

Estudio de la actividad comparada de varias fluoroquinolonas frente a *Pseudomonas aeruginosa* mediante la determinación de la concentración preventiva de mutantes

Elia Sirvent, Montserrat Ruiz, Juan C. Rodríguez y Gloria Royo

Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández. Alicante. España.

INTRODUCCIÓN. La finalidad de este estudio es comparar la actividad de ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino, gatifloxacino y ofloxacino frente a *Pseudomonas aeruginosa* mediante la determinación de la concentración preventiva de mutantes.

MÉTODOS. Se estudiaron 34 aislados clínicos de *P. aeruginosa* productores de infecciones nosocomiales. La determinación de la concentración preventiva de mutantes (CPM) se realizó mediante el inóculo de 10^{10} UFC/ml en placas de Mueller-Hinton con concentraciones seriadas de antibióticos. Los microorganismos se agruparon en función de si el paciente había recibido tratamientos previos con fluoroquinolonas.

RESULTADOS. La fluoroquinolona que presenta menores valores de CPM es ciprofloxacino, seguida de levofloxacino. Al analizar las cepas de pacientes con tratamientos previos con fluoroquinolonas, se observa que aunque las cepas siguen siendo sensibles según los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), todos los fármacos muestran menos actividad.

CONCLUSIONES. Aunque el microorganismo sea sensible a las fluoroquinolonas por los métodos clásicos, debe valorarse la idoneidad de administrar tratamientos con estos compuestos en infecciones graves si el enfermo ha sido previamente tratado con ellos.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*. Concentración preventiva de mutantes. Fluoroquinolonas.

Study investigating the activity of several fluoroquinolones against *Pseudomonas aeruginosa* using the mutant prevention concentration

INTRODUCTION. The objective of this study was to compare the activity of ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, gatifloxacin and ofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* by determining the mutant prevention concentration (MPC).

METHODS. Thirty-four clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* causing nosocomial infection were studied. MPC values were determined using an inoculum

of 10^{10} cfu/mL on Mueller-Hinton plates with serial dilutions of the antibiotics. The microorganisms were classified according to whether the patients had been previously treated with fluoroquinolones or not.

RESULTS. The fluoroquinolone with the lowest MPC values was ciprofloxacin, followed by levofloxacin. Analysis of strains from patients previously treated with fluoroquinolones showed persistent susceptibility according to the CLSI criteria, but with lower activity of all the drugs.

CONCLUSIONS. Although the microorganism remained susceptible to fluoroquinolones according to classical methods, the suitability of using these drugs in patients with severe infection and a history of fluoroquinolone use should be evaluated.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*. Mutant prevention concentration. Fluorquinolones.

Introducción

Pseudomonas aeruginosa es uno de los principales agentes asociados a infección nosocomial y en muchos casos presenta importantes resistencias a los antibióticos, por lo que las fluoroquinolonas son uno de los grupos de fármacos de elección en el tratamiento de las infecciones por este microorganismo, sobre todo cuando se realizan tratamientos por vía oral¹.

Recientemente se ha definido la concentración preventiva de mutantes (CPM) como un parámetro útil para caracterizar las subpoblaciones más resistentes a los antibióticos y pretendemos utilizar este nuevo parámetro para comparar la actividad de varias fluoroquinolonas frente a aislados clínicos de *P. aeruginosa* productoras de infecciones nosocomiales en nuestro medio².

Métodos

Cepas y pacientes

Se estudiaron 34 cepas genéticamente distintas de *P. aeruginosa* sensibles a ciprofloxacino mediante los criterios establecidos por el Clinical

Correspondencia: Dr. J.C. Rodríguez.
Servicio de Microbiología.
Hospital General Universitario de Elche.
Camí de L'Almassara, 11. 03203 Elche. Alicante. España.
Correo electrónico: micro_elx@gva.es

Manuscrito recibido el 22-8-2005; aceptado el 5-6-2006.

and Laboratory Standards Institute (CLSI)³ aisladas de 33 pacientes con infección nosocomial en el Hospital General Universitario de Elche. La selección de las cepas se realizó tras un seguimiento de todas las infecciones causadas por *P. aeruginosa* procedentes tanto de áreas médicas y quirúrgicas como de unidades de cuidados intensivos (UCI) y reanimación desde noviembre de 2002 hasta mayo de 2003. De cada paciente se cumplimentó una ficha con datos epidemiológicos y clínicos de interés, especificándose los tratamientos recibidos durante el ingreso hospitalario.

De las cepas estudiadas, 18 provenían de pacientes que no habían recibido previamente tratamiento con fluoroquinolonas, mientras que 16 provenían de pacientes con tratamientos previos con estos compuestos.

Antibióticos

Ciprofloxacino (Bayer), levofloxacino (Hoechst), gatifloxacino (Bristol-Myers Squibb), moxifloxacino (Bayer) y ofloxacino (Sigma).

Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM)

Se realizó mediante los criterios establecidos por el CLSI a los 5 antibióticos estudiados.

Ajuste del inóculo a 10¹⁰ UFC

Tras cultivar la cepa en agar sangre durante 24 h a 37 °C, se inocularon cuatro asas de 1 µl (Soria Melguizo, España) con colonias en un tubo con 5 ml de Mueller-Hinton y se agitó en un vórtex. Estos tubos se mantuvieron en agitación en un Rotatest Shaker (Luckham, Gran Bretaña) a 15 rpm durante 24 h a 37 °C. Después, se centrifugaron los cultivos a 3.000 rpm durante 10 min y se retiró el sobrenadante. Todo el sedimento se resuspendió con *buffer* salino fosfato (PBS) hasta un volumen final de 1 ml y se realizó una cuantificación de este inóculo mediante diluciones seriadas y cultivo en agar sangre. El análisis de 5 cepas por triplicado mostró que todas ellas tenían un inóculo del orden de 10¹³ UFC/ml, por lo que la inoculación con un replicador de Steer (deposita en placa entre 1 y 2 µl) hace que el inóculo final sea del orden de 10¹⁰ UFC.

Determinación de la concentración preventiva de mutantes^{2,4}

Tras ajustar el inóculo a 10¹⁰ UFC, se utilizó el replicador de Steer para sembrar placas de agar Mueller-Hinton con concentraciones comprendidas entre 30 y 0,1 mg/l (30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9,5, 9, 8,5, 8, 7,5, 7, 6,5, 6, 5,5, 5, 4,5, 4, 3,8, 3,6, 3,4, 3,2, 3, 2,8, 2,6, 2,4, 2,2, 2, 1,8, 1,6, 1,4, 1,2, 1, 0,8, 0,6, 0,4, 0,2 y 0,1) de los antibióticos estudiados.

Cepa de referencia

En todos los estudios *in vitro* se ha incluido la cepa *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Electroforesis en campo pulsante

Con objeto de confirmar que las cepas eran genéticamente distintas, hemos realizado el análisis mediante electroforesis en gel de campos pulsantes (PFGE) de todas las cepas estudiadas. Se ha realizado siguiendo el método descrito por Pfaller et al⁵. La digestión del ADN se realizó con 15 U de SpeI. La electroforesis se realizó en geles de agarosa PFGE al 1% en tampón TBE 0,5x (CHEF-DR III de Bio-Rad) a 14 °C. El voltaje se mantuvo a 6 V/cm, ángulo 120° y los pulsos oscilaron de 5 a 15 s durante 10 h, seguidos de pulsos de 15-45 s durante otras 10 h más. Tras la electroforesis los geles fueron teñidos con bromuro de etidio (0,5 µg/ml), visualizados con transiluminador de luz ultravioleta y fotografiados. Se realizó análisis visual de los perfiles electroforéticos. La interpretación de los patrones de bandas obtenidos se realizó siguiendo los criterios establecidos por Tenover et al⁶.

Parámetros farmacocinéticos

Los valores de los parámetros utilizados se detallan en la tabla 1⁷⁻³⁵.

Análisis estadístico

Se utilizó la prueba U de Mann-Whitney para comprobar si los valores de CPM de los 2 grupos de cepas pertenecían a una misma distribución o a distribuciones distintas.

Resultados

Los datos globales muestran que la fluoroquinolona que presenta menores valores de CPM es ciprofloxacino, seguida de levofloxacino; por el contrario, moxifloxacino es la que presenta valores más elevados. Al comparar los datos de pacientes previamente tratados respecto a los que no habían recibido fluoroquinolonas observamos que las cepas que provienen de los primeros presentan mayores valores de CPM a todos los compuestos estudiados, aunque estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas (tabla 2). Si estudiamos el cociente CIM/CPM, aunque ciprofloxacino es la que presenta menores valores absolutos, se observa que su cociente es menor, reflejo de mayor separación entre ambos valores (CIM₉₀/CPM₉₀ de ciprofloxacino es 0,27, mientras que el cociente medio del resto de las fluoroquinolonas es 0,6). Al comparar las cepas de los enfermos tratados y no tratados, observamos que los primeros, generalmente, presentan cocientes menores, reflejo de una mayor diferencia entre los valores de CIM y CPM (la media de los cocientes CIM₉₀/CPM₉₀ de enfermos no tratados es 0,55, mientras que la media de los enfermos tratados es 0,35). Los datos se detallan en la tabla 3.

A la hora de relacionar nuestros datos con los parámetros farmacocinéticos de los distintos fármacos descritos en la literatura especializada hay que tener en cuenta que éstos están en función de varias variables como la dosis administrada, el tipo de enfermos y la vía de administración. En general, el análisis de los cocientes entre la CPM₉₀ y los distintos parámetros farmacocinéticos muestra que levofloxacino, debido a la mayor concentración que alcanza a nivel sérico y pulmonar, presenta los valores más elevados (tabla 4).

Discusión

En el éxito del tratamiento antibiótico influyen muchos parámetros característicos del paciente, del microorganismo y del antibiótico. La relación entre la concentración que el antibiótico pueda alcanzar en el lugar de la infección y la sensibilidad *in vitro* del microorganismo puede ser uno de los parámetros más importantes para predecir la eficacia clínica de un determinado tratamiento³⁶.

Sin embargo no existen criterios establecidos sobre los valores que predicen una adecuada respuesta clínica; así, Drusano et al³⁷ estudian enfermos con neumonía y sugieren que el cociente entre el área bajo la curva sérica (AUC) y la CIM debe ser mayor de 87, mientras que otros autores elevan este parámetro a 100 o incluso a 125³⁸. También se ha comunicado que la probabilidad de curación es alta cuando la C_{máx}/CIM es al menos de 8 a 10^{39,40}.

Estos cocientes también se han utilizado para calcular la probabilidad de generación de mutantes resistentes, así aislamientos del tracto respiratorio expuestos a ciprofloxacino con AUC₂₄/CIM ≤ 110 presentan más riesgo de generación de resistencia⁴¹.

TABLA 1. Parámetros farmacocinéticos de los fármacos estudiados

	C _{máx} dosis única oral	C _{máx} pacientes críticos	C _{máx} dosis múltiples	AUC dosis única oral	AUC pacientes críticos	AUC dosis múltiples	EP	MA
Ciprofloxacino	1,5-2,46 ^{7,8}	2,6-6,68 ^{9,10}	3,61-4,2 ^{11,12}	5,75-12 ^{8,13}	24,7-28,9 ⁹	12,13-29,1 ^{11,12}	1,9 ¹⁴	34,9 ¹⁴
Levofloxacino	2,8-9,4 ¹⁵	1,9-8,2 ^{16,17}	8,6-11,8 ¹⁸	43,6-108 ^{15,19}	66,1 ²⁰	90,7-118 ¹⁸	9,9-22,1 ¹⁴	28,5-105,1 ^{14,21}
Moxifloxacino	1,15-4,73 ^{22,23}	ND	3,98-4,5 ^{24,25}	9,86-39,3 ^{8,22}	ND	39,5-48 ^{24,25}	11,7-20,7 ^{21,26}	56,7-123,3 ^{21,26}
Gatifloxacino	2,90-4,35 ^{27,28}	ND	3,4 ²⁹	25,65-42,4 ^{27,28}	38,0 ³⁰	15-25,65 ³¹	6,0 ³²	69,10 ³²
Ofloxacino	1,96-6,9 ^{29,33}	ND	1,9-9,2 ³⁴	15,2-31,8 ^{33,35}	ND	ND	ND	ND

C_{máx}: concentración sérica máxima (mg/l); AUC: área total bajo la curva sérica (mg/h/l); EP: epitelio pulmonar (mg/l); MA: macrófago alveolar (mg/l); ND: valor no disponible.

TABLA 2. CPM de las cepas estudiadas (mg/l)

		Ciprofloxacino	Moxifloxacino	Levofloxacino	Gatifloxacino	Ofloxacino
Total cepas (n = 34)	CPM ₅₀	0,4	3,4	1,4	2,0	2,6
	CPM ₉₀	1,8	8,5	2,7	2,8	7,0
No tratamiento previo con quinolonas (n = 18)	CPM ₅₀	0,5	3,4	1,5	2,0	2,3
	CPM ₉₀	1,0	8,5	2,4	2,5	7,0
Sí tratamiento previo con quinolonas (n = 16)	CPM ₅₀	0,4	3,7	1,3	2,2	3,5
	CPM ₉₀	7,0	11,3	3,6	5,3	10,3

CPM: concentración preventiva de mutantes.

TABLA 3. CIM/CPM de las cepas estudiadas (mg/l)

		Ciprofloxacino	Moxifloxacino	Levofloxacino	Gatifloxacino	Ofloxacino
Total cepas (n = 34)	CIM ₅₀ /CPM ₅₀	0,31	0,59	0,36	0,50	0,58
	CIM ₉₀ /CPM ₉₀	0,27	0,47	0,75	0,71	0,49
No tratamiento previo con quinolonas (n = 18)	CIM ₅₀ /CPM ₅₀	0,25	0,59	0,25	0,50	0,43
	CIM ₉₀ /CPM ₉₀	0,51	0,31	0,83	0,81	0,29
Sí tratamiento previo con quinolonas (n = 16)	CIM ₅₀ /CPM ₅₀	0,31	0,41	0,38	0,45	0,57
	CIM ₉₀ /CPM ₉₀	0,07	0,36	0,56	0,38	0,39

CIM: concentración inhibitoria mínima; CPM: concentración preventiva de mutantes.

TABLA 4. Cociente entre algunos parámetros farmacocinéticos de los compuestos utilizados a dosis habituales y los valores de la CPM

		Ciprofloxacino	Moxifloxacino	Levofloxacino	Gatifloxacino	Ofloxacino
Total cepas (n = 34)	C _{máx} dosis única oral/CPM ₉₀	0,83-1,37	0,13-1,80	1,04-3,48	1,03-1,55	0,28-0,98
	C _{máx} pacientes críticos/CPM ₉₀	1,44-3,71	ND	0,70-3,04	ND	ND
	C _{máx} dosis múltiples/CPM ₉₀	2,00-2,33	0,47-0,53	3,18-4,37	1,21	0,27-1,31
	AUC dosis única oral/CPM ₉₀	3,19-6,67	1,16-4,62	16,15-40,00	9,16-15,14	2,17-4,54
	AUC pacientes críticos/CPM ₉₀	13,72-16,05	ND	24,48	13,57	ND
	AUC dosis múltiples/CPM ₉₀	6,74-16,17	4,65-5,65	33,59-43,70	5,36-9,16	ND
	EP/CPM ₉₀	1,06	1,38-2,44	3,67-8,19	2,14	ND
	MA/CPM ₉₀	19,39	6,67-14,51	10,56-38,92	24,68	ND
No tratamiento previo con quinolonas (n = 18)	C _{máx} dosis única oral/CPM ₉₀	1,5-2,46	0,13-1,80	1,17-3,92	1,16-1,74	0,28-0,98
	C _{máx} pacientes críticos/CPM ₉₀	2,66-6,68	ND	0,79-3,42	ND	ND
	C _{máx} dosis múltiples/CPM ₉₀	3,61-4,2	0,47-0,53	3,58-4,92	1,36	0,27-1,31
	AUC dosis única ora/CPM ₉₀	5,75-12	1,16-4,62	18,17-45,00	10,26-16,96	2,17-4,54
	AUC pacientes críticos/CPM ₉₀	24,7-28,9	ND	27,54	15,20	ND
	AUC dosis múltiples/CPM ₉₀	12,13-29,1	4,65-5,65	37,79-49,17	6,00-10,26	ND
	EP/CPM ₉₀	1,9	1,38-2,44	4,13-9,21	2,40	ND
	MA/CPM ₉₀	34,9	6,67-14,51	11,88-43,79	27,64	ND
Sí tratamiento previo con quinolonas (n = 16)	C _{máx} dosis única oral/CPM ₉₀	0,21-0,35	0,10-0,42	0,78-2,61	0,55-0,82	0,19-0,67
	C _{máx} pacientes críticos/CPM ₉₀	0,37-0,95	ND	0,53-2,28	ND	ND
	C _{máx} dosis múltiples/CPM ₉₀	0,52-0,60	0,35-0,40	2,39-3,28	0,64	0,18-0,89
	AUC dosis única ora/CPM ₉₀	0,82-1,71	0,87-3,47	12,11-30,00	4,84-8,00	1,48-3,09
	AUC pacientes críticos/CPM ₉₀	3,53-4,13	ND	18,36	7,17	ND
	AUC dosis múltiples/CPM ₉₀	1,73-4,16	3,50-4,25	25,19-32,78	2,83-4,84	ND
	EP/CPM ₉₀	0,27	1,04-1,83	2,75-6,14	1,13	ND
	MA/CPM ₉₀	4,99	5,02-10,91	7,92-29,19	13,04	ND

CPM: concentración preventiva de mutantes; C_{máx}: concentración sérica máxima (mg/l); AUC: área total bajo la curva sérica (mg/h/l); EP: epitelio pulmonar (mg/l); MA: macrófago alveolar (mg/l); ND: valor no disponible.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que estos parámetros están calculados para valores de CIM, que detecta la sensibilidad antibiótica de la población bacteriana mayoritaria, no teniendo en cuenta la presencia de poblaciones minoritarias de microorganismos que presentan una frecuencia de mutación elevada; se ha descrito cepas de *P. aeruginosa* que presentan una frecuencia de mutación de hasta 1.000 veces superior a las cepas normales y que pueden no ser detectados por los métodos clásicos debido a que presentan modificación del *fitness*⁴².

La limitación de los métodos clásicos en la detección de estos microorganismos puede ayudar a explicar los fracasos terapéuticos que se producen en algunas ocasiones a pesar de que las cepas aparezcan como sensibles por métodos clásicos⁴³, la aparición de cepas resistentes tras tratamientos inadecuados⁴⁴, la asociación entre el uso de ciprofloxacino y la aparición de cepas resistentes en unidades de alto riesgo⁴⁵, la relación entre el uso de fluoroquinolonas y el porcentaje de resistencia a estos compuestos, tanto a nivel hospitalario⁴⁶ como en unidades de alto riesgo⁴⁷.

Con objeto de aportar datos a este problema, aplicamos una técnica microbiológica, la concentración preventiva de mutantes, que detecta estas subpoblaciones y relacionamos sus valores con varios marcadores farmacocinéticos que reflejan la concentración de los fármacos en el organismo; el estudio se realiza en cepas genéticamente diferentes mediante PFGE. Observamos que existen diferencias entre microorganismos de pacientes tratados o no previamente con fluoroquinolonas, a pesar de que los valores de la CIM sean sensibles aplicando los criterios del CLSI³.

Además, el análisis comparativo de los fármacos estudiados mediante esta metodología muestra que ciprofloxacino y levofloxacino son los fármacos más activos.

Debido a que la incorrecta elección del tratamiento antibiótico y la tardanza en la elección del tratamiento adecuado se asocian con un mayor porcentaje de mortalidad⁴⁸, se deben realizar más estudios para clarificar la utilidad de la CPM a la hora de decidir la terapia de las infecciones graves por este patógeno. Nuestro estudio, realizado en cepas genéticamente distintas sugiere que existe riesgo al administrar fluoroquinolonas en el tratamiento de infecciones graves si el enfermo ha sido previamente tratado con estos compuestos, aunque la cepa siga siendo sensible *in vitro* mediante los métodos clásicos^{49,50}.

La presencia de subpoblaciones minoritarias con sensibilidad disminuida a estos compuestos puede deberse a que las fluoroquinolonas pueden seleccionar microorganismos que tengan sobreexpresión de los sistemas de bomba de flujo Mex-Opr. Estos mutantes se han descrito en un elevado porcentaje de aislamientos clínicos de *P. aeruginosa* (14-75%) y suelen estar con más frecuencia en las cepas sometidas a regímenes de tratamientos subóptimos⁵¹.

Nuestros resultados podrían ayudar a explicar que uno de los factores de riesgo para la infección por *P. aeruginosa* multirresistente en pacientes de UCI sea el uso de ciprofloxacino⁴⁵ o que las neumonías causadas por *P. aeruginosa* resistentes a fluoroquinolonas se asocien frecuentemente a tratamientos previos con levofloxacino⁵² y cuestiona la idoneidad de administrar tratamientos con estos compuestos en infecciones graves si el enfermo ha sido previamente tratado con ellos, aunque el microorga-

nismo sea sensible a las fluoroquinolonas por los métodos clásicos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por una «Ayuda SEIMC» concedida por dicha sociedad a la cual estamos agradecidos. También quisiéramos agradecer al Dr. Jordi Vila por su colaboración en el aprendizaje y puesta a punto de la técnica PFGE.

Bibliografía

- Goossens H. Susceptibility of multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units: results from the European MYSTIC study group. Clin Microbiol Infect. 2003;9:980-3.
- Zhao X, Drlaca K. Restricting the selection of antibiotic-resistant mutants: a general strategy derived from fluoroquinolone studies. Clin Infect Dis. 2001; 33 Suppl 3:147-56.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 15th International supplement. CLSI document M100-S15. Wayne: CLSI; 2005.
- Linde HJ, Lehn N. Mutant prevention concentration of nalidixic acid, ciprofloxacin, clinafloxacin, levofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, sparfloxacin or trovafloxacin for *Escherichia coli* under different growth conditions. J Antimicrob Chemother. 2004;53:252-7.
- Pfaller MA, Hollis RJ, Sader HS. Molecular Biology. PFGE Analysis of chromosomal restriction fragment. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 1992.P.10.5.c.1-10.c.11
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol. 1995;33:2233-9.
- Wagenlehner FM, Wydra S, Onda H, Kinzig-Schippers M, Sorgel F, Naber KG. Concentrations in plasma, urinary excretion, and bactericidal activity of linezolid (600 mg) versus those of ciprofloxacin (500 mg) in healthy volunteers receiving a single oral dose. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47: 3789-94.
- Lubasch A, Keller I, Borner K, Koeppel P, Lode H. Comparative pharmacokinetics of ciprofloxacin, gatifloxacin, grepafloxacin, levofloxacin, trovafloxacin, and moxifloxacin after single oral administration in healthy volunteers. Antimicrob Agents Chemother. 2000;44:2600-3.
- Debon R, Breilh D, Boselli E, Saux MC, Duflo F, Chassard D, et al. Pharmacokinetic parameters of ciprofloxacin (500 mg/5 ml) oral suspension in critically ill patients with severe bacterial pneumonia: a comparison of two dosages. J Chemother. 2002;14:175-80.
- Lipman J, Scribante J, Gous AG, Hon H, Tshukutsoane S. Pharmacokinetic profiles of high-dose intravenous ciprofloxacin in severe sepsis. The Baragwanath Ciprofloxacin Study Group. Antimicrob Agents Chemother. 1998; 42:2235-9.
- Owens RC Jr, Patel KB, Banevicius MA, Quintiliani R, Nightingale CH, Nicolau DP. Oral bioavailability and pharmacokinetics of ciprofloxacin in patients with AIDS. Antimicrob-Agents-Chemother. 1997;41:1508-11.
- Garrelts JC, Jost G, Kowalsky SF, Krol GJ, Lettieri JT. Ciprofloxacin pharmacokinetics in burn patients. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40: 1153-6.
- Shah A, Liu MC, Vaughan D, Heller AH. Oral bioequivalence of three ciprofloxacin formulations following single-dose administration: 500 mg tablet compared with 500 mg/10 ml or 500 mg/5 ml suspension and the effect of food on the absorption of ciprofloxacin oral suspension. J Antimicrob Chemother. 1999;43 Suppl A:49-54.
- Gotfried MH, Danziger LH, Rodvold KA. Steady-state plasma and intrapulmonary concentrations of levofloxacin and ciprofloxacin in healthy adult subjects. Chest. 2001;119:1114-22.
- Fish DN, Chow AT. The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. Clin Pharmacokinet. 1997;32:101-19.
- Traunmuller F, Thalhammer-Scherrer R, Locker GJ, Losert H, Schmid R, Staudinger T, et al. Single-dose pharmacokinetics of levofloxacin during continuous veno-venous haemofiltration in critically ill patients. J Antimicrob Chemother. 2001;47:229-31.
- Hansen E, Bucher M, Jakob W, Lemberger P, Kees F. Pharmacokinetics of levofloxacin during continuous veno-venous hemofiltration. Intens Care Med. 2001;27:371-5.
- Chien SC, Wong FA, Fowler CL, Callery D'Amico SV, Williams RR, Nayak R, et al. Double-blind evaluation of the safety and pharmacokinetics of multiple oral once-daily 750-milligram and 1-gram doses of levofloxacin in healthy volunteers. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42:885-8.

19. Geerdes-Fenge HF, Wiedersich A, Wagner S, Lehr KH, Koeppe P, Lode H. Levofloxacin pharmacokinetics and serum bactericidal activities against five enterobacterial species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:3478-80.
20. Rebeck JA, Fish DN, Abraham E. Pharmacokinetics of intravenous and oral levofloxacin in critically ill adults in a medical intensive care unit. *Pharmacotherapy.* 2002;22:1216-25.
21. Capitano B, Mattoes HM, Shore E, O'Brien A, Braman S, Sutherland C, et al. Steady-state intrapulmonary concentrations of moxifloxacin, levofloxacin, and azithromycin in older adults. *Chest.* 2004;125:965-73.
22. Ballow C, Lettieri J, Agarwal V, Liu P, Stass H, Sullivan JT. Absolute bioavailability of moxifloxacin. *Clin Ther.* 1999;21:513-22.
23. Stass H, Dalhoff A, Kubitz D, Schuhly U. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of ascending single doses of moxifloxacin, a new 8-methoxy quinolone, administered to healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42:2060-5.
24. Nightingale CH. Moxifloxacin, a new antibiotic designed to treat community-acquired respiratory tract infections: a review of microbiologic and pharmacokinetic-pharmacodynamic characteristics. *Pharmacotherapy.* 2000;20:245-56.
25. Burkhardt O, Borner K, Stass H, Beyer G, Allewelt M, Nord CE, et al. Single- and multiple-dose pharmacokinetics of oral moxifloxacin and clarithromycin, and concentrations in serum, saliva and faeces. *Scand J Infect Dis.* 2002;34:898-903.
26. Soman A, Honeybourne D, Andrews J, Jevons G, Wise R. Concentrations of moxifloxacin in serum and pulmonary compartments following a single 400 mg oral dose in patients undergoing fibre-optic bronchoscopy. *J Antimicrob Chemother.* 1999;44:835-8.
27. Naber CK, Steghafner M, Kinzig-Schippers M, Sauber C, Sorgel F, Stahlberg HJ, et al. Concentrations of gatifloxacin in plasma and urine and penetration into prostatic and seminal fluid, ejaculate, and sperm cells after single oral administrations of 400 mg to volunteers. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:293-7.
28. Kays MB, Overholser BR, Lagvankar S, Goldman M, Sowinski KM. Effect of ensure on the oral bioavailability of gatifloxacin in healthy volunteers. *Pharmacotherapy.* 2005;25:1530-5.
29. Verho M, Malerczyk V, Dagrosa E, Korn A. Dose linearity and other pharmacokinetics of ofloxacin: a new, broad-spectrum antimicrobial agent. *Pharmatherapeutica.* 1985;4:376-82.
30. Kanji S, McKinnon PS, Barletta JF, Kruse JA, Devlin JW. Bioavailability of gatifloxacin by gastric tube administration with and without concomitant enteral feeding in critically ill patients. *Crit Care Med.* 2003;31:1347-52.
31. Nakashima M, Uematsu T, Kosuge K, Kusajima H, Ooie T, Masuda Y, et al. Single- and multiple-dose pharmacokinetics of AM-1155, a new 6-fluoro-8-methoxy quinolone, in humans. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39:2635-40.
32. Honeybourne D, Banerjee D, Andrews J, Wise R. Concentrations of gatifloxacin in plasma and pulmonary compartments following a single 400 mg oral dose in patients undergoing fibre-optic bronchoscopy. *J Antimicrob Chemother.* 2001;48:63-6.
33. Eboka CJ, Okor RS, Akerele JO, Aigbavboa SO. Kinetics of absorption and elimination of ofloxacin in humans after oral and rectal administrations. *J Clin Pharm Ther.* 1997;22:217-20.
34. Bardin C, Clavier M, Darchis JP, Chauvin M, Veyssier P, Farinotti R. Pharmacokinetics of ofloxacin administered orally in elderly subjects with bronchial or urinary tract infections. *Therapie.* 1992;47:35-9.
35. Flor S, Beals B. The bioavailability of ofloxacin from several formulations. *Curr Med Res Opin.* 1991;12:282-6.
36. Mohr JF, Wanger A, Rex JH. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling can help guide targeted antimicrobial therapy for nosocomial gram-negative infections in critically ill patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004;48:125-30.
37. Drusano GL, Preston SL, 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. *J Infect Dis.* 2004;189:1590-7.
38. Montgomery MJ, Beringer PM, Aminimanizani A, Louie SG, Shapiro BJ, Jelliffe R, et al. Population pharmacokinetics and use of Monte Carlo simulation to evaluate currently recommended dosing regimens of ciprofloxacin in adult patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:3468-73.
39. Zelenitsky SA, Harding GK, Sun S, Ubhi K, Ariano RE. Treatment and outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: an antibiotic pharmacodynamic analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52:668-74.
40. Wright DH, Brown GH, Peterson ML, Rotschafer JC. Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. *J Antimicrob Chemother.* 2000;46:669-83.
41. Hyatt JM, Schentag JJ. Pharmacodynamic modeling of risk factors for ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2000;21 Suppl 1:9-11.
42. Oliver A, Cantón R, Campo P, Baquero F, Blázquez J. High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Science.* 2000;288:1251-3.
43. Prabhu RM, Elliott MA, Patel R. Apparent failure of moxifloxacin to prevent ciprofloxacin- and levofloxacin-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in neutropenic patients undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2004;38:1043-5.
44. Nakano M, Yasuda M, Yokoi S, Takahashi Y, Ishihara S, Deguchi T. In vivo selection of *Pseudomonas aeruginosa* with decreased susceptibilities to fluoroquinolones during fluoroquinolone treatment of urinary tract infection. *Urology.* 2001;58:125-8.
45. Paramythiotou E, Lucet JC, Timsit JF, Vanjak D, Paugam-Burtz C, Trouillet JL, et al. Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. *Clin Infect Dis.* 2004;38:670-7.
46. Zervos MJ, Hershberger E, Nicolau DP, Ritchie DJ, Blackner LK, Coyle EA, et al. Relationship between fluoroquinolone use and changes in susceptibility to fluoroquinolones of selected pathogens in 10 United States teaching hospitals, 1991-2000. *Clin Infect Dis.* 2003;37:1643-8.
47. Meyer E, Jonas D, Schwab F, Rueden H, Gastmeier P, Daschner FD. Design of a surveillance system of antibiotic use and bacterial resistance in German intensive care units (SARI). *Infection.* 2003;31:208-15.
48. Kang CI, Kim SH, Kim HB, Park SW, Choe YJ, Oh MD. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome. *Clin Infect Dis.* 2003;37:745-51.
49. El Amari EB, Chamot E, Auckenthaler R, Pechere JC, Van Delden C. Influence of previous exposure to antibiotic therapy on the susceptibility pattern of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremic isolates. *Clin Infect Dis.* 2001;33:1859-64.
50. Jumbe N, Louie A, Leary R, Liu W, Deziel MR, Tam VH. Application of a mathematical model to prevent in vivo amplification of antibiotic-resistant bacterial populations during therapy. *J Clin Invest.* 2003;112:275-85.
51. Aeschlimann JR. The role of multidrug efflux pumps in the antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative bacteria. Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy.* 2003;23:916-24.
52. Paladino JA, Sunderlin JL, Forrest A, Schentag JJ. Characterization of the onset and consequences of pneumonia due to fluoroquinolone-susceptible or resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52:457-63.