

## Penentuan Efektifitas Oksitetrasiklin Melalui Parameter Farmakokinetik/farmakodinamik pada Plasma dan Jaringan Ayam Broiler

(THE MEASUREMENT OF OXYTETRACYCLINE EFFECTIVENESS  
BY THE PHARMACOKINETIC/PHARMACODYNAMIC PARAMETERS ON PLASMA  
AND TISSUES OF BROILER)

Agustina Dwi Wijayanti<sup>1</sup>, Lukman Hakim<sup>2</sup>,  
Irkham Widiyono<sup>3</sup>, Tatang Irianti<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan  
Jl. Fauna no 2. Karangmalang, Yogyakarta. Tel. 0274-563083. Email:tinabdy@ugm.ac.id

<sup>2</sup>Bagian Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi

<sup>3</sup>Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan

<sup>4</sup>Bagian Analisis Kimia, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

### ABSTRACT

A study was conducted to determine the effectiveness of oxytetracycline on the basis of its pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) parameters in the plasma and tissues of broiler following a 50 mg/kg single dose of intravenous administration. The male broiler were injected with oxytetracycline at tarsal medial venous. The blood, liver, kidney and abdominal muscle were collected at 14 points of time samplings. Blood was centrifuged to obtain plasma and all tissues were extracted with Mc Ilvine buffer. Drug concentration in samples was determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using AOAC standard reference for tetracycline. The pharmacokinetic parameters of oxytetracycline were calculated using non compartment method. The results were as follows. For plasma: the AUC was 790,615, 5 µg/mL minute, **Clearance** was 63,242 mL/min/kg bb, **Tmax/Cmax** was 1 minute/0,7 µg/mL, **T1/2 elimination** was 6,4, hours, **Vd** was 37 L/kg. For **liver**; AUC was 36418,89, minute, **Tmax/Cmax** was 16 hours/17,15 µg/g, and **T1/2 elimination** was 24,5, hours. For **kidney**; AUC 6808,41 µg/g minute, **Tmax/Cmax** 1 minute/16,73 µg/g, **T1/2 elimination** was 11,55 hours. For **muscle**; AUC was 3502 µg/g minute, **Tmax/Cmax** was 1 minute/2,58 µg/g, **T1/2 elimination** was 167,39 hours. The ratio of AUC/MIC in plasma and tissues appeared to a good pharmacokinetic/pharmacodynamic parameter to determine the effectiveness of oxytetracycline.

Keywords : pharmacokinetic, oxytetracycline, PK/PD parameter, broiler

### PENDAHULUAN

Senyawa oksitetrasiklin merupakan turunan tetrasiklin yang diperoleh dari *Streptomyces rimosus*, bersifat basa, berwarna kuning, dan berasa pahit serta kelarutannya dalam air sangat rendah. Senyawa ini dapat diberikan per oral ataupun secara parenteral. Distribusi dalam tubuh cukup cepat dan obat dapat mencapai hampir semua jaringan dan cairan tubuh. Ekskresi obat melalui sistem urinaria dan empedu (Brander *et al.*, 1991). Ketersediaan hayati obat pada ternak mencapai 37% jika diberikan per oral. Pemberian oksitetrasiklin secara intravena lebih disukai dibandingkan intramuskuler karena kadar obat yang lebih tinggi dan lebih lama terpelihara

dalam serum (Giguere, 2006). Penelitian tentang kadar oksitetrasiklin dalam pakan ayam pernah dilakukan oleh Alhendi *et al.*, (2000). Hasil penelitian tersebut menyimpulkan bahwa dosis tinggi oksitetrasiklin (50 dan 100 mg/kg berat badan) yang diberikan per oral tidak memberikan kadar yang cukup tinggi baik di plasma mau pun jaringan.

Aksi antibakterial oksitetrasiklin adalah berspektrum luas dengan menghambat sintesis protein bakteri pada ribosom 30s. Pada ternak, obat ini sering digunakan untuk pengobatan infeksi saluran pencernaan oleh *E. coli* dan *Salmonella*, infeksi pernafasan, footrot, anaplasmosis, theileriosis dan ehrlichiosis (Brander *et al.*, 1991). Obat yang masuk tubuh baik secara oral mau pun parenteral akan

melalui serangkaian proses biotransformasi, masuk sirkulasi darah serta terikat pada reseptor di dalam jaringan dan akhirnya akan dieliminasi. Di dalam darah obat akan terikat dengan protein plasma (*protein-bound drug*) atau dalam bentuk senyawa bebas (*free drug*).

Profil farmakokinetik obat dalam jaringan atau profil farmakokinetik fisiologi (*physiologically based pharmacokinetic*) suatu senyawa obat adalah distribusi senyawa tersebut di dalam jaringan atau organ tertentu yang diterangkan berdasarkan model fisiologi. Model ini mampu menerangkan distribusi obat di dalam jaringan, namun belum banyak digunakan karena memerlukan data-data fisiologi jaringan, sehingga memerlukan banyak studi pendukung. Farmakokinetik fisiologis senyawa-senyawa tetrasiklin dapat menerangkan sifat-sifat absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi senyawa-senyawa tersebut dalam jaringan atau organ tertentu dalam tubuh. Dengan mengetahui profil farmakokinetik obat di dalam jaringan atau organ akan diperoleh banyak informasi yang bermanfaat terutama untuk terapi penyakit tertentu, menentukan *drug of choice*, manajemen terapi dan analisis residu (Shargel *et al.*, 2005).

Interaksi suatu molekul obat pada reseptor menginisiasi suatu rangkaian proses yang menyebabkan respon farmakologi. Menurut Shargel dan Yu (1993), farmakodinamik merupakan hubungan antara kadar obat di tempat aksinya (reseptor) dan respon farmakologi, dengan melibatkan efek fisiologi dan biokimia dari struktur molekul obat. Menurut Rowland and Tozer (1989), dalam hal pemberian obat, terdapat dua fase yaitu fase farmakokinetik yaitu hubungan antara dosis, bentuk dosis, frekuensi dan cara pemberian dengan konsentrasi dan waktu dalam tubuh, serta fase farmakodinamik yaitu mengenai efek dari sejumlah konsentrasi obat pada tempat aksinya.

*Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) atau kadar penghambatan minimal adalah suatu indikator yang baik untuk mengetahui aktivitas dan potensi suatu antibiotik. Namun MIC tidak dapat menjelaskan seberapa lama aktivitas dan potensi tersebut berlangsung di dalam tubuh. Farmakokinetik melalui parameternya (*AUC/ Area Under Curve*, *T<sub>1/2</sub>/waktu paruh*, *T<sub>max</sub>/ waktu pencapaian kadar maksimal*, *C<sub>max</sub>/ kadar maksimal*, *V<sub>d</sub>/ volume distribusi*, *Clearance/ waktu pembersihan obat*) membahas

mengenai kadar serta hubungannya dengan waktu dalam tubuh, sehingga dapat menjelaskan keberadaan sejumlah obat di dalam tubuh. Menurut Rodvold (2001), integrasi antara parameter farmakokinetik dengan MIC menghasilkan tiga parameter farmakokinetik/ farmakodinamik (PK/PD) untuk menentukan tingkat aktivitas antimikrobia suatu obat, rasio puncak (kadar maksimal/*C<sub>max</sub>*)/MIC, *T > MIC* (waktu di atas MIC, yaitu persentase interval waktu pemberian obat dimana kadar obat dalam darah melebihi MIC) dan rasio *AUC/MIC*. Dengan demikian parameter PK/PD dapat menjelaskan lebih baik mengenai efektivitas obat karena selain mengetahui tingkat antibakterial melalui MIC (farmakodinamik), parameter farmakokinetik dapat menerangkan berapa lama masa efektivitas obat dalam tubuh.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini meliputi beberapa tahapan yang terdiri dari penentuan profil farmakokinetik oxytetrasiklin plasma dan jaringan (hati, ginjal dan otot) *broiler* serta penentuan efektivitas melalui parameter PK/PD. Hewan percobaan yang digunakan adalah 60 ekor *Day Old Chick broiler jantan strain Lohman*, dengan kisaran berat 40 hingga 45 gram per ekor (PT. Multi Breeder Adirama Indonesia Tbk, Semarang). Pakan dibuat dengan komposisi non antibiotik (Japfa Comfeed Indonesia Tbk.). Bahan penting yang digunakan adalah oksitetrasiklin hidroklorid (T-3383, untuk HPLC, Sigma-Aldrich, USA), Bufur McIlvine dan Mc Ilvine *Ethylen Diamine Tetra Acetid Acid* (Mc Ilvine EDTA), metanol dan asetonitril (untuk HPLC, Merck, Jerman), Aquabidest (Ikapharmindo Putramas, Jakarta), dan heparin sodium (PT Pratapa Nirmala, Tangerang, Indonesia). Analisis kadar menggunakan seperangkat HPLC merek Shimadzu versi 6,1 dengan kolom C18 Shimpack ODS diameter 5 µm dan panjang 150 µm, LC-10Advp, Detektor UV SPD-10A, *controller system* SCL-10Avp, oven CTO-10Avp dan *degasser* DGU-14.

Injeksi oksitetrasiklin dilakukan pada vena tarsal media dengan dosis 50 mg/kg bb. setelah ayam berumur 1 bulan dan mencapai berat badan 1,5-2 kg. Koleksi plasma dilakukan terlebih dahulu melalui vena *brachialis* dalam tabung berheparin dan selanjutnya ayam didekapitasi biopsi untuk koleksi organ hati,

ginjal dan otot abdominal pada menit ke-1, 5, 15, 30, 60, jam ke-1, 2, 4, 16, hari ke-1, 2, 3, 4, 5 setelah penyuntikan. Plasma diperoleh dengan memusing darah dengan kekuatan 2500 g, dan disimpan dalam freezer bersama sampel organ sebelum dianalisis. Ekstraksi sampel organ dilakukan dengan membuat homogenasi dan serial sentrifugasi mengacu metode standar AOAC internasional (Anon, 1996). Plasma dan supernatan yang diperoleh selanjutnya diinjeksikan ke HPLC dengan volume 20 µL, kecepatan alir 1 mL/menit, suhu 30°C, dan dibaca pada gelombang uv 346 nm.

Profil farmakokinetik didapatkan dengan mengolah data kadar obat dalam sampel, menggunakan cara non kompartemen yaitu: AUC ditentukan dengan metode *trapezoid* dapat

$$\sum_{t_{n-1}}^{t_n} AUC, \quad V_d = \frac{F \times D_{iv}}{k \cdot AUC} \quad Div = \text{dosis intravena,}$$

$$k = \text{slope pada fase terminal, } C_{1/2} = \frac{F \times D_{iv}}{AUC}$$

$$T_{1/2} \text{ eliminasi} = \frac{0,693}{k}, \quad \text{Nilai } C_{max} \text{ dan } T_{max}$$

diperoleh dari kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu. MIC beberapa bakteri untuk

mengukur parameter PK/PD oksitetrasiklin didapatkan dari penelitian sebelumnya oleh Testa *et al.*, 1993 (*E. coli*), Anon, 2005 (*Clostridium spp.*, *Shigella spp.*, *P. Aureginosa*, *Enterococcus spp.*) dan Giguere, 2006 (*S. agalactiae*, *M. gallisepticum*, *M. sinoviae*, *Staph. aureus*).

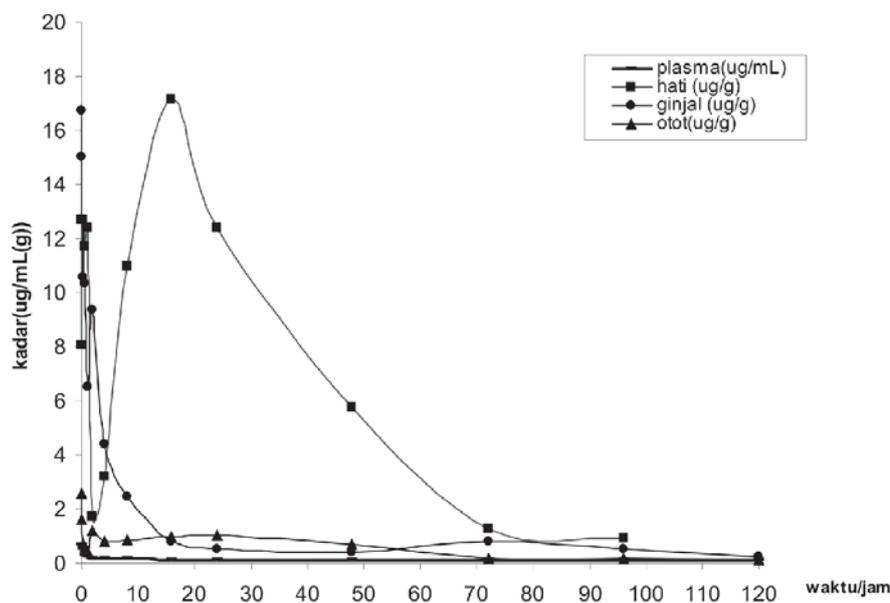
### HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar oksitetrasiklin dalam plasma dan jaringan hati, ginjal, dan otot broiler setelah pemberian intravena dengan dosis 50 mg/kg dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1. Kadar obat dalam jaringan lebih tinggi dibandingkan dengan kadar obat dalam plasma, dengan pencapaian kadar maksimal untuk plasma, ginjal, dan otot pada awal menit pemberian, sedang pada hati tercapai pada jam ke-16.

Fase distribusi dapat dilihat pada kurva plasma, yang ditentukan dari cepatnya penurunan kadar obat dalam plasma. Tingkat distribusi obat dari darah ke jaringan dibatasi oleh tingkat perfusi atau permeabilitas yang ditentukan oleh keberadaan barrier serta sifat lipofilik obat terhadap membran (Rowland dan Tozer, 1989). Fase distribusi yang cepat dalam kurva plasma broiler (30-60 menit) menunjukkan cepatnya penurunan kadar obat (dari 0,7 menjadi sekitar 0,2 µg/mL) dalam kompartemen

Tabel 1. Kadar oksitetrasiklin dalam plasma dan jaringan broiler pada berbagai waktu pengambilan sampel setelah pemberian dosis tunggal 50 mg/kg berat badan secara intravena

Waktu	kadar oksitetrasiklin			
	plasma (ug/mL)	hati (ug/g)	ginjal (ug/g)	otot (ug/g)
1 menit	0,7 ±0,08	12,7 ±2,1	16,73 ±,4	2,58 ±0,82
5 menit	-	8,06 ±1,3	15,05 ±,4	1,58 ±0,50
15 menit	0,57±0,03	12,66±3,3	10,59± 2,9	0,66 ±0,11
30 menit	0,28 ±0,02	11,74±2,7	10,35 ±3,1	0,58 ±0,12
1 jam	0,25 ±0,02	12,39±2,3	6,53±1,4	0,38±0,04
2 jam	0,19 ±0,02	1,73 ±0,03	9,37±1,8	1,19±0,07
4 jam	0,2 ± 0,03	3,22±0,19	4,40 ±0,52	0,78±0,07
8 jam	0,15±0,05	10,97±2,9	2,48 ±0,18	0,88± 0,03
16 jam	0,09± 0,01	17,15± 4,3	0,78± 0,02	1,00 ±0,02
1 hari	0,11±0,02	12,39±3,3	0,50 ±0,03	1,01 ±0,02
2 hari	0,1 ± 0,02	5,78±0,17	0,38±0,02	0,67±0,01
3 hari	0,1± 0,01	1,28±0,03	0,80±0,03	0,17±0,03
4 hari	0,1 ±0,02	0,94 ±0,03	0,53±0,04	0,15 ±0,02
5 hari	0,1 ±0,01	tidak terdeteksi	0,23±0,03	0,12 ±0,02



Gambar 1. Kadar oksitetrasiklin dalam plasma, hati, ginjal dan otot terhadap waktu

Tabel 2. Nilai-nilai farmakokinetik oksitetrasiklin dalam plasma, hati, ginjal dan otot broiler.

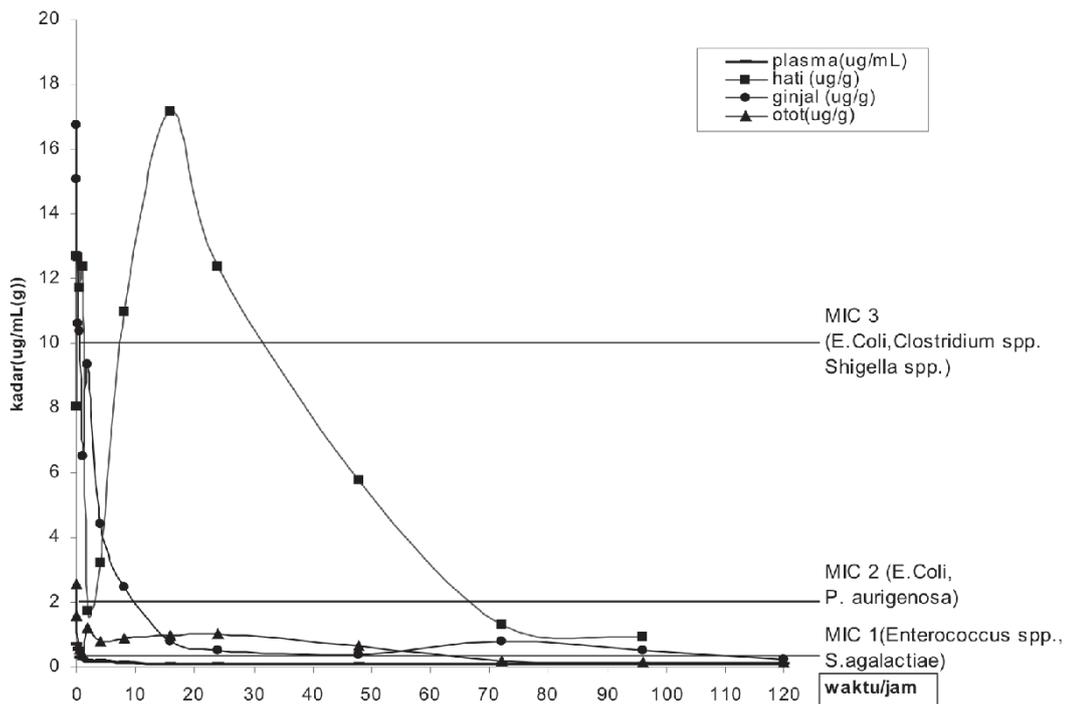
variabel	satuan	plasma	hati	ginjal	otot
<i>Area under curve</i> (AUC)	ig/mL menit atau ig/g menit	790,615	36418,89	6808,41	3502,07
<i>Clearance</i>	mL/menit/kg	63,242	-	-	-
<i>T max 1</i>	menit	1	1	1	1
<i>C max 1</i>	ig/mL atau ig/g	0,7	12,7	16,73	2,58
<i>Tmax 2</i>	jam		16	2	2
<i>Cmax 2</i>	ig/g		17,15	9,37	1,19
<i>T1/2 eliminasi</i>	jam	6,4	24,5	11,55	167,39
<i>Vd</i>	L/kg	35,137	-	-	-

plasma.

Dalam kompartemen jaringan distribusi terjadi lebih lambat serta tidak menunjukkan penurunan kurva yang linier, atau kadar obat di dalam jaringan mengalami fluktuasi sampai sekitar 1 hari setelah pemberian obat. Menurut Shargel *et al.*, (2005), pada umumnya distribusi obat berlangsung cepat, dan molekul obat yang berukuran kecil dapat menembus membran kapiler dengan mudah.

Komposisi membran sel terdiri atas protein dan lapisan fosfolipid, yang merupakan barrier yang harus ditembus obat. Obat-obat dengan kelarutan lemak tinggi akan menembus barrier lebih mudah dibandingkan dengan yang lebih bersifat polar. Oksitetrasiklin terdistribusi

cukup baik ke dalam jaringan broiler, karena pencapaian kadar yang tinggi di awal waktu pemberian pada hati, ginjal, dan otot. Bahkan untuk ginjal dan otot, pencapaian kadar puncak (*Cmax 1 dan Tmax 1*) terjadi pada menit pertama. *Cmax 1 dan Tmax 1* menunjukkan tingkat penetrasi yang cepat dari dosis yang diberikan secara intravena, sehingga terjadi pencapaian kadar yang tinggi di awal setelah pemberian. Fase distribusi obat dalam plasma terjadi hingga jam pertama setelah pemberian obat. Selama fase tersebut, terjadi juga proses penetrasi obat menuju jaringan hati. Di dalam plasma obat mengalami fase eliminasi terlebih dahulu, kemudian disusul obat dalam hati mengalami fase distribusi dan mencapai kadar



Gambar 2. Hubungan *Cmax* dan waktu dengan MIC beberapa bakteri yang menunjukkan kadar efektif oksitetrasiklin dalam rentang waktu tertentu pada plasma dan jaringan hati, ginjal dan otot

Tabel 3. Rasio AUC/MIC oksitetrasiklin terhadap beberapa bakteri patogen pada ayam broiler

	Rasio AUC/MIC			
	Plasma	hati	ginjal	otot
<i>M. gallisepticum</i>	3,9 -15812	182	34 -136168	17,5-70041,4
<i>M. sinoviae</i>	7,9 -31624,6	364,2	68-272336	35-140082,8
<i>E. Coli</i>	194		9104	1702 875,5
<i>Enterococcus</i>	197		9104	1702 875,5
<i>Staph. Aereus</i>	395		18209	3404 1751

puncak (*Cmax 2*) sebesar 17,15 ug/g pada 16 jam dan selanjutnya mengalami eliminasi. *Cmax 2* menunjukkan nilai kadar maksimal yang sesungguhnya, karena diikuti oleh fase eliminasi. Pada ginjal, penetrasi obat juga terjadi pada menit awal pemberian, diikuti fase distribusi hingga mencapai kadar puncak (*Cmax 2*) dan selanjutnya diikuti fase eliminasi. Pada otot, distribusi obat juga terjadi cepat, kemudian terlihat kadar obat yang mengalami saturasi hingga jam ke 48 (hari ke-2), dan selanjutnya obat mengalami eliminasi. Menurut Shargel *et al.*, (2005) saturasi terjadi karena keterbatasan jumlah enzim dalam tubuh untuk proses metabolisme obat. Ketersediaan enzim untuk

membentuk kompleks dengan obat tidak mencukupi karena tingginya dosis atau kadar obat.

Nilai-nilai farmakokinetik oksitetrasiklin dapat dilihat pada Tabel 2. Nilai *Area Under Curve* (AUC) plasma menunjukkan sejumlah obat aktif (obat bebas) yang berada dalam sirkulasi. AUC juga menggambarkan tingkat ketersediaan hayati obat (bioavailabilitas) dalam tubuh. Nilai AUC plasma sebesar 790,615 ug/mL menit ternyata paling kecil dibandingkan nilai AUC jaringan, yang menunjukkan kandungan obat bebas dalam plasma lebih kecil dibandingkan dengan obat yang masuk jaringan. Dalam jaringan hati, nilai AUC obat

paling tinggi yaitu 36418,89  $\mu\text{g}/\text{mL}$  menit. Kadar obat paling tinggi ( $C_{max}$ ) juga dicapai dalam hati, diikuti ginjal, otot dan plasma.

Nilai volume distribusi (Vd) digunakan untuk memperkirakan tingkat distribusi obat dalam tubuh. Vd juga berhubungan dengan tingkat ikatan protein plasma dengan obat atau tingkat partisi obat dalam jaringan. Nilai Vd plasma dalam penelitian ini adalah 35,137 L/kg. Tingginya volume distribusi ini menunjukkan bahwa obat memiliki tingkat distribusi yang sangat baik dalam cairan tubuh. Vd obat dalam jaringan tidak dapat dihitung karena seberapa besar obat yang masuk ke dalam jaringan hati, ginjal, dan otot tidak diketahui.

Menurut Rodvold (2001) dan Nicolau (2003), golongan tetrasiklin termasuk dalam antibiotik dengan aktivitas tipe 3 yaitu aktivitas terapi tergantung waktu (*time-dependent killing*) serta memiliki efek moderat yang persisten (*moderate persistent effect*). Tujuan terapi diharapkan tercapai dengan memperbanyak jumlah obat yang diberikan dengan parameter efektivitas paling tepat dilihat melalui rasio AUC/MIC.

Tabel 3 menunjukkan efektivitas oksitetrasiklin melalui rasio AUC/MIC. MIC yang digunakan merupakan rentang kadar dari beberapa bakteri patogen. Menurut Mc Kellar *et al.*, (2004), obat memiliki efektivitas yang baik jika kadar dalam plasma melebihi nilai MIC sebesar 5 kali lipat selama 40-100% interval waktu pemberian obat atau memiliki rasio AUC/MIC plasma lebih atau sama dengan 125. Ketersediaan oksitetrasiklin dalam plasma maupun jaringan broiler pada penelitian ini cukup tinggi serta memberikan nilai rasio AUC/MIC yang tinggi.

Rasio  $C_{max}$ , waktu, dan MIC memberikan hubungan lama waktu kadar obat yang efektif untuk membunuh mikroorganisme, sebagaimana dijelaskan dalam Gambar 2. Durasi efektivitas oksitetrasiklin dalam plasma berlangsung selama 2 jam terhadap bakteri yang memiliki MIC 1 (0,2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Jika  $C_{max}$  dan waktu oksitetrasiklin dalam otot dihubungkan dengan MIC 1 maka akan diketahui bahwa durasi efektivitas dimulai setelah 2 jam setelah pemberian dan bertahan hingga 2 hari. Setelah 2 hari maka efektivitas berkurang (turun) karena kadar obat berada di bawah MIC 1. Pada jaringan ginjal, durasi efektivitas obat terjaga cukup lama setelah pemberian, hingga beberapa hari, untuk infeksi bakteri-bakteri yang memiliki MIC 1 dan setelah pemberian hingga

8 jam untuk bakteri-bakteri yang memiliki MIC 2 (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Sementara pada hati hubungan  $C_{max}$ , waktu dan MIC memberikan gambaran durasi efektivitas oksitetrasiklin yang cukup lama untuk bakteri yang memiliki MIC 1 dan 2, yaitu dalam rentang waktu setelah pemberian hingga beberapa hari kemudian, namun untuk bakteri yang memiliki MIC 3 (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) efektivitas hanya bertahan pada rentang 4 - 30 jam setelah pemberian.

## SIMPULAN

Parameter farmakokinetik/farmakodinamik dapat menerangkan efektivitas oksitetrasiklin dalam plasma dan jaringan hati, ginjal, dan otot broiler. Efektivitas oksitetrasiklin yang diberikan dengan dosis 50 mg/kg berat badan secara intravena cukup tinggi dengan rasio *Area Under Curve / Minimal Inhibitory Concentration*  $\geq 125$  terhadap beberapa bakteri yang digunakan sebagai perbandingan dalam penelitian ini.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis berikan kepada Prof. Ir. Wihandoyo, MS., Ph.D di Fakultas Peternakan UGM, atas sumbangan pemikiran dan khususnya penyusunan ransum non antibiotik sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alhendi AB, Homeida AAM, Gaili ES. 2000. Drug residue in broiler chickens fed with antibiotics in ratio. *Veterinarski Arhiv* 70(4):199-205.
- Anonim. 1996. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 16th ed. Food composition, Additives, Natural contaminants. Vol I & II. Pub. By AOAC International. Maryland. USA. 123-130.
- Anon. 2005. American Society for Microbiology: *Appl. Environ Microbiol.* 2005 October. 71(10): 5865-5872.
- Brander GC, Pugh RJ, Bywater WL, 1991. *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics*. 5<sup>th</sup> ed. Bailliere Tindall ELBS. 436,467-473.

- Giguere S. 2006. *Tetracyclines and Glycylcycline*. In :Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 4<sup>th</sup> ed. Ed. By Giguere, S, Prescott,J.F., Baggot, J.D., Walker,R.D., Dowling, P.M. Blacwell Pub. 231-239.
- Mc Kellar QA, Sanchez B, Jones, DG.2004. Pharmacokinetic/Pharmacodinamy relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine.*J Vet Pharmacol Ther.*(27): 503-514.
- Nicolau DP.2003. Optimizing outcomes with antimicrobial therapy through pharmacodynamic profiling. *J Infect. Chemother* 9(4):292-296
- Rodvold KA . 2001. Pharmacodynamics of antiinfective therapy: taking what we know to the patient's bedside. *Pharmacotherapy*. 21(11 Pt 2):319S-330S.
- Shargel L, Yu ABC. 1993. *Applied Biopharmaceutic and Pharmacokinetics*. 3th. Appleton and Lange. Connecticut. 10-50,375-395
- Shargel L, Wu-Pong S, Yu B.C.2005. *Applied Biopharmaceutic and Pharmacokinetics*. 5<sup>th</sup> ed.Mc. Graw Hill. Company, Inc.USA.
- Testa T, Petersen PJ, Jacobus NV, Sum PE, Lee J, Tally FP. 1993.In vitro and in vivo antibacterial activities of the glycylcyclines, a new class of semisynthetic tetracyclines. *Antim Agent Chemother* 37(11):2270-2277