

# Nuovi dati sperimentali sul profilo cinetico di marbofloxacin nella tartaruga comune (*Caretta caretta*) dopo somministrazione endovenosa e intramuscolare



La terapia antibatterica rappresenta un importante componente della gestione veterinaria degli esemplari di *Caretta caretta* e marbofloxacin viene frequentemente utilizzata in questa specie alla dose di 2 mg/kg. Lo scopo della ricerca è di approfondire e confrontare dati già presenti in letteratura sull'andamento cinetico di marbofloxacin in *Caretta caretta*. Sono stati utilizzati 6 esemplari sani ai quali è stata somministrata una singola dose di Marbocyl® 2%, pari a 2 mg/kg di marbofloxacin: agli animali A, B, D per via endovenosa (IV) e agli animali C, E, F per via intramuscolare (IM). Sono stati eseguiti prelievi di sangue alle seguenti scadenze temporali: Gruppo IV 0, 10, 20, 30, 45 minuti, 1, 2, 4, 8, 12 ore, 1, 2, 2,5 giorni; Gruppo IM 0, 30 minuti, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 ore, 1, 2, 2,5 giorni. L'analisi di marbofloxacin è stata condotta con metodica HPLC-UV ( $\lambda$  295 nm). La definizione dei parametri cinetici è stata effettuata sulla base dell'andamento concentrazione ematica/tempo mediante un modello non-compartimentale. Le due modalità di somministrazione determinano profili di concentrazioni ematiche molto simili, specialmente dopo 2 ore (IV) e 4 ore (IM), per essere praticamente sovrapponibili a 1 giorno. L'antibatterico risulta dosabile ancora all'ultima scadenza sperimentale (2,5 giorni). Il volume di distribuzione risulta  $> 1$  L/kg e, per via IM, marbofloxacin è caratterizzata da una biodisponibilità molto elevata ( $F = 131,43 \pm 12,06$  %).

Giordano Nardini<sup>a</sup>\*,  
Med Vet, PhD,  
Dipl ECZM (Herp)

Fulvio Maffucci<sup>b</sup>,  
Scie Amb

Nicola Di Girolamo<sup>c</sup>,  
Med Vet, MSc (EBHC)

Flegra Bentivegna<sup>b</sup>,  
Scie Biol

Andrea Barbarossa<sup>d</sup>,  
Med Vet, PhD

Petra Cagnardi<sup>e</sup>,  
Med Vet, PhD

Stefania Leopardi<sup>a</sup>,  
Med Vet, MS

Anna Zaghini<sup>d</sup>, MS

## INTRODUZIONE

La tartaruga comune (*Caretta caretta*) è la specie di tartaruga marina più diffusa nel Mediterraneo<sup>1,2</sup>, è quindi possibile ritrovarla con una certa frequenza nei Centri di Recupero italiani. Le presentazioni cliniche più frequenti in questa specie sono malattie infettive (batteri-

che e virali) ed episodi di tipo traumatico, nutrizionale e parassitario<sup>3,4</sup>. Numerosi sono i batteri responsabili di infezioni in questi cheloni. I batteri più comunemente isolati da esemplari spiaggiati di questa specie sono: *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Escherichia coli*, *Pasteurella* spp., *Proteus* spp. e *Vibrio*<sup>5,6,7,8</sup>. Spesso è quindi ne-

<sup>a</sup> Clinica Veterinaria Modena Sud, Spilamberto (MO), Italia;

<sup>b</sup> Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli, Italia; <sup>c</sup> Clinica per Animali Esotici, Centro Veterinario Specialistico, Roma, Italia;

<sup>d</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna, Italia; <sup>e</sup> Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Italia.

\* Corresponding author (giordano.nardini@gmail.com)

Ricevuto: 27/10/2013 - Accettato: 14/04/2014

Parte dei dati sono stati presentati come poster a: 28th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation (2008) - Book of Abstracts, 45, LORETO, BAJA CALIFORNIA: International Sea Turtle Society, Mexico, January 18-26

cessario attuare terapie antimicrobiche nel corso della gestione clinica di esemplari spiaggiati.

I rettili mostrano differenze clinicamente rilevanti nella distribuzione e nell'eliminazione degli antibiotici rispetto ai mammiferi<sup>9,10</sup>.

Di conseguenza per impostare una terapia antimicrobica adeguata è necessario essere a conoscenza di farmacocinetiche specifiche. I fluorochinoloni sono tra gli antibatterici di frequente impiego nei rettili ed in *Caretta caretta* per il loro ampio spettro d'azione. Sono inoltre caratterizzati da una buona maneggevolezza, da caratteristiche cinetiche ottimali (es. ampio volume di distribuzione, bassa percentuale di legame alle sieroproteine), da bassi valori di minima concentrazione inibente (MIC) verso i batteri sensibili e da un'attività battericida prevalentemente di tipo concentrazione-dipendente<sup>11,12,13,14</sup>.

In *Caretta caretta*, Jacobson e colleghi<sup>14</sup> hanno valutato le concentrazioni plasmatiche di enrofloxacin dopo somministrazione orale, confermandone la buona maneggevolezza e la validità della cinetica, evidenziando tuttavia come l'assorbimento per via orale sia fortemente influenzato dalla presenza di cibo.

**I rettili spesso mostrano differenze clinicamente rilevanti nella distribuzione e nell'eliminazione degli antibiotici, se comparati ai mammiferi.**

La marbofloxacin (MBX) è un fluorochinolone ad esclusivo utilizzo in Medicina Veterinaria che, rispetto ad enrofloxacin, presenta migliori caratteristiche cinetiche (es. biodisponibilità più elevata ed emivita più lunga) a parità di spettro dell'azione antibatterica.

Sebbene MBX presenti profili cinetici differenti nelle diverse specie animali sulle quali è stato valutato, una dose pari a 2 mg/kg sembra assicurare una buona efficacia terapeutica ed un valido profilo cinetico.

In letteratura sono presenti solo 2 studi di cinetica di MBX in *Caretta caretta*, di cui uno soltanto descrive il profilo cinetico per le vie endovenosa ed intramuscolare comunemente utilizzate in questa specie<sup>15,16</sup>.

Il limitato numero di soggetti che generalmente è possibile reclutare negli studi su *Caretta caretta* spesso non fornisce la necessaria potenza per una adeguata indagine statistica.

Sulla base di questo, lo scopo del presente studio, anch'esso condotto su pochi soggetti, è quello di fornire ulteriori informazioni sulla cinetica ematica di MBX in tale specie, andando ad integrare i dati già disponibili in letteratura.

## MATERIALI E METODI

### Prova in vivo

Per la ricerca sono stati utilizzati 6 esemplari clinicamente sani di *Caretta caretta*, presenti presso il "Turtle Point" della Stazione Zoologica "Anton Dohrn" di Napoli.

Le tartarughe erano mantenute individualmente in vasche (1,5 x 1,0 x 0,6 m) della capacità di 1000 litri e direttamente collegate al sistema di trattamento delle acque della Stazione Zoologica. L'acqua presente nelle vasche veniva prelevata a circa 1 km di distanza dalla costa e ad una profondità di 3 m. In ciascuna vasca, l'aerazione dell'acqua e la rimozione meccanica dei materiali di scarto sospesi erano assicurati da opportuni sistemi (rispettivamente: SCL V5, Effepizeta Spa, Concorrezzo, Italia; SHS 50-125/22/A, Lowara Srl, Montecchio Maggiore, Italia e LSC 48, Lacron-Waterco, Sidney, Australia). Il controllo della carica batterica, virale e fungina era assicurato da un sistema a raggi UV (REX M-2PE140-C, WEDECO Ag, Herford, Germania), mentre la temperatura dell'acqua era mantenuta a circa 21°C da un termoriscaldatore (RE/U 21, ZPCE, Saint Barthélemy d'Anjou Cedex, Francia).

Durante l'intera prova sperimentale gli animali sono stati mantenuti nelle condizioni ambientali standard (temperatura e ciclo luce-buio) e hanno assunto una dieta, che solitamente viene somministrata nel Centro, a base di molluschi vari e pesce azzurro.

Gli animali (peso a digiuno variabile da 10 a 42,3 kg), sono stati suddivisi in 2 gruppi sperimentali da 3 esemplari ciascuno, cercando di mantenere un peso corporeo il più possibile omogeneo all'interno di ciascun gruppo (Tabella 1). A ciascun esemplare è stata somministrata una singola dose di Marbocyl® 2% iniettabile (Azienda Terapeutica Italiana A.T.I. s.r.l. Gruppo Fatto, Ozzano Emilia-Bologna, Italia) pari a 2 mg/kg di peso corporeo per via endovenosa (vena giugulare, tramite iniezione) al gruppo IV (tartarughe A, B e D) e per via intramuscolare (muscolo pettorale) al gruppo IM (tartarughe C, E ed F) (Tabella 1). La scelta del dosaggio di MBX (2 mg/kg) si è basata su dati della letteratura che considerano questo dosaggio come terapeutico nella

**Tabella 1 - Distribuzione del trattamento con marbofloxacin (dose singola pari a 2 mg/kg) negli esemplari inclusi nello studio**

Esemplare	Peso a digiuno (kg)	Marbocyl 2% (2 mg/kg)	Via di somministrazione
A	29,45	2,95 ml	IV
B	27,00	2,70 ml	IV
C	42,28	4,20 ml	IM
D	10,00	1,00 ml	IV
E	31,00	3,00 ml	IM
F	39,00	3,90 ml	IM

maggior parte delle specie animali (mammiferi e non) e per tutte le vie di somministrazione.

Per la definizione del profilo cinetico di MBX, da ciascun animale sono stati eseguiti 13 prelievi di sangue alle seguenti scadenze sperimentali: IV 0, 10, 20, 30, 45 minuti, 1, 2, 4, 8, 12 ore, 1, 2, 2,5 giorni; IM 0, 30 minuti, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 ore, 1, 2, 2,5 giorni. Il sangue veniva prelevato dalla vena giugulare controlaterale mediante provette in plastica con vuoto interno (Vacu-test KIMA Arzergrande, Italia, 4 mL, litio-eparina). Il quantitativo di sangue per ciascun prelievo era tale da garantire una quantità di plasma pari a 1 mL. I campioni di sangue sono stati sottoposti a centrifugazione per separare il plasma, quindi conservati in congelatore alla temperatura di -20°C fino al momento delle determinazioni analitiche.

La prova sperimentale è stata effettuata in ottemperanza alla legislazione vigente relativa al benessere degli animali oggetto di sperimentazione e previa autorizzazione del Ministero della Salute (D.L. n° 116/1992 - Autorizzazione Ministeriale - Decreto n° 10/2004-C rilasciato in data 11/02/2004 dal Ministero della Salute).

**A ciascun esemplare è stata somministrata una singola dose di Marbocyl® 2% iniettabile (Azienda Terapeutica Italiana A.T.I. s.r.l. Gruppo Fatro, Ozzano Emilia-Bologna, Italia) pari a 2 mg/kg di peso corporeo per via endovenosa (vena giugulare) al gruppo IV (tartarughe A, B e D) e per via intramuscolare (muscolo pettorale) al gruppo IM (tartarughe C, E ed F).**

#### Analisi marbofloxacin

L'estrazione e la purificazione di MBX dai campioni di plasma è stata eseguita secondo le indicazioni di Schneider e colleghi<sup>17</sup>, con lievi modifiche riguardanti la fase acquosa di estrazione e la fase mobile cromatografica. L'analisi dei campioni incogniti e la validazione del metodo analitico, in termini di specificità, sensibilità e linearità, sono state condotte mediante HPLC-UV utilizzando un Sistema Beckman Gold (Gold Programmable Solvent Module 126 pump system, Gold Autosampler system 507, Beckman Programmable Detector Module 168 as diode UV Detector and a control station IBM Thinkcenter - Software 32 Karat). È stata impiegata una colonna Phenomenex Gemini C18 5 µm (250 x 4,6 mm) mantenuta a temperatura ambiente. La fase mobile (flusso 0,7 mL/min) era costituita per un 85% da H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,01M e per il restante 15% da una soluzione di CH<sub>3</sub>CN (85:15 v/v). Il volume di iniezione era pari a 50 µL. Le analisi sono state condotte in spettrofotometria UV ad una lunghezza d'onda di 295 nm.

Nelle condizioni cromatografiche utilizzate, MBX è contraddistinta da un tempo di ritenzione pari a circa 9,5 minuti, mentre ofloxacin (SI) presenta un tempo di ritenzione di circa 11,5 minuti, evidenziando la buona specificità del metodo. I campioni "bianchi", costituiti da plasma prelevato subito prima del trattamento (tempo 0), non presentano interferenti in corrispondenza dei tempi di ritenzione sopra citati. La metodica è caratterizzata da un'elevata sensibilità con limiti di rilevabilità (LOD) e di quantificazione (LOQ) risultati rispettivamente di 3 ppb e di 5 ppb. La correlazione tra la concentrazione degli analiti ed il rapporto tra l'area del picco di ciascuno standard e quella del relativo standard interno è risultata lineare ( $R^2 \geq 0,998$ ) nel range di concentrazione utilizzato che è particolarmente ampio (5-10000 ppb).

Le analisi dei campioni sono state eseguite in conformità alla Norma ISO 9001 per la quale il Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie è certificato.

#### Elaborazione cinetica

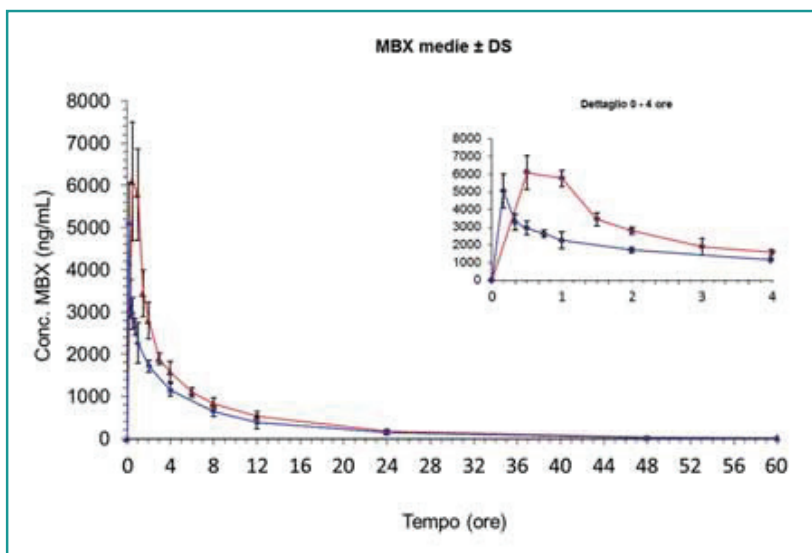
La definizione dei principali parametri cinetici di MBX è stata effettuata sulla base dell'andamento concentrazione ematica/tempo, a partire dalle concentrazioni plasmatiche di MBX riscontrate in ogni singolo animale ed utilizzando il software WinNonlin Prof. 6.1 (Pharsight Corp, St Louis, Mo).

Sulle concentrazioni plasmatiche di MBX è stata condotta un'analisi non-compartimentale. Per ciascun animale sono stati calcolati: concentrazione massima ( $C_{max}$ ), tempo di picco ( $T_{max}$ ), emivita della fase terminale ( $t_{1/2\lambda_z}$ ), area sotto alla curva dal tempo 0 fino all'ultima concentrazione misurabile ( $AUC_{last}$ ), volume apparente di distribuzione ( $V_d$ ), volume di distribuzione corretto per la frazione di dose assorbita ( $V_d/F$ ), volume apparente di distribuzione allo steady state ( $V_{ss}$ ), body clearance (Cl), body clearance corretta per la frazione di dose assorbita ( $Cl/F$ ), biodisponibilità (F).

**La buona distribuzione di MBX, per entrambe le vie di somministrazione, è dimostrata dagli elevati valori del volume di distribuzione:  $V_d$ ,  $V_d/F$  e  $V_{ss}$  sono superiori o poco inferiori a 1 L/kg (Tabella 2).**

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Per tutto il periodo sperimentale e per entrambe le vie di somministrazione, in nessuna tartaruga oggetto della sperimentazione sono state rilevate reazioni avverse all'antibiotico (sistemiche o nel sito di iniezione). Il consumo di cibo, e l'attività generale degli esemplari sono rimasti inalterati e non si sono evidenziati atteggiamenti



**Figura 1** - Andamento delle concentrazioni plasmatiche di marbofloxacina in *Caretta caretta* per somministrazione endovenosa ed intramuscolare di una dose singola pari a 2 mg/kg. Gli indicatori blu indicano valori medi per la somministrazione endovenosa. Gli indicatori rossi indicano valori medi per la somministrazione intramuscolare.

Tabella 2 - Parametri cinetici (valori medi $\pm$ DS) di marbofloxacina in <i>Caretta caretta</i> per somministrazione endovenosa ed intramuscolare di una dose singola pari a 2 mg/kg				
Parametri		IV	IM	
$C_{max}$	$\mu\text{g/mL}$	5,09 $\pm$ 0,96	6,65 $\pm$ 1,11	
$T_{max}$	h	0,17 $\pm$ 0,00	0,67 $\pm$ 0,29	
$t_{1/2\lambda z}$	h	11,76 $\pm$ 1,32 <sup>a</sup>	12,78 $\pm$ 1,14 <sup>a</sup>	
$AUC_{last}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$	20,11 $\pm$ 3,49	26,42 $\pm$ 4,21	
$V_d$	L/kg	1,71 $\pm$ 0,36		
$V_d/F$	L/kg		1,41 $\pm$ 0,27	
$V_{ss}$	L/kg	0,94 $\pm$ 0,05		
$Cl$	$\text{mL}\cdot\text{h/kg}$	100,45 $\pm$ 18,79		
$Cl/F$	$\text{mL}\cdot\text{h/kg}$		76,20 $\pm$ 12,32	
$F$	%		131,43 $\pm$ 12,06	

<sup>a</sup> Media armonica.

$C_{max}$ , concentrazione massima;  $T_{max}$ , tempo di picco;  $t_{1/2\lambda z}$ , emivita della fase terminale;  $AUC_{last}$ , area sotto alla curva dal tempo 0 fino all'ultima concentrazione misurabile;  $V_d$ , volume apparente di distribuzione;  $V_d/F$ , volume di distribuzione corretto per la frazione di dose assorbita;  $V_{ss}$ , volume apparente di distribuzione allo steady state;  $Cl$ , body clearance;  $Cl/F$ , body clearance corretta per la frazione di dose assorbita;  $F$ , biodisponibilità.

particolari. Queste osservazioni concordano con quanto riportato da diversi Autori in sperimentazioni analoghe su *Caretta caretta*<sup>15,16</sup>, come pure su altre specie animali<sup>11,12</sup>, e come, più in generale, riguardo ai fluorochinoloni<sup>13,14</sup>. In Figura 1 è possibile osservare l'andamento delle concentrazioni medie ( $\pm$ DS) di MBX alle diverse scadenze sperimentali in funzione del tempo per le due vie di somministrazione.

Per entrambe le modalità di somministrazione, MBX risulta ancora dosabile all'ultima scadenza sperimentale (2,5 giorni), inoltre i livelli ematici sono molto simili (Figura 1), specialmente dopo 2 ore (IV) e 4 ore (IM), per divenire praticamente sovrapponibili a 1 giorno, analogamente a quanto riportato da Lai e colleghi<sup>15</sup>, sebbene i tempi di prelievo siano leggermente diversi. La somministrazione IM risulta caratterizzata da una biodisponibilità elevata (Tabella 2). La buona distribuzione di MBX, per entrambe le vie di somministrazione, è dimostrata dagli elevati valori del volume di distribuzione:  $V_d$ ,  $V_d/F$  e  $V_{ss}$  sono superiori o poco inferiori a 1 L/kg (Tabella 2), contrariamente ai valori ottenuti da Lai e colleghi<sup>15</sup>. L'attività antibatterica di MBX in molte infezioni sistemiche (es. traumi e polmoniti) è quindi supportata anche dal parametro cinetico che descrive l'entità e la velocità della distribuzione, solitamente elevata per la buona capacità del fluorochinolone di penetrare nei tessuti<sup>17,18</sup>. Per quanto riguarda i processi di eliminazione, benché non siano state eseguite elaborazioni statistiche, le emivite della fase di eliminazione appaiono simili per le vie IV ed IM, con valori di clearance ( $Cl$  e  $Cl/F$ ) molto superiori a quelli di Lai e colleghi<sup>15</sup>, ma ben correlati alle altre ricerche presenti in letteratura<sup>16,17,18</sup>.

## CONCLUSIONI

Anche in *Caretta caretta* MBX ha dimostrato una buona tollerabilità senza effetti secondari clinicamente rilevanti.

Per gli antibatterici la determinazione dei protocolli terapeutici (dosi e intervalli tra le dosi) è legata al rapporto PK/PD; per i fluorochinoloni, che sono principalmente concentrazione-dipendenti, i rapporti  $AUC/MIC$  e  $C_{max}/MIC$  delle popolazioni batteriche sensibili e/o più resistenti, sono quelli che forni-

scono le migliori indicazioni<sup>19</sup>. In questo studio, non è stata prevista l'estrapolazione PK/PD, anche in ragione del fatto che le MIC di MBX nei confronti delle principali specie batteriche isolate da *Caretta caretta* restano ancora sconosciute<sup>6</sup>.

La generale assenza di effetti indesiderati nelle tartarughe oggetto della sperimentazione ed i parametri cinetici favorevoli che descrivono MBX somministrata alla dose di 2 mg/kg IV ed IM, suggeriscono che questo fluorochinolone possa essere adatto per il

trattamento di infezioni batteriche anche in questi esemplari, sebbene, analogamente a quanto sottolineano studi precedenti<sup>15,16</sup>, sono necessari ulteriori approfondimenti soprattutto per dosaggi ripetuti, comprendenti anche la valutazione del rapporto PK/PD.

Inoltre, considerato che l'enrofloxacin può dare lesioni necrotiche nel punto di inoculo<sup>20</sup>, saranno utili future valutazioni a lungo termine durante l'impiego clinico.

#### PUNTI CHIAVE

- In letteratura sono presenti solo 2 studi di cinetica di marbofloxacin in *Caretta caretta*, di cui uno soltanto descrive il profilo cinetico per le vie endovenosa ed intramuscolare comunemente utilizzate in questa specie per la somministrazione delle terapie antibiotiche.
- Gli animali sono stati suddivisi in 2 gruppi sperimentali da 3 esemplari ciascuno, sono stati mantenuti nelle condizioni ambientali standard (temperatura e ciclo luce-buio) ed hanno assunto la normale dieta.
- L'estrazione e la purificazione di MBX dai campioni di plasma è stata eseguita utilizzando ofloxacin come standard interno e previa estrazione dell'analita con fase organica.
- Per entrambe le modalità di somministrazione la marbofloxacin risulta ancora dosabile all'ultima scadenza sperimentale (2.5 giorni).
- La buona distribuzione di marbofloxacin, per entrambe le vie di somministrazione, è dimostrata dagli elevati valori del volume di distribuzione,  $V_d$ ,  $V_d/F$  e  $V_{ss}$  sono superiori o poco inferiori a 1 L/kg, contrariamente a studi precedenti ma in accordo con studi di cinetica nelle altre specie animali (mammiferi, volatili, rettili).

### Update on pharmacokinetic profile of marbofloxacin in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) after intravenous and intramuscular injection

#### Summary

*Antibiotic therapy represents an essential aid in the treatment of sick or injured loggerhead sea turtle (Caretta caretta). Marbofloxacin is commonly used in loggerhead sea turtles at 2 mg/kg similarly to other species. The aim of the study was to increase our understanding of marbofloxacin pharmacokinetic in Caretta caretta. Six healthy turtles were divided in two groups: the IV group (subjects A, B, D) and the IM group (subjects C, E, F). Each animal received a single dose of Marbocyl® 2%, corresponding to 2 mg/kg of marbofloxacin. The drug was administered via intravenous (IV) and intramuscular (IM) routes. After the administration, 13 blood samples were collected at different times: for IV group at 0, 10, 20, 30, 45 minutes, 1, 2, 4, 8, 12 hours and 1, 2, 2.5 days; for IM group at 0, 30 minutes, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 hours, and 1, 2, 2.5 days. A HPLC-UV ( $\lambda$  295 nm) analytical method was used to measure marbofloxacin concentrations in blood. The pharmacokinetic behavior of the drug was best described by a non-compartmental model. The plasma concentration profiles of marbofloxacin were similar for the two administration routes and the residual concentrations at 1 day were almost identical. The molecule was detected up to 2.5 days. The apparent volume of distribution was  $>1$  L/kg. The IM route resulted in a rapid and complete marbofloxacin absorption ( $F = 131, 43 \pm 12, 06\%$ ).*



## BIBLIOGRAFIA

1. Casale P, Margaritoulis D. Sea turtle in the Mediterranean sea: distributions, threats and conservation priorities. Gland, Switzerland: IUCN, 2010, pp 1-294.
2. Trainito E. Rettili: Tartarughe a rischio. In: Trainito E. Ed. Atlante di flora e fauna del Mediterraneo. 4ª Ed. Cornaredo (MI): Il Castello Ed., 2011, pp 296-301.
3. Flint E. Free-ranging sea turtle health. In Wyneken J, Lohmann KJ, Musick JA Eds. The biology of sea turtles. Boca Raton: CRC Press, 2013, pp 379-399.
4. Flint M, Patterson-Kane JC, Limpus CJ *et al*. Postmortem diagnostic investigation of disease in free-ranging marine turtle populations: a review of common pathologic findings and protocols. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 21:733-759, 2009.
5. Schillinger L. Principi generali di terapia nei rettili. *Summa, Nuovi animali da compagnia*, 178: 140-144, 2000.
6. Orós J, Calabuig P, Déniz S. Digestive pathology of sea turtles stranded in the Canary Islands between 1993 and 2001. *Veterinary Record* 155:169-174, 2004.
7. Mader DR. Reptile medicine and surgery. 2<sup>nd</sup> Ed. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2006.
8. Chinnadurai SK, DeVoe RS. Selected infectious diseases of reptiles. *Veterinary Clinics of Exotic Animals* 12:583-596, 2009.
9. Nardini G, Barbarossa A, Dall'Occo A *et al*. Pharmacokinetics of cefovecin sodium after subcutaneous administration to Hermann's Tortoises (*Testudo hermanni*). *American Journal of Veterinary Research* 75:1-6, 2014.
10. Stegemann MR, Sherington J, Blanchflower S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefovecin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 29:501-511, 2006.
11. Brown SA. Fluoroquinolones in animal health. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 19:1-14, 1996.
12. Schneider M. Pharmacokinetics of marbofloxacin in dogs after oral and parenteral administration. *Pharmacology and Therapeutics* 19:56-61, 1996.
13. Papich MG. Pharmacokinetics of enrofloxacin in reptiles. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 21(10), 1999.
14. Jacobson E, Gronwall R, Maxwell L *et al*. Plasma concentration of enrofloxacin after single-dose oral administration in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 12:628-635, 2005.
15. Lai O, Marín R, Laricchiuta P *et al*. Pharmacokinetics of marbofloxacin in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) after single dose of intravenous and intramuscular doses. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 40:501-507, 2009.
16. Marín P, Lai O, Laricchiuta P *et al*. Pharmacokinetics of marbofloxacin after a single oral dose to loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Research in Veterinary Science* 87:248-286, 2009.
17. Schneider M, Thomas V, Boissière B *et al*. Pharmacokinetics of marbofloxacin in dogs after oral and parenteral administration. *Pharmacology and Therapeutics* 19:56-61, 1996.
18. Alibaldi FS, Lees P. Pharmacokinetics and pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of marbofloxacin in calf serum, exudate and transudate. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 25:161-174, 2002.
19. Alibaldi FS, Badrelin HA, Landoni MF *et al*. Pharmacokinetics and PK/PD modeling of danofloxacin in camel serum and tissue cage fluids. *Veterinary Journal* 165:104-118, 2003.
20. Prezant RM, Isaza I, Jacobson ER. Plasma concentrations and disposition kinetics of enrofloxacin in gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 25:82-87, 1994.

ESVE

European Society of Veterinary Endocrinology

# Summer School of Veterinary Endocrinology 2016

Bologna, 26<sup>th</sup> June—1<sup>st</sup> July 2016

The course will provide participants with advanced teaching in canine and feline clinical endocrinology. Lecture sessions will be both interactive and didactic. Language: English only.

**TARGET:** Residents, academic staff involved in veterinary internal medicine, veterinary surgeons with specific interest in veterinary endocrinology.



## Lecturers

Julia Buchholz  
Sylvie Daminet  
Lucy Davison  
Edward Feldman  
Luca Ferasin  
Diego Ferone

Sara Galac  
Peter Graham  
Hans S. Kooistra  
Bjorn Meij  
Stijn Niessen

Mark E. Peterson  
Ian Ramsey  
Claudia E. Reusch  
Nadja S. Sieber-Ruckstuhl  
Eric Zini

Program and registration at <http://www.esve.org/>

Contact address: Federico Fracassi, [federico.fracassi@unibo.it](mailto:federico.fracassi@unibo.it)