

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 979 393**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 47/10** (2007.01)

**A61K 47/20** (2006.01)

**A61K 31/609** (2006.01)

**A61P 31/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.09.2018 PCT/EP2018/074863**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.03.2019 WO19053180**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.09.2018 E 18765666 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2024 EP 3681468**

54 Título: **Composición antimicrobiana**

30 Prioridad:

**15.09.2017 EP 17191465**

**20.09.2017 EP 17192055**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**25.09.2024**

73 Titular/es:

**UNION THERAPEUTICS A/S (100.0%)**

**Tuborg Havnevej 18**

**2900 Hellerup, DK**

72 Inventor/es:

**GUYONNET, JÉRÔME;**

**ZEMIRILINE, CLAUDINE y**

**BUTTY, PASCAL**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 979 393 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Composición antimicrobiana

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a una nueva composición tópica que comprende niclosamida y/u oxiclozanida y a dicha composición para su uso en el tratamiento o prevención de pioderma o dermatitis en mamíferos no humanos.

Antecedentes de la invención

10 La piel de los animales está constantemente expuesta y atacada por microorganismos patógenos. Como primera línea de defensa contra tales ataques, la epidermis del animal grueso presenta un pH ligeramente básico y un contenido de agua relativamente bajo asociado a la presencia de péptidos antibióticos con acción bactericida. Sin embargo, los cambios en la estructura de la epidermis, tales como el aumento de la humedad o las heridas en la piel, generalmente conducen a la colonización e infección de la piel por microorganismos patógenos y, a menudo, evolucionan hacia la pioderma.

15 La pioderma canina representa un grupo común de enfermedades de la piel caracterizadas por una infección bacteriana de la piel. En la gran mayoría de los casos, el organismo causante es *Staphylococcus pseudintermedius*, aunque también pueden estar implicadas otras especies de estafilococos (por ejemplo, *S. aureus*, *S. schleiferi*). También se pueden aislar bacterias no estafilocócicas (por ejemplo *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) de la piel afectada.

20 *Staphylococcus pseudintermedius* es un residente normal de las membranas mucosas caninas y se cree que coloniza la superficie de la piel de forma transitoria en perros sanos. La mayoría de los casos de pioderma canina están asociados con causas subyacentes, tales como daño cutáneo, enfermedad inflamatoria de la piel y afecciones primarias que causan compromiso inmunológico. Es una complicación frecuente de la dermatitis atópica. Como tal, incluso después de una resolución completa, la pioderma tiene tendencia a recurrir si la enfermedad subyacente no se trata adecuadamente. Se reconocen varias manifestaciones clínicas diferentes de pioderma canina según el tipo y la distribución de la lesión. Se considera útil la clasificación según la profundidad de la lesión, porque la elección del tratamiento antimicrobiano puede variar según las capas de tejido cutáneo afectadas.

25 El tratamiento de la pioderma canina se ha basado tradicionalmente en la administración antibacteriana sistémica durante 3-4 semanas, sugiriéndose la terapia antimicrobiana tópica como tratamiento complementario. Las directrices recomiendan amoxicilina-ácido clavulánico, cefalexina o clindamicina como agentes empíricos de primera línea para la terapia antibiótica sistémica.

30 Con una disminución general de la susceptibilidad a los antibióticos de los patógenos bacterianos y específicamente de *Staphylococcus pseudintermedius* asociada con la pioderma canina, el tratamiento de estos casos se está volviendo cada vez más desafiante. Desde el primer informe de cepas resistentes a la meticilina en 1999 (es decir, cepas resistentes a todos los miembros de la familia de las betalactámicas), se ha informado en todo el mundo de un número cada vez mayor de cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes. La prevalencia de estas cepas entre los aislados clínicos varía mucho, desde 8.2 % a 47.9 % dependiendo de la ubicación geográfica y el tipo de práctica (médico general o remitente).

35 Con el aumento de la resistencia a los antimicrobianos en la práctica clínica de pequeños animales, la terapia tópica se ha convertido en un componente importante del uso racional de antimicrobianos para el tratamiento de infecciones bacterianas superficiales. Estudios recientes respaldan ahora las recomendaciones de utilizar antisépticos como único tratamiento de las infecciones cutáneas superficiales no complicadas. El documento WO2013/182990 divulga la preparación de composiciones antiparasitarias veterinarias a base de la oxiclozanida para administración a la piel.

40 El documento WO2016038035 divulga el uso tópico de salicilanilidas halogenadas en la prevención o tratamiento tópico de una infección o enfermedad causada por bacterias grampositivas. Sin embargo, el documento WO2016038035 se centra en un tipo muy específico de medicación tópica a través de cremas, espumas, geles, gotitas, lociones y ungüentos que se extiende específicamente sobre las zonas afectadas de la piel. El problema con este enfoque es que cuando se aplican a perros, estos tratamientos tópicos locales están sujetos a lamido del fármaco, lo que reduce la eficacia del tratamiento e incluso puede causar problemas de seguridad para el animal.

45 Por lo tanto, todavía existe la necesidad en la industria de un tratamiento antibiótico potente para la pioderma canina que sea fácil de aplicar, que sea de acción prolongada, de modo que puede ser necesario un número limitado de aplicaciones para completar el tratamiento, que sea eficaz en el tratamiento de la pioderma e incluso pioderma causada por bacterias multirresistentes, que se puede aplicar por vía tópica pero lejos del área específica de la piel que se va a tratar (es decir, en un área fuera del alcance de lamer), y que no conduce al desarrollo de resistencias debido a su excelente cumplimiento del tratamiento.

Sumario de la invención

5 Sorprendentemente, los presentes inventores encontraron una composición tópica que comprende al menos una salicilanilida halogenada y DMSO en un disolvente que comprende éter monoetílico de dietilenglicol que es extremadamente eficaz para permitir la distribución de la oxiclozanida a través de la superficie de la piel de un animal, permitiendo así una aplicación de un unción dorsal puntual o en línea para el tratamiento de la pioderma. Por lo tanto, no hay necesidad de un tratamiento local de la zona afectada por pioderma, pero una sola aplicación de la composición por unción dorsal puntual o en línea cerca de la zona infectada, o en el lomo del animal entre los hombros, permite la difusión del activo en cualquier área de la piel del animal afectada por la pioderma con una exposición sistémica limitada al fármaco.

10 En un primer aspecto, el objeto de la presente invención es una composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea que comprende de 2 a 20 % p/v de al menos una salicilanilida halogenada, o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable de la misma, de 35 a 55 % p/v de dimetilsulfóxido, en la que la al menos una salicilanilida halogenada se selecciona de niclosamida y/u oxiclozanida y en la que la composición se disuelve en éter monoetílico de dietilenglicol.

15 También se proporciona una composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea para su uso en el tratamiento o prevención de pioderma o dermatitis en mamíferos no humanos en la que la composición se aplica por vía tópica al mamífero no humano como una única aplicación opcionalmente repetida varias veces cada 5 a 10 días, en la que dicha composición comprende de 2 a 20 % p/v de al menos una salicilanilida halogenada, o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable de la misma, de 35 a 55 % p/v de dimetilsulfóxido, en la que la al menos una salicilanilida halogenada se selecciona de niclosamida y/u oxiclozanida, y en la que la composición se disuelve en éter monoetílico de dietilenglicol.

20 Descripción detallada de la invención

Los siguientes términos utilizados en la especificación y reivindicaciones siguientes tienen el siguiente significado tal como se describe en el presente documento.

25 Los términos "tratar" o "tratamiento" en el contexto de esta invención se refieren al alivio, erradicación o prevención de una patología, una afección o una enfermedad. Puede incluir la prevención de la enfermedad o infección causada por bacterias grampositivas, la supresión o alivio de uno o más de los síntomas de una enfermedad o infección causada por bacterias grampositivas tales como pioderma o dermatitis, la reducción o erradicación de una colonización bacteriana grampositiva no sintomática de un área del cuerpo, la reducción o erradicación de bacterias grampositivas de una infección cutánea sintomática, la reducción o erradicación de bacterias grampositivas que colonizan un área del cuerpo afectada por una afección de la piel que no sea una infección de la piel (por ejemplo, colonización de una afección inflamatoria de la piel, tal como un área de la piel afectada por dermatitis, por ejemplo, dermatitis atópica), la supresión o el alivio de uno o más síntomas de una enfermedad causada por bacterias grampositivas de un área del cuerpo afectado por otra enfermedad no infecciosa (por ejemplo, una afección inflamatoria de la piel tal como una lesión cutánea de dermatitis atópica), prevención de la infección bacteriana grampositiva de la piel afectada por una afección inflamatoria de la piel (por ejemplo, prevención de la infección de una lesión de dermatitis) y prevención de la infección bacteriana grampositiva de la piel dañada por traumatismos (por ejemplo, heridas, quemaduras, picaduras o mordeduras), por cirugía, por dispositivos médicos (por ejemplo, agujas, catéteres o cánulas, etc.) o piel afectada por una afección que compromete la función de barrera de la piel.

40 El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos descritos en el presente documento y que no son biológicamente o de otro modo indeseables. Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas para los expertos en la técnica.

45 En un primer aspecto, esta invención se refiere a una composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea que comprende de 2 a 20 % p/v de al menos una salicilanilida halogenada, o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable de la misma, de 35 a 55 % p/v de dimetilsulfóxido, en la que la al menos una salicilanilida halogenada se selecciona de niclosamida y/u oxiclozanida y en la que la composición se disuelve en éter monoetílico de dietilenglicol.

En el contexto de la presente invención, una "medicación tópica" es un medicamento que se aplica a superficies corporales tales como la piel o las membranas mucosas. Los medicamentos tópicos se diferencian de muchos otros tipos de fármacos porque su mal manejo puede provocar ciertas complicaciones para el animal. o el administrador del fármaco.

50 La composición según la presente invención se administra vía unción dorsal puntual o en línea. Unción dorsal puntual significa que la cantidad total de la composición se administra en un único lugar de la piel del animal. Unción dorsal en línea significa que la composición se aplica sobre la piel del animal, desde la base de la cola a lo largo de la columna hasta los omóplatos, o desde la mitad de la espalda a lo largo de la columna hasta los omóplatos, o menos. La longitud de la aplicación "unción dorsal en línea" puede ser, por ejemplo, 30 cm, o 20 cm, o 15 cm, o 10 cm, o 5 cm, siendo la longitud preferida 10 cm. La composición para unción dorsal puntual o en línea se formula como una dosis unitaria adaptada al peso y/o tamaño del animal, y la dosis completa se aplica al animal de una vez.

Las salicilanilidas halogenadas son amidas de ácido salicílico y anilina. Tanto la niclosamida como la oxiclozanida son derivados clorados. Las salicilanilidas halogenadas según la presente invención, en vista de su perfil antimicrobiano contra especies de estafilococos caninos, son la niclosamida y la oxiclozanida, siendo la más preferida la oxiclozanida.

5 La composición según la presente invención comprende de 2 a 20 % p/v de al menos una salicilanilida halogenada seleccionada entre niclosamida y/u oxiclozanida. Esto significa de 5 a 20 gramos de soluto por 100 mililitros de solución final. Preferiblemente, la composición comprende de 5 a 15 % p/v, más preferiblemente de 8 a 12 % p/v de la al menos una salicilanilida halogenada, e incluso más preferiblemente de 9 a 11 % p/v.

La composición según la presente invención comprende además de 35 a 55 % p/v de dimetilsulfóxido, preferiblemente de 35 a 50 % p/v, incluso más preferiblemente aproximadamente el 45 % p/v de DMSO.

10 El término aproximadamente, utilizado para cualquier valor numérico en esta invención significa +/- 10 % del valor; por ejemplo: aproximadamente 10 significa de 9 a 11.

15 La composición para unción dorsal puntual o en línea como se describe en el presente documento comprende un vehículo disolvente de difusión que permite, mediante una simple aplicación en uno o más puntos de la superficie cutánea, la difusión sobre la totalidad de la misma y al nivel de las glándulas sebáceas. El sistema disolvente que consiste preferiblemente en un complejo de DMSO/Transcutol y oxiclozanida, almacenado en estas glándulas sebáceas, difunde progresivamente con el producto sebáceo a la superficie de la piel.

20 La composición puede contener además disolventes comúnmente conocidos en la técnica para potenciar la solubilidad de la salicinalinida halogenada, así como excipientes adicionales tales como emulsionantes, surfactantes, humectantes, conservantes, soluciones reguladoras, antioxidantes o colorantes. El excipiente adicional preferido según la presente invención es la monoetanolamina.

Todas las realizaciones descritas anteriormente para la composición según la presente invención también se aplican a la composición para su uso.

25 En otra realización, la presente invención se refiere a una composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea que comprende de 2 a 20 % p/v de al menos una salicilanilida halogenada, o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable de la misma, de 35 a 55 % p/v de dimetilsulfóxido, en la que la al menos una salicilanilida halogenada se selecciona de niclosamida y/u oxiclozanida, y en la que la composición se disuelve en éter monoetilico de dietilenglicol para su uso en el tratamiento o prevención de pioderma o dermatitis en mamíferos no humanos, en la que la composición se aplica por vía tópica al mamífero no humano como una aplicación única repetida opcionalmente varias veces cada 5 a 10 días.

30 La pioderma es una infección bacteriana cutánea piógena debida a especies de estafilococos, incluidas *S. pseudointermedius*, *S. schleiferi*, *S. aureus* y *S. lugdunensis*. Muy a menudo es secundaria a un procedimiento patológico subyacente, principalmente demodicosis, enfermedades alérgicas de la piel y endocrinopatía. Por lo tanto, siempre que se utilice la palabra pioderma en esta solicitud, se pretende que abarque todos estos aspectos.

35 La pioderma según se reivindica en la presente solicitud incluye pioderma superficial, superficial y profunda. La pioderma según la presente solicitud es preferiblemente pioderma canina e incluye dermatitis piodérmica, impétigo (dermatitis pustulosa superficial), foliculitis bacteriana superficial, pioderma del mentón (acné canino), dermatitis de los pliegues cutáneos (intertrigo, pioderma de los pliegues cutáneos), pioderma mucocutánea, pioderma nasal, pododermatitis bacteriana, furunculosis del pie canino (bullas interdigitales, piogranuloma interdigital). Lo más preferiblemente, la pioderma es pioderma superficial y de superficie.

40 La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea para su uso según la presente invención se aplica por vía tópica al mamífero no humano como una aplicación única repetida opcionalmente varias veces cada 5 a 10 días. Preferiblemente, se aplica al mamífero no humano una vez cada 5 a 10 días durante 3 a 6 semanas consecutivas. Más preferiblemente, la composición se aplica una vez cada 6 a 8 días durante 3 a 6 semanas consecutivas, e incluso más preferiblemente una vez por semana durante 3 a 6 semanas consecutivas. El tratamiento se puede repetir tantas veces como sea necesario y pueden ser necesarios períodos de tratamiento más prolongados para la pioderma profunda. La duración total del tratamiento es de 1 a 6 semanas, preferiblemente de 3 a 6 semanas, más preferiblemente de 4 a 5 semanas, incluso más preferiblemente, aproximadamente 4 semanas. La duración del tratamiento puede ser determinada fácilmente por el experto en la técnica, ya que se aplica durante 1 semana después de que hayan desaparecido todos los signos clínicos.

50 El mamífero no humano es preferiblemente un animal de compañía, más preferiblemente es un perro o un gato, incluso más preferiblemente es un perro.

La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea para su uso según la presente invención proporciona de 10 a 800 mg de salicilanilida halogenada, preferiblemente de 50 a 500 mg, incluso más preferiblemente, aproximadamente 200 mg de salicilanilida halogenada.

La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea para su uso según la presente invención se aplica a una dosis de 0.5 a 5 ml por 10 kg de peso corporal, preferiblemente, de 1 a 3 ml por 10 kg de peso corporal, incluso más preferiblemente aproximadamente 2 ml por cada 10 kg de peso corporal. La composición se formula como una dosis unitaria adaptada al peso y/o tamaño del mamífero no humano y se aplica la dosis completa al animal.

5 Ejemplos

Ejemplo 1: Composiciones A a I de unción dorsal puntual o lineal según la presente invención

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Oxiclozanida (% p/v)	8	9	10	12	15	20	2	5	11
DMSO (% p/v)	40	42	46	45	45	46	40	40	45
Monoetanolamina	3	-	-	-	-	3	3	-	-
Transcutol P (Qsp)	Qsp	Qsp	Qsp	Qsp	Qsp	Qsp	Qsp	Qsp	Qsp

El Transcutol P es éter monoetílico de dietilenglicol, también conocido como 2-(2-etoxietoxi)etanol.

10 Ejemplo 2: Curvas de inactivación en el tiempo de la oxiclozanida contra aislados caninos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudintermedius*.

La oxiclozanida VETRANAL era de SIGMA.

15 En este estudio se probaron 2 *Staphylococcus aureus* y 2 *Staphylococcus pseudintermedius*. Estas cepas se eligieron después de la determinación de la concentración inhibidora mínima (MIC) de la oxiclozanida mediante el método de microdilución en caldo. La MIC de la oxiclozanida para *Staphylococcus aureus* no. 16302 y no. 16315 son iguales a 0.5 µg/ml. La MIC de la oxiclozanida para *Staphylococcus pseudintermedius* no. 15401 y no. 215410 es igual a 0.125 µg/ml.

20 La curva de inactivación en el tiempo se utiliza para determinar la actividad bactericida o bacteriostática de las sustancias antibimicrobianas. Las curvas de inactivación en el tiempo de la oxiclozanida contra aislados caninos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudintermedius* se obtuvieron mediante el método de macrodilución en caldo. Después del contacto de diferentes cantidades fijas de la oxiclozanida con un inóculo, se cuentan las bacterias viables inmediatamente después del contacto y después de 1, 3, 6 y 24 horas. El recuento se realiza en medio agar sin sustancia antimicrobiana.

25 Los resultados se analizan trazando log<sub>10</sub> CFU/ml frente a tiempo para cada concentración probada. La actividad bactericida definida por la inactivación del 99.9 % del inóculo se determina a partir de curvas de inactivación en el tiempo observando la presencia de una disminución de ≥ 3 log<sub>10</sub> en CFU/ml.

30 Las cepas bacterianas se subcultivaron dos veces a partir de una crioesfera en agar Mueller Hinton y se incubaron a 37 °C, durante 18-24 horas. De los segundos subcultivos, las colonias aisladas se transfirieron a tubos que contenían 2 ml de Caldo Mueller Hinton para obtener suspensiones bacterianas a 10<sup>8</sup> CFU/ml, sabiendo que una densidad óptica de 0.1 a 620 nm corresponde a una suspensión bacteriana a 10<sup>8</sup> CFU/ml. Luego, las suspensiones bacterianas se ajustaron entre 5 10<sup>7</sup> y 1 10<sup>8</sup> CFU/ml mediante dilución en caldo Mueller Hinton.

Por cada concentración de oxiclozanida que se va a probar, 50 µl de solución de trabajo concentrada 100X y 100 µl de inóculo se agregaron a 5 ml de caldo Mueller-Hinton. Por tanto, el intervalo de concentraciones analizadas fue de 0.125 a 8 µg/ml y la concentración de microorganismo estuvo entre 1 10<sup>6</sup> y 2 10<sup>8</sup> CFU/ml.

35 Al mismo tiempo se preparó un tubo sin oxiclozanida: se agregaron 50 µl de DMSO y 100 µl de inóculo a 5 ml de caldo Mueller-Hinton y se utilizó como control de crecimiento. Los tubos se incubaron a 36 °C con agitación.

Los números de bacterias viables se determinaron inmediatamente después del contacto (TO) y después de 1, 3, 6 y 24 h de incubación.

40 En cada momento se tomaron muestras de cada tubo y se realizaron diluciones en caldo Mueller-Hinton. Luego, las diluciones se esparcieron sobre agar Mueller Hinton con placa en espiral. Después de 18 h de incubación a 36 °C, se realizó el recuento de colonias con un contador de colonias automático que determina las concentraciones de bacterias viables. La técnica empleada permitió cuantificar concentraciones bacterianas tan bajas como 20 CFU/ml.

Se trazaron curvas de inactivación en el tiempo para cada concentración de la oxiclozanida utilizando el software Microsoft Excel. El número de bacterias supervivientes se expresó como log<sub>10</sub> CFU/ml. Las curvas de inactivación en

## ES 2 979 393 T3

el tiempo de cada cepa representan la disminución del recuento de bacterias viables en función del tiempo para las concentraciones de la oxiclozanida en cuestión.

La actividad bactericida definida por la inactivación del 99.9 % del inóculo se determina a partir de curvas de inactivación en el tiempo observando la presencia de una disminución  $\geq 3 \log_{10}$  en CFU/ml.

5 Los números de bacterias viables para cada cepa se muestran en las tablas (1a a 1d).

Tiempo (h)	0	1	3	6	24
Recuento de bacterias viables (CFU/ml)					
Control <i>S. aureus</i> no.16 302	$1.5 \cdot 10^6$	$2.5 \cdot 10^6$	$1.6 \cdot 10^7$	$1.3 \cdot 10^9$	$2.0 \cdot 10^9$
Oxiclozanida 0.25 $\mu\text{g/ml}$ (1/2 MIC)	$2.8 \cdot 10^6$	$2.8 \cdot 10^6$	$2.9 \cdot 10^6$	$1.0 \cdot 10^7$	$1.4 \cdot 10^8$
Oxiclozanida 0.5 $\mu\text{g/ml}$ (MIC)	$2.9 \cdot 10^6$	$3.0 \cdot 10^6$	$2.9 \cdot 10^6$	$1.5 \cdot 10^6$	$1.4 \cdot 10^8$
Oxiclozanida 1 $\mu\text{g/ml}$ (2 MIC)	$2.6 \cdot 10^6$	$2.7 \cdot 10^6$	$2.7 \cdot 10^6$	$1.5 \cdot 10^6$	$7.3 \cdot 10^7$
Oxiclozanida 2 $\mu\text{g/ml}$ (4 MIC)	$2.9 \cdot 10^6$	$3.0 \cdot 10^6$	$2.5 \cdot 10^6$	$9.1 \cdot 10^5$	$1.1 \cdot 10^4$
Oxiclozanida 4 $\mu\text{g/ml}$ (8 MIC)	$3.5 \cdot 10^6$	$2.0 \cdot 10^6$	$6.4 \cdot 10^5$	$1.5 \cdot 10^4$	$2.4 \cdot 10^2$
Oxiclozanida 8 $\mu\text{g/ml}$ (16 MIC)	$3.2 \cdot 10^6$	$4.6 \cdot 10^5$	$1.5 \cdot 10^4$	$4.6 \cdot 10^2$	<20
Recuento de bacterias viables ( $\log_{10}$ CFU/ml)					
Control <i>S. aureus</i> no. 16 302	6,2	6,4	7,2	9,1	9,3
Oxiclozanida 0.25 $\mu\text{g/ml}$ (1/2 MIC)	6,4	6,4	6,5	7,0	8,1
Oxiclozanida 0.5 $\mu\text{g/ml}$ (MIC)	6,5	6,5	6,5	6,2	8,1
Oxiclozanida 1 $\mu\text{g/ml}$ (2 MIC)	6,4	6,4	6,4	6,2	7,9
Oxiclozanida 2 $\mu\text{g/ml}$ (4 MIC)	6,5	6,5	6,4	6,0	4,0
Oxiclozanida 4 $\mu\text{g/ml}$ (8 MIC)	6,5	6,3	5,8	4,2	2,4
Oxiclozanida 8 $\mu\text{g/ml}$ (16 MIC)	6,5	5,7	4,2	2,7	1,3
Tasa de reducción de bacterias					
Oxiclozanida 0.25 $\mu\text{g/ml}$ (1/2 MIC)		0.0	0.1	0.6	1.7
Oxiclozanida 0.5 $\mu\text{g/ml}$ (MIC)		0.0	0.0	-0.3	1.6
Oxiclozanida 1 $\mu\text{g/ml}$ (2 MIC)		0.0	0.0	-0.2	1.5
Oxiclozanida 2 $\mu\text{g/ml}$ (4 MIC)		0.0	-0.1	-0.5	-2.5
Oxiclozanida 4 $\mu\text{g/ml}$ (8 MIC)		-0.2	-0.7	-2.3	-4.1
Oxiclozanida 8 $\mu\text{g/ml}$ (16 MIC)		-0.8	-2.3	-3.8	-5.2

Tabla 1a: *S. aureus* no. 16 302. Se muestran el recuento de bacterias viables (CFU/ml) y ( $\log_{10}$  CFU/ml), así como la tasa de reducción bacteriana ( $\Delta \log_{10}$  CFU/ml). Tasa de reducción bacteriana = recuento viable  $\log_{10}$  - recuento inicial  $\log_{10}$ .

10

Tiempo (h)	0	1	3	6	24
Recuento de bacterias viables (CFU/ml)					
Control <i>S. aureus</i> no.16 315	$3.1 \cdot 10^6$	$3.0 \cdot 10^6$	$1.2 \cdot 10^8$	$1.3 \cdot 10^9$	$4.3 \cdot 10^9$

ES 2 979 393 T3

Oxiclozanida 0.25 µg/ml (1/2 MIC)	2.7 10 <sup>6</sup>	5.1 10 <sup>6</sup>	4.6 10 <sup>6</sup>	1.2 10 <sup>7</sup>	1.7 10 <sup>8</sup>
Oxiclozanida 0.5 µg/ml (MIC)	2.9 10 <sup>6</sup>	2.6 10 <sup>6</sup>	4.0 10 <sup>6</sup>	2.1 10 <sup>6</sup>	9.2 10 <sup>6</sup>
Oxiclozanida 1 µg/ml (2 MIC)	3.0 10 <sup>6</sup>	3.0 10 <sup>6</sup>	4.0 10 <sup>6</sup>	1.5 10 <sup>6</sup>	1.8 10 <sup>5</sup>
Oxiclozanida 2 µg/ml (4 MIC)	2.8 10 <sup>6</sup>	3.4 10 <sup>6</sup>	3.6 10 <sup>6</sup>	1.8 10 <sup>5</sup>	1.2 10 <sup>4</sup>
Oxiclozanida 4 µg/ml (8 MIC)	2.8 10 <sup>6</sup>	2.6 10 <sup>6</sup>	5.3 10 <sup>5</sup>	4.3 10 <sup>4</sup>	20
Oxiclozanida 8 µg/ml (16 MIC)	2.2 10 <sup>6</sup>	2.3 10 <sup>6</sup>	6.4 10 <sup>4</sup>	1.1 10 <sup>4</sup>	<20
Recuento de bacterias viables (Log <sub>10</sub> CFU/ml)					
Control <i>S.aureus</i> no. 16 315	6.5	6.5	8.1	9.1	9.6
Oxiclozanida 0.25 µg/ml (1/2 MIC)	6.4	6.7	6.7	7.1	8.2
Oxiclozanida 0.5 µg/ml (MIC)	6.5	6.4	6.6	6.3	7,0
Oxiclozanida 1 µg/ml (2 MIC)	6.5	6.5	6.6	6.2	5.3
Oxiclozanida 2 µg/ml (4 MIC)	6.4	6.5	6.6	5.3	4.1
Oxiclozanida 4 µg/ml (8 MIC)	6.4	6.4	5.7	4.6	1.3
Oxiclozanida 8 µg/ml (16 MIC)	6.3	6.4	4.8	4,0	1.3
Tasa de reducción de bacterias					
Oxiclozanida 0.25 µg/ml (1/2 MIC)		0.3	0.3	0.7	1.8
Oxiclozanida 0.5 µg/ml (MIC)		-0.1	0.1	-0.2	0.5
Oxiclozanida 1 µg/ml (2 MIC)		0.0	0.1	-0.3	-1.2
Oxiclozanida 2 µg/ml (4 MIC)		0.1	0.2	-1.1	-2.3
Oxiclozanida 4 µg/ml (8 MIC)		0.0	-0.7	-1.8	-5.1
Oxiclozanida 8 µg/ml (16 MIC)		0.1	-1.5	-2.3	-5.0

Tabla 1b: *S. aureus* no.16 315. Se muestran el recuento de bacterias viables (CFU/ml) y (log<sub>10</sub> CFU/ml), así como la tasa de reducción bacteriana (Δ log<sub>10</sub> CFU/ml). Tasa de reducción bacteriana = recuento viable log<sub>10</sub> - recuento inicial log<sub>10</sub>.

5

Tiempo (h)	0	1	3	6	24
Recuento de bacterias viables (CFU/ml)					
Control <i>S.pseudointermedius</i> no.15 401	1.2 10 <sup>6</sup>	1.5 10 <sup>6</sup>	9.6 10 <sup>6</sup>	3.6 10 <sup>8</sup>	2,2 10 <sup>9</sup>
Oxiclozanida 0.125 µg/ml (MIC)	8.8 10 <sup>5</sup>	1.5 10 <sup>6</sup>	1.2 10 <sup>7</sup>	1.3 10 <sup>8</sup>	4.7 10 <sup>8</sup>
Oxiclozanida 0.25 µg/ml (2 MIC)	9.4 10 <sup>5</sup>	1.4 10 <sup>6</sup>	5.8 10 <sup>6</sup>	1.6 10 <sup>8</sup>	1.9 10 <sup>7</sup>
Oxiclozanida 0.5 µg/ml (4 MIC)	9.4 10 <sup>5</sup>	1.3 10 <sup>6</sup>	2.7 10 <sup>6</sup>	3.7 10 <sup>7</sup>	2.8 10 <sup>7</sup>
Oxiclozanida 1 µg/ml (8 MIC)	9.2 10 <sup>5</sup>	1.3 10 <sup>6</sup>	9.2 10 <sup>5</sup>	1.5 10 <sup>6</sup>	4.7 10 <sup>6</sup>
Oxiclozanida 2 µg/ml (16 MIC)	9.2 10 <sup>5</sup>	8.2 10 <sup>5</sup>	8.4 10 <sup>5</sup>	2.110 <sup>6</sup>	7.7 10 <sup>5</sup>
Oxiclozanida 4 µg/ml (32 MIC)	8.4 10 <sup>5</sup>	9.0 10 <sup>5</sup>	7.3 10 <sup>5</sup>	1.6 10 <sup>5</sup>	3.2 10 <sup>2</sup>
Oxiclozanida 8 µg/ml (64 MIC)	9.2 10 <sup>5</sup>	3.8 10 <sup>5</sup>	2.0 10 <sup>3</sup>	4.0 10 <sup>1</sup>	<20

ES 2 979 393 T3

Recuento de bacterias viables (Log <sub>10</sub> CFU/ml)					
Control <i>S.pseudointermedius</i> no. 15 401	6.1	6.2	7.0	8.6	9.3
Oxiclozanida 0.125 µg/ml (MIC)	5.9	6.2	7.1	8.1	8.7
Oxiclozanida 0.25 µg/ml (2 MIC)	6.0	6.1	6.8	8.2	7.3
Oxiclozanida 0.5 µg/ml (4 MIC)	6.0	6.1	6.4	7.6	7.4
Oxiclozanida 1 µg/ml (8 MIC)	6.0	6.1	6.0	6.2	6.7
Oxiclozanida 2 µg/ml (16 MIC)	6.0	5.9	5.9	6.3	5.9
Oxiclozanida 4 µg/ml (32 MIC)	5.9	6.0	5.9	5.2	2.5
Oxiclozanida 8 µg/ml (64 MIC)	6.0	5.6	3.3	1.6	1.3
Tasa de reducción de bacterias					
Oxiclozanida 0.125 µg/ml (MIC)		0.3	1.2	2.2	2.8
Oxiclozanida 0.25 µg/ml (2 MIC)		0.1	0.8	2.2	1.3
Oxiclozanida 0.5 µg/ml (4 MIC)		0.1	0.4	1.6	1.4
Oxiclozanida 1 µg/ml (8 MIC)		0.1	0.0	0.2	0.7
Oxiclozanida 2 µg/ml (16 MIC)		-0.1	-0.1	0.3	-0.1
Oxiclozanida 4 µg/ml (32 MIC)		0.1	0.0	-0.7	-3.4
Oxiclozanida 8 µg/ml (64 MIC)		-0.4	-2.7	-4.4	-4.7

Tabla 1c: *S.pseudointermedius* no.15 401. Se muestran el recuento de bacterias viables (CFU/ml) y (log<sub>10</sub> CFU/ml), así como la tasa de reducción bacteriana (Δ log<sub>10</sub> CFU/ml). Tasa de reducción bacteriana = recuento viable log<sub>10</sub> - recuento inicial log<sub>10</sub>.

5

Tiempo (h)	0	1	3	6	24
Recuento de bacterias viables (CFU/ml)					
Control <i>S.pseudointermedius</i> no.15 410	1.9 10 <sup>6</sup>	3.2 10 <sup>6</sup>	2.8 10 <sup>7</sup>	1.5 10 <sup>9</sup>	2.7 10 <sup>9</sup>
Oxiclozanida 0.125 µg/ml (MIC)	1.8 10 <sup>6</sup>	2.9 10 <sup>6</sup>	2.3 10 <sup>7</sup>	4.2 10 <sup>8</sup>	1.7 10 <sup>9</sup>
Oxiclozanida 0.25 µg/ml (2 MIC)	1.5 10 <sup>6</sup>	2.2 10 <sup>6</sup>	1.9 10 <sup>7</sup>	2.9 10 <sup>8</sup>	1.9 10 <sup>7</sup>
Oxiclozanida 0.5 µg/ml (4 MIC)	1.4 10 <sup>6</sup>	1.6 10 <sup>6</sup>	1.6 10 <sup>7</sup>	1.5 10 <sup>8</sup>	1.5 10 <sup>7</sup>
Oxiclozanida 1 µg/ml (8 MIC)	1.9 10 <sup>6</sup>	2.5 10 <sup>6</sup>	2.4 10 <sup>6</sup>	2.6 10 <sup>6</sup>	5.3 10 <sup>6</sup>
Oxiclozanida 2 µg/ml (16 MIC)	2.0 10 <sup>6</sup>	2.2 10 <sup>6</sup>	1.5 10 <sup>6</sup>	2.5 10 <sup>5</sup>	3.8 10 <sup>4</sup>
Oxiclozanida 4 µg/ml (32 MIC)	2.1 10 <sup>6</sup>	1.4 10 <sup>6</sup>	1.5 10 <sup>6</sup>	1.2 10 <sup>5</sup>	2.6 10 <sup>2</sup>
Oxiclozanida 8 µg/ml (64 MIC)	2.2 10 <sup>6</sup>	1.4 10 <sup>6</sup>	4.6 10 <sup>4</sup>	3.6 10 <sup>2</sup>	<20
Recuento de bacterias viables (Log <sub>10</sub> CFU/ml)					
Control <i>S.pseudointermedius</i> no.15 410	6.3	6.5	7.4	9.2	9.4
Oxiclozanida 0.125 µg/ml (MIC)	6.3	6.5	7.4	8.6	9.2
Oxiclozanida 0.25 µg/ml (2 MIC)	6.2	6.3	7.3	8.5	7.3

Oxiclozanida 0.5 µg/ml (4 MIC)	6.1	6.2	7.2	8.2	7.2
Oxiclozanida 1 µg/ml (8 MIC)	6.3	6.4	6.4	6.4	6.7
Oxiclozanida 2 µg/ml (16 MIC)	6.3	6.3	6.2	5.4	4.6
Oxiclozanida 4 µg/ml (32 MIC)	6.3	6.1	6.2	5.1	2.4
Oxiclozanida 8 µg/ml (64 MIC)	6.3	6.1	4.7	2.6	1.3
Tasa de reducción de bacterias					
Oxiclozanida 0.125 µg/ml (MIC)		0.2	1.1	2.3	2.9
Oxiclozanida 0.25 µg/ml (2 MIC)		0.1	1.1	2.3	1.1
Oxiclozanida 0.5 µg/ml (4 MIC)		0.1	1.1	2.1	1.1
Oxiclozanida 1 µg/ml (8 MIC)		0.1	0.1	0.1	0.4
Oxiclozanida 2 µg/ml (16 MIC)		0,0	-0.1	-0.9	-1.7
Oxiclozanida 4 µg/ml (32 MIC)		-0.2	-0.1	-1.2	-3.9
Oxiclozanida 8 µg/ml (64 MIC)		-0.2	-1.6	-3.7	-5.0

Tabla 1d: *S.pseudointermedius* no. 15 410 se muestran el recuento de bacterias viables (CFU/ml) y ( $\log_{10}$  CFU/ml), así como la tasa de reducción bacteriana ( $\Delta \log_{10}$  CFU/ml). Tasa de reducción bacteriana = recuento viable  $\log_{10}$  - recuento inicial  $\log_{10}$ .

- 5 En conclusión, el perfil farmacodinámico de la oxiclozanida contra *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudointermedius* puede clasificarse como dependiente de la concentración. Como se define en la directriz CLSI, la actividad bactericida se determina observando la presencia de una disminución  $\geq 3 \log_{10}$  en CFU/ml. Por tanto, para ambas cepas, el efecto bactericida se observa después de 24 horas de contacto para una concentración de 4 µg/ml y desde 6 a 24 horas de contacto para una concentración de 8 µg/ml.
- 10 Ejemplo 3: Curvas de inactivación en el tiempo de la oxiclozanida contra cuatro cepas de *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) y *Staph pseudointermedius* resistente a meticilina.

El objetivo de este estudio es evaluar in vitro las curvas de inactivación en el tiempo de la oxiclozanida contra cuatro cepas de *Staphylococcus caninos* resistentes a la meticilina.

- 15 Se han probado dos *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA) y dos *Staphylococcus pseudointermedius* resistentes a la meticilina (MRSP) aislados de las clínicas.

La evaluación de las curvas de inactivación en el tiempo se ha realizado mediante un método de macrodilución en caldo (Caldo Mueller-Hinton II).

- 20 La oxiclozanida se diluye en (DMSO) en tubos estériles para obtener las siguientes concentraciones desde 800 a 6.25 µg/ml. Luego, esas concentraciones y la solución estándar madre se diluyen (1/10) en caldo Mueller-Hinton II para obtener las siguientes concentraciones desde 160 a 0.06 µg/ml (Véase la tabla 2).

	Volumen de fuente (ml)	Volumen de diluyente (ml)	Concentración	
			de solución (µg/ml)	En medio caldo (µg/ml), dilución 1/10:
1600	1	1	1600	160
1600	1	1	800	80
1600	1	3	400	40
1600	1	7	200	20
200	1	1	100	10

## ES 2 979 393 T3

200	1	3	50	5
200	1	7	25	2.5
25	1	1	12.5	1.25
25	1	3	6.25	0.625

Tabla 2: Concentración de la oxiclozanida en solución y en medio de caldo.

5 Cada operación se realiza en condiciones estériles. Cada solución estándar de trabajo (10 \* la concentración final del ingrediente activo) se distribuye en tubos (1 ml, para un volumen final de 10 ml después de la adición de 9 ml de inóculo). Se utiliza un tubo sin ingrediente activo como control de crecimiento (Concentración=0).

10 Se subcultivan aislados bacterianos a partir de una crioesfera en agar Columbia suplementado con un 5 % de sangre. Los cultivos puros se incuban durante 18-24 horas a 37 °C. Se seleccionan de tres a cinco colonias aisladas de apariencia similar de un cultivo previo y se transfieren a tubos que contienen 9 ml de caldo Mueller-Hinton II. El caldo se incuba durante 12-18 horas a 37 °C. Se inoculan 0.5 a 1 ml de este caldo en otro tubo de 9 ml de Caldo Mueller-Hinton II que se incuba durante 3 a 4 horas a 37 °C para alcanzar la fase de crecimiento exponencial. El inóculo bacteriano crecido en fase exponencial se suspende a una densidad óptica de la escala estándar de McFarland 0.5 equivalente a una densidad bacteriana de 10<sup>8</sup> CFU/ml y luego se ajusta a una concentración de aproximadamente 5.10<sup>5</sup> CFU/ml como lo indica la directriz CLSI M26-A y a un segundo inóculo probado: 10<sup>6</sup> CFU/ml.

Inoculación de tubos de caldo

15 Se agregan 9 ml de inóculo bacteriano cultivado hasta la fase exponencial a 1 ml de ingrediente activo (o caldo Mueller Hinton II para el control del crecimiento). Los tubos se incuban a 35 °C, durante 24 horas.

En los tiempos 0, 2, 4, 6 y 24 horas, se muestrean 100 µl de caldo de cada tubo y se diluyen en microplacas:

20 Cada pocillo se vuelve a cultivar esparciendo 10 µl sobre agar Columbia suplementado con un 5 % de sangre. Las placas se incuban a 37 °C, durante 18-24 horas de incubación. Por tanto, se determinan las concentraciones bacterianas residuales (CFU/ml). Los resultados se expresan en valores log<sub>10</sub> de CFU/ml a lo largo del tiempo en caldo. Debido al procedimiento utilizado, la concentración bacteriana mínima que se puede evaluar es de 10<sup>2</sup> CFU/ml.

Los resultados del recuento individual obtenidos para cada cepa se indican en las siguientes tablas 3 a 6.

Tabla 3: Resultados del recuento de cepas de MRSA a 5.10<sup>5</sup> CFU/ml (i) 16116; (ii) 16110

(i)

Oxiclo MIC (µg/ml)	Concentraciones de oxiclo	Tiempo (horas)				
		0	2	4	6	24
0.5	Control 0	3.900E+05	2.700E+06	3.400E+07	3.700E+08	5.500E+10
	1 MIC	3.900E+05	1.700E+06	2.500E+07	1.600E+08	1.300E+08
	2 MIC	3.900E+05	1.200E+05	1.300E+04	1.400E+04	3.500E+06
	4 MIC	3.900E+05	6.000E+03	6.000E+02	4.000E+02	1.000E+02
	8 MIC	3.900E+05	5.000E+02	1.000E+02	1.000E+02	1.000E+02
	16 MIC	3.900E+05	3.000E+02	1.000E+02	3.000E+02	1.000E+02
	1/2 MIC	3.900E+05	1.700E+06	3.000E+07	1.400E+08	2.600E+08
	1/4 MIC	3.900E+05	2.000E+06	4.000E+07	3.000E+08	1.900E+09
(ii)						

ES 2 979 393 T3

1	Control 0	4.100E+05	5.500E+06	6.800E+07	3.000E+10	4.300E+10
	1 MIC	4.100E+05	9.300E+04	6.500E+04	1.100E+05	6.100E+05
	2 MIC	4.100E+05	3.300E+03	1.800E+03	4.000E+02	1.000E+02
	4 MIC	4.100E+05	3.000E+02	1.000E+02	1.000E+02	1.000E+02
	8 MIC	4.100E+05	2.000E+02	1.000E+02	1.000E+02	1.000E+02
	16 MIC	4.100E+05	1.000E+02	1.000E+02	1.000E+02	1.000E+02
	1/2 MIC	4.100E+05	6.300E+05	9.900E+06	3.100E+07	1.900E+08
	1/4 MIC	4.100E+05	1.400E+06	9.500E+07	1.600E+08	1.100E+09

Tabla 4: Resultados del recuento de cepas de MRSA a 10<sup>6</sup> CFU/ml (i) 16116; (ii) 16110

(i)

Oxíclo MIC (µg/ml)	Concentraciones de oxíclo	Tiempo (horas)				
		0	2	4	6	24
0,5	Control 0	1,500E+06	1,000E+07	1,600E+08	1,900E+09	7,200E+10
	1 MIC	1,500E+06	3,300E+05	3,900E+05	1,600E+06	2,700E+07
	2 MIC	1,500E+06	2,200E+04	1,400E+03	5,000E+02	5,900E+05
	4 MIC	1,500E+06	2,000E+02	2,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	8 MIC	1,500E+06	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	16 MIC	1,500E+06	3,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	1/2 MIC	1,500E+06	3,000E+06	3,600E+07	2,300E+08	3,100E+08
	1/4 MIC	1,500E+06	2,800E+06	2,600E+07	3,000E+08	3,900E+08
(ii)						
1	Control 0	2,000E+06	4,400E+06	1,200E+08	2,600E+09	9,300E+10
	1 MIC	2,000E+06	8,300E+04	3,400E+04	3,500E+03	7,900E+06
	2 MIC	2,000E+06	4,000E+02	2,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	4 MIC	2,000E+06	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	8 MIC	2,000E+06	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	16 MIC	2,000E+06	2,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	1/2 MIC	2,000E+06	6,900E+05	4,300E+06	4,800E+07	3,700E+07
	1/4 MIC	2,000E+06	8,000E+06	4,000E+07	2,400E+07	4,100E+07

## ES 2 979 393 T3

Tabla 5: Resultados del recuento de cepas de MRSP a  $5 \cdot 10^5$  CFU/ml (i) 16125; (ii) 16127

(i)

Oxiclo MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	Concentraciones de oxiclo	Tiempo (horas)				
		0	2	4	6	24
0,5	Control 0	4,000E+05	8,000E+05	5,500E+06	5,300E+07	5,200E+10
	1 MIC	4,000E+05	2,600E+04	1,900E+04	1,300E+04	6,000E+05
	2 MIC	4,000E+05	1,000E+02	3,000E+02	1,000E+02	2,000E+02
	4 MIC	4,000E+05	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	8 MIC	4,000E+05	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	16 MIC	4,000E+05	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	1/2 MIC	4,000E+05	3,800E+05	3,100E+05	3,400E+05	3,200E+08
	1/4 MIC	4,000E+05	5,500E+05	2,600E+06	1,600E+07	4,900E+10
(ii)						
0,25	Control 0	3,600E+05	3,800E+05	2,200E+06	1,300E+08	5,200E+10
	1 MIC	3,600E+05	2,300E+05	1,900E+06	4,600E+06	8,100E+08
	2 MIC	3,600E+05	2,000E+05	2,400E+05	2,400E+05	6,600E+05
	4 MIC	3,600E+05	1,400E+04	4,400E+03	3,500E+03	1,300E+03
	8 MIC	3,600E+05	1,600E+03	4,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	16 MIC	3,600E+05	3,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	1/2 MIC	3,600E+05	3,300E+05	2,700E+06	2,400E+07	2,900E+10
	1/4 MIC	3,600E+05	3,900E+05	5,900E+06	3,400E+07	2,900E+10

Tabla 6: Resultados del recuento de cepas de MRSP a  $10^6$  CFU/ml (i) 16125; (ii) 16127

(i)

Oxiclo MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	Concentraciones de oxiclo	Tiempo (horas)				
		0	2	4	6	24
0,5	Control 0	1,000E+06	8,000E+06	8,000E+07	5,000E+08	5,600E+10
	1 MIC	1,000E+06	1,000E+06	1,500E+05	1,000E+05	4,100E+06
	2 MIC	1,000E+06	1,600E+03	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	4 MIC	1,000E+06	5,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	8 MIC	1,000E+06	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	16 MIC	1,000E+06	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	1/2 MIC	1,000E+06	1,800E+06	2,800E+06	3,400E+06	1,900E+08
	1/4 MIC	1,000E+06	1,500E+06	1,000E+07	1,000E+08	2,600E+09
(ii)						

## ES 2 979 393 T3

	Control 0	9,000E+05	5,000E+06	1,700E+07	9,000E+07	1.000E+11
0,25	1 MIC	9,000E+05	4,100E+05	4,000E+06	7,500E+06	9,000E+07
	2 MIC	9,000E+05	4,100E+05	5,400E+05	2,500E+06	7,600E+06
	4MIC	9,000E+05	1,700E+04	1,500E+03	3,000E+02	8,000E+02
	8 MIC	9,000E+05	5,200E+03	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	16 MIC	9,000E+05	1,200E+03	1,000E+02	1,000E+02	1,000E+02
	1/2 MIC	9,000E+05	4,300E+05	3,700E+06	2,100E+07	3,400E+09
	1/4 MIC	9,000E+05	5,100E+05	4,200E+06	3,000E+07	4,900E+10

En conclusión, los perfiles de inactivación en el tiempo son casi similares para los dos inóculos probados para una cepa considerada y entre las cuatro cepas probadas: efecto bactericida dependiente de la concentración para concentraciones  $\geq 2$  MIC. El efecto bactericida según lo definido por la directriz CLSI M26-A ("Un efecto bactericida se puede observar mediante una disminución  $\geq 3 \log_{10}$  (99.9 % de inactivación) en las CFU en el momento especificado") se observa de la siguiente manera para concentraciones de 4 MIC.

5

	Cepa/Inóculo	Tiempo para obtener efecto bactericida a 4 MIC
MRSA	16116 / $5 \cdot 10^5$ CFU/ml	4 a 6 horas
	16116 / $10^6$ CFU/ml	2 horas
	16110 / $5 \cdot 10^5$ CFU/ml	2 horas
	16110 / $10^6$ CFU/ml	2 horas
MRSP	16125 / $5 \cdot 10^5$ CFU/ml	2 horas
	16125 / $10^6$ CFU/ml	2 horas
	16127 / $5 \cdot 10^5$ CFU/ml	6 a 24 horas
	16127 / $10^6$ CFU/ml	4 a 6 horas

Ejemplo 4: Efecto contra *Malassezia*.

Aislados

- 10 Seis aislados clínicos de piel de perro ( $n = 5$ ) y gato ( $n = 1$ ) que habían sido enviados a EnvA (laboratorio de micología de BioPdle Alfort) para cultivo micológico. Los aislados, recolectados en marzo de 2016, fueron identificados como pertenecientes a la especie *Malassezia pachydermatis*. Se mantuvieron mediante trasplantes regulares en medio de Sabouraud. Los aislados se subcultivan de 2 a 3 días antes de probar la sensibilidad.

Protocolo experimental (método de microdilución en caldo)

- 15 Se prepara una solución madre de Oxiclozanida a  $1600 \mu\text{g/mL}$  en DMSO. A continuación, la solución madre se diluye en DMSO para obtener un intervalo de concentración de  $3.125 \mu\text{g/ml}$  a  $800 \mu\text{g/ml}$ . A continuación se realiza una dilución 1/50 de este intervalo y de la solución madre en agua ultrapura para obtener un intervalo de concentración de  $0.0625 \mu\text{g/ml}$  a  $32 \mu\text{g/ml}$  y que contiene un 2 % de DMSO. Se depositan  $50 \mu\text{l}$  de estas soluciones en pocillos de una microplaca y luego se agregan  $50 \mu\text{l}$  de inóculo calibrado a  $10^6$  CFU/ml en Sabouraud/Tween 40 (2 %). Un intervalo de concentraciones probadas oscila entre  $0.0312 \mu\text{g/mL}$  y  $16 \mu\text{g/mL}$ . La concentración final de DMSO en contacto con el inóculo es del 1 %. Se siguió el mismo protocolo de dilución y siembra con una solución madre de anfotericina B a  $1600 \mu\text{g/ml}$ . Se incluye sistemáticamente en las placas una columna "placebo" (o control de crecimiento de levaduras). Las placas se incuban a  $37^\circ\text{C}$ . La lectura se realiza a las 24 y 48 h. Se realizaron varios ensayos y fue necesario ajustar el protocolo. En particular, la concentración del inóculo tuvo que reducirse para que se observara la actividad antifúngica.
- 25

## ES 2 979 393 T3

Tabla 7: Resultados del recuento de cepas de *Malassezia* a 10<sup>6</sup> CFU/ml

	MIC de Anfoterina B (µg/mL)		MIC de Oxiclozanida (µg/mL)	
	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 1	Ensayo 2
Aislado 1	2	4	8	4
Aislado 2	2	2	8	8
Aislado 3	4	8	8	16
Aislado 4	4	4	>16	>16
Aislado 5	4	4	8	8
Aislado 6	4	8	8	16

### Conclusión

La oxiclozanida es activa con respecto a *Malassezia pachydermatis*. Esta actividad es variable según los aislados (ninguna actividad respecto al aislado 3) y los valores de MIC son elevados. Véase la tabla 7 para comparar. Cabe destacar que las técnicas y protocolos (utilizados en los diversos estudios publicados hasta la fecha) son muy variables con MIC que oscilan entre 0.12 y 8 µg/mL.

Ejemplo 5: Perfil farmacocinético de una composición de unción dorsal puntual de oxiclozanida.

El objetivo de este estudio fue determinar la tolerabilidad, biodisponibilidad y perfil farmacocinético de la oxiclozanida mediante el tratamiento de perros beagle por vía de administración cutánea (con la composición C719).

El elemento de prueba (C719) fue una solución tópica para uso veterinario con la siguiente composición que comprende: oxiclozanida 10 g/100 mL, 46 g de dimetilsulfóxido y éter monoetílico de dietilenglicol (Transcutol®) c.s. 100 mL.

### Diseño experimental

Los seis perros Beagle machos adultos (más de 12 kg) utilizados en el estudio gozaban de buena salud en el momento del examen de inclusión. Sus parámetros hematológico-bioquímicos estaban dentro del intervalo normal del proveedor o incluso dentro de un intervalo aceptable. Los animales no habían recibido ningún tratamiento que contuviera antihelmínticos o antibióticos desde 15 días antes del inicio de la fase animal, ni ningún tratamiento desde 8 días antes del D0.

Los perros fueron mantenidos en camas de virutas de madera. Los animales se alojaron individualmente para garantizar la calidad de los resultados evitando que los perros se lamieran entre sí después de aplicar el tratamiento. Los animales se instalaron en las instalaciones de prueba dos semanas antes del D-1. Este período les permitió aclimatarse a las condiciones de vida (en gran medida las mismas que las del proveedor que se encuentra en el mismo sitio). Se distribuyó *ad libitum* el alimento adecuado (gránulos) en los comederos. Se utilizaron proveedores de agua para garantizar un suministro *ad libitum* de agua potable. Todos los animales fueron alojados de la misma manera, prestando especial atención a su bienestar, según las prácticas vigentes. Durante el período de 8 días de relativo aislamiento (los animales todavía tenían contacto visual, olfativo y auditivo con sus compañeros), se hicieron todos los esfuerzos posibles para limitar cualquier estrés que pudiera causarse a los animales, con mayores actividades de socialización.

Tratamiento: Los 6 perros recibieron el tratamiento el D0. El producto C719 se aplicó linealmente, uniformemente a lo largo de la columna vertebral desde el cuello hasta la base de la cola. El producto se administró a cada uno de los 6 perros mediante jeringas graduadas con precisión de 0.1 ml a una dosis de 20 mg de la oxiclozanida/Kg, es decir 0.20 ml/kg de peso corporal.

Evaluación clínica: El día D-1 de cada fase se realizó un examen físico, incluido un pesaje, para controlar el estado general de los perros. La observación clínica fue realizada diariamente por la persona responsable del cuidado de los perros. En la hora siguiente a la administración del tratamiento el D0 de cada fase, se realizó la observación clínica. Se afeitaron dos áreas a cada lado a 7-8 cm de la columna vertebral, cubriendo un área de aproximadamente 30 cm x 5 cm. El afeitado se reprodujo en los siguientes tiempos: D-2, D-1, D0+24 h, D0+48 h, D0+72 h, D4, D5 y D6. La apariencia cosmética del pelaje alrededor del área de tratamiento se evaluó en D0+1 h, D0+3 h, D0+24 h, D0 +72 h y D7. En cada evaluación, se evaluó la apariencia visual del pelaje de cada perro de acuerdo con el siguiente sistema de puntuación:

- Aspecto húmedo (Sí/No)
  - Aspecto grasoso (Sí/No)
  - Mechones de pelo (Sí/No)
  - Depósitos (Leve/Moderado/Significativo)
  - Decoloración (describir)
- 5 La tolerancia dérmica se evaluó después del tratamiento en: D0+1 h, D0+3 h y D0+24 h, D0+72 h, D7. En cada evaluación, la tolerancia dérmica en el área de tratamiento se evaluará según el siguiente sistema de puntuación:
- Eritema:
  - No eritema
  - Eritema muy leve (apenas visible)
- 10
- Eritema claramente definido
  - Eritema moderado
  - Eritema severo (rojo remolacha) con llagas leves (lesiones profundas)
  - Edema (Sí/No)
  - Escoriación (Sí/No)
- 15
- Costras (Sí/No)
- Muestreo de sangre: Para cada animal, se recogió una muestra de sangre de alrededor de 4 ml de la vena yugular utilizando tubos que contenían heparina de litio en los siguientes momentos (con una tolerancia del 10 %) en D-1, D0+1 h, D0+5 h, D0+9 h, D0+12 h, D0+16 h, D0+24 h, D0+32 h, D0+48 h, D0+56 h, D0+72 h, D0+80 h, D4, D5, D6 y D7. La centrifugación (alrededor de 3500 revoluciones/min, durante 15 minutos a +4 °C) se realizó como máximo 30 minutos después del muestreo. El plasma se recogió y luego se dividió en dos alícuotas en tubos (tipo Nunc de 1.8 ml) de la siguiente manera: alícuota S1: alrededor de 0.5 ml; Alícuota S2: el resto del plasma (más de 0.5 ml). Cada alícuota se identificó con el código de estudio CEVA; el número de identificación del animal y su número de caso; el número de alícuota (S1 o S2); el tipo, fecha y hora del muestreo. Las alícuotas se almacenaron a -70 °C +/-5 °C hasta el análisis.
- 20
- 25 Discos de muestreo de piel (D-Squame Discs): Realizados esencialmente según Vidémont et al.: Veterinary Dermatology, vol. 23, págs. 103 -123, 2011. Se presionan cintas adhesivas (películas adhesivas) sobre la superficie de la piel con una cantidad fija de presión antes de retirarlas. Las capas superficiales del SC se adhieren a la película, se retiran del estrato córneo y quedan accesibles para una investigación adicional. Al mismo tiempo, la extracción repetida de cinta adhesiva puede ser un modelo comparativo eficaz para la función de barrera cutánea deteriorada.
- 30 La descamación de la piel se realizó desde las zonas afeitadas del lado izquierdo o derecho de la espalda (de forma alterna), mediante un método de muestreo especial (D-Squame Discs), que se realizó en los siguientes momentos (con una tolerancia de 10 %): D-1, D0+3 h, D0+8 h, D0+24 h, D0+48 h, D0+72 h, D4, D5, D6 y D7.
- Se aplicaron sucesivamente doce discos de 22 mm de diámetro (discos D-Squame) en la misma zona bien definida y previamente marcada a lo largo de la columna vertebral: Los discos se aplicaron de la siguiente manera:
- 35
- Se utilizaron pinzas para retirar con cuidado los discos de su soporte utilizando el borde provisto.
  - El disco se aplicó en el área definida.
  - El disco se presionó durante aproximadamente un segundo usando el instrumento de presión D-Squame -150 g/cm<sup>2</sup>.
- En todos los casos, los 12 discos extraídos de la piel se dividieron en 3 muestras (S1, S2 y S3) de la siguiente manera:
- 40
- S1: los primeros 2 discos se colocaron en un vial de centelleo
  - S2: los siguientes 5 discos se colocaron en un vial de centelleo
  - S3: los últimos 5 discos se colocaron en un vial de centelleo
- Cada vial fue identificado con el código del estudio CEVA; el número de identificación del animal y su número de caso; el número de vial (S1, S2 o S3); el tipo, fecha y hora del muestreo.

Evaluación farmacocinética

5 Los análisis farmacocinéticos se realizaron utilizando el software Phoenix (versión 6.3, Pharsight, EE. UU.), que es un programa de software basado en Microsoft-Windows diseñado para realizar modelos de datos no compartimentales. Los puntos de datos indicados como "faltantes" fueron ignorados sistemáticamente durante el cálculo y, por lo tanto, no tienen ningún efecto sobre los resultados. Se asigna un estado faltante y no se utiliza ningún símbolo de bandera. Si se sospechaba de valores atípicos, se identificaban mediante el procedimiento de identificación de valores atípicos de STATGRAPHICS.

10 Los datos se analizaron utilizando un enfoque no compartimental. El propósito de este enfoque es proporcionar una estimación de los parámetros cinéticos de un fármaco sobre la base de un análisis de datos descriptivos sin hacer ninguna suposición sobre la existencia y estructura de un posible modelo matemático adecuado para describir las observaciones. Sin embargo, para realizar este análisis debemos asumir que la fase de eliminación terminal del procedimiento cinético puede aproximarse mediante una ecuación exponencial. Esto equivale a suponer que una línea recta puede aproximarse a la transformación semilogarítmica de datos pertenecientes al procedimiento terminal de eliminación de la droga en el organismo. Sobre la base de esta suposición, los parámetros cinéticos básicos de un fármaco se basan en la teoría del momento estadístico, tal como el AUC (momento cero) y el Thalf (semivida de eliminación), y otros parámetros clásicos.

20 La estadística descriptiva se calculó por día y tratamiento para cada parámetro de concentración: media aritmética, desviación estándar, error estándar de la media, coeficiente de variación (% CV), máximo y mínimo. Se calcularon las concentraciones medias y las desviaciones estándar y se trazaron las curvas de concentración media-tiempo. Las estadísticas descriptivas de los parámetros farmacocinéticos se calcularon por tratamiento.

Resultados

25 Observaciones clínicas, tolerancia dérmica y evaluación cosmética: Después del tratamiento cutáneo el D0, todos los perros respondieron bien al tratamiento. No apareció ningún signo significativo de tolerancia dérmica a lo largo de la fase. Se evaluó la apariencia cosmética del pelaje alrededor del área de tratamiento. El pelaje tuvo un aspecto esencialmente húmedo y graso durante 24 horas completado con algunos depósitos (leves o moderados) durante hasta 7 días.

Concentraciones de la oxiclozanida en sangre: Los perfiles de concentración plasmática-tiempo media y SD de la oxiclozanida se presentan en la tabla 8. La biodisponibilidad fue baja (12 %) después de la aplicación tópica. Se observaron bajas concentraciones de la oxiclozanida, lo que sugiere una pequeña exposición de la flora intestinal.

30 Tabla 8: Concentración plasmática media (µg/L)-tiempo de la oxiclozanida obtenida después de la administración tópica única de C719 en perros.

Tiempo (h)	N	Media (ug/L)	SD (ug/L)	% CV	Min (ug/L)	Max (ug/L)
0.00	0					
1.00	2	2213	2372	107.2	535	3890
5.00	5	469	624	133.1	54	1493
9.00	6	377	498	132.0	90	1387
12.00	6	516	787	152.5	149	2117
16.00	6	635	892	140.6	160	2437
24.00	6	639	712	111.5	240	2084
32.00	6	274	223	81.2	82	701
48.00	5	135	66	48.7	69	243
56.00	6	102	54	52.9	51	203
72.00	6	86	47	54.8	58	180
80.00	5	91	40	44.0	53	157
96.00	6	81	43	52.7	51	162
120.00	3	131	63	48.0	72	197

## ES 2 979 393 T3

144.00	5	72	19	25.7	54	104
168.00	5	93	46	48.8	53	143

5 Concentraciones de la oxiclozanida en la piel: Los perfiles de concentración-tiempo de la oxiclozanida en la piel superficial media y SD se presentan en la tabla 9. La oxiclozanida se acumula bien durante un largo período de tiempo en el estrato córneo después de la aplicación tópica. La oxiclozanida parece difundirse uniformemente en el área de la piel del cuerpo porque hay aproximadamente 10 cm entre el sitio de aplicación y las áreas donde se retira la cinta.

Tabla 9: Concentración cutánea media ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) de la cinta adhesiva-tiempo de oxiclozanida obtenida después de la administración tópica única de C719 en perros.

Tiempo (h)	N	Media (ng/g)	SD (ng/g)	% CV	Min (ng/g)	Max (ng/g)
0	5	0	0	nc	0	0
3	6	117782	70086	59.5	37774	190721
8	6	211917	170128	80.3	51920	502078
24	6	363216	163261	44.9	148170	575800
48	6	534732	312654	58.5	263882	973433
72	6	338554	197539	58.3	127635	528450
96	6	418740	292276	69.8	156853	864250
120	6	289573	134742	46.5	148142	473850
144	6	287380	238035	82.8	98741	724050
168	6	204411	59785	29.2	141178	296565

10 Análisis farmacocinético: Los parámetros farmacocinéticos medios e individuales de la oxiclozanida en plasma se resumen en la tabla 10 a continuación. La biodisponibilidad relativa de la oxiclozanida después de la administración tópica del 12 % se calculó entre los animales tratados con la dosis de 20 mg/kg.

Tabla 10: Parámetros NCA estimados medios e individuales de la oxiclozanida en plasma obtenidos después de la administración tópica única de C719 en perros.

Sujeto	Semivida (h)	Tmax (h)	Cmax (ug/L)	Túltimo (h)	Cúltima (ug/L)	AUCúltima (h*ug/L)
2284902	764.7	24.0	409	168.0	70	18002
2284919	57.7	1.0	3890	168.0	53	85625
2292943	126.7	24.0	240	168.0	58	14559
2293355	105.1	24.0	353	168.0	143	21436
2307664	104.1	16.0	518	168.0	143	23927
2307791	187.1	5.0	644	144.0	65	17821
N	6	6	6	6	6	6
Media	224.2	15.7	1009	164.0	89	30228
SD	268.1	10.4	1418	9.8	42	27330
Min	57.7	1.0	240	144.0	53	14559

## ES 2 979 393 T3

Mediana	115.9	20.0	464	168.0	67	19719
Max	764.7	24.0	3890	168	143	85625
% CV	119.6	66.2	140.5	6.0	47.8	90.4

La intervariabilidad entre animales fue baja después de la aplicación tópica. Los principales parámetros PK se presentan en la tabla 11 a continuación:

5 Tabla 11: Parámetros NCA estimados medios e individuales de la oxiclozanida en plasma obtenidos después de la administración tópica única de C719 en perros.

Sujeto	Corr_XY	Lambda_z (1/h)	HL_Lambda_z (h)	Tmax (h)	Cmax (ug/L)	Túltimo (h)	Cúltima (ug/L)
2284902	-0.139	0.0009	764.7	24.0	409	168.0	70
2284919	-0.977	0.0120	57.7	1.0	3890	168.0	53
2292943	-0.693	0.0055	126.7	24.0	240	168.0	58
2293355	-0.291	0.0066	105.1	24.0	353	168.0	143
2307664	-0.439	0.0067	104.1	16.0	518	168.0	143
2307791	-0.382	0.0037	187.1	5.0	644	144.0	65
N	6	6	6	6	6	6	6
Media	-0.487	0.0059	224.2	15.7	1009	164.0	89
SD	0.302	0.0037	268.1	10.4	1418	9.8	42
Min	-0.977	0.0009	57.7	1.0	240	144.0	53
Median	-0.411	0.0060	115.9	20.0	464	168.0	67
Max	-0.139	0.0120	764.7	24.0	3890	168	143
% CV	-62.0	62.7	119.6	66.2	140.5	6.0	47.8

La intervariabilidad entre animales fue baja después de la aplicación tópica. Los principales parámetros PK se presentan en la tabla 12 a continuación:

10 Tabla 12: Parámetros NCA estimados medios e individuales de la oxiclozanida en piel obtenidos después de la administración tópica única de C719 en perros.

Sujeto	Semivida (h)	Tmax (h)	Cmax (ng/g)	Túltimo (h)	Cúltimo (ng/g)	AUCúltima (h*ng/g)	AUCINF_obs (h*ng/g)
2284902	61.5	48.0	973433	168.0	182068	89611608	105769317
2284919	90.5	72.0	524692	168.0	233343	49932665	80409635
2292943	63.2	48.0	891650	168.0	296565	102474007	129514919
2293355	687.5	48.0	263882	168.0	227969	26115844	252223923
2307664	76.2	48.0	391883	168.0	141178	39910232	55434734
2307791	138.0	48.0	377056	168.0	145343	35569581	64509686

N	6	6	6	6	6	6	6
Media	186.2	52.0	570433	168.0	204411	57268989	114643702
SD	247.2	9.8	293574	0.0	59785	31260421	72690189
Min	61.5	48.0	263882	168.0	141178	26115844	55434734
Mediana	83.4	48.0	458288	168.0	205019	44921448	93089476
Max	687.5	72.0	973433	168	296565	102474007	252223923
% CV	132.8	18.8	51.5	0.0	29.2	54.6	63.4

Conclusión

5 Las propiedades específicas de la oxiclozanida (alta potencia y propiedades farmacocinéticas) como se muestran arriba permiten alcanzar las 3 claves principales de un buen antibiótico para tratar infecciones de la piel en perros i) una baja toxicidad que permite una larga duración del tratamiento (generalmente 3-4 semanas para las superficiales pioderma y mucho más tiempo para la pioderma profunda), ii) un espectro estrecho dirigido a *Staphylococcus spp* o bacterias grampositivas y sin efecto contra bacterias gramnegativas, evitando así el desarrollo de resistencia, iii) una distribución en el tejido de la piel de manera que se alcancen concentraciones eficaces.

10 De hecho, el tratamiento de la pioderma canina se ha basado tradicionalmente en la administración antibacteriana sistémica durante 3-4 semanas, sugiriéndose la terapia antimicrobiana tópica como tratamiento complementario. Las directrices recomiendan amoxicilina-ácido clavulánico, cefalexina o clindamicina como agentes empíricos de primera línea para la terapia con antibióticos sistémicos. Con una disminución de la susceptibilidad a los antibióticos de los patógenos microbianos y específicamente de las cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* asociadas con la pioderma canina, el tratamiento de estos casos se está volviendo cada vez más desafiante. Desde el primer informe de cepas resistentes a la meticilina en 1999 (es decir, cepas resistentes a todos los miembros de la familia de los betalactámicos), se ha informado en todo el mundo de un número cada vez mayor de cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes. La prevalencia de tales cepas entre los aislados clínicos varía mucho, desde 8.2 % a 47.9 % dependiendo de la ubicación geográfica y el tipo de práctica (médico general o remitente).

20 Como consecuencia, la terapia tópica se ha convertido en un componente importante del uso racional de antimicrobianos para el tratamiento de infecciones bacterianas superficiales. En las condiciones del estudio se puede concluir que el producto tópico según la presente invención muestra altas concentraciones (al menos 1000 veces la MIC) y alta persistencia en el estrato córneo durante un largo tiempo (entre 1 y 3 semanas) en todos los animales. Estas investigaciones preliminares han demostrado que una dosis semanal a dosis mensual como unción dorsal puntual puede ser eficaz para el tratamiento de infecciones de la piel debidas a *Staphylococcus spp*.

25

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea que comprende de 2 a 20 % p/v de al menos una salicilanilida halogenada, o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable de la misma, de 35 a 55 % p/v de dimetilsulfóxido, en la que al menos una salicilanilida halogenada se selecciona de niclosamida y/u oxiclozanida y en la que la composición se disuelve en éter monoetílico de dietilenglicol.
2. La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea según la reivindicación 1, en la que la salicilanilida halogenada es oxiclozanida.
3. La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea según la reivindicación 1, en la que esta comprende de 5 a 15 % p/v de la oxiclozanida.
- 10 4. La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea según la reivindicación 1, en la que esta comprende de 8 a 12 % p/v de la oxiclozanida.
5. La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que esta comprende de 40 a 50 % p/v de dimetilsulfóxido.
- 15 6. Una composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el tratamiento o prevención de pioderma o dermatitis en mamíferos no humanos en la que la composición se aplica por vía tópica al mamífero no humano como una aplicación única opcionalmente repetida varias veces cada 5 a 10 días.
- 20 7. La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea para su uso según la reivindicación 6, en la que la composición para unción dorsal puntual o en línea se aplica al mamífero no humano una vez cada 5 a 10 días durante 3 a 5 semanas consecutivas.
8. La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea para su uso según la reivindicación 6 o 7, en la que la composición para unción dorsal puntual o en línea suministra de 10 a 800 mg de salicilanilida halogenada, preferiblemente aproximadamente 200 mg.
- 25 9. La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en la que la composición para unción dorsal puntual o en línea se aplica a una dosis de 0.5 a 5 ml por 10 kg de peso corporal.
10. La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en la que la composición para unción dorsal puntual o en línea se aplica a una dosis de 1 a 3 ml por 10 Kg de peso corporal, incluso más preferiblemente aproximadamente 2 ml por 10 kg de peso corporal.
- 30 11. La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, en la que la composición se formula como una dosis unitaria adaptada al peso y/o tamaño del mamífero no humano y la dosis completa se aplica al mamífero no humano.
- 35 12. La composición veterinaria tópica para unción dorsal puntual o en línea para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, en la que el mamífero no humano es un animal de compañía, más preferiblemente un perro o un gato, incluso más preferiblemente un perro.