finais..... **Erro! Indicador não definido.**

6.1 Conclusão20

Referências.....21

ANEXO I **Erro! Indicador não definido.**

ANEXO II **Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática (A) e representação gráfica do decaimento das concentrações (B) no modelo monocompartimental..	1
Figura 2 - Representação esquemática (A) e representação gráfica do decaimento das concentrações (B) no modelo bicompartimental..	1
Figura 3 - Relação da concentração do fármaco (%) <i>versus</i> tempo (meia-vida) na cinética de primeira ordem de eliminação.	1
Figura 4 - Relação da concentração plasmática do fármaco e da constante de eliminação na cinética de ordem zero.	1
Figura 5 - Relação da concentração plasmática ($\mu\text{g/mL}$) e dose (mg) em diferentes situações (A e B) de cinética de saturação.	1
Figura 6 - Índices PK-PD.	1
Figura 7 - Estrutura molecular do LEV	1
Figura 8 - Representação da microplaca para determinação da CIM. Erro! Indicador não definido.	
Figura 9 - Reação de oxirredução da resazurina	1
Figura 10 - Cromatogramas da amostra branco (linha azul) e do padrão de calibração de levofloxacino no LIQ (linha vermelha).	1
Figura 11 - Cromatogramas da amostra branco (linha azul) e da amostra zero (linha vermelha).	1
Figura 12 - Curva de calibração da levofloxacina em plasma. Fonte: do autor (2020).	1

Figura 13 - Perfis farmacocinéticos das concentrações plasmáticas de levofloxacino (escala logarítmica) versus tempo (minutos) em equinos após administração intravenosa e oral na dose de 4 mg/kg (média $\pm$ DP, n=6).	1
Figura 14 - Foto do ensaio de microdiluição com bactérias revelado com resazurina (0,01%).....	1
Figura 15 - Foto do ensaio de concentração bactericida mínima (CBM) com bactérias.	1
Figura 16 - (A) Porcentagem de inibição das cepas bacterianas de E.coli, S. aureus e Samonella em diferentes concentrações de LEV. (B) Porcentagem de inibição da cepa bacteriana de P. aeruginosa em diferentes concentrações de LEV..	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Farmacocinética do LEV em diversas espécies de animais.....	Erro! Indicador não definido.
Tabela 2 - Descrição e método de cálculo dos parâmetros farmacocinéticos.....	Erro! Indicador não definido.
Tabela 3 - Descrição, fórmula, unidade e alvo terapêutico dos índices de eficácia de PK-PD.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 4 - Exatidão e precisão dos padrões da curva de calibração.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 5 - Precisão e exatidão intracorrida e intercorrida do método bioanalítico de LEV.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 6 - Ensaio de recuperação do LEV em plasma.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 7 - Estabilidade de armazenamento do LEV em plasma.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 8 - Resultados dos exames físicos de de frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), tempo de preenchimento capilar (TPC) e temperatura retal (T_{retal}) (média $\pm$ DP) e de coloração das mucosas e motilidade intestinal (n=6).	Erro! Indicador não definido.
Tabela 9 - exames bioquímicos.....	Erro! Indicador não definido.

Tabela 10 - Parâmetros farmacocinéticos do LEV (média $\pm$ DP) determinados no plasma após administrações intravenosa e oral (4 mg/kg) em equinos (n=6)..... **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 11 - Atividade *in vitro* do LEV contra cepas padrão.**Erro! Indicador não definido.**

Tabela 12 - Pontos de corte do LEV e do CIP de acordo com BrCAST (versão 10.0 de 2020)**Erro! Indicador não definido.**

Tabela 13 - Cálculo do índice PC/CIM do LEV, CIP e ENRO.**Erro! Indicador não definido.**

Tabela 14 - Valores dos índices de eficácia ASC/CIM (h), ASCI (h), C_{MÁX}/CIM e T>CIM (%) calculado a partir dos parâmetros farmacocinéticos obtido após a administração de 4 mg/kg de LEV em cavalos (n=6). Os dados são apresentados como média $\pm$ DP.**Erro! Indicador não definido.**

Tabela 15 - Doses diárias de LEV calculadas para cada microrganismo, considerando um CI de 411,6 mL/h/kg, F de 73% e ASC/CIM de 87 (Gram-negativos) e 34 (Gram-positivos).**Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE ABREVIações

ADME – absorção, distribuição, metabolização e excreção

AMH – ágar Müeller-Hinton

ASC – área sob a curva

ASMC – área sob o momento da curva

ASMC_{0-INF} – Área sob o momento da curva de zero extrapolada ao infinito

ASMC_{0-T} – Área sob o momento da curva de zero ao último tempo quantificável

BrCAST – *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

CBM – concentração bactericida mínima

CIM – concentrações inibitórias mínimas

CIM₅₀ – concentração antimicrobiana que inibe 50% das cepas bacterianas

CIM₉₀ – concentração necessária para inibir 90% dos isolados

CIP – ciprofloxacino

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

C_{MÁX} – concentração plasmática máxima

CMH – caldo Muller Hinton

C_{MÍN} – concentração plasmática mínima

CQA – controle de qualidade alto

CQB – controle de qualidade baixo

CQD – controle de qualidade diluído

CQM – controle de qualidade médio alto

CV – coeficiente de variação

DC – débito cardíaco

DP – desvio padrão

E – taxa de extração corporal

EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético

ENRO – enrofloxacino

EPR – erro padrão relativo

ESI – ionização por eletrospray

EUCAST – *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

FC – frequência cardíaca

F_{oral} – biodisponibilidade oral

FR – frequência respiratória

HPLC – high performance liquid chromatography

K_a – constante de absorção meia vida de absorção

K_{el} ou β – constante de eliminação

LEV – levofloxacino

LIQ – limite inferior de quantificação

Log P – coeficiente de partição óleo-água do fármaco

LSQ – limite superior de quantificação

MARBO – marbofloxacino

MAT – tempo de absorção médio

MRT – tempo de residência médio do fármaco no organismo

MTT – tempo de trânsito médio

NOR – norfloxacino

PC – ponto de corte

PI – padrão interno

PK-PD – *pharmacokinetic e pharmacodynamic*

Q – fluxo sanguíneo no órgão eliminador

QDa – massas de quadrupolo único

SIR – monitorização selecionada dos íons

T>CIM – tempo em que a concentração plasmática excede o CIM

T_{1/2 Ka} - meia vida de absorção

T_{1/2 α} – Meia-vida de distribuição

TGI – trato gastrointestinal

T_{MÁX} – tempo de ocorrência da C_{MÁX}

TPC – tempo de preenchimento capilar

T_R – tempo de retenção

T_{retal} – temperatura retal

T_{ss} – tempo para atingir o estado de equilíbrio

V_{área} – volume de distribuição de pseudoequilíbrio

V_c – volume de distribuição no compartimento central

V_d – volume de distribuição

V_i – volume de distribuição inicial

V_{ss} – volume de distribuição no estado de estacionário

α – constante de distribuição

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais Clóvis e Vanda e ao meu esposo Gustavo, por me ajudarem e incentivarem durante essa jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e por cuidar de cada detalhe desse trabalho de maneira tão especial e perfeita, através de pessoas e situações que contribuíram para que tudo acontecesse da melhor forma.

Aos meus pais Clóvis e Vanda, por todo suporte durante minha vida, por sempre me incentivarem e se preocuparam comigo. Com certeza, a oração de vocês por mim foi fundamental para que tudo isso fosse possível.

Ao meu esposo Gustavo, por seu meu companheiro sempre me incentivando e me motivando a realizar meus sonhos. Com você ao meu lado, me sinto mais segura para enfrentar os desafios.

Ao meu irmão, cunhada, sogros e demais familiares por sempre torcerem por mim e se alegrarem com as minhas conquistas.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Rosângela Gonçalves Peccinini, por me guiar e orientar desde a iniciação científica até o doutorado. Seu amor pela farmacocinética foi o que me inspirou a seguir essa jornada.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni, que me recebeu de braços abertos no Hospital Veterinário da FMVZ de Botucatu. Obrigada por todo esforço feito para que esse trabalho se concretizasse, sua ajuda e orientação foram fundamentais para mim.

À Dr.^a Juliana de Moura Alonso, que mesmo durante a gestação da sua filha e quando ela ainda estava recém-nascida, contribuiu com todo seu conhecimento e experiência durante os experimentos. Admiro sua competência e profissionalismo.

Ao Dr. José Ricardo Barboza Silva, que participou de toda parte experimental, sempre muito disposto a ajudar em tudo que precisasse. Obrigada também pela companhia e pelas conversas durante os intervalos dos experimentos.

A todos os residentes do Hospital Veterinário da FMVZ, em especial a Isabella Barros, que voluntariamente contribuiu de forma significativa durante os experimentos, sempre com muita competência e disposição.

Ao meu amigo e compadre Jonata Augusto de Oliveira, pelas risadas e momentos de descontração, que foram fundamentais para enfrentar os momentos de desespero. Muito bom poder contar com você sempre que precisar.

A minha estagiária Fernanda Lara Machado, por todo seu esforço em aprender e por ser meu braço direito durante as análises no laboratório.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, pela estrutura disponibilizada.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, pela estrutura disponibilizada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da pesquisa (processo nº 88882.180448/2018-01).

1 Introdução

Durante muito tempo, a sociedade viu a medicina veterinária, principalmente, como uma disciplina médica de saúde animal. Nos últimos anos, ameaças à saúde pública ajudaram muitos a perceber as ligações fundamentais entre a medicina veterinária e a saúde humana. A saúde dos seres humanos, animais e o meio ambiente estão interconectadas e compreender essa interdependência torna-se ainda mais relevante para nossa saúde e segurança coletivas. O conceito de Saúde Única (*One Health*) vem se destacando recentemente e refere-se ao esforço colaborativo de várias disciplinas trabalhando localmente, nacionalmente e globalmente para alcançar a saúde ideal para pessoas, animais e meio ambiente (AVMA, 2020).

Na medicina veterinária, é comum a prescrição de medicamentos aprovados para uso humano a diferentes espécies animais. Entretanto a prescrição é frequentemente realizada através da extrapolação empírica dos regimes posológicos, o que pode levar ao uso inadequado do medicamento tendo em vista as particularidades fisiológicas de cada espécie. O uso empírico de medicamentos, em especial dos antimicrobianos, aumenta o risco de utilização de subdoses e ocorrência de resistência bacteriana ou de doses excessivas e ocorrência de efeitos tóxicos (FREITAS; CARREGARO, 2013; RATH, 2015).

A resistência bacteriana é uma crise global de saúde pública e os principais fatores que contribuem para isso são: dose inadequada, administração em intervalos irregulares e seleção de fármaco pouco ativo para o patógeno envolvido. Uma das estratégias para o uso racional de antimicrobianos na medicina veterinária e humana é a determinação da relação entre as concentrações plasmáticas – e os parâmetros farmacocinéticos obtidos *in vivo* durante a exposição aos antimicrobianos (farmacocinética) – com a susceptibilidade microbiana aos antibióticos *in vitro* através da CIM (farmacodinâmica) (ALIABADI; LEES, 2000; PAPICH, 2014; LUO et al., 2019).

Esse modelo farmacocinético-farmacodinâmico (PK-PD, sigla originada das palavras em inglês *pharmacokinetic* e *pharmacodynamic*) permite a construção de um regime posológico adequado através da otimização dos principais índices PK-PD de eficácia, que são: (i) razão da área sob a curva (ASC) pelo CIM (ASC/CIM), (ii) razão entre concentração plasmática máxima ($C_{MÁX}$) e CIM ($C_{MÁX}/CIM$) e (iii) o tempo em que a concentração plasmática excede o CIM ($T > CIM$). Os dois primeiros índices são relacionados a antibióticos concentração-dependentes, e o terceiro índice é

relacionado a antibióticos tempo-dependentes. Desta forma a terapia antimicrobiana pode promover resultados clínicos mais efetivos e minimizar o desenvolvimento de resistência a antibióticos (TOUTAIN et al., 2002; PAPICH, 2014; YU et al., 2016).

Existem inúmeras indicações de potenciais tratamentos com fluoroquinolonas na medicina equina, que incluem infecções causadas pela maioria dos aeróbios Gram-negativos (BOUSQUET-MELOU et al., 2002; CARRETERO et al., 2002; LUO et al., 2019; BOUSQUET-MELOU et al., 2020). Dentre as opções economicamente viáveis tem-se o levofloxacino (LEV), uma fluoroquinolona de terceira geração que possui um espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas mais amplo que fluoroquinolonas de gerações anteriores, como ciprofloxacino (CIP) e norfloxacino (NOR) (ALBARELLOS et al., 2005; LOU et al., 2019).

O LEV possui ação concentração-dependente em bactérias Gram-negativas e tem capacidade de induzir um efeito pós-antibiótico contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (BOUSQUET-MELOU et al., 2002). Sua biodisponibilidade oral em humanos é próxima a 100% e apresenta um perfil farmacocinético que possibilita a administração uma vez ao dia devido à sua rápida e alta distribuição nos tecidos e fluidos corporais (FISH; CHOW, 1997; GOUDAH et al., 2008).

Seu perfil farmacocinético tem sido investigado em muitas espécies animais, incluindo gatos (ALBARELLOS et al., 2005), codornas (ABOUBAKR, 2012), patos (ABOUBAKR; SOLIMAN, 2014), tartarugas (ABOUBAKR et al., 2014) bezerros (DUMKA; SRIVASTAVA, 2006), cavalos garanhões (GOUDAH et al., 2008), camelos (GOUDAH, 2009), cabras em lactação (GOUDAH; ABO-EL-SOUD, 2009), ovelhas (GOUDAH; HASABELNABY, 2010), coelhos (SITOVIS et al., 2020) e cachorros (MADSEN et al., 2020).

Apesar de Goudah et al. (2008) já terem estudado a cinética do LEV em cavalos após administração intravenosa e intramuscular, não há relatos da literatura sobre a cinética do LEV em cavalos após a administração oral. Além disso, Goudah et al. (2008) não propuseram o regime posológico adequado para nenhuma das vias de administração e relatam a necessidade de mais estudos, que não foram realizados até o presente.

Neste estudo, o objetivo foi avaliar a farmacocinética e os aspectos clínicos da administração do LEV em equinos pela via oral e intravenosa, bem como determinar a susceptibilidade de importantes cepas de microrganismos ao LEV e calcular

principais índices PK-PD de eficácia do antimicrobiano, a fim de estabelecer um regime posológico racional para o LEV em equinos.

6 Conclusão

Um método bioanalítico simples e rápido foi desenvolvido em HPLC-QDA para a determinação de LEV em amostras de plasma de cavalos. O método requer um volume de amostra pequeno, um processamento de amostra líquido-líquido simples e uma corrida cromatográfica curta em modo isocrático. Além disso, o método é sensível, específico, preciso e confiável, podendo ser aplicado com sucesso a estudos de farmacocinética em equinos.

Este é o primeiro estudo a comparar os perfis farmacocinéticos oral e intravenoso do LEV em cavalos. O estudo farmacocinético demonstrou que o LEV é caracterizado pelo modelo bicompartimental e apresenta uma absorção oral boa ($F_{\text{oral}} = 73\%$) e rápida ($T_{\text{MÁX}} = 50 \text{ min}$), uma extensa distribuição do LEV nos fluidos e tecidos ($V_{\text{área}} = 2487,82 \text{ mL/kg}$) e eliminação intermediária ($Cl_{\text{plasmático}} = 6,86 \text{ mL/min/kg}$ e $T_{1/2\beta} = 4,28 \text{ h}$).

A partir do modelo farmacodinâmico *in vitro*, foi investigada a atividade bacteriana do LEV contra *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp. e *P. aeruginosa* através da determinação do CIM₉₀, que foram, respectivamente, os valores de $<0,016 \text{ µg/mL}$, $0,25 \text{ µg/mL}$, $0,25 \text{ µg/mL}$ e $0,625 \text{ µg/mL}$. Como nenhuma conclusão sobre eficácia e dose terapêutica pode ser tirada diretamente do valor de CIM, adotou-se os critérios da BrCAST para interpretação terapêutica dos pontos de corte (S, I ou R), em que o LEV é classificado como S (sensível, dose padrão) para *E. coli* e *Salmonella* spp. e como I (sensível, aumentando exposição) para *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Neste estudo, o regime posológico de 4 mg/kg/dia de LEV foi adequado para tratar infecções por *E. coli* tanto pela via intravenosa quanto pela via oral; e para tratar infecções por *S. aureus* pela via intravenosa. Contudo, o regime posológico não foi suficiente para atingir os valores de $ASC/CIM \geq 34$ e $C_{\text{MÁX}}/CIM \geq 12$ para o CIM₉₀ da *S. aureus* pela via oral, sendo necessário aumentar as doses de LEV para 5 mg/kg/dia para atingir os alvos terapêuticos de PK-PD. O regime posológico avaliado no estudo também não foi suficiente para atingir os valores de $ASC/CIM \geq 87$ e $C_{\text{MÁX}}/CIM \geq 12$ para o CIM₉₀ da *Salmonella* spp. e *P. aeruginosa*. Entretanto, as doses estimadas de LEV para um tratamento eficaz contra *Salmonella* spp. e *P. aeruginosa* são muito altas, sendo contraindicadas devido ao elevado risco de eventos adversos.

Além disso, o regime posológico de 4 mg/kg/dia de LEV pode ser indicado para tratar infecções por microrganismos Gram-negativos com CIM₉₀ ≤0,08 µg/mL pela via oral e com CIM₉₀ ≤0,11 µg/mL pela via intravenosa, assim como, tratar infecções por microrganismos Gram-positivos com CIM₉₀ ≤0,21 µg/mL e 0,29 µg/mL pela via oral e intravenosa, respectivamente.

Por fim, pode se concluir que, devido ao seu amplo espectro de atividade e comportamento farmacocinético favorável, o LEV tem potencial para tratar uma ampla variedade de infecções bacterianas em cavalos, mas são necessários mais ensaios farmacocinéticos, farmacodinâmicos e clínicos para determinar sua eficácia e segurança antimicrobiana nos equinos.

Referências

ABOUBAKR, M. Pharmacokinetics of levofloxacin in Japanese quails (*Coturnix japonica*) following intravenous and oral administration. **British poultry science**, v. 53, n. 6, p. 784-789, 2012.

ABOUBAKR, M.; SOLIMAN, A. Comparative pharmacokinetics of levofloxacin in healthy and renal damaged muscovy ducks following intravenous and oral administration. **Veterinary medicine international**, v. 2014, 2014a.

ABOUBAKR, M.; UNEY, K.; ELMAS, M. Bioavailability and pharmacokinetic profile of levofloxacin following intravenous, intramuscular and oral administration in turkeys. **British poultry science**, v. 55, n. 1, p. 115-119, 2014b.

ALBARELLOS, G. A.; AMBROS, L. A.; LANDONI, M. F. Pharmacokinetics of levofloxacin after single intravenous and repeat oral administration to cats. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 28, n. 4, p. 363-369, 2005.

ALIABADI, F. S.; LEES, P. Antibiotic treatment for animals: effect on bacterial population and dosage regimen optimisation. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 14, n. 4, p. 307-313, 2000.

ALONSO, J. M.; ROSA, G. S.; SANTOS, B.; GUERRA, S.; RIBEIRO, M.; et al. Adjuvant intraperitoneal ceftriaxone in the treatment of septic peritonitis in horses. **Veterinary Record**, v. 187, n. 4, p. e29-e29, 2020.

AMBROSE, P. G.; GRASELA, D. M.; GRASELA, T. H. Pharmacodynamics of fluoroquinolones against *Streptococcus pneumoniae* in patients with community-acquired respiratory tract infections. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 45, n. 10, p. 2793-2797, 2001.

ANDERSON, V. R.; PERRY, C. M. Levofloxacin. **Drugs**, v. 68, n. 4, p. 535-565, 2008.

ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. suppl 1, p. 5-16, 2001.

BOUSQUET-MELOU, A.; BERNARD, S.; SCHNEIDER, M.; TOUTAIN, P. L. Pharmacokinetics of marbofloxacin in horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. 4, p. 366-372, 2002.

BOUSQUET-MÉLOU, A.; SCHNEIDER, M.; EL GARCH, F.; BROUSSOU, D. C.; FERRAN, A. A.; LALLEMAND, E. A.; ... TOUTAIN, P. L. Determination of the pharmacokinetic-pharmacodynamic cut-off values of marbofloxacin in horses to support the establishment of a clinical breakpoint for antimicrobial susceptibility testing. **Equine Veterinary Journal**, v. 53, n. 5, p. 1047-1055, 2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RE nº 898, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência". Diário Oficial da União. Poder Executivo, de 02 de junho de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 27, de 27 de maio de 2012. Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos.

BUFFE, C.; ARAÚJO, B. V. D.; DALLA COSTA, T. C. T. Parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos na otimização de terapias antimicrobianas. **Caderno de farmácia**, v. 17, n. 2, p. 97-109, 2001.

BULIK, C. C.; BADER, J. C.; ZHANG, L. PK–PD Compass: bringing infectious diseases pharmacometrics to the patient's bedside. **Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics**, v. 44, n. 2, p. 161-177, 2017.

CARRETERO, M.; RODRÍGUEZ, C.; SAN ANDRÉS, M.I.; et al. Pharmacokinetics of marbofloxacin in mature horses after single intravenous and intramuscular administration. **Equine veterinary journal**, v. 34, n. 4, p. 360-365, 2002.

CHIEN, S. C.; ROGGE, M. C.; GISCLON, L. G.; CURTIN, et al. Pharmacokinetic profile of levofloxacin following once-daily 500-milligram oral or intravenous doses. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 41, n. 10, p. 2256-2260, 1997.

CHILD, J.; MORTIBOY, D.; ANDREWS, J. M.; CHOW, A. T.; WISE, R. Open-label crossover study to determine pharmacokinetics and penetration of two dose regimens of levofloxacin into inflammatory fluid. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 39, n. 12, p. 2749-2751, 1995.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, 4th ed. CLSI supplement VET08, Wayne, USA, 2018b.

CLSI. Manual Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. M07, 11th ed. Wayne, USA, 2018a.

CRAIG, W. A. Post-antibiotic effects in experimental infection models: relationship to in-vitro phenomena and to treatment of infections in man. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 31, p. 149-158, 1993.

CRAIG, W.A. Pharmacodynamics of antimicrobials: general concepts and applications. In: NIGHTINGALE, C.H.; AMBROSE, P.G.; DRUSANO, G.L.; MURAKAWA, T. (eds) **Antimicrobial pharmacodynamics in theory and clinical practice**, 2nd. New York: Informa Healthcare, p. 1–19, 2007.

CROOM, K. F.; GOA, K. L. Levofloxacin. **Drugs**, v. 63, n. 24, p. 2769-2802, 2003.

DALLA COSTA, T.; DERENDORF, H. AUC - a general target for the optimization of dosing regimens of antibiotics? **Annals of Pharmacotherapy**, v. 30, n. 9, p. 1024-1028, 1996.

DAVIS, J. L. Treatment of peritonitis. The Veterinary clinics of North America. **Equine practice**, v. 19, n. 3, p. 765-778, 2003.

DAVIS, J. L.; PAPICH, M. G.; WEINGARTEN, A. The pharmacokinetics of orbifloxacin in the horse following oral and intravenous administration. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 29, n. 3, p. 191-197, 2006.

DAVIS, R.; BRYSON, H. M. Levofloxacin. **Drugs**, v. 47, n. 4, p. 677-700, 1994.

DIEHL, K. H. et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. **Journal of Applied Toxicology**, v. 21, n. 1, p. 15- 23, 2001.

DRUSANO, G. L.; PRESTON, S. L.; FOWLER, C.; CORRADO, M.; WEISINGER, B.; KAHN, J. Relationship between fluoroquinolone area under the curve: minimum inhibitory concentration ratio and the probability of eradication of the infecting pathogen, in patients with nosocomial pneumonia. **The Journal of infectious diseases**, v. 189, n. 9, p. 1590-1597, 2004.

DUMKA, V. K.; SRIVASTAVA, A. K. Pharmacokinetics, urinary excretion and dosage regimen of levofloxacin following a single intramuscular administration in cross bred calves. **Journal of veterinary science**, v. 7, n. 4, p. 333-337, 2006.

EUCAST. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Redefining susceptibility testing categories S, I and R, 2019. Disponível em: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/EUCAST_Presentations/2018/EUCAST_-_Intermediate_category_-_information_for_all.pdf. Acesso em: 20 de outubro de 2020.

FDA Label, Levaquin®, levofloxacin. Janssen Pharmaceuticals, USA, 2008.

FDA. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. Rockville: U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM). 2018.

FISH, D. N.; CHOW, A. T. The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. **Clinical pharmacokinetics**, v. 32, n. 2, p. 101-119, 1997.

FORREST, A. L. A. N.; NIX, D. E.; BALLOW, C. H. Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 37, n. 5, p. 1073-1081, 1993.

FREITAS, G. C.; CARREGARO, A. B. Aplicabilidade da extrapolação alométrica em protocolos terapêuticos para animais selvagens. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, p. 297-304, 2013.

FUKUDA, H.; HIRAMATSU, K. Primary targets of fluoroquinolones in *Streptococcus pneumoniae*. **Antimicrob Agents Chemother**, v.43, p. 410-2, 1999.

FUKUSHIMA, R. S.; WEIMER, P. J.; KUNZ, D. A. Use of photocatalytic reduction to hasten preparation of culture media for saccharolytic *Clostridium* species. **Braz. J. Microbiol.**, v. 34, n. 1, p. 22-26, 2003.

GAIOLO, P. S. A.; COELHO, L. S.; DE SOUZA CAVALCANTE, R. **Protocolo de atendimento aos pacientes com infecção do trato respiratório inferior**. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, 2015.

GOODWIN, S. D.; GALLIS, H. A.; CHOW, A. T.; WONG, F. A.; FLOR, S. C.; BARTLETT, J. A. Pharmacokinetics and safety of levofloxacin in patients with human immunodeficiency virus infection. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 38, n. 4, p. 799-804, 1994.

GOUDAH, A. Pharmacokinetics of levofloxacin in male camels (*Camelus dromedarius*). **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 32, n. 3, p. 296-299, 2009.

GOUDAH, A.; ABO EL-SOUD, K.; SHIM, J. H.; SHIN, H. C.; ABD EL-ATY, A. M. Characterization of the pharmacokinetic disposition of levofloxacin in stallions after intravenous and intramuscular administration. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 31, n. 5, p. 399-405, 2008.

GOUDAH, A.; ABO-EL-SOUD, K. Pharmacokinetics, urinary excretion and milk penetration of levofloxacin in lactating goats. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 32, n. 1, p. 101-104, 2009.

GOUDAH, A.; HASABELNABY, S. Disposition kinetics of levofloxacin in sheep after intravenous and intramuscular administration. **Veterinary medicine international**, v. 2010, 2010.

GRABE, M.; BJERKLUND-JOHANSEN, T. E.; BOTTO, H.; CEK, M.; et al. **Guía clínica sobre las infecciones urológicas**. Asociación Europea de Urología, p. 1290-423, 2010.

HADDAD, N. S.; PEDERSOLI, W. M.; RAVIS, W. R.; FAZELI, M. H.; CARSON J.R. Combined pharmacokinetics of gentamicin in pony mares after a single intravenous and intramuscular administration. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 9, p. 2004-2007, 1985.

HOOPER, D. C.; JACOBY, G. A. Topoisomerase inhibitors: fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, p.025320, 2016.

HOOPER, D.C. Mode of action of fluoroquinolones. **Drugs**, v. 58, supl. 2, p. 6-10, 1999.

IDDEX. Microbiology guide to interpreting minimum inhibitory concentration (MIC), 2019. Disponível em: <https://www.idexx.com/files/microbiology-guide-interpreting-mic.pdf>. Acessado em: 20 de outubro de 2020.

LODE, H.; BORNER, K.; KOEPPE, P. Pharmacodynamics of fluoroquinolones. **Clinical Infectious Diseases**, v. 27, n. 1, p. 33-39, 1998.

LODISE, T. P.; DRUSANO, G. L. Pharmacokinetics and pharmacodynamics: optimal antimicrobial therapy in the intensive care unit. **Critical care clinics**, v. 27, n. 1, p. 1-18, 2011.

LUO, W.; CHEN, D.; WU, M.; LI, Z., et al. Pharmacokinetics/Pharmacodynamics models of veterinary antimicrobial agents. **Journal of veterinary science**, v. 20, n. 5, 2019.

MARTINS, E.S. **Farmacocinética do efavirenz administrado na forma de micropartículas inorgânicas em coelhos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, São Paulo, 2018.

MORRISSEY, I.; GEORGE, J.T. Purification of pneumococcal type II topoisomerases and inhibition by gemifloxacin and other quinolones. **AntimicrobChemother**, v.45, suppl. S1, p. 101-6, 2000.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents: approved guideline. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.

NOEL, G. J. A review of levofloxacin for the treatment of bacterial infections. *Clinical Medicine. Therapeutics*, v. 1, p. 433–458, 2009.

ONE HEALTH. American Veterinary Medical Association, 2020. Disponível em: <https://www.avma.org/resources-tools/one-health>. Acesso em: 04 de janeiro de 2021.

ONUFRANK, N. J.; FORREST, A.; GONZALEZ, D. Pharmacokinetic and pharmacodynamic principles of anti-infective dosing. *Clinical therapeutics*, v. 38, n. 9, p. 1930-1947, 2016.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PAPICH, M. G. Pharmacokinetic–pharmacodynamic (PK–PD) modeling and the rational selection of dosage regimes for the prudent use of antimicrobial drugs. *Veterinary Microbiology*, v. 171, n. 3-4, p. 480-486, 2014.

PAPICH, M. G.; VAN CAMP, S. D.; COLE, J. A.; WHITACRE, M. D. Pharmacokinetics and endometrial tissue concentrations of enrofloxacin and the metabolite ciprofloxacin after iv administration of enrofloxacin to mares. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, v. 25, n. 5, p. 343-350, 2002.

PEYROU, M.; BOUSQUET-MELOU, A.; LAROUTE, V.; VRINS, A.; DOUCET, M. Y. Enrofloxacin and marbofloxacin in horses: comparison of pharmacokinetic parameters, use of urinary and metabolite data to estimate first-pass effect and absorbed fraction. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, v. 29, n. 5, p. 337-344, 2006.

PILTCHER, O. B.; KOSUGI, E. M.; SAKANO, E.; et al. Como evitar o uso inadequado de antibióticos nas infecções de vias aéreas superiores? Posição de um painel de especialistas. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, v. 84, n. 3, p. 265-279, 2018.

PRESTON, S. L.; DRUSANO, G. L.; BERMAN, A. L. Pharmacodynamics of levofloxacin: a new paradigm for early clinical trials. *Jama*, v. 279, n. 2, p. 125-129, 1998.

RIDDLE, C.; LEMONS, C. L.; PAPICH, M. G.; ALTIER, C. Evaluation of ciprofloxacin as a representative of veterinary fluoroquinolones in susceptibility testing. *Journal of clinical microbiology*, v. 38, n. 4, p. 1636-1637, 2000.

RIVOIRE, N.; RAVOLOLONANDRIANA P.; RASOLONAVALONA, T.; MARTIN, A.; PORTAELS, F.; RAMAROKOTO, H.; RAZANAMPARANY, V.R. Evaluation of the resazurin assay for the detection of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in Madagascar. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 11, n. 6, p. 683-688, 2007.

ROBERTS, J. A.; BIOMÉRIEUX. Antimicrobial prescribing: optimization through drug dosing and MIC, 2018. Disponível em: <https://www.biomerieux-microbio.com/education/antimicrobial-prescribing-optimization-through-drug-dosing-and-mic/>. Acessado em: 20 de outubro de 2020.

SARKER, S. D.; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v. 42, p. 321-324, 2007.

SHARMA, P. C.; JAIN, A.; JAIN, S. Fluoroquinolone antibacterials: a review on chemistry, Microbiology and therapeutic prospects. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 66, n. 6, p. 587-604, 2009.

TANG-LIU, D. D. S.; WILLIAMS, R. L.; RIEGELMAN, S. Nonlinear theophylline elimination. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 31, n. 3, p. 358-369, 1982.

TOUTAIN, P. L.; BOUSQUET-MELOU, A. Plasma Clearance. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 415-25, 2004a.

TOUTAIN, P. L.; BOUSQUET-MELOU, A. Plasma terminal half-life. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 427-39, 2004b.

TOUTAIN, P. L.; BOUSQUET-MELOU, A. Volumes of distribution. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 441-53, 2004c.

TOUTAIN, P. L.; BOUESQUET-MÉLOU, A. **Bioavailability and its assessment.** **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 455-466, 2004d.

TOUTAIN, P. L.; DEL CASTILLO, J. R.; BOUSQUET-MÉLOU, A. The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. **Research in veterinary science**, v. 73, n. 2, p. 105-114, 2002.

WENZLER, E. Applying Fluoroquinolone Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Updated Clinical Breakpoints for Gram-Negative Pathogens to Determine Optimal Dosing, **AST News Update - CLSI**, v. 4, n. 1, 2019. <https://n.org/about/blog/ast-news-update-2019-featured-article/>

WONG, F. A.; JUZWIN, S. J.; FLOR, S. C. Rapid stereospecific high-performance liquid chromatographic determination of levofloxacin in human plasma and urine. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 15, n. 6, p. 765-771, 1997.

WRIGHT, D. H.; BROWN, G. H.; PETERSON, M. L.; ROTSCHAFER, J. C. Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 46, n. 5, p. 669-683, 2000.

YAMARIK, T. A.; WILSON, W. D.; WIEBE, V. J.; PUSTERLA, N.; EDMAN, J.; PAPICH, M. G. Pharmacokinetics and toxicity of ciprofloxacin in adult horses. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 33, p. 587–594, 2010.

YU, Y.; ZHOU, Y. F.; SUN, J.; SHI, W.; LIAO, X. P.; LIU, Y. H. Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of sarafloxacin against avian pathogenic *Escherichia coli* in Muscovy ducks. **BMC veterinary research**, v. 13, n. 1, p. 47, 2016.

ZELENITSKY, S. A.; ARIANO, R. E. Support for higher ciprofloxacin AUC₂₄/MIC targets in treating Enterobacteriaceae bloodstream infection. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 65, n. 8, p. 1725-1732, 2010.

ZHOU, Z. L.; YANG, M.; YU, X. Y.; et al. A rapid and simple high-performance liquid chromatography method for the determination of human plasma levofloxacin concentration and its application to bioequivalence studies. **Biomedical Chromatography**, v. 21, n. 10, p. 1045-1051, 2007.