

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Toxicología y Farmacología



**INFLUENCIA DE LA EDAD Y ESTADO SANITARIO SOBRE
EL COMPORTAMIENTO FARMACOCINÉTICO DE LA
SULFAMETAZINA EN BOVINOS (“BOS TAURUS”) Y SU
COMPARACIÓN CON BUBALINOS (“BUBALUS BUBALIS”)**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Eduardo Eliseo Baroni

Bajo la dirección de los doctores
Manuel Ignacio de San Andrés Larrea
Juan Carlos Boggie

Madrid, 2004

ISBN: 84-669-2672-0

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA
CÁTEDRA DE FARMACOLOGÍA**

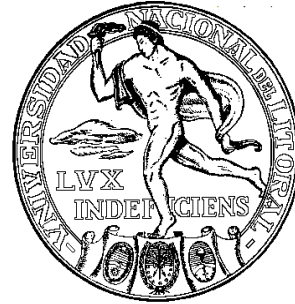


Influencia de la edad y estado sanitario sobre el comportamiento farmacocinético de la sulfametazina en bovinos (*bos taurus*) y su comparación con bubalinos (*bubalus bubalis*).

**EDUARDO ELISEO BARONI
Madrid 2004**



UNIVERSIDAD COMPUENSE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
DPTO TOXICOLOGÍA Y
FARMACOLOGÍA
CÁTEDRA DE FARMACOLOGÍA



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD CIENCIAS VETERINARIAS
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y
TOXICOLOGIA

**Influencia de la edad y estado sanitario sobre el
comportamiento farmacocinético de la sulfametazina
en bovinos (*bos taurus*) y su comparación con
bubalinos (*bubalus bubalis*).**

EDUARDO ELISEO BARONI
Madrid 2004

Trabajo que presenta el licenciado en veterinaria
D. Eduardo Eliseo Baroni
para aspirar al título de Doctor.

Fdo.: Eduardo Baroni

Esperanza abril 2004
Madrid abril de 2004

D. Manuel Ignacio de San Andrés Larrea Profesor Titular de Farmacología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid y D. Juan Carlos Boggio Catedrático de Farmacología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Córdoba

CERTIFICAN

Que la memoria presentada por el Magíster en Ciencias y Licenciado en Veterinaria D. Eduardo Eliseo Baroni, con el título “*Influencia de la edad y estado sanitario sobre el comportamiento farmacocinético de la sulfametazina en bovinos (bos taurus) y su comparación con bubalinos (bubalus bubalis)*“, ha sido realizada bajo nuestra dirección en los laboratorios de

Departamento de Toxicología y Farmacología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid

Departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral

Departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad Nacional de Córdoba

Córdoba (Argentina) abril de 2004

Madrid (España) abril de 2004

Fdo.: Juan Carlos Boggio

Fdo.: Manuel San Andrés

ABREVIATURAS

α : constante híbrida de disposición rápida del modelo bicompartimental.

β : constante híbrida de disposición lenta del modelo bicompartimental.

λ : Longitud de onda

μl : microlitro.

μm : micrómetro.

$\mu\text{g-h/ml}$: microgramo hora por mililitro.

$\mu\text{g/ml}$: microgramos por mililitro.

$\mu\text{g/Kg}$: microgramos por kilogramo.

$^{\circ}\text{C}$: grados centígrados.

A: ordenada al origen del proceso alfa.

ABC: área bajo la curva del pico cromatográfico.

ADN: Ácido desoxiribonucleico.

AUC: área bajo la curva de concentraciones plasmáticas en función del tiempo desde el tiempo 0 hasta el tiempo de la última concentración cuantificada

B: ordenada al origen del proceso beta.

CBM: concentración bactericida mínima.

CC: concentración del analito.

CIM: concentración inhibitoria mínima.

Cl: aclaramiento plasmático.

C_{max}: concentración plasmática máxima.

C_{p(0)}: concentración plasmática

CV: coeficiente de variación.

D.E.: desvío estándar.

D: dosis administrada.

Da: daltons.

F: biodisponibilidad.

h: hora / horas.

HPLC: cromatografía líquida de alta eficacia.

IM: intramuscular.

IV: intravenosa.

K₁₀: constante de eliminación.

K₁₂: constante de transferencia del compartimiento central al periférico

K₂₁: constante de transferencia del compartimiento periférico al central.

LC: límite de cuantificación

L/Kg: por kilogramo.

mg: miligramos.

mg/Kg: miligramos por kilogramo.

min.: minuto.

ml: mililitros.

ml/min: mililitros por minuto.

ml/h/kg: mililitros por hora por kilogramo.

ml/kg/h: mililitros por kilogramo por hora.

MRT_∞: tiempo medio de residencia entre el tiempo 0 hasta infinito.

MRT: tiempo medio de residencia.

MRT_t: tiempo medio de residencia entre el tiempo 0 y el tiempo de la última concentración cuantificada.

pK_a: constante de disociación.

s.c.: subcutánea.

smz: sulfametazina

t_{1/2α}: semivida de distribución.

t_{1/2β}: semivida de eliminación.

T_{max}: tiempo en el cual se alcanza la concentración máxima.

V_d: volumen de distribución.

V_{dc}: Volumen de distribución del compartimento central

V_{darea}: Volumen de distribución en estado de pseudo-equilibrio

V_{dss}: volumen de distribución en estado de equilibrio.

V_{intra}: coeficiente de variación intradía.

V_{inter}: coeficiente de variación interdía.

ÍNDICE

I. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
II.1. GENERALIDADES	4
II.1.1. EVOLUCION HISTORICA DE LAS SULFAMIDAS.....	4
II.1.2. ESTRUCTURA QUÍMICA: RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	5
II.1.3. CLASIFICACION DE LAS SULFAMIDAS.....	8
II.1.4. MECANISMO DE ACCIÓN	9
II.1.5. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	11
II.1.6. INDICACIONES CLINICAS Y POSOLOGIA	14
II.1.7. RESISTENCIA BACTERIANA	20
II.1.8. TOXICIDAD	20
II.1.9. INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS.....	24
II.2. PROPIEDADES FARMACOCINÉTICA DE LAS SULFAMIDAS	28
II.2.1. ABSORCIÓN	28
II.2.2. DISTRIBUCIÓN	30
II.2.3. METABOLISMO	33
II.2.4. EXCRECIÓN.....	35
II.2.5. FACTORES QUE MODIFICAN EL COMPORTAMIENTO CINÉTICO	37
II.2.5.1 FACTORES QUE MODIFICAN LA ABSORCIÓN.....	37
II.2.5.2 FACTORES QUE MODIFICAN LA DISTRIBUCIÓN.....	40
II.2.5.3 FACTORES QUE MODIFICAN EL METABOLISMO	43
II.2.5.4 FACTORES QUE MODIFICAN LA EXCRECION	43
II.3. SULFAMETAZINA	45
III. MATERIAL Y MÉTODOS	51
III.1. MATERIAL	51
III.2. MÉTODOS	55
III.2.1. ACONDICIONAMIENTO Y ADAPTACIÓN DE LOS ANIMALES.....	55
III.2.2. PRODUCCIÓN EXPERIMENTAL DE UN CUADRO FEBRIL	55
III.2.3. ADMINISTRACIÓN DEL FÁRMACO Y TOMA DE MUESTRAS	56
III.2.4. ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	58
III.2.5. METODOLOGÍA ANALÍTICA	58
III.2.6. TRATAMIENTO FARMACOCINÉTICO	61
III.2.7. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.....	61
IV. RESULTADOS	63
IV.1. MÉTODO ANALÍTICO	63
IV.2. FARMACOCINÉTICA EN TERNEROS DE DIFERENTES EDADES	68

IV.3. FARMACOCINÉTICA EN ANIMALES CON CUADRO FEBRIL	77
IV.4. FARMACOCINÉTICA EN BÚFALOS DE AGUA.....	83
IV.5. ESTADISTICA	86
V. DISCUSIÓN.....	87
V.1. MATERIAL	87
V.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	87
V.1.2. FÁRMACOS Y PRODUCTOS BIOLÓGICOS UTILIZADOS, REACTIVOS E INSTRUMENTACIÓN	88
V.2. MÉTODOS	89
V.2.1. PRODUCCIÓN EXPERIMENTAL DEL CUADRO FEBRIL.....	89
V.2.2. PROTOCOLOS DE ADMINISTRACIÓN DEL FÁRMACO, OBTENCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	90
V.2.3. METODOLOGÍA ANALÍTICA	91
V.2.4. TRATAMIENTO FARMACOCINÉTICO Y ESTADÍSTICO.....	93
V.3. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS	94
V.3.1. FARMACOCINÉTICA EN BOVINOS RUMIANTES.....	94
V.4. INFLUENCIA DEL DESARROLLO EN EL COMPORTAMIENTO FARMACOCINÉTICO	96
V.5. INFLUENCIA DE UN ESTADO FEBRIL EN EL COMPORTAMIENTO FARMACOCINÉTICO	101
V.6. COMPORTAMIENTO FARMACOCINÉTICO EN BÚFALOS	106
VI. CONCLUSIONES	108
VII. RESUMEN	109
VIII. SUMMARY.....	111
IX. BIBLIOGRAFIA	113
X. ANEXOS.....	136

I. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El uso racional de fármacos adquiere cada vez una mayor relevancia por su demanda profesional y social. Uno de los grupos farmacológicos que mas indiscriminadamente se ha utilizado por su baja toxicidad y elevadas ventajas terapéuticas, ha sido el de los antimicrobianos. Este uso inadecuado a dado lugar a un elevado número de problemas que van desde el fracaso terapéutico por una elección inadecuada o a una posología mal instaurada, a la presentación de resistencias, cada vez mas extendidas o a la presentación de reacciones secundarias iatrogénicas.

Para evitar este uso no racional se requiere un amplio conocimiento de las características farmacológicas de cada compuesto

Para ello es necesario realizar una serie de estudios en las diferentes especies de destino, y conocer las posibles variaciones que la edad, el sexo, tipo de explotación, estado sanitario y demás factores ejercen sobre el comportamiento farmacocinético de un antimicrobiano concreto.

Lo primero que debemos considerar es que a los animales que se destina este tipo de medicamentos, son animales febriles y con una serie de alteraciones en su fisiología que pueden variar su respuesta a los agentes antiinfecciosos que se les administren. Por otro lado y mas concretamente en el caso de los rumiantes, por su singular aparato digestivo. La edad va a influir notablemente en el desarrollo de sus órganos y sistemas y consecuentemente en la capacidad de enfrentarse a los fármacos y eliminarlos de su organismo.

A estas consideraciones hay que añadir que clásicamente se ha considerado que las pautas terapéuticas que se empleaban en una especie rumiante eran igualmente válidas para otras y que no existían grandes diferencias entre bovinos, ovinos, caprinos y/o bubalinos. Teniendo en cuenta las diferencias registradas en el comportamiento cinético de numerosos fármacos en las distintas especies, se hace necesario, para planificar e instaurar un tratamiento eficaz, conocer las características farmacocinéticas que presenta el fármaco a utilizar en la especie a tratar.

La producción bovina en Argentina, con casi 50 millones de cabeza, y en particular la provincia de Santa Fe, una de las principales productoras de bovinos de

leche y de carne y exportadora de productos y subproductos derivados de estos, con 7 millones de cabezas, ha cobrado importancia con los logros sanitarios y aperturas de numerosos mercados. Santas Fe cuenta con diferente zonas productivas, tales como la cuenca lechera santafesina y zonas subtropicales; en esta última cobra importancia no solo la cría bovina sino también el ganado bubalino, especialmente el *Bubalus bubalis* (Búfalo de Agua) el que esta ocupando un importante espacio dentro de la producción animal.

Teniendo en cuenta los aspectos mencionados y la importancia de la ganadería y sus distintos sistemas productivos, se plantea la necesidad de desarrollar estudios vinculados al comportamiento de los fármacos en las especies citadas bajo las condiciones productivas típicas de nuestra región.

La sulfametazina es un antimicrobiano perteneciente a la familia de las sulfamidas, que presentan un espectro de acción amplio, afectando distintos microorganismos, bacterias Gram positivas, Gram negativas, clamidias y algunos protozoos. Las características farmacocinéticas que presenta en rumiantes permiten la administración por distintas vías con una buena biodisponibilidad, una buena distribución tisular y una prolongada permanencia en el organismo que la hacen apta para el tratamiento de afecciones del aparato respiratorio, urinario, gastrointestinal y sistema nervioso central.

El objetivo general de este trabajo es definir el comportamiento farmacocinético de la sulfametazina en bovinos y en bubalinos. Para lograrlo se establecieron los siguientes objetivos particulares:

1- Describir la disposición farmacocinética del fármaco tras la administración intravenosa en bovinos y bubalinos. Establecer las posibles diferencias entre especies.

2- Estudiar los posibles efectos de la edad en el comportamiento farmacocinético.

3- Investigar en bovinos la influencia de un síndrome febril en la disposición del fármaco.

Para el establecimiento de estos objetivos se partió de las siguientes hipótesis:

1- Las diferencias farmacocinéticas que se observan en diversos fármacos debido a la especie animal podrían presentarse también con sulfametazina entre bovinos y bubalinos, pues a pesar que son especies rumiantes similares, presentan notables diferencias en su disposición de tejido adiposo, su metabolismo y su estructura renal, haciendo necesario realizar posologías diferentes.

2- Las diferencias que se han observado en la distribución y eliminación de numerosos fármacos en distintas especies en función del grado de desarrollo de los animales podrían producirse con la administración de sulfametazina en bovinos y hacer necesario un ajuste de la dosis en los animales jóvenes para evitar la producción de efectos tóxicos por sobredosificación o la aparición de resistencias por subdosificación.

3- Dado que los cuadros infecciosos pueden generar un estado febril, las modificaciones observadas en la cinética de numerosos fármacos durante dicho estado, podrían también producirse tras la administración de sulfametazina en bovinos y hacer necesario un ajuste de la dosis en los animales febriles, para evitar la producción de efectos tóxicos por sobredosificación o la aparición de resistencias por subdosificación.

II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

II.1 GENERALIDADES

II.1.1. EVOLUCION HISTORICA DE LAS SULFAMIDAS

En un antiguo tratado -primero de Farmacología, Toxicología y Arte de Recetar del profesor Dr. E. Starkenstein (1946)- se refería, en el capítulo correspondiente a Modificación Farmacológica de los Agentes Patógenos Vivientes, Materias colorantes- de la siguiente manera: ...“en el año 1935 principió una nueva era de bastante importancia en el tratamiento de las enfermedades bacterianas con productos químicos eficaces debido a los resultados favorables obtenido por Domag sobre la sepsis estreptocócica del ratón con el *clorhidrato de 4'-sulfamida-2-4-diamino-azobenzol*, sintetizado en 1932 por Mieztsch y Klarer. Esta sustancia recibió el nombre de Prontosil rubrum.”

Paralelamente Fourneau y sus colaboradores en el Instituto Pasteur de Paris en 1935 comunican un interesante hallazgo: que los colorantes azoicos se dividían en los tejidos, así que el Prontosil daba en su división para-amino-benceno-sulfonamida, que era la porción quimioterápica de la molécula primitiva (Figura 1). Los mismos prepararon este compuesto en 1936 observando que era tan eficaz como el Prontosil mismo en la curación de infecciones experimentales siendo éste un descubrimiento de trascendental importancia. La sulfanilamida fue entonces establecida como el principio activo del Prontosil rubrum (Goodman & Gilman, 1945).

Desde entonces se han obtenido muchos derivados de esta combinación y han sido adoptados en la terapéutica, siendo la sulfanilamida (una amida del ácido sulfanílico), la primera en usarse clínicamente. Se reportó por primera vez en el *Deutsche Medizinische Wochenschrift* en 1935 su uso en una infección estreptocócica en pacientes humanos con resultados exitosos. Más adelante se consiguió preparar combinaciones sulfamido-pirimidínicas muy valiosas para el tratamiento de las neumonías e incluso de las infecciones gonocócicas. En medicina veterinaria se documentó, en el año 1937-38, el uso eficaz contra mastitis en vacas y artritis en potrillo. Cerca de 5400 derivados de la sulfanilamida fueron sintetizados en Gran Bretaña, Estados Unidos, Francia y Alemania en las décadas siguientes, siendo la sulfapirimidina y sulfadimidina en 1941; la sulfamerazina y sulfadiazina en 1943. La

Las sustituciones en el grupo amido originan efectos variables en la actividad antibacteriana de la molécula. El grupo amido no es esencial en sí, lo importante es que el azufre esté unido directamente al anillo benceno. El grupo amino es esencial, y puede sustituirse solamente por radicales que se transformen *in vivo* en un grupo amino libre. Si bien las diversas sustituciones químicas originan sulfamidas con características físicas, químicas y farmacocinéticas particulares, en general las propiedades antibacterianas son similares para todos los compuestos del grupo y por tanto serán tratados como tal (Figura 2) (Costa-Batlori, 1996).

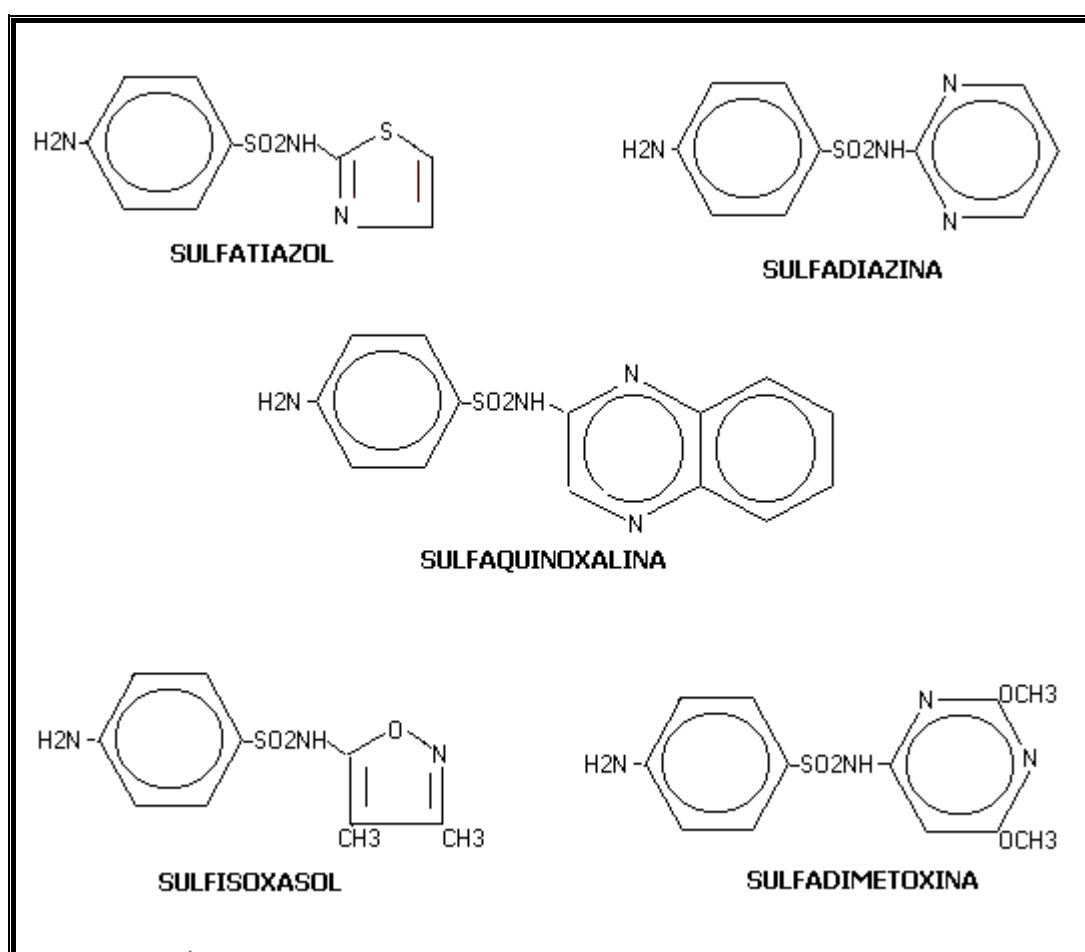


FIGURA 2: Fórmulas estructurales de diferentes sulfamidas de interés Veterinario (Spoo & Riviere, 2001).

Químicamente son cristales blancos relativamente insolubles en agua, teniendo un amplio rango de valores de pK_a. Son ácidos débiles, con diferentes pesos moleculares: sulfanilamida (172,2), sulfadiazina (250,3), sulfametoxazol (253,3), sulfamerazina (264,3), sulfatroxazol (267,3), sulfadimidina (278,3), sulfadoxina y

sulfadimetoxina (310,3) (Mengelers *et al.*, 1997). También muestran amplia variabilidad de unión a proteínas plasmáticas (15-90 %), considerando a cada sulfamida en forma individual y a su vez en relación a cada especie animal (Ahmad *et al.*, 1988; Srivastava *et al.*, 1989; Prescott, 2002). Su solubilidad es mayor en medios alcalinos que en pH neutros y ácidos, la misma se aumenta cuando son formuladas en medios con sales sódicas. En los líquidos biológicos con pH menor que su pK_a predomina la forma no ionizada, siendo esta fracción la que difunde a través de las membranas celulares y penetra las barreras biológicas.

Existen preparados parenterales para ser administrados mediante inyecciones intravenosa, aunque algunas soluciones tiene un pH entre 9 y 10, por lo que se debe tener cuidado de extravasación. En general son insolubles en agua y tienden a cristalizar en un pH ácido de la orina *-in vivo-*, especialmente en casos de sobre dosificación, animales deshidratados, acidosis o por dosis grandes y prolongadas. Para minimizar la acción de cristalización *in vivo* y obtener altos niveles de concentración en sangre y orina, a menudo se combinan varias de ellas. Esto es debido a que no se afectan significativamente la solubilidad de cada una (ley de solubilidad independiente), siendo por lo tanto de suma importancia clínica. El uso de triplesulfas (tres sulfas formuladas juntas en la misma solución) permite incrementar la eficacia sin un significativo incremento del riesgo de efectos adversos. Logrando además un efecto antimicrobiano aditivo. Ciertas moléculas de éstas se han desarrollado para que sean poco solubles como el ftalilsulfatiazol, lo que condiciona una lenta absorción y una indicación específica por la vía oral, para el tratamiento de infecciones intestinales (Prescott, 2002).

Las sulfamidas forman sales en soluciones de ácidos fuertes o en soluciones básicas. El pK_a para las de interés terapéutico tiene amplia variación como se observa en Tabla 1 (Van Duijkeren *et al.*, 1995; Spoo & Riviere, 2001).

TABLA 1: Valores de pK_a de algunas sulfamidas de interés veterinario (adaptado de Mengelers *et al.*, 1997; Spoo & Riviere, 2001).

Compuesto	pK _a
Sulfanilamida	10.4
Sulfamerazina	7.1
Sulfametazina	7.4
Sulfadiazina	6.4
Sulfadoxina	6.1
Sulfametoxazole	6.0
Sulfadimetoxina	6.0
Sulfacloropiridacina	6.0
Sulfaquinoxalina	5.5
Sulfametazol	5.45
Sulfatiazol	7.1
Sulfisoxazol	4.7

II.1.3. CLASIFICACION DE LAS SULFAMIDAS

De acuerdo a la concentración plasmática y tiempo de permanencia de las mismas, se las puede clasificar en sulfamidas de corta, intermedia y de larga acción. Son de corta acción si luego de una dosis terapéutica la concentración en sangre se mantiene por encima de 50 µg/ml por menos de 12 horas después de la administración. De acción intermedia si ese nivel plasmático es mantenido entre 12 y 24 horas; y de larga acción si la concentración indicada se mantiene por más de 24 horas después de la dosis administrada. Se considera una cuarta clase de sulfamidas a aquellas que no son absorbidas (o mínimamente) por el tracto gastrointestinal luego de administradas oralmente y actuando en forma local en el mismo teniendo esta una acción entérica (Tabla 2) (Spoo & Riviere, 2001).

TABLA 2: Clasificación de sulfamidas utilizadas en medicina veterinaria, basada en concentración plasmática versus tiempo de permanencia (Spoo & Riviere, 2001).

Acción corta	Acción intermedia	Acción prolongada	Acción entérica
Sulfacetamida	Sulfadimetoxina	Sulfametilfenazole	Succinilsulfatiazole
Sulfatiazol	Sulfametacina	Sulfabromometazina	Sulfaguanidina
Sulfisoxazol	Sulfametoxazol	Sulfabrometazina	Sulfaquinoxalina
Sulfametazole	Sulfapiridina	Sulfadimetoxina	Pftalilsulfatiazol (Sulfatalidina)
Trisulfapyrimidina (triple sulfa)	Sulfacloropiridazina	Sulfametacina	Sulfasalazine
	Sulfadiazina	Sulfaetoxipiridacina	
	Sulfisoxazol		

La conversión de una molécula de sulfamida no absorbible se realiza bloqueando el N⁴. Con ello se bloquea también, inicialmente, su actividad terapéutica hasta que la hidrólisis producida por las bacterias del intestino liberan dicho N⁴ y con ello la sulfamida recupera su actividad. La importancia de este proceso reside en el hecho de que esta liberación del N⁴ se realiza en la zona del intestino en la que se hallan, generalmente, los microorganismos patógenos (coccidios, colibacilos) pero en la que ya no se produce absorción medicamentosa, con lo que se cumple el objetivo de incrementar la eficacia al mantener una elevada concentración de dicho fármaco en el tracto digestivo y evitar la presencia de residuos del mismo en las canales (Costa-Batllo 1996).

II.1.4. MECANISMO DE ACCIÓN

El mecanismo de acción de las sulfamidas es de tipo bacteriostático cuando se utilizan solas, e implica interferencia metabólica en los microorganismos susceptibles comportándose como inhibidores metabólicos o antimetabolitos, al impedir la síntesis de ácido fólico (Hurtado & Gomez, 2002).

En la forma tetrahidrato, los folatos actúan como coenzimas en procesos en los que existe transferencia de una unidad de carbono (en la biosíntesis de nucleótidos purínicos y pirimidínicos), en conversiones de aminoácidos (de histidina a ácido glutámico) y en la síntesis y utilización de formatos. De esta manera, al inhibirse su formación, se altera la síntesis de ácidos nucleicos, de proteínas y los mecanismos de replicación microbiana (Martin-Jimenez, 2002).

El ácido para amino benzoico, pteridinas, ácido glutámico y la enzima dihidropterato sintetasa interactúan en la formación del ácido dihidropterico, inmediato precursor del ácido dihidrofolico. El ácido dihidropterico por acción de la enzima dihidrofolato sintetasa es convertido en dihidrofolico, seguido este por otra acción enzimática y convertido en tetrahidrofolato (THFA) vía la dihidrofolato reductasa (DHFR). El THFA continúa la vía metabólica para permitir la producción de RNA y así la reproducción bacteriana (Figura 3) (Spoo & Riviere, 2001).

Células que producen excesiva cantidades de PABA o que lo tienen en su medio, tal como el tejido necrótico, son resistentes a las sulfamidas por competición con el mismo (USP, 2000).

Durand & Savel (2001) y Sköld (2001), hacen referencia a la selectiva acción del trimetoprim como antifolato en las célula bacteriana y protozoos con respecto a las células de mamíferos, a pesar de haberles administrado muy altas concentraciones, observándose en ambos, una alta afinidad de unión de éste con los sitios de unión de la enzima DHFR al nucleótido.

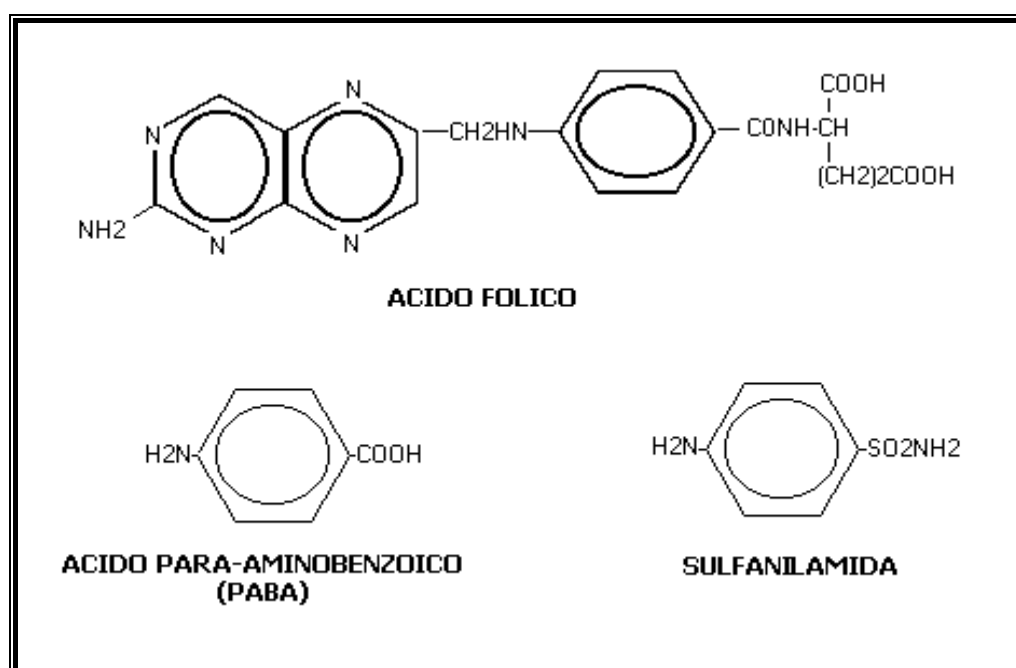


FIGURA 4: Estructura química del Ácido Fólico, Ácido Para-aminobenzoico (PABA) y Sulfanilamida (Van Miert, 1994).

II.1.5. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Desde hace muchos años, las sulfamidas, con diferentes perfiles farmacocinéticos y espectro antibacteriano, han sido utilizadas en medicina veterinaria para el tratamiento de infecciones bacterianas, en aparato respiratorio, urinario, gastrointestinal y sistema nervioso central (Costa-Batlioni, 1996).

El espectro de acción de las sulfamidas es amplio, afectando distintos microorganismos, bacterias Gram positivas, Gram negativas, clamidias y algunos protozoos incluyendo a coccidios, *Toxoplasma spp* (Plumb, 1999), *Sarcocystis neurona* (Mac Kay, 1997; Lindsay & Dubey, 1999) y *Neospora caninum* (Lindsay *et al.*, 1994, 1996). Por otra parte *Leptospira spp* y *Pseudomona spp* son resistentes a las mismas (Prescott, 2002).

Por su uso prolongado a través de los años, muchos de los organismos que eran susceptibles a las mismas hoy están siendo resistentes. Las diferentes sulfamidas pueden mostrar diferencias cuantitativas pero no necesariamente cualitativas en su actividad. Combinando sulfamidas con diaminopirimidinas se aumenta el espectro de acción siendo hoy una de las formas mas usadas en terapéutica antibacteriana en la clínica veterinaria y especialmente en la de grandes animales (Costa-Batlloori, 1996; Precott 2002).

Van Duijkeren *et al.* (1994b) evidencian en modelos in vitro, la susceptibilidad a las sulfamidas de muchos patógenos y especialmente la *Salmonella spp* que afecta a los equinos, indicando que de las estudiadas, la sulfacloropiridazina, sulfadiazina y sulfametoxazol (con valores CIM50 de 16 µg/ml para la primera y 32 µg/ml para las otras), fueron las mas potentes. También demostraron un marcado sinergismo cuando fueron combinadas con trimetoprim en concentraciones de 1:1 a 1:160. Por esto indican que estas tres sulfamidas combinadas con el trimetoprim serían las indicadas para el tratamiento de salmonelosis en equinos.

Prescott (2002) ha agrupado a los patógenos del tracto urinario en tres categorías, de acuerdo a su susceptibilidad a las sulfas:

-Buena sensibilidad: *Bacillus spp*, *Brucella spp*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *L. monocytogenes*, *Nocardia spp*, *Streptococcus spp* piogénico, *Chlamydia spp*, gran número de coccidios, *Pneumocystis carinii*, *Cryptosporidium spp*.

-Moderada sensibilidad: a menudo variable debido a la resistencia adquirida. Incluye en los aerobios Gram positivos: estafilococos y algunos enterococos. Aerobios Gram negativos tales como: *Enterobacter spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* y *Proteus spp*; *Actinobacillus spp*, *Haemophilus spp*, *Pasteurella spp* y *Pseudomonas spp*. Los anaerobios tales como *Bacteroides spp* y *Fusobacterium spp* a menudo son

susceptibles *in vitro* si el medio está deplecionado de timidina; no siendo este el caso *in vivo*. Las especies de *Clostridium spp* (diferentes del *C. perfringens*) y los cocos anaerobios suelen ser resistentes.

-Resistentes: Incluyen a *Mycobacterium spp*, *Mycoplasma spp*, *Rickettsia spp*, *Pseudomona Aeruginosa* y espiroquetas.

Ha sido ampliamente demostrado que las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de las sulfamidas están marcadamente influenciadas por la composición del medio de cultivo utilizado y de la concentración del inóculo bacteriano. Debido a ello en los estudios *in vitro* a veces se puede evidenciar falsamente un microorganismo como resistente. Este no será el caso si se emplea un control de calidad adecuado con una cepa sensible a timidina de *Enterococcus faecales*. En las pruebas de difusión el agar de Mueller-Hinton que contiene sangre equina lisada es el medio ideal porque posee timidita fosforilada la cual reduce la cantidad de timidita en el ambiente. Los criterios de sensibilidad para las bacterias en las infecciones sistémicas no son coincidentes debido a las dificultades para determinar la CIM y la variabilidad en las concentraciones séricas con diferentes fármacos y distintas dosis. Una CIM de 8 - 32 $\mu\text{g/ml}$ es una definición razonable de sensibilidad para las sulfamidas sistémicas de acción corta; una CIM de 64 - 128 $\mu\text{g/ml}$ puede ser interpretada como evidencia de resistencia.

La prueba de susceptibilidad de sulfamidas en los laboratorios veterinarios en ocasiones se efectúa con discos de triples sulfas de alta potencia, diseñados para determinar la sensibilidad en las elevadas concentraciones urinarias (100 $\mu\text{g/ml}$); por ello no es adecuada la extrapolación de la susceptibilidad a las infecciones sistémicas. Los criterios del Comité Nacional de Standard Clínicos de Laboratorio (NCCLS) describen la sensibilidad bacteriana para infecciones urinarias como aquellas que tienen una CIM menor o igual a 256 $\mu\text{g/ml}$ (Prescott, 2002).

En la Tabla 3 se presentan valores de concentraciones inhibitoria mínima (CIM₉₀) que inhiben el 90 % de los microorganismos.

TABLA 3: Comparación de la acción contra microorganismos entre sulfamida, trimetoprim y sulfametoxazol-trimetoprim (adaptado de Mengelers *et al.* 1997; Prescott, 2002).

Genero/especie	CIM ₉₀ (µg/ml) de Sulfamida ^a	CIM ₉₀ (µg/ml) de Trimetoprim	CIM ₉₀ (µg/ml) de Trimetoprim-sulfametoxazol ^b
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	32	8	0.13
<i>C. pseudotuberculosis</i>	SD	SD	≤0.5
<i>C. renale</i>	>64	SD	SD
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	8	0.13	0.06
<i>Listeria monocytogenes</i>	8	0.06	0.03
<i>Nocardia asteroides</i>	128	128	8
<i>Rhodococcus equi</i>	>128	64	32
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	2	0.25
<i>Streptococcus agalactiae</i>	32	0.5	0.06
<i>S. disgalactiae</i>	>256	4	0.06
<i>S. uberis</i>	>128	4	0.5
<i>Streptococcus β hemolíticos</i>	>128	2	2
<i>Clostridium perfringens</i>	16	64	SD
<i>Actinobacillus spp</i>	64	SD	≤0.06
<i>A pleuroneumoniae</i> ^c	≥128	2	8
<i>Bordetella bronchiseptica</i> ^c	≥256	SD	≤0.06
<i>Brucella abortus</i>	16	4	0.06
<i>B. canis</i>	2	SD	SD
<i>Campylobacter yeyuni</i>	≥256	≥512	≥512
<i>Escherichia coli</i> ^c	≥128	1	≤0.5
<i>Haemophilus sommus</i>	≥128	SD	SD
<i>Klebsiella neumoniae</i> ^c	>128	4	≤0.5
<i>Moraxella bovis</i>	>64	>64	≤0.15
<i>Pasteurella multocida</i>	>128	4	SD
<i>Proteus spp</i>	≥256	8	≤0.5
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	>515	512	128
<i>Salmonella spp</i>	128	4	0.5
<i>Taylorella equigenitalis</i>	>128	SD	SD
<i>Yersinia enterocolitica</i>	>128	1	8
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	8,8	-	-
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	32 ^d	-	-

^a :principalmente sulfadimetoxina; ^b :la proporción trimetoprim-sulfametoxazol es de 1/19.

^c :muchas de estas cepas ahora se consideran resistentes a la combinación; ^d : sulfadimidina.

II.1.6. INDICACIONES CLINICAS Y POSOLOGIA.

La generalización de la resistencia a las sulfamidas restringe en gran manera su eficacia en el tratamiento de las enfermedades de etiología bacteriana de los animales, si bien todavía se utilizan para tratar animales destinados al consumo humano y ciertas enfermedades de perros y gatos. Las asociaciones del trimetoprim con las sulfamidas

han sustituido en gran parte a estas últimas como agente terapéutico utilizado en los animales de compañía (Prescott, 2002).

Las sulfamidas no absorbibles como ftalilsulfatiazol, succinilsulfatiazol y sulfaguanidina tienen indicación prácticamente única en el tratamiento y prevención de enteritis infecciosa provocada por microorganismos sensibles. La sulfaquinoxalina, clasificada dentro de dicho grupo, es utilizada principalmente en el tratamiento de coccidiosis aviar, no observándose diferencias cuando se la potenciaba con pirimetamina (Spoo & Riviere, 2001).

Los compuestos de uso tópico como la sulfadiazina argéntica, sulfacetamida y mafenida son de aplicación en dermatitis, tratamiento de heridas y uso oftálmico. Recientemente se ha recomendado la combinación sulfadimetoxina-ormetoprim para tratamiento de infecciones en piel y tejidos blandos en caninos causados por *Stafilococcus aureus* y *Escherichia coli* (Plumb, 1999).

In vitro, la proporción óptima frente a las bacterias susceptibles es de 1:20 de trimetoprim-sulfamida. Sin embargo, la proporción de la sulfamidas en general carece de importancia gravitacional desde el punto de vista de la actividad antibacteriana, reportándose actividad sinérgica en un amplio intervalo de proporciones entre las concentraciones de ambos fármacos (1:1 a 1:40); y se ha demostrado que es la diaminopirimidina quien ejerce la mayor actividad antimicrobiana (Van Duijkeren *et al.*, 1994b; Plumb, 1999).

El sinergismo suele tener eficacia cuando el microorganismo es resistente a la diaminopirimidina pero sensible a la sulfamida, y en un 40 % de los casos en los que la bacteria es resistente a cada una de las drogas por separado. Una de las combinaciones más usadas en medicina humana es la de trimetoprim y sulfametoxazol, llamada comúnmente Cotrimoxazol. La misma es utilizada para el tratamiento de las infecciones causadas por *Yersinia pestis* tanto en el humano como en animales (Gonzalez *et al.*, 2002). Estos dos fármacos tienen semividas de aproximadamente igual duración, lo que facilita la posología. Otra especie en la cual tiene elevada eficacia gracias a esta propiedad farmacocinética es el porcino; con dicha combinación, normalmente se alcanzan concentraciones plasmáticas de 1 parte de trimetoprim por cada 20 partes de sulfametoxazol (Plumb, 1999).

En medicina veterinaria, las combinaciones sulfadiazina-trimetoprim y sulfametoxazol-trimetoprim tienen un amplio rango de indicaciones. Estas asociaciones tienen el inconveniente de que las semividas de eliminación de ambos fármacos no son similares; por ejemplo la semivida de eliminación para el trimetoprim varía de 2,5h (caninos), 1,9-3 h (equinos) a 1,5 h (bovinos); mientras que la semivida de eliminación para la sulfadiazina es de 9,8 h (canino), 2,7 h (equinos) y 2,5 h (bovinos). Mientras que el trimetoprim es rápidamente eliminado del organismo las sulfamidas pueden persistir un mayor periodo de tiempo en los tejidos, por lo que la utilización de esta combinación persigue el objetivo de mantener concentraciones bacteriostáticas de la sulfamida, que se ven sinergizadas durante la existencia de concentraciones terapéuticas de trimetoprim. Además, la eficacia clínica de la asociación sustenta su extenso uso (Plumb, 1999).

De Oliveira *et al.* (2000) evaluaron *in vitro* la actividad de antibióticos, entre ellos sulfametazina sobre *Stafilococcus aureus*, obteniendo valores para la CIM₉₀ de 4.0 µg/ml, siendo este superior a los obtenidos para penicilina, ampicilina, oxacilina, eritromicina y neomicina, 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 1 µg/ml, 0,5 µg/ml, 2 µg/ml, respectivamente.

En bovinos con retención placentaria, se reporta la utilización de formosulfatiazol asociada con penicilina-estreptomicina, como terapéutica intrauterina, sin embargo los autores no encontraron diferencias cuando se utilizaron iodóforos (Brooks, 2001).

En las Tablas 4 y 5 se detallan las indicaciones clínicas de las sulfamidas absorbibles como agentes únicos y en combinación con diaminopirimidinas (sulfamidas potenciadas), respectivamente.

Dichos fármacos fueron utilizados además de su uso convencional para la terapéutica, como promotores del crecimiento en producción animal en dosis subterapéuticas y muchas veces sin prescripción veterinaria. Wierup (2001) describe como fueron prohibiendo su uso en los países nórdicos, como promotores del crecimiento, luego de casi 40 años de ser utilizados en forma indiscriminada, debido a los focos de resistencia bacteriana lo que les permitió tener un mayor éxito terapéutico de las enfermedades infecciosas en producción animal, luego de la aplicación de estas políticas sanitarias y de manejo de los antibióticos considerando la importancia de los

períodos de retirada así como la aparición de cepas resistentes tanto en humanos como en veterinaria.

TABLA 4: Indicaciones terapéuticas de las sulfamidas en animales domésticos (Plumb, 1999; USP, 2000; Spoo & Riviere, 2001).

Especies	Principales Indicaciones ¹	Sulfamidas Utilizadas ²
Rumiantes	Coccidiosis (<i>E. bovis</i>, <i>E. zuernii</i>) Coccidiosis (<i>E. ovinoidalis</i>) Enteritis por colibacilos Neumonía infecciosa en ovinos Toxoplasmosis en ovinos (prevención de aborto) Clamidirosis en ovinos (prevención de aborto) Difteriosis (<i>Fusobacterium spp</i>) Neumonía (<i>Pasteurella spp</i>) Pododermatitis (<i>Fusobacterium necrophorum</i>)	Sulfametazina Sulfadimetoxina Sulfacloropiridazina Sulfametazina+sulfanilamida+sulfatiazol Sulfametazina+sulfatiazol
Porcinos	Enteritis por colibacilos Neumonía infecciosa	Sulfacloropiridazina Sulfametazina+sulfatiazol
Equinos	Enteritis por coliformes Neumonía infecciosa	Sulfametazina
Caninos y felinos	Coccidiosis (<i>Isospora spp</i>) Infecciones urinarias (sulfisoxazol) Enteritis (<i>Salmonella spp</i>) Colitis crónica (sulfasalazina) Dermatitis infecciosas no purulentas Neumonía infecciosa	Sulfadimetoxina Sulfametazina Sulfisoxazol
Aves de corral	Coccidiosis en pollos y pavos (<i>Eimeria spp</i>) Coriza (<i>H. gallinarum</i>) Pasteurelisis Salmonelosis (<i>S. gallinarum</i>, <i>S. pullorum</i>)	Sulfametazina Sulfadimetoxina Sulfaquinoxalina
Conejos	Coccidiosis	Sulfaquinoxalina

¹ Indicaciones no resaltadas en negrita son consideradas secundarias por algunos autores.

² Se indican los fármacos de uso más generalizado.

TABLA 5: Indicaciones terapéuticas de sulfamidas potenciadas en animales domésticos (Van Duijkeren *et al.*, 1994a; George, 1996; Plumb, 1999; Spoo & Riviere, 2001).

Especies	Principales Indicaciones¹	Sulfamidas Utilizadas²
Rumiantes	Meningitis por coliformes Salmonelosis Septicemia por coliformes Mastitis Neumonías Infecciones urinarias Metritis Listeriosis	Sulfadiazina – Trimetoprim Sulfadoxina – Trimetoprim Sulfametoxazol-Trimetoprim
Porcinos	Colibacilosis Salmonelosis Rinitis atrófica Síndrome Mastitis-Metritis-Agalactia. Infecciones de tejidos blandos Infecciones por estreptococos	Sulfadiazina – Trimetoprim Sulfadoxina - Trimetoprim
Equinos	Meningitis por coliformes Salmonelosis Infecciones urinarias Encefalomiелitis protozoaria Faringitis estreptocócica Neumonía infecciosa Neumocistosis de potrillos Infecciones de tejidos blandos Actinobacilosis Fusobacterium	Sulfadiazina – Trimetoprim Sulfametoxazol – Trimetoprim
Caninos y felinos	Nocardiosis Prostatitis infecciosa Otitis infecciosa Neumonía infecciosa (<i>Bordetella bronchiseptica</i>) Panoftalmías infecciosas	Sulfadimetoxina- Ormetoprim Sulfadiazina- Trimetoprim (1:20) Sulfametoxazol – Trimetoprim
Aves de corral	Colibacilosis	Sulfaquinoxalina Pirimetamina

¹ Las indicaciones de las sulfamidas también son aplicables a las sulfas potenciadas. Las indicaciones no resaltadas en negrita son consideradas secundarias por algunos autores.

² Se destacan las sulfamidas de uso más generalizado.

Para el tratamiento de enfermedades sistémicas con sulfamidas es deseable iniciar la terapia con una dosis de ataque y luego dosis de mantenimiento a la mitad de la primera y a intervalos aproximadamente iguales a la vida media del fármaco. Si bien se dispone de un amplio número de preparaciones de sulfamidas para su uso en medicina veterinaria muchas son en diferentes formas posológicas. En la Tabla 6 se presentan dosis y vías de administración de sulfamidas en diferentes especies.

TABLA 6: Posología de sulfamidas y sulfamidas potenciadas en animales domésticos (adaptado de: Plumb,1999; USP, 2000; Spoo & Riviere 2001; Prescott, 2002).

<i>Fármaco</i>	<i>Dosis</i>	<i>Vía de administración</i>
Rumiantes		
Sulfametazina	♦50-60 mg/kg c/12 h ♦247,5 mg/kg (dosis de ataque) y 123,8 mg/kg c/24 h (dosis mantenimiento)	IM-IV Oral
Sulfacloropiridazina	♦33 a 49,5 mg/kg c/12 h	Oral-IV
Sulfadimetoxina	♦55 mg/kg (dosis de ataque) 27,5 mg/kg c/ 24 h (dosis mantenimiento)	Oral
Triple sulfa (sulfametazina, sulfanilamida y sulfatiazol)	♦49 mg+73 mg+73 mg (dosis de ataque) 24 mg+36 mg+36 mg (dosis mantenimiento)	Oral
Sulfametazina+Sulfatiazol	♦144 mg/kg + 72 mg/kg (dosis ataque) 72 mg/kg + 36 mg/kg c/24 h (dosis mantenimiento)	Oral
Sulfaquinoxalina	♦13,2 mg/kg	Oral
Sulfadiazina+Trimetoprim	Adultos: 25 mg/kg c/24 h	IV - IM
Sulfametoxazol+Trimetoprim	Terneros: 48 mg/kg c/24 h	
Porcinos		
Sulfacloropiridazina	♦22 a 38,5 mg/kg c/12 h	Oral
	♦44 a 77 mg/kg c/24 h	Oral
Sulfametazina	♦247,5 mg/kg (dosis de ataque) y 123,8 mg/kg c/24 h (dosis mantenimiento)	Oral
Sulfametazina + Sulfatiazol	♦144 mg/kg + 72 mg/kg (dosis ataque) 72 mg/kg + 36 mg/kg c/24 h (dosis mantenimiento)	Oral
Sulfadiazina+Trimetoprim	♦48 mg/kg c/24 h	IM
Equinos		
Sulfametoxazol+Trimetoprim	♦15 mg/kg c/8-12 h o 22 mg/kg c/24 h	IV
	♦24-30 mg/kg c/ 12-24 h	Oral
Sulfadiazina+Trimetoprim	♦15 mg/kg c/8-12 h o 22 mg/kg c/24 h	IV
	♦24-30 mg/kg c/12-24 h	Oral
Sulfadimetoxina	♦55 mg/kg c/ 12 h 27,5 mg/kg c/24 h (dosis mantenimiento)	Oral-IV
Aves		
Sulfadimetoxina	♦50 mg/kg (dosis de ataque) 25 mg/kg c12 h o 24h (dosis de mantenimiento)	Oral
Sulfaquinoxalina	♦22 – 99 mg/kg c/24 h	Oral
Sulfametazina	♦134 mg/kg a 196 mg/kg c/24 h	Oral
Sulfadimetoxina	♦55 mg/kg c/ 12 h 27,5 mg/kg c/24 h (dosis mantenimiento)	Oral-IV
Caninos -Felinos		
Sulfadimetoxina	♦55 mg/kg (dosis de ataque) 27,5 mg/kg c/24 h	Oral-IV
Sulfadiazina+Trimetoprim	♦15-30 mg/kg c/12 o 24 h	Oral-IV
Sulfametoxazol+Trimetoprim	♦15-30 mg/kg c/12 o 24 h	Oral-IV
Sulfadimetoxina+Ormetoprim	♦55 mg/kg (dosis de ataque) 27,5 mg/kg c/24 h (dosis mantenimiento)	Oral
Sulfasalazina	♦10-30 mg/kg c/8 a 12h	Oral

II.1.7. RESISTENCIA BACTERIANA

Se describe resistencia a los antibióticos por parte de varios organismos protozoarios y bacterianos debido al amplio uso de los mismos durante muchos años en medicina humana, agricultura y ganadería. La resistencia expresada por los genes a los antibióticos y los mecanismos de transferencias de estos genes pueden ser encontrados tanto en la microflora de los animales como en el hombre (Teuber, 2001).

Existen muchos ejemplos de resistencia cromosómica a las sulfamidas y trimetoprim con diferentes grados de complejidad. Uno de los mecanismo que media la resistencia es vía plásmido-cromosoma. La resistencia cromosómica ocurre lentamente perjudicando la penetración del fármaco a la célula bacteriana, produciéndose enzimas dihidropteroato sintetasa y dihidrofolato reductasa poco sensible e incrementando la producción de PABA. La resistencia mediada por plásmido, la forma mas frecuente en el caso de resistencia a sulfamidas ocurre rápidamente, perjudicando el mecanismo de penetración del antibiótico además de producir dihidropteroato sintetasa resistente a las sulfamidas codificada por dos genes *sul1* y *sul2*. Es de considerar que si un organismo se hace resistente a una sulfamida lo será generalmente para todas las demás, así como se mantendría la resistencia al suspenderse la administración de la misma (Spoo & Riviere, 2001; Sköld, 2001; Blanco *et al.*, 2002). Puede existir resistencia múltiple con otros antibióticos como por ejemplo aminoglucósidos, fluoroquinolonas, lincosamidas, cloranfenicol y sus derivados (Baggot, 2001).

Sin embargo Sköld, (2001) sugiere que a pesar de la perdurabilidad de la resistencia, el conocimiento del metabolismo del folato podría ser un buen objetivo de estudio para el desarrollo futuro de fármacos antibacterianos de bajo costo, considerando a la unión de un sustrato con la dihidrofolato sintetasa como un punto importante de estudio para estos fines.

II.1 8. TOXICIDAD

Las acciones toxicológicas pueden ser clasificadas como de etiología inmunológica y no inmunológica.

Spoos & Riviere (2001) describen las no inmunológicas clasificándolas en: cristaluria, queratoconjuntivitis, necrosis hepática, hipoprotrombinemia, anemia aplásica, trombocitopenia y carcinogénesis.

Cristaluria, hematuria y bloqueo tubular renal pueden ocurrir debido a la precipitación de sulfamidas en el filtrado glomerular del riñón. La cristaluria ocurre cuando el animal está deshidratado y la concentración de la misma se incrementa más allá de su punto de solubilidad en agua, resultando esto en la formación de cristales. Una reacción similar puede suceder si la utilización terapéutica es de sulfamidas poco solubles en agua. También la aciduria causa lo mismo, ya que altera el estado de ionización del fármaco decreciendo la solubilidad, lo que induce a la formación de cristales. Este efecto puede ser minimizado o prevenido haciéndole al paciente durante la terapia una buena hidratación, usando sulfamidas más solubles en agua y por alcalinización de la orina con bicarbonato de sodio cuando sea necesario.

La queratoconjuntivitis seca se ha reportado en caninos tratados con sulfasalazina, sulfadiazina y sulfametoxazol y aunque parece no precisarse el mecanismo por el cual se produce, se cree que puede ser el resultado de una reacción dada por un efecto tóxico directo sobre las células del acino lagrimal dado por el nitrógeno contenido en el anillo piridínico (Collins *et al.*, 1986).

Twedt *et al.* (1997) describen necrosis hepáticas en caninos de diferentes razas, frente al uso de combinaciones tales como: trimetoprim y sulfametoxazol y trimetoprim-sulfadiazina. En el hombre han sido comunicados casos similares de necrosis hepática y hepatitis colestásica reversible. Respecto al mecanismo por el cual producen esta patología no es bien conocido, pudiendo ser el resultado de un daño específico por acción directa en el hígado o por una reacción de hipersensibilidad. También se referencia que la hepatotoxicidad producida por las sulfamidas puede ser el resultado de una vía anormal del metabolismo, lo que permite la producción o acumulación de metabolitos hepatotóxicos. Las mismas son metabolizadas en muchas formas incluyendo la acetilación. Una lenta acetilación puede producir un incremento del metabolito dihidroxilamina el que causaría una lesión hepática. Si bien es conocido que en los perros el proceso de acetilación es lento, no es una prueba suficiente para determinar que este es el mecanismo por el cual el perro puede sucumbir a una injuria hepática.

Cribb & Spielberg (1990) y Cribb *et al.* (1991) observaron una predisposición de caninos Doberman a sufrir toxicidad idiosincrática a las sulfamidas debido a la limitada capacidad de detoxificación de metabolitos hidroxilamina. Por otra parte, Noli *et al.* (1995) describen lesiones cutáneas y reacciones sistémicas en 19 caninos y 2 felinos luego de la administración de sulfadiazina y sulfatroxazol, evidenciando además bajo porcentaje de reacciones adversas al uso de sulfamidas potenciadas. También, Trepanier *et al.* (2003) reportan fiebre, hepatotoxicidad y trombocitopenia en su mayor proporción en caninos entre 6 meses y 14 años de edad, luego de administrar sulfamidas potenciadas; presentándose estos entre los 5 y 36 días de administrado el fármaco. Reacciones adversas como fallo respiratorio se presentaron luego de la administración endovenosa de sulfamidas-trimetoprim en equinos (Baggot, 2001).

La hipoprotrombinemia ha sido descrita en perros por Neer & Savant (1992), y en aves de corral de raza Leghorn por Daft *et al.* (1989) luego de ser suministrada sulfaquinoxalina. Esta es la única reportada de entre las sulfas, que puede inducir a hipotrombinemia en animales en 24 horas posterior a su dosificación, corroborado con el enlentecido tiempo de protrombina. La sulfaquinoxalina no es un anticoagulante *in vitro*, recientemente han reportado que es un potente inhibidor de la vitamina K epóxido reductasa, pareciendo ser esta una de las razones de la hipoprotrombinemia (Spoo & Riviere, 2001).

Weis & Klausner (1990) y Stockner (1993) han descrito anemias aplásticas presumiblemente inducidas por tratamientos con trimetoprim-sulfadiazina. En los mamíferos el ácido fólico deviene de la dieta o del producido por las bacterias del intestino. En la anemia inducida por trimetoprim, sulfadiazina o la combinación de ambos fármacos decrece el folato sérico, posiblemente por inhibición de la producción de folato intestinal o por bloqueo de la reducción a tetrahidrofolato y dihidrofolato, resultando una baja concentración sérica de folato lo que eventualmente induce a una anemia. Además ha sido reportado una trombocitopenia tanto en animales como en humanos probablemente asociada con una reacción inmuno mediada, la que puede resolverse luego de discontinuar la administración (Sullivan *et al.*, 1992; Dodds, 1993).

Toribio *et al.* (1998) describen defectos congénitos en potrillos luego de administrar durante la gestación sulfadiazina, sulfametoxazol y diaminopirimidina en forma conjunta con ácido fólico y vitamina E, durante tres meses en animales sanos;

este tratamiento es utilizado en casos de encefalomielitis por *Sarcocystis falcatula*, considerándose por tal motivo, teratogénico. A pesar de que esto ocurre por un mecanismo bioquímico definido, hasta el día de hoy no se lo conoce (Bedford & Mc Donnell, 1999). Estos autores también observaron defectos en la monta, como disfunción copulatoria y movimientos anormales durante la misma en reproductores pony sanos. El tratamiento con sulfamidas y trimetoprim es administrado para tratar encefalomielitis por protozoarios en el período de reproducción. Thomas & Livesey (1998) reportaron un caso de anemia hemolítica inmunomediada secundaria en equinos luego de la administración de sulfadoxina-sulfametoxazol combinado con trimetoprim. Brumbaugh (2001) cita anemia hemolítica por variados fármacos en los equinos, incluyendo a la combinación de sulfametoxazol-trimetoprim, y suponen que dicha patología se debe a una reacción inmune.

En relación a la carcinogénesis, ha sido bien demostrado que la sulfametazina induce a hiperplasia tiroidea en ratas, aunque más recientemente se reportó la inducción de tipos específicos de tumores de la glándula tiroidea en ratas y ratones, con altas dosis; mientras que en humanos no fue encontrada esta sensibilidad a la droga bajo las condiciones de uso aprobadas para ésta (Poirier *et al.*, 1999). Spoo & Riviere (2001) citan, que luego de administrar sulfametazina entre 1200 y 2400 ppm en la dieta a ratas machos y hembras cepa Fischer 344, observaron un significativo incremento en el peso de la glándula tiroidea, debido a una hiperplasia de la misma. Mientras que Littlefield *et al.* (1989), luego de alimentar continuamente por 24 meses a ratones con el mismo fármaco pero a dosis mayores (4800 ppm), encontraron que la misma indujo la producción de adenomas foliculares; otras aberraciones celulares fueron observadas pero a dosis menores que las utilizadas en este experimento. Similares estudios en ratas cepa Fischer 344, a quienes se les administraron en la dieta una dosis de 0 a 2400 ppm, durante 24 meses, evidenciaron estadísticamente un significativo incremento en la incidencia de adenocarcinomas en los folículos tiroideos de esas ratas. Poirier *et al.* (1999) describen que los tumores tiroideos en las ratas son por la ingestión de altas dosis de sulfametazina, no observado con bajas dosis y los mismos se producen por inhibición enzimática aumentando el nivel de hormona tiroidea estimulante y no debido a una acción directa de sulfametazina sobre el órgano.

Teniendo en cuenta que las aminos heterocíclicas y sus metabolitos son carcinógenos mamarios en ratas, Williams *et al.* (2001) investigaron la expresión génica de estas enzimas en el tejido mamario de humanos, encontrando dos isoformas de N-

acetiltransferasa (NAT-1 y NAT-2) que poseen diferentes substratos específicos pero están involucradas en la acetilación de las aminas heterocíclicas; la NAT-2 con actividad específica en la acetilación de sulfametazina no fue detectada en el tejido mamario.

II.1.9 INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS

Deben tenerse muy en cuenta, ya que actualmente se sigue abusando de los fármacos practicándose la polifarmacia, que los enfermos reciben un número elevado de fármacos, bien simultáneamente o bien en forma secuencial, por lo que, la presentación de interacciones es muy frecuente. Las consecuencias de estas interacciones medicamentosas pueden ser: disminución de la actividad terapéutica, incremento de la toxicidad e incremento de la actividad terapéutica por efecto sinérgico o aditivo. Considerando a esta última como deseable y única justificación de las mismas, podemos mencionar las combinaciones de sulfamidas con otros fármacos antimicrobianos, mas comúnmente con trimetoprim, que han mostrado ser terapéuticamente útil en medicina veterinaria, tanto en grandes como pequeños animales, denominándose sulfas potenciadas. Las sulfamidas también suelen ser sinérgicas de las polimixinas frente a microorganismos entéricos, incluso a bacterias que son resistentes a cada uno de estos cuando se utilizan por separado. Por otra parte, las sulfamidas no contrarrestan la acción bactericida de las penicilinas, pero la procaína con la cual se formulan algunos preparados de la penicilina G, por ser un análogo del PABA, lleva a un efecto antagónico de las mismas (Prescott, 2002).

Además de las incompatibilidades físicas y químicas que pueden ocurrir dada por reacciones de diversos componentes entre si, se deben considerar las interacciones nutrientes-medicamentos, farmacocinéticas y farmacodinámicas.

Los agentes quelantes de metales se absorben muy mal en presencia del calcio, aluminio y magnesio; las alteraciones del pH modifican la absorción de algunos fármacos por ejemplo, el bicarbonato de sodio disminuye la absorción digestiva de los salicilatos, favoreciendo por el contrario la de las bases débiles como la anfetamina. También la presencia de los alimentos interfiere la absorción de muchos fármacos, por ejemplo, la ampicilina, por lo que debe administrarse este antibiótico una hora antes o dos después de las comidas en seres humanos (Velasco & Moreno, 1992).

En los animales se deben analizar y evaluar varios criterios para determinar si es conveniente la combinación de medicamentos sobre todos bacteriostáticos y bactericidas en el pienso. Sulfamidas y tetraciclinas no deben usarse juntas ya que actúan sobre el mismo espectro de patógenos. A su vez, esta última se inactiva por cationes presentes en el alimento lo que reduce considerablemente su biodisponibilidad, y también las sulfamidas no potenciadas no deben usarse sin previo estudio de sensibilidad, debido a la alta proporción de transmisión de resistencia entre los patógenos (Trolldenier *et al.*, 1998).

Una vez absorbido el fármaco se distribuye entre la sangre y los tejidos uniéndose fundamentalmente a las proteínas plasmáticas, la combinación con las mismas es semejante a la interacción fármaco-receptor, ya que se pueden considerar a aquellas como receptores silenciosos. Algunos fármacos unidos a las proteínas plasmáticas, pueden ser desplazado por otras sustancias aumentando la concentración de la fracción libre; por ejemplo el sulfafenazol es desplazado por la sulfonilurea; la warfarina por la fenilbutazona; la bilirrubina por las sulfanilamidas. En todos estos casos de desplazamiento al incrementarse la concentración del fármaco, se incrementa la actividad terapéutica y sobre todo la toxicidad (Velasco & Moreno, 1992). También Munsey *et al.* (1996) estudiaron la afinidad de la sulfametazina con las proteínas plasmáticas del cerdo, observando que la unión de la misma fue principalmente con la albúmina y que frente al aumento de temperatura, disminuyó la afinidad, y se incrementó marcadamente con un cambio de pH de 6.0 a 8.0. Por otra parte, describen que la unión de la sulfametazina a la albúmina es débil y que la albúmina de los cerdos como la de otros mamíferos poseen sitios de unión para warfarina y dansilsarcosine, sobre los cuales interactúa la sulfametazina.

Taylor *et al.* (1988) recomiendan que las sulfamidas potenciadas no deben ser utilizadas en forma intravenosa en equinos sedados o anestesiados con detomidina, debido a que observaron decaimiento, colapso e incluso muerte. También describen disritmia, hipotensión, apnea y muerte durante o inmediatamente de utilizar halotano como anestésico. Asimismo, se reporta que la sulfadimetoxina reduce los requerimientos de thiopental, ya que se aumenta el volumen de distribución de éste por desplazamiento de la unión a las proteínas por la sulfadimetoxina, incrementando la fracción libre del thiopental de 15,3 a 40,2 %, evidenciándose un aumento del efecto hipnótico en las ratas. La actividad biológica de este fármaco está relacionada a la concentración plasmática de la forma libre y a la presente en el fluido cerebroespinal, la

que es directamente proporcional a la concentración de la fracción no unida a las proteínas en el plasma. Los anestésicos locales, tales como benzocaína y procaína son esterres amínicos del ácido paraaminobenzoicos que pueden antagonizar la acción de las sulfonamidas debido a que son metabolizados a PABA, por lo se debe tomar precaución de no administrarlos en forma conjunta ya que disminuye el efecto de las sulfamidas (Karalliedde & Henry, 1998).

En la eliminación de los fármacos y por vía renal el pH puede interferir con el proceso de eliminación; en la porción distal del túbulo contorneado proximal y a lo largo del túbulo distal, aumenta la concentración de las sustancias liposolubles en la luz tubular y pasan al espacio peritubular a favor de un gradiente de concentración. El pH interfiere en la disociación modificando el proceso de reabsorción. En el tratamiento de las intoxicaciones por ácidos débiles (salicilatos y sulfamidas) se alcaliniza la orina para favorecer la eliminación de estas sustancias por incrementar la fracción ionizada, reduciendo el riesgo de precipitación y cristaluria (Costa-Batlloori 1996).

Los ácidos orgánicos disociados (penicilina), otros fármacos ácidos como cefalosporinas, fenilbutazona, indometacina, salicilatos y sulfamidas y fármacos básicos como cimetidina, procainamida y ranitidina se excretan por el túbulo proximal por un mecanismo de transporte activo que es bloqueado por el probenecid (Velasco & Moreno, 1992).

Considerando otras interacciones, se pueden mencionar el incremento del efecto de otros fármacos como fenitoína, tolbutamida y warfarina cuando se administra en forma conjunta con las sulfamidas. Sulfametazol y sulfafenazol pueden inhibir el metabolismo de la fenitoína en el hígado, incrementando su concentración sérica y provocando signos de toxicidad (ataxia, nistagmus y movimientos musculares involuntarios). También las mismas pueden inhibir la hidroxilación de la tolbutamida incrementando sus concentraciones séricas y la semivida con el consecuente efecto hipoglucemiante. La combinación del sulfafurazol con la warfarina incrementa el riesgo de hipoprotrombinemia y hemorragia debido a una considerable inhibición del metabolismo de la warfarina. En equinos El Banna (1999) describe, que previa administración de flunixin, la sulfametazina presenta una disminución de la semivida de eliminación (21 %), del tiempo medio de residencia (20 %) y volumen de distribución (18 %) en relación a los valores obtenidos en los animales controles a quienes se les administrara solamente dicha sulfamida. También destaca la amplia utilización de

flunixin en el tratamiento de inflamación aguda asociada con infecciones bacterianas, por lo que indica que debería considerarse el impacto de esta asociación en la farmacocinética de la sulfametazina en los animales tratados.

De la misma manera, se describen interacciones de una sulfamida potenciada que produciría incremento del efecto de ciclosporina, digoxinas, metotrexato, fenitoína, sulfanilúreas, procainamida y warfarina y disminución del efecto del ácido fólico. La sulfametoxazol-trimetoprim provoca un moderado incremento de las concentraciones de digoxina, reduciendo la excreción renal de la misma, particularmente en pacientes jóvenes, a los cuales se debe controlar la posible aparición de signos de toxicidad de la digoxina. En relación al metotrexato, la administración conjunta aumenta la concentración plasmática por desplazamiento de los sitios de unión a las proteínas y reducción del aclaramiento total del cuerpo, pudiendo provocar signos tóxicos. Con la fenitoína se describe los mismos efectos que cuando se administra con sulfamida sola. (Karalliedde & Henry, 1998).

II.2. PROPIEDADES FARMACOCINÉTICA DE LAS SULFAMIDAS

Se evidencian diferencias en el comportamiento farmacocinético de las distintas sulfamidas en los animales domésticos, no solo por las propiedades particulares de sus moléculas, condiciones fisiopatológicas sino también por variaciones entre las especies (Costa-Batlloori, 1996).

II.2.1. ABSORCIÓN

Las sulfamidas en general son rápidamente absorbidas cuando se administran por vía parenteral y en el aparato digestivo de mamíferos monogástricos y aves cuando su administración es por la vía oral. El intestino delgado es el sitio principal donde ocurre este proceso, pero parte del medicamento puede hacerlo en el estómago. Como excepción se puede citar al ftalilsulfatiazol el cual tiene una pobre solubilidad en agua y por lo tanto tiene poca o nada absorción en el aparato digestivo. Por esta razón, el ftalilsulfatiazol y otras sulfamidas son utilizadas en infecciones microbianas susceptibles, localizadas en este aparato, para ejercer su acción in situ.

Se absorben, en promedio, de 60 % a 100 % de la dosis oral, y en cuestión de dos a seis horas, aparecen valores plasmáticos máximos según el tipo de fármaco. Sin embargo, esto es variable de acuerdo a la especie, por ejemplo, el bovino absorbe las sulfamidas desde el tracto gastrointestinal más lentamente que el ovino o el porcino debido a las características del complejo rumino reticular, como volumen, alto contenido de materia sólida y a la compleja microbiota. La presencia de alimentos en el tracto gastrointestinal puede retrasar ligeramente este proceso como también presentar diferencias de acuerdo a la edad de los animales (Costa-Batlloori, 1996; Plumb, 1999).

Nielsen *et al.* (1978) investigaron la absorción y eliminación de sulfadoxina y de trimetoprim luego de la administración oral en cabras. En adultos, el resultado de la absorción fue de dos tercios de lo administrado; en los recién nacidos fue menor, incrementándose la absorción con la edad. La eliminación fue menor en los recién nacidos que en los adultos, aumentando la misma con la edad. Con el trimetoprim administrado a cabritos, cabras adultas y a vacas, observaron mayor concentración

plasmática en los recién nacidos que en edades adultas, justificado esto por efecto de los líquidos ruminales que producirían una degradación de dicho fármaco.

Rátz *et al.* (1995) estudiando la biodisponibilidad de sulfamidas en cabras enanas, observaron marcadas diferencias luego de la administración intraruminal, entre las que mencionan que el sulfametoxazol mostró una rápida absorción pero poco tiempo de permanencia en plasma ($t_{1/2\beta}$ 2.4 ± 1.5 h) y una biodisponibilidad del $12,4 \pm 4,7$ % debido a un intensivo efecto primer paso. La biodisponibilidad del sulfatroxazol y sulfamerazina fue mucho mas alta ($70,2 \pm 32,3$ % y $67,6 \pm 13,5$ % respectivamente). Además, el sulfatroxazol por vía oral mostró una alta concentración plasmática ($26,1$ $\mu\text{g/ml}$), una prolongada semivida (4.7 ± 1.8 h) y un significativo tiempo de residencia (MRT 13.9 ± 4.5). También observaron en estudios *in vitro* que la sulfamerazina presentó una considerable unión a contenidos ruminales.

Estudios realizados en corderos por Evrard *et al.* (1995), mostraron que la utilización de bolos con matriz lipídica (excipiente de alta densidad) conteniendo sulfametazina, los cuales eran retenidos en retículo-rumen, producían una sostenida liberación del fármaco, lográndose niveles plasmáticos por encima de la concentración mínima inhibitoria durante 100 horas y una biodisponibilidad del 51,7 %, adecuados para el tratamiento de coccidiosis. También Murphy *et al.* (1986) habían evaluado el mismo fármaco, administrado bajo la forma de bolo de eliminación lenta en terneros de 3 a 5 días de vida, obteniéndose concentraciones plasmáticas que excedían el mínimo nivel terapéutico desde las 4 a 120 horas post tratamiento.

Trabajos realizados en equinos adultos por Van Duijkeren *et al.* (1995) concluyeron que la administración por vía oral de sulfacloropiridazina-trimetoprim conjuntamente con la ración, esta influye en la absorción de la misma, ya que los picos de concentraciones plasmáticas encontradas (curva bifásica con un primer pico ocurrido entre 1 y 2 horas y un segundo a las 8-10 horas) y la biodisponibilidad, fueron significativamente reducidas en comparación a las observadas cuando se utilizó sonda nasogástrica y vía endovenosa. Estas dos últimas vías resultaron ser adecuadas para lograr concentraciones plasmáticas suficientemente efectivas contra los agentes susceptibles. Por otra parte, Kumar *et al.* (1999), luego de la administración vía oral de sulfadimidina en camellos y basados en la biodisponibilidad y las concentraciones plasmáticas encontradas, concluyeron que esta vía es un medio eficiente para la administración de esta sulfa en la citada especie.

Van Gogh & Van Miert (1977) no observaron variaciones en la tasa de absorción de sulfamidas administradas por vía oral a cabras adultas y cabritos que fueron previamente inoculados con endotoxinas de *E. coli*, a pesar de la presentación de fiebre y bloqueo de la motilidad en los preestómagos de cabras conscientes.

Respecto a las vías intramuscular y subcutánea, el uso de estos fármacos condiciona a que la solución a inyectar sea tamponada previamente a su administración debido al pH alcalino que presentan la mayoría de estas (Costa-Batllore, 1996). Tras la administración intra-peritoneal se observa que su absorción es muy buena. Sobre la piel o mucosas no se recomienda su aplicación en forma tópica, porque retardaría la cicatrización de la herida y porque también compite con el PABA de algunos exudados de las heridas. Sin embargo, se indica asociación de diaminopirimidina-sulfonamida vía oral, para infecciones microbianas en piel a agentes susceptibles, siendo sus resultados exitosos. Sulfadiazina argéntica y mafenide son las dos únicas sulfamidas que pueden ser usadas tópicamente, así como en preparaciones oftálmicas solo pueden ser usadas las sulfamidas de un pH neutro, como la sulfacetamida (Spoo & Riviere, 2001).

II.2.2 DISTRIBUCIÓN

La naturaleza química y las propiedades fisicoquímicas de los antimicrobianos dirigen ampliamente el proceso de distribución y excreción, los cuales se refieren a la biotransformación (metabolismo) y excreción de los mismos. La liposolubilidad de los agentes antimicrobianos que son electrolitos orgánicos débiles, y el grado de ionización en la sangre y fluidos orgánicos influyen en la distribución y la velocidad de eliminación (Baggot, 2001).

El término farmacocinético utilizado para estimar el alcance de la distribución de un fármaco es el volumen de distribución (Vd), que indica el aparente espacio virtual disponible del cuerpo que contiene al fármaco para equiparar en el supuesto más sencillo (modelo monocompartimental, dosis única, bolus intravenoso), la cantidad de fármaco en el organismo y la concentración del fármaco en plasma, determinados en el mismo tiempo. Basado en este parámetro, la distribución del mismo puede ser caracterizada como amplia (mayor de 0.7 L/Kg), moderado (0.3 a 0.7 L/Kg) o limitado

(menor de 0.3 L/Kg). Las sulfamidas son consideradas moderadamente bien distribuidas (Baggot, 2001).

Dado que la medida de la concentración plasmática puede llevarse a cabo en diferentes condiciones, distinguimos distintos volúmenes de distribución:

▪V_{dc}. Volumen de distribución del compartimento central. Mide la concentración plasmática a tiempo 0 en el compartimento central tras administración intravenosa. Faculta la obtención del aclaramiento.

▪V_{dss}. Volumen de distribución en estado de equilibrio o steady-state (intercambio teórico entre compartimentos nulo). Independiente del aclaramiento. Evidencia las alteraciones de la distribución atribuibles a causas fisiológicas y resulta de gran ayuda para obtener la dosis apropiada de fármaco.

▪V_{darea}. Volumen de distribución en estado de pseudo-equilibrio (redistribución del compartimento periférico al central). Relaciona cantidad y concentración plasmática de fármaco durante la fase de eliminación. Se relaciona directamente con el aclaramiento. Se emplea en la elaboración de pautas posológicas.

El volumen de distribución en el compartimento central (V_{dc}) puede, en determinadas fases del ensayo clínico, jugar un papel fundamental a la hora de establecer la seguridad o la toxicidad de la dosis inicial de administración en el hombre. Puede calcularse a partir de la concentración inicial de fármaco y la cantidad del mismo en el organismo del mismo.

El V_{dss} representa la estimación preferida del volumen de distribución para estudios sobre disposición entre especies pues se considera la estimación más robusta del volumen de distribución dado que es matemática y fisiológicamente independiente del proceso de eliminación (Riviere, 1999).

En el caso que nos ocupa, su distribución a través del cuerpo es amplia, abarcando muchos tejidos blandos incluyendo SNC (fluido cerebro espinal) y articulaciones (líquido sinovial), lo que hace de este antimicrobiano uno de los pocos que logran tener concentraciones terapéuticas en estos compartimientos corporales (Shoaf *et al.*, 1989; Spoo & Riviere, 2001).

Mody & Malik, (1997) teniendo en cuenta que hay marcadas diferencias en el comportamiento farmacocinético de la sulfametazina en diferentes especies como ovinos, caprinos y bovinos, como así también influencia de la edad, analizaron el comportamiento de la misma en terneros búfalos, luego de ser administrada en dosis única por vía endovenosa. Los estudios determinaron una rápida distribución, y menor semivida que la reportada para terneros bovinos, bovinos y búfalos adultos, lo que indica que la misma es rápidamente eliminada en comparación con las especies mencionadas, como así también observaron un bajo volumen de distribución y un aclaramiento elevado en relación al reportado por estos autores en terneros bovinos.

Una vez absorbido se une a proteínas plasmática, usualmente albúmina, esta unión varía entre las distintas sulfamidas y entre las distintas especies, observándose variaciones de rango que van de 15 a 90 % de unión a la misma. Así, para las sulfamidas de corta duración este porcentaje es muy bajo siendo muy elevado para las de larga actividad; por ejemplo sulfadimetoxina se une a las proteínas plasmáticas en un 97,7 % y un 98,6 % su metabolito N₄ acetil sulfadimetoxina; y el sulfametoxazol se une en un 65 % (Costa-Batlloori, 1996).

Por otra parte, Nouws *et al.* (1991) observaron un incremento del porcentaje de unión de sulfametoxazol y su metabolito a proteínas plasmáticas en terneros a partir de las dos semanas de vida, siendo para el sulfametoxazol en el recién nacido de 44,9 %, en el de 14 días, 51,1 % y en el de 3 años de 64 %, indicando que se debe a un incremento de la concentración de las albúminas plasmáticas durante las 3 primeras semanas de vida. Para su metabolito N₄-acetil sulfametoxazol fue de 36,6 % en el primer día de vida, 52,6 % a los 14 días y 52,9 % en el animal de 3 años. Al respecto Srivastava *et al.* (1996) describe un valor promedio de 74,5% de unión a proteínas de sulfadimetoxina en terneros búfalos, correlacionando esto con la prolongada vida media observada en dicho estudio.

Una alta unión a proteínas incrementa marcadamente la semivida de la misma, sin embargo la no ionizada y no unida a proteínas es la sulfamida farmacológicamente activa, la que es metabolizada y excretada. Existe un equilibrio entre la fracción libre y la fracción ligada a las proteínas, la constante disociación del complejo sulfa proteína varía según la sulfamida que se considere (Costa-Batlloori, 1996). Sin embargo, han observado que en casos de parasitosis en ovejas, el cuadro de hipoproteinemia

explicaría las diferencias de concentración plasmáticas y de permanencia de sulfametazina en el plasma en relación con los animales sanos (Righter *et al.*, 1979).

Como las sulfamidas son ácidos débiles, no hay pasaje significativo a leche; sin embargo, puede ocurrir por difusión pasiva, limitándose el uso como antimicrobiano en las mastitis. El proceso puede depender de diversos factores entre los que se incluye la unión a proteínas y valores de pK_a (USP, 2000). Nouws *et al.* (1991) observaron un rápido pasaje de sulfametoxazol a leche con un pico máximo de concentración a las 3 horas, el que fue decreciendo paralelamente con el descenso de las concentraciones en el plasma; las encontradas en leche fue cuatro veces menor que las detectadas en plasma. Al respecto, Mc Evoy *et al.* (1999) observaron similar comportamiento con la sulfametazina administrada con el alimento, la que una vez cumplido el período de retirada no fuera detectada en la leche, utilizando técnicas mas sensibles como HPLC. Otros autores mencionan que luego de 36 horas de finalizado un tratamiento con sulfadiazina intramamaria, encontraron concentraciones por debajo de 0,1 $\mu\text{g/ml}$ a las 84 horas de finalizado el tratamiento y a las 96 horas solo se detectaron en algunos animales concentraciones de 0,07 $\mu\text{g/ml}$ (Nunez *et al.*, 2001).

II.2.3 METABOLISMO

Las sulfamidas son ampliamente metabolizadas en el organismo animal a través de mecanismos de acetilación, hidroxilación, glucuronidación y conjugación con sulfato. Existe una base genética que explica el diferente comportamiento de las especies animales en relación a los mecanismos de metabolización conocidos. En la mayoría de las especies la acetilación es la vía metabólica más común, se produce mayormente en hígado y en pulmón a través del sistema N-acetil transferasa y acetil coenzima A. La acetilación puede expresarse por la cantidad total de N_4 -acetilsulfamida excretada de modo acumulativo a través de la orina, por la cantidad total de N_4 -acetilsulfamida en orina como porcentaje de la cantidad total de sulfamida y de su metabolito, y por la expresión del metabolito como porcentaje de la suma de las concentraciones en el plasma sanguíneo de la sulfamida y de su metabolito, considerándose este último el método mas correcto. En los rumiantes (ovinos y bovinos) y en el cerdo esta vía y aparentemente los metabolitos acetilados (N_4 -acetilsulfamida) encontrados en orina, indican el mecanismo mas frecuente de

metabolización. En los caninos, que tienen poca capacidad de acetilar aminas aromáticas, una alternativa metabólica es convertir a estas en formas menos activas. Como caso curioso, se cita este proceso en el humano como el más importante del metabolismo sulfamídico, pero con la existencia de dos fenotipos, individuos de alta o de baja acetilación, los cuales muestran diferencias en los parámetros farmacocinéticos. Como ejemplo, los autores mencionan que la semivida de la sulfadimidina en individuos de fenotipo alto es de 1,7 h y el de bajo, 7,6 h (Hanna, 1996; Shimoda *et al.*, 1997; Costa-Batllo, 1996; Spoo & Riviere, 2001).

Estudios recientes en bovinos concluyen que la raza puede tener influencia en la frecuencia de aparición del genotipo acetilador rápido y lento, lo que implicaría significancia clínica debido al riesgo de presentación de signos clínicos no deseables que pueden ocurrir con estos fármacos y otros en los bovinos acetiladores lentos. Estos resultados se obtuvieron con la administración de sulfadimidina en terneros de diferentes edades (10 y 60 días) y de dos razas bovinas (Janus *et al.*, 2003).

También Homeida (2000) describe a este proceso metabólico para otras especies como el conejo de Nueva Zelanda, cabras y ovejas Awassi, burros y camellos; y los datos obtenidos en conejo y camello sugirieron un fenotipo acetilador de sulfamida para los mismos.

Los metabolitos acetilados son menos solubles, por lo que se incrementa el riesgo de daños en los túbulos renales por formación de cristales y precipitación de estos, tanto en los animales como en el hombre (Hanna, 1996; Spoo & Riviere, 2001). En el camello, si bien la cristaluria es esperable, las propiedades alcalinas de la orina podrían reducir la aparición de este fenómeno (Homeida, 2000).

También la hidroxilación es otro camino adicional por el cual se metabolizan las sulfamidas en los animales, el que fuera ignorado durante mucho tiempo a causa de su poca importancia en algunas especies y de las dificultades analíticas. Este es un proceso que consiste en la oxidación del anillo aromático con sustitución de los grupos metil bajo la regularización del sistema enzimático citocromo P-450. La sulfadimidina se convierte en 4 hidroxisulfadimidina y luego glucuronato de la 4 hidroxisulfadimidina; teniendo modificaciones en los caninos: sulfadimidina en 4-hidroximetil-6-metil pirimidina y su derivado glucurónido, y 5 hidroximetil-2,6-dimetil pirimidina y su

derivado glucurónico. La hidroxilación del metabolito acetilado de una sulfamida ocurre en muy poca proporción (Costa-Batlloori, 1996; Zweers-Zeilmaker *et al.*, 1998).

La glucuronidación tiene lugar en N₁ o N₄ y su porcentaje es en general bajo. Los metabolitos glucuronizados son altamente solubles en agua y excretados rápidamente sin la consecuente posibilidad de precipitación en la orina. También se ha reportado procesos de O-dealquilación, desaminación y conjugación con sulfatos (Costa-Batlloori, 1996; Spoo & Riviere, 2001).

Independiente de todas las vías mencionadas para su metabolismo los restos metabólicos tienen poca o totalmente nula actividad terapéutica.

Estudios realizados sobre metabolismo de sulfatroxazol en terneros recién nacidos y bovinos adultos mostraron metabolitos N₄-acetilsulfatroxazol y 5-hidroxisulfatroxazol en plasma y en leche, predominando en grandes cantidades en los recién nacidos el N₄-acetilsulfatroxazol en relación al metabolito hidroxilado. En las vacas las concentraciones de ambos metabolitos en plasma eran iguales, encontrándose también en leche, pero 21 veces menor que las de plasma. Otros estudios realizados en bovinos con sulfametoxazol, mostraron que la acetilación era el camino metabólico predominante (Nouws *et al.*, 1989a).

Estudios del metabolismo de sulfadimidina realizados *in vitro*, en hepatocitos de ovinos, caprinos y bovinos, indicaron que la hidroxilación es un mecanismo relativamente importante mientras que la acetilación predominó en las ratas; y la deacetilación del N₄-acetilsulfadimidina fue un proceso de considerable importancia en las cuatro especies (Van 'T Klooster *et al.*, 1993).

II.2.4 EXCRECIÓN

La mayoría son eliminadas vía renal como sulfamidas o como su metabolitos, mediante la filtración glomerular, por transportadores activos en los túbulos proximales o por absorción pasiva de fármacos no ionizados por los túbulos distales. Respecto al pH urinario, si el mismo es bajo favorece la reabsorción tubular aumentando la semivida de la misma. Por esto, la alcalinización de la orina incrementa la eliminación urinaria

debido a baja reabsorción tubular pasiva por el incremento en el pH. Muchas de las sulfamidas con una semivida prolongada experimentan una marcada reabsorción tubular sumado a una recirculación enterohepática (Spoo & Riviere, 2001).

Nouws *et al.* (1989a) observaron que sulfatroxazol administrado en terneros era eliminado en gran cantidad como su metabolito N₄-acetilsulfatroxazol por secreción tubular, mientras que en las vacas como sulfatroxazol y en bajo porcentaje como metabolito hidroxilado. No se detectó el N₄-acetilsulfatroxazol ni derivados glucuronidados. Además describen que el metabolito hidroxilado es excretado por filtración glomerular y en una menor fracción por secreción tubular.

Por otra parte Bevill *et al.*, (1977) realizando estudios con ovinos, describen que a las 60 horas pos administración de sulfametazina (107 mg/kg, IV) encontraron en orina valores acumulados de sulfametazina (18 %), hidroximetabolito (18 %), metabolitos polares (24 %) y un 11 % como metabolitos acetilados. También investigando la presencia de los metabolitos en los tejidos de estos animales pos mortem, detectaron que las mayores concentraciones se encontraban en tejido renal, hígado, y corazón, y en menor proporción en el tejido muscular y escaso en el adiposo.

Considerando las variaciones entre las distintas especies, Sharan & Banerjee (1982) observaron que la mayor excreción renal del sulfamoxazol (59 %) administrado vía oral en búfalos de 12 meses de edad, fue entre las 12 y 24 horas, y las concentraciones plasmáticas (18,9 a 332,83 mg %) obtenidas hasta las 96 horas fueron mucho mayor que las deseadas como nivel terapéutico, representando estos valores un porcentaje acumulado del total de la dosis administrada (33,56 %).

Otras vías de eliminación son la lagrimal, heces, bilis, leche y transpiración. Las sulfamidas de acción entérica son primariamente eliminadas por heces, siendo una muy pequeña parte absorbida y metabolizada, para ser luego eliminada por la vía renal (Spoo & Riviere, 2001).

En equinos, el trimetoprim no metabolizado se elimina en muy pequeñas cantidades por heces y en un 10 % en orina, siendo la semivida en el plasma de 1,9 – 4,3 h mientras que las semividas de las diferentes sulfamidas varían considerablemente de 2,71 h para la sulfadiazina y de 14 h para la sulfadoxina, siendo en esta especie el riñón, la vía más importante de excreción de las mismas (Van Duijkeren *et al.*, 1995).

II.2.5. FACTORES QUE MODIFICAN EL COMPORTAMIENTO CINÉTICO

La disposición de los fármacos puede estar influenciada por diversos factores, entre los que se mencionan los estados fisiológicos (edad, gestación), de enfermedad, vía de administración y formulación de los preparados. El conocimiento detallado del comportamiento farmacocinético en animales de producción, jóvenes o adultos, tiene importancia en el aspecto terapéutico, debiendo existir un nivel óptimo de fármaco en sangre y en tejidos que ejerce el accionar farmacológico sin producir toxicidad en el animal. De igual forma se debe prevenir la presencia de residuos de fármacos que han sido aplicados con fines terapéuticos o profilácticos, ya que pueden afectar al consumidor, por efectos tóxicos directos o reacciones alérgicas y por inducir resistencia a los medicamentos (Watson *et al.*, 1987; Schwark, 1992).

Como consecuencia, los regímenes de dosificación, que normalmente son desarrollados a partir de estudios en los que se utilizan animales adultos, no pueden ser simplemente extrapolados a neonatos de la misma especie, debido a las diferencias anatomofuncionales que pueden afectar los procesos de absorción, distribución, biotransformación y excreción; por ello lo más racional sería realizar ensayos experimentales en el grupo etario correspondiente (Burrows *et al.*, 1983).

II.2.5.1. FACTORES QUE MODIFICAN LA ABSORCIÓN

La absorción de fármacos desde el tracto gastrointestinal es un proceso complejo que está sujeto a la influencia de varios factores tales como la relación entre el pH del medio y el pK del fármaco, características de la mucosa del tubo digestivo, motilidad intestinal, así como de la dieta y microflora presente. En virtud de las diferencias morfológicas que existen en el tracto gastrointestinal entre un neonato y un bovino adulto, la absorción de algunos fármacos puede verse notoriamente afectada por la edad del individuo (Baggot, 1977).

El pH abomasal de 7,5 en un individuo recién nacido se va tornando más ácido en la medida que se modifica la dieta de esos animales. Estas diferencias en el pH influyen directamente en la tasa de absorción pues determinan el grado de ionización

del fármaco. Compuestos que se inactivan en medio ácido, como la penicilina, pueden verse menos afectados por el pH del medio y por ende ser mejor absorbidos en un neonato que en el medio ácido propio del abomaso de un bovino adulto (Schwark, 1992).

Otro aspecto a tener en cuenta son los cambios que se producen a nivel de la superficie mucosa del intestino que afectan su capacidad de absorción; durante las primeras horas de vida existe una gran permeabilidad en la mucosa intestinal que permite el pasaje de los anticuerpos calostrales, pero también posibilita la absorción de otras macromoléculas como es el caso de los aminoglucósidos y algunas sulfamidas que normalmente no se absorben en el intestino de un animal adulto (Caprile & Short, 1987). Por ejemplo, la administración de aminosidina, un antimicrobiano del grupo de los aminoglucósidos, en animales de 1 hora de vida presentó una absorción rápida, alcanzando una concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) de 16,4 $\mu\text{g/ml}$. A los 5 días de vida la $C_{m\acute{a}x}$ fue de 2 $\mu\text{g/ml}$, en tanto, a los 30 días solamente trazas de aminosidina eran detectadas en plasma ($C_{m\acute{a}x} = 0,9 \mu\text{g/ml}$) (Girardi *et al.*, 1986).

En la medida que transcurren los días, la superficie mucosa del tubo digestivo aumenta al igual que lo hace la perfusión sanguínea de las mismas, lo que teóricamente favorecería la absorción de fármacos; no obstante, con el transcurso del tiempo también se incrementa la actividad enzimática, tal el caso de las enzimas del complejo citocromo P-450 involucradas en el metabolismo de xenobióticos, lo cual actuaría como barrera para el acceso del fármaco hacia la circulación sistémica por un efecto de metabolismo de primer paso (Williams, 1983). La actividad propulsiva del tubo digestivo también debe considerarse, ya que la misma es menor en neonatos que en adultos y por lo tanto puede afectar el grado de absorción (De Backer, 1986).

El tipo de dieta que se le suministra también influye en la absorción desde el tubo digestivo; así tetraciclinas, penicilinas, cloranfenicol y trimetoprin presentan una menor biodisponibilidad cuando las mismas son suspendidas en sustituto lácteo para su administración que en el agua. En el caso de las tetraciclinas la menor biodisponibilidad está relacionada a la formación de quelatos con el ión calcio presente en la leche. En el caso de los otros fármacos, estaría ocasionada por la unión a las proteínas lácteas (Palmer *et al.*, 1982).

El desarrollo postnatal de la microflora ruminal, así como las modificaciones en la funcionalidad de la gotera rumino-reticular con el transcurso de las semanas también afecta notoriamente la absorción de algunos fármacos tras su administración por vía oral. Así, ciertas drogas, como el caso del cloranfenicol, tienden a ser degradadas por la flora ruminal, por lo que la biodisponibilidad de este antimicrobiano disminuye con la edad del bovino (De Backer *et al.*, 1978).

Cuando consideramos el efecto ejercido por el rúmen en el comportamiento cinético de los fármacos, ya sea administrado por vía oral o intrarruminal se debe tener en cuenta el efecto de dilución que el mismo ejerce, ya que el contenido de los prestómagos constituye del 12 al 15 % del peso corporal. Además, la solución del fármaco en el rúmen no presenta una concentración homogénea. El contenido ruminal se encuentra dividido en una serie de capas estratificadas que no se mezclan de forma homogénea: la fracción acuosa progresa con una velocidad constante en ovinos y bovinos y tarda aproximadamente 6 horas en alcanzar el abomaso. Sumado a esto, tenemos que las bases débiles administradas por vía oral pueden quedar atrapadas en el rúmen por ionización y liberarse gradualmente, prolongando la eliminación y aumentando el volumen de distribución (Dunlop, 1983).

Otro aspecto importante es que en los rumiantes adultos la fracción de fármaco que se excreta a través de la saliva, puede alcanzar el tracto digestivo y probablemente ser reabsorbida nuevamente llegando a la circulación sanguínea y pudiendo ser otra vez excretada por las glándulas salivares, estableciéndose así un circuito rúmen - sangre - saliva (Dunlop, 1983). En los rumiantes, el volumen de producción de saliva es muy grande (aproximadamente 100 a 200 L/día en los bovinos) y ligeramente alcalina (pH 8,2). Por ello, la cantidad de fármaco que puede ser excretado por el fluido salivar es considerable, a diferencia del resto de las especies domésticas.

En el caso de la absorción posterior a una aplicación intramuscular, tenemos que luego de la administración de una suspensión oleosa de amoxicilina a terneros y vacas, se observaron marcadas diferencias entre estos grupos de animales. En los terneros de 1 mes de vida se obtuvieron picos de concentraciones plasmáticas considerablemente más altos y semividas biológicas más cortas que en terneros de 5 meses o en vacas en producción (Nouws *et al.*, 1986a). Estas diferencias farmacocinéticas se relacionan con la capacidad de absorción dependiendo del punto de aplicación en las diferentes regiones musculares; la conformación muscular acuosa en los animales neonatos facilita

la difusión de las drogas en la masa muscular, lo cual conduce a una mayor superficie de absorción y a que la misma se realice más rápida (Nouws, 1992).

II.2.5.2. FACTORES QUE MODIFICAN LA DISTRIBUCIÓN

Existen varios factores que afectan la distribución de fármacos que tienen la particularidad de diferir entre neonatos y adultos y que por lo tanto originan modificaciones en la disposición cinética en estos animales. Uno de los cambios más importantes que ocurre es la modificación en las proporciones del contenido acuoso. El agua corporal puede comprender el 75 % del peso total en un animal neonato, mientras que en un adulto es del 50 al 60 %. En el caso de cabras de 1 semana de vida, el volumen extracelular representa el 43 % del peso corporal a la primer semana de vida, mientras que a la tercera desciende al 34 % (Kami *et al.*, 1984). El desarrollo de este tipo de cambios podría tener un efecto significativo en la distribución de drogas polares, compuestos hidrosolubles como el caso de penicilinas, aminoglucósidos y antiinflamatorios no esteroides (De Backer, 1986; Baggot, 1992).

La unión de los fármacos a las proteínas plasmáticas es otro factor importante a tener en cuenta, ya que solamente la fracción no unida puede atravesar membranas biológicas. Esta unión a proteínas plasmáticas depende de la cantidad de proteínas presentes y de la afinidad del fármaco hacia las mismas. Debido a que animales neonatos presentan una menor cantidad de proteínas plasmáticas que los adultos, el grado de unión está condicionado por la edad del animal (Baggot, 1977).

En el cerdo, la unión del trimetoprin a las proteínas plasmáticas se incrementa de un 45 % en el neonato a un 75 % en el adulto (Gyrd – Hansen *et al.*, 1984). También en cerdos, la unión del ácido salicílico a las proteínas plasmáticas se incrementa en forma paralela al aumento en la concentración de albúminas en plasma (Short & Tumbleson, 1973). En general podemos decir que en los neonatos existe una menor tasa de unión a las proteínas plasmáticas y por ende los fármacos pueden evidenciar una mayor distribución (Baggot, 1992).

El epitelio ruminal constituye una barrera permeable que permite el pasaje de fármacos liposolubles y no ionizados. Este pasaje bidireccional se rige por el gradiente de concentración a ambos lados de la membrana. Esto origina que las bases

liposolubles administradas por vía parenteral difundan pasivamente a través del epitelio ruminal, y queden retenidas por ionización (Dunlop, 1983).

En general, el tejido adiposo y la masa muscular son sustancialmente más escasos en animales jóvenes que en animales maduros (Reiche, 1983). A causa de que muchos fármacos tienen gran afinidad por estos tejidos, sobre todo los liposolubles, se podría predecir que la carencia de estos depósitos en los neonatos puede limitar la captación de fármacos liposolubles, incluyendo dentro de éstos a los barbitúricos, lo que puede generar una prolongación del efecto, ya que estos fármacos presentan redistribución en el tejido adiposo (Branson & Booth, 1995).

Una diferencia adicional, particularmente en el período neonatal temprano, es la carencia en el desarrollo de ciertas barreras al acceso de los fármacos, tales como la barrera hematoencefálica (Saunders, 1977), lo cual puede permitir la difusión de los fármacos hacia estos sitios en el neonato, esto hace que se alcancen concentraciones terapéuticas de muchas drogas en sitios que se consideran inaccesibles para los adultos, tal es el caso de la penicilina, que solamente atraviesa la barrera hematoencefálica en neonatos o cuando se ha alterado la integridad de la misma por algún proceso patológico (Shoaf *et al.*, 1989).

Watson *et al.* (1987) analizaron el efecto ejercido por la edad sobre varios parámetros luego de la administración de sulfas vía oral y endovenosa. Los mismos estudiaron en cabritos prerrumiantes y rumiantes a los cuales administraron vía oral e intravenosa sulfadimidina (100 mg/kg), sulfisomidine (50 mg/kg) y sulfadoxina (30 mg/kg). Sulfadoxina y sulfadimidina exhibieron una absorción no lineal luego de la dosis oral, indicando limitación en la capacidad de absorción por posibles mecanismos de absorción activos; además mostraron una eliminación no lineal. Con la sulfadoxina vía oral en cabritos rumiantes, observaron poca biodisponibilidad y corta semivida de eliminación; mientras que con la sulfadimidina, un menor volumen de distribución que en los prerrumiantes. Los autores concluyeron que no todas las diferencias en los parámetros cinéticos para sulfamidas en ambas etapas podían ser explicadas por la acumulación en los preestómagos, el pH y cambio pH en orina, sino que existen otros factores potenciales, incluyendo posibles alteraciones en el metabolismo hepático y que la sulfadoxina podría ser la más indicada para uso terapéutico en prerrumiantes por la biodisponibilidad, después de la administración oral y por la prolongada semivida de eliminación.

También Nouws *et al.* (1983b) considerando otros fármacos antimicrobiano como la oxitetraciclinas, describen que en terneros de tres semanas se debe administrar dos veces la dosis de la usada en adultos para alcanzar similares concentraciones plasmáticas. Por otra parte, luego de administrar sulfadimidina en terneros entre 1 día y 6 meses de edad, evidenciaron valores edad-dependiente en la semivida de eliminación, ya que al primer día dicho valor osciló entre 13,5 y 17 h decreciendo en tres semanas a 4-6 h, y de ahí, manteniéndose constante. También obtuvieron un elevado porcentaje del metabolito N4 acetilado en el plasma en el primer día de vida (21,6 %) y declinando a su vez a las tres semanas (12,8 %). Los autores también reportan efectos similares en infantes, cerditos y cachorros, atribuyendo estos resultados a la inmadura función renal y secreción tubular disminuida al nacimiento, consideraciones que se deben tener en cuenta al momento de dosificar a esta categoría de animales (Nouws *et al.*, 1983a).

Un incremento del volumen corporal y un aumento del flujo renal se detectó en la mujer, como factores que alteran el comportamiento cinético; también se describen modificaciones de secreción hormonal y desarrollo del feto. Mas allá del manejo del fármaco, inclusive en la etapa de no gestación, puede estar influenciado por variaciones estacionales, por ejemplo durante la primavera en la etapa de celo. Van Gogh *et al.* (1990) estudiaron variaciones en el comportamiento cinético antes, durante y luego de la gestación, de cuatro sulfamidas administradas vía intravenosa en cabras, a dosis de 50 mg/kg, los autores observaron una eliminación de primer orden para sulfadimidina; en los preñados, una disminución del tiempo medio de residencia y un aumento del aclaramiento plasmático, aunque este efecto continuó a posterior del parto, ocurriendo lo mismo con la sulfadimetoxina. El volumen de distribución se incrementó significativamente durante y a posterior de la preñez para sulfisomidine y sulfadimetoxina y disminuyó en animales controles con sulfadimidina, sulfisomidina y sulfadoxina, solo con diferencias significativas para esta última. En base a los resultados, los autores plantean que el útero gestante no sería considerado como un compartimiento mas, tanto por el volumen de distribución observado, como por el modelo farmacocinético y que los cambios en los parámetros podrían ser inducidos por modificaciones hormonales así como por el desarrollo del feto.

II.2.5.3. FACTORES QUE MODIFICAN EL METABOLISMO

El principal sitio donde los fármacos son biotransformados es el hígado, y las reacciones metabólicas que allí acontecen pueden clasificarse en reacciones de Fase I (oxidación, reducción e hidrólisis) y Fase II (acetilación, glucuronoconjugación, metilación, sulfonación y conjugación con aminoácidos) (Benet *et al.*, 1996; Baggot, 2001). El grado de desarrollo de estas vías metabólicas al nacimiento es diferente para cada una de ellas; así la actividad oxidativa del sistema microsomal citocromo P-450 al igual que las reacciones de glucuronoconjugación están poco desarrolladas en neonatos, en tanto que la capacidad de acetilación y conjugación con sulfatos y glicina en el recién nacido es similar a la de los adultos (De Backer, 1986; Nouws, 1992).

El metabolismo oxidativo en terneros se desarrolla de manera gradual, siendo similar al de los adultos entre las 3 y 12 semanas de vida (Nouws, 1992). Es importante consignar que la naturaleza del fármaco al igual que la composición del alimento afectan el desarrollo del metabolismo oxidativo a nivel hepático, así la ingesta de alimentos toscos estimula los procesos oxidativos, mientras que la alimentación con leche parece demorarla (Kawalek & El Sid, 1991). En terneros, la baja capacidad oxidativa durante los primeros días de vida se ha demostrado para varias sulfamidas (Nouws *et al.*, 1988b; 1991). Por otra parte las lesiones provocadas por diferentes agentes químicos y microorganismos a los hepatocitos de las diferentes zonas del acino, alteran la importante función de biotransformación de los fármacos. Argaw & Brugere (1990) demostraron variaciones significativas en las concentraciones plasmáticas, semivida de eliminación y el aclaramiento total del cuerpo, en ovejas con lesión hepática inducida por alil alcohol y en animales controles, luego de administrarles sulfadimidina.

II.2.5.4. FACTORES QUE MODIFICAN LA EXCRECION

La principal ruta de eliminación de fármacos y sus metabolitos es por excreción renal. El fármaco libre en plasma, alcanza la luz tubular por filtración glomerular, y en el caso de bases y ácidos débiles por secreción tubular. La cantidad final de fármaco eliminado en la orina esta gobernado por el grado de reabsorción tubular que acontece en la nefrona distal. Esto se ve afectado por factores tales como la concentración de orina, el pH urinario y pK del fármaco (Benet *et al.*, 1996). Debido a que los cambios en la dieta provocan modificaciones en el pH urinario, éste es un factor que puede

afectar el grado de ionización del fármaco y por ende la reabsorción tubular (Watson *et al.*, 1987). La funcionalidad renal es incompleta en la mayoría de los animales al momento del nacimiento. En las especies rumiantes, parece ser completa entre la primera y segunda semana de vida (Friis, 1983; De Backer, 1986).

II.3 SULFAMETAZINA

La sulfametazina [2- (4-aminobenceno sulfonamida) -4, 6-dimetil pirimidina], también denominada sulfadimidina cuya estructura química se presenta en la Figura 5, al igual que las otras sulfamidas fue utilizada en medicina veterinaria por décadas; la bibliografía reporta su uso en una amplia variedad de animales tales como bovinos, equinos, porcinos, aves de corral, pequeños rumiantes y conejos, entre otros. La sulfametazina ha sido comúnmente utilizada en las especies bovinas y porcinas en diferentes preparaciones comerciales para ser administradas por diversas vías (Prescott, 2002).

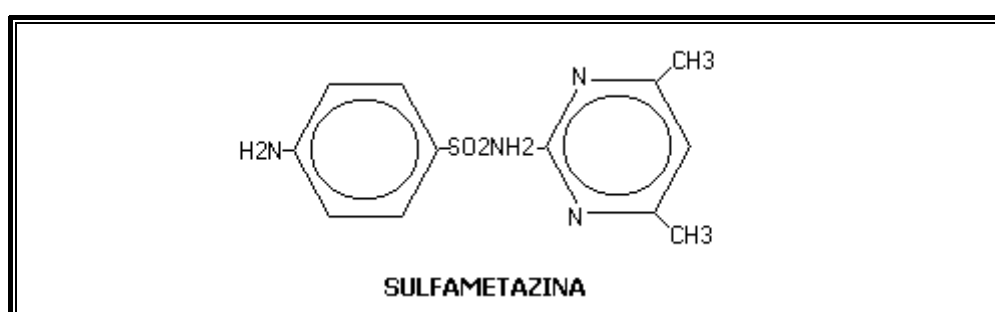


FIGURA 5: Estructura química de la sulfametazina (Prescott, 2002).

También a este fármaco se lo ha usado asociado a otros antimicrobianos tales como otras sulfamidas, tilosina, clortetraciclina y penicilinas. De particular interés fueron las preparaciones para uso oral en bovinos y porcinos, de los que existe un alto número de reportes del uso clínico así como su eficacia terapéutica. Ha sido formulada para uso en el agua de bebida, como aditivo en el alimento, en preparaciones intravenosas y bolos de liberación sostenida con el fin de conseguir niveles sanguíneos terapéuticos (50 µg/mL) dentro de las 6-12 horas de administrada y que los mismos se mantengan en esos niveles por dos a cinco días posteriores a la administración oral, con resultados positivos en casos de neumonías y difteria en bovinos. En porcinos, se la utilizó ampliamente en infecciones microbianas susceptibles, incluyendo *Salmonella typhisuis* y *Bordetella bronchiseptica* (Spoo & Riviere, 2001). Kumar *et al.* (1999) reportan amplio uso en la India en el tratamiento de coccidiosis e infecciones respiratorias en camélidos, demostrándose que la absorción es total pero lenta, luego de la administración vía oral.

La concentración de la droga en el plasma versus el tiempo, es utilizado para estimar las variables farmacocinéticas y ha sido ampliamente investigada en las diferentes especies a fin de calcular el régimen de dosis óptimas. En la Tabla 7 se presentan algunos parámetros farmacocinéticos de la sulfametazina observados en varias especies con diferentes dosis utilizadas (Spoo & Riviere, 2001).

TABLA 7: Dosis y parámetros farmacocinéticos de Sulfametazina en animales.

Especies	Dosis (mg/kg)	Vía de administración	Vd (L/kg)	t _{1/2} (h)	Clarence (ml/h/kg)	Referencias Bibliográficas
Ternero 5 días	25	IV	SD	4,5	21	<i>Nouws et al., 1986b</i>
Bovino-hembra	20	IV	0,24	3,64	54	<i>Witcamp et al., 1992</i>
Bovino macho	20	IV	0,37	5,82	45	<i>Witcamp et al., 1992</i>
Terneros 62-70 días	10	IV	SD	5,2	SD	<i>Nouws et al., 1988b</i>
Terneros 68-76 días	100	IV	SD	5,7	SD	<i>Nouws et al., 1988b</i>
Vaca 4-5 años	10	IV	SD	4	SD	<i>Nouws et al., 1988b</i>
Vaca 3-5 años	100	IV	SD	5,9	SD	<i>Nouws et al., 1988b</i>
Vaca 5-6 años	200	IV	SD	5,5	SD	<i>Nouws et al., 1988b</i>
Ternero 62 días	10	IV	SD	5,4	34	<i>Nouws et al., 1986b</i>
Cerdo 9 semanas	50	IV	0,51	16,9	21	<i>Sweeney et al., 1993</i>
Cabra	100	IV	0,316	2,77	81	<i>Elsheikh et al., 1991</i>
Cabra adulta macho	20	IV	0,28	8,7	20	<i>Witcamp et al., 1992</i>
Cabra adulta hembra	20	IV	0,18	2,13	70	<i>Witcamp et al., 1992</i>
Cabra 12 semanas	100	IV	0,43	1,97	134	<i>Nouws et al., 1989b</i>
Cabra 18 semanas	100	IV	0,507	2,56	106	<i>Nouws et al., 1989b</i>
Ovino	100	IV	0,297	4,72	44,6	<i>Elsheikh et al., 1991</i>
Oveja y carnero	100	IV	0,41	10,8	26,1	<i>Bulgin et al., 1991</i>
Oveja y carnero	100	Oral	SD	4,3	SD	<i>Bulgin et al., 1991</i>
Oveja y carnero	391	Oral	SD	14,3	SD	<i>Bulgin et al., 1991</i>
Cordero 6-10 semanas	100	IV	0,45	4,1	SD	<i>Evrard et al., 1995</i>
Ovejas	100	IV	0,48	3,88	88	<i>Nawaz & Khan, 1979</i>
Cabras	100	IV	0,32	4	55	<i>Nawaz & Khan, 1979</i>
Conejo macho	35	IV	0,42	0,4	73,6	<i>Witcamp et al., 1992</i>
Conejo hembra	35	IV	0,23	0,39	40,8	<i>Witcamp et al., 1992</i>
Camello	100	IV	0,394	7,36	40,9	<i>Elsheikh et al., 1991</i>
Yegua 2 años	20	IV	0,47	5	65	<i>Nouws et al., 1985</i>
Yegua 2 años	200	IV	0,56	6	67	<i>Nouws et al., 1985</i>
Equino macho 1,5 años	20	IV	0,44	9,5	32	<i>Nouws et al., 1985</i>
Equino macho 1,5 años	200	IV	0,65	11	41	<i>Nouws et al., 1985</i>
Equino adulto	160	IV	0,63	11,4	SD	<i>Wilson et al., 1989</i>
Burro	20	IV	0,68	-	67,8	<i>Oukessou & Alsouss 1998</i>

Nota: SD: sin dato; IV: intravenosa; Vd: volumen de distribución; t_{1/2}: semivida de eliminación

Considerando a este fármaco activo contra algunas rickettsias y protozoos, Mody & Malik (1997) investigaron el comportamiento farmacocinético de la sulfametazina en búfalos de 50 a 72 kg a fin de establecer un régimen de dosis adecuada. Para ello, administraron por vía IV una dosis de 100 mg/kg de peso, encontrándose

concentraciones plasmáticas de 534.06 ± 39.68 $\mu\text{g/ml}$ a los dos minutos de administrada la que declinó rápidamente a 258.00 ± 23.08 $\mu\text{g/ml}$ a los 30 minutos y desapareciendo en forma gradual. Se observó una concentración plasmática mayor o igual que 50 $\mu\text{g/ml}$ desde los 2 minutos hasta las 10 horas de administrado el fármaco. Los valores medios de los parámetros farmacocinéticos hallados fueron de un $t_{1/2\alpha}$ 0.1994 ± 0.043 , un $t_{1/2\beta}$ de 5.8975 ± 0.295 h, un Vd de 0.5073 ± 0.0586 L/kg, un aclaramiento de 59.6 ± 4.04 ml/kg/h y un TMR de 9.63 ± 1.54 h, a partir de los cuales estimaron un régimen de dosificación deseable para mantener concentraciones plasmáticas de 25, 50 y 100 $\mu\text{g/ml}$. También Sing & Ahmad (1976) estudiando el comportamiento de este mismo fármaco y del sulfafenazol, en búfalos de 1,5 a 2 años de edad, administrando en una dosis única de 200mg/kg vía oral, observaron que la unión a proteínas de la sulfametazina fue entre un 42,95 y 54,66 %, mientras que para el sulfafenazol entre 57,30 y 79,76 %; considerando una media general de unión a proteínas plasmáticas de 50 y 68 % respectivamente.

Srivastava & Rampal (1990) estudiaron en ovinos la cinética de sulfametazina luego de administrar una dosis IV de 100 mg/kg. Considerando los resultados de $t_{1/2\alpha}$ de 0.15 ± 0.04 , de $t_{1/2\beta}$ de 4.5 ± 0.3 h, Vd y aclaramiento plasmático de 0.6 ± 0.1 L/kg y 90 ± 13 ml/kg/h respectivamente y del porcentaje de unión a las proteínas $76,6 \pm 5,6$ %, proponen un régimen de dosis IV de 93 mg/kg seguido por 79 mg/kg a un intervalo de 12 horas, sobre la base de una CIM de 25 $\mu\text{g/ml}$ que es efectiva contra la mayoría de los organismos susceptibles.

En cuanto al metabolismo, se han reportado considerables diferencias entre las especies, principalmente en la formación de metabolitos y eliminación de los mismos, pudiendo estar influenciado por factores tanto fisiológicos, fisiopatológicos como ambientales, entre los cuales se mencionan diferencias farmacocinéticas dosis-dependiente y edad-dependiente en humanos, bovinos, cabras; enfermedades infecciosas y endotóxicas que pueden inducir diarreas, diferencias entre sexos e influencias por hormonas gonadales en ratas (Kodam & Govindwar, 1997) y cabras enanas. Al respecto Nouws *et al.* (1988a) observaron inhibición en el mecanismo oxidativo de la sulfametazina (no así en la acetilación) en cabras machos castrados pretatados con testosterona y en adultos enteros durante la estación de celo en comparación con controles castrados, manifestado por una prolongada semivida de eliminación de dicho

farmaco (control: 1,56 h; tratados: 8,8 -13,6 h) y disminución del porcentaje plasmático de los metabolitos hidroxilados.

Un acabado conocimiento del metabolismo comparativo de la sulfametazina en las distintas especies de importancia pecuaria y los defectos que pueden producir ciertos factores intervinientes son importantes para la terapéutica veterinaria y sobre todo para la predicción de los residuos metabólicos en los alimentos (Witkamp *et al.*, 1992).

En los rumiantes es ampliamente metabolizada por mecanismos de hidroxilación del anillo heterocíclico, acetilación del grupo amino, conjugación con el ácido glucurónico y con los sulfatos.

Tanto la acetilación como la hidroxilación se encuentran presentes en bovinos al nacimiento; en terneros y bovinos adultos, la hidroxilación es el mecanismo que predomina así como en cabras y aves, que es extensamente oxidado su grupo metilo del anillo pirimidínico transformándolo en 5-hidroxisulfametazina; mientras que en el hombre y en el cerdo predominan la acetilación (Nouws *et al.*, 1986b; Nouws *et al.*, 1989b; Shimoda *et al.*, 1997).

Resultados obtenidos en vacas y terneros a los que se administraron dosis de 100 y 200 mg/kg y en recién nacidos (5 días) dosis de 25 mg/kg indican que con las mismas, la acetilación es el camino más importante. El metabolito que predominaba en orina de adultos y terneros a dosis menores de 25mg/kg eran los hidroxilados (23 a 55,2 % del metabolito acumulado -el % es expresado en relación a la dosis-); con dosis de 100 mg/kg, en terneros, y de 150 en búfalos, el porcentaje de acetilado e hidroxilado aumentaba (Nouws *et al.*, 1986b, 1988b; Jain *et al.*, 2000). En cuanto a su eliminación, los autores indican que por resultados obtenidos del aclaramiento renal ambos metabolitos (acetilados e hidroxilados) son predominantemente eliminados por secreción tubular, concluyendo que la semivida de eliminación de la sulfametazina en los rumiantes depende principalmente de la vía metabólica, que está relacionada con la dosis y el aclaramiento de sus metabolitos.

En camellos, la administración intravenosa de sulfadimidina mostró una lenta eliminación indicado por una semivida de eliminación entre 8,7 y 16,5 h, encontrando un valor medio de 0.04 para el aclaramiento total del cuerpo el que fue menor que el reportado para cabras y bovinos adultos. El principal metabolito detectado fue N₄-acetil

derivado y solo trazas de hidroximetilsulfadimidina, indicando a la acetilación como el principal camino metabólico en los mismos. Las concentraciones plasmáticas en función del tiempo describen una cinética de orden cero, explicado por el sistema de conservación de agua de esta especie, manifestado por una extensa reabsorción de agua a partir de los riñones (largas asas de Henle) combinado con escasa pérdida por materia fecal y recirculación gastrointestinal. También observaron valores de unión a proteínas plasmáticas menores que los reportados para otras especies (Younan *et al.*, 1989).

En relación a los factores que pueden alterar la absorción de la sulfametazina, Van Gogh & Van Miert (1977) estudiaron la acción de la endotoxina de *E. coli* en cabritos y cabras enanas adultas, valorando las concentraciones plasmáticas de la misma. Para ello, administraron vía oral 100 mg/kg de sulfametazina antes y después de producir el síndrome febril, no observando variación alguna en la tasa de absorción ni en las concentraciones de la sulfametazina no metabolizada y de la misma mas su metabolito. Sin embargo, Van Gogh *et al.* (1984) observaron diferencias en experiencias posteriores. Los autores administraron 50 mg/kg de sulfametazina vía oral a cabras normales, siendo la biodisponibilidad de un $26,4 \pm 1,1$ %, considerada de incompleta; y posterior a la vía endovenosa evidenciaron una semivida de eliminación cuyo valor medio fue de $1,33 \pm 0,13$ h; seguidamente inocularon las mismas cabras con enterotoxinas β de *Stafilococcus spp* y sulfametazina vía endovenosa, observando significativas diferencias de las concentraciones plasmáticas en relación a los datos controles, semivida de eliminación de $2,35 \pm 0,59$ h y un incremento de las concentraciones del área bajo la curva ABC 438.4 ± 47.3 contra 332.3 ± 25.3 de los animales controles. Realizando un tercer experimento, administraron sulfametazina vía intraruminal previamente a cabras con toxinas y libres de las mismas (control), observaron un descenso abrupto de la absorción del fármaco debido al éxtasis ruminal y una disminución de los valores del área bajo la curva en un $51,3 \pm 4,1$ % en un período de 0-18 h, sugiriendo una eliminación fecal del fármaco por la profusa diarrea acuosa originada por la toxina.

La farmacocinética de la sulfametazina y su metabolito en el cerdo es de particular interés, ya que junto a las demás sulfamidas han sido una de las causas mas comunes de violaciones de niveles de residuos en los alimentos provenientes de esta especie, reportado por la US Food Safety Inspeccion Service; por tal motivo, Sweeney *et al.* (1993) desarrollaron un modelo multicompartimental utilizando las concentraciones

plasmáticas versus tiempo, para predecir el período de retirada durante el cual se logra 0.1 ppm de sulfametazina en músculo y grasa, que es la concentración tolerada.

En relación a los residuos, también se describen estudio hechos con sulfametazina marcada radiactivamente (C14-sulfametazina) en porcinos; a los que se les administró en el alimento una dosis de 110 ppm durante 3-7 días, y que luego fueron eutanasiados. Al analizar sus tejidos, la radiactividad demostró alta concentración de metabolitos en el intestino. También se encontraron altos niveles del fármaco patrón y su metabolitos en sangre, riñón, orina e hígado (Spoo & Riviere, 2001).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III.1. MATERIAL

Biológico

Se utilizaron 6 bovinos machos, de raza Holando argentino (Holstein), a los 7, 21, 50 y 105 días. El peso (media \pm D.E.) de los terneros a los 7 días fue $42 \pm 3,5$ kg, a los 21 días fue $40,7 \pm 5,9$ kg, a los 50 días fue de $61,1 \pm 10,7$, a los 105 días de $108 \pm 9,8$ kg y a los 135 días de $116 \pm 16,5$ kg.

También se emplearon 6 búfalos de agua machos de $147 \pm 9,2$ kg.

Las pautas de utilización de los animales se resumen en el punto III.2.3.

Fármacos y productos biológicos utilizados

Como sustancia patrón se empleó sulfametazina sódica, suministrada como producto puro por el laboratorio de especialidades veterinarias Allignani Hnos (Santa Fe, Argentina).

La especialidad a base de sulfametazina al 30 % en solución inyectable, fue elaborada por el laboratorio mencionado para realizar los diversos ensayos planteados en este trabajo de tesis.

Para la obtención del plasma las muestras de sangre fueron extraídas con jeringas previamente heparinizadas.

Para la inducción experimental de un cuadro febril se procedió a la inoculación de una solución de lipopolisacárido de pared de *Escherichia coli* serotipo 055:B5 (Sigma Chemical CO, lote 038H4156) en solución salina fisiológica.

Ningún otro fármaco fue administrado a los animales durante el tiempo que duró la experiencia.

Reactivos

Acetonitrilo calidad HPLC (LICHROSOLV®, Merck).
Ácido acético glacial para análisis instrumental (Panreac Química S.A.).
Ácido fórmico 85% calidad HPLC (Panreac Química S.A.).
Ácido fosfórico 99,999% (Aldrich Chemical Company INC).
Agua ultrapura (Millipore Simplicity®).
Helio gas (AGA. S.A.).
Hidrógeno fosfato de diamonio (Aldrich Chemical Company INC).
Hidrógeno sulfato de tetrabutilamonio (Fluka).
Metanol calidad HPLC (Scharlau Chemie S.A.).
Nitrógeno gas (AGA. S.A.).
Suero salino isotónico (Braun).
Triclorometano para análisis instrumental (Panreac Química S.A.).
Trietilamina (Sigma Chemical CO).

Material utilizado durante la toma de muestras y su almacenamiento

Agua oxigenada 10 volúmenes (Purocol).
Agujas estériles desechables (0.9 x 25 mm 20 G x 1", Becton Dickinson).
Agujas estériles desechables (0.8 x 40 mm 21 G x 1 1/2", Becton Dickinson).
Alcohol etílico 96° (Purocol).
Algodón hidrófilo.
Catéteres intravenosos 16 G x 2", 1.7 x 50 mm (Vasocan®, Braünule).
Catéteres intravenosos 20 G x 1 1/4", 1.10 x 32 mm (Surflo®, Terumo®).
Gradillas para almacenamiento de tubos Eppendorf.
Guantes de látex (Gahnos S.L.).
Heparina sódica (5000 ug/ml) (Schering Plough).
Jeringas estériles desechables 2 ml (Becton Dickinson).
Jeringas estériles desechables 5 ml (Becton Dickinson).
Obturadores para catéteres intravenosos 16G x 2", 1.7 x 50 mm (Vasocan®, Braünule).
Obturadores para catéteres intravenosos 20G x 1 1/4", 1.10 x 32 mm (Surflo®, Terumo®).
Peladora (Oster Golden A5. 5-55H)
Pipetas Pasteur (Chase Instruments).
Sutura.

Solución povidona iodada 10 % (Betadine®, Asta médica).

Termómetro digital (Seikuve, STD-2121).

Tubos Eppendorf (Daslab®).

Tubos de plástico para análisis hematológicos con y sin EDTA.

Instrumentación para la extracción y cuantificación

Agitador horizontal de tubos (IKA VIBRAX VXR).

Agitador magnético (Selecta Agimatic 243).

Balanza analítica de precisión (Mettler AE-160).

Centrífuga (IEC, Centra CL3R).

Centrífuga (Nahita, modelo 2610).

Columna LiChrospher® 100 RP-18 endcapped (5 μ) (LiChroCART® 250-4, Merck).

Concentrador de muestras (Techne, DB-3A).

Congelador -20° C (Bosch).

Equipo de cromatografía líquida de alta eficacia:

- . Bomba (Konik).
- . Detector ultravioleta (Konik).
- . Software Konikron

Jeringa Hamilton 100 μ l.

Material de vidrio diverso:

- . Pipetas de vidrio de 1, 5 y 10 ml.
- . Probetas de vidrio de 25, 50, 100 y 1000 ml.
- . Vasos de precipitado de 100, 500 y 1000 ml.

Micropipetas 10, 100, 200 y 1000 μ l (Pipetman, Gilson).

pHmetro (MicropH 2001, Crison).

Precolumna LiChrospher® 100 RP-18e (5 μ) (LiChroCART® 4-4, Merck).

Puntas de micropipetas 20, 200 y 1000 μ l (Daslab®).

Purificador de agua (Millipore Simplicity®).

Tubos de vidrio para centrífuga de 15 ml con tapón a rosca.

Viales plásticos con tapa de 5 ml de capacidad.

Instrumentación para el análisis de los datos

Hoja de cálculo Microsoft® Excel 2000.

Impresora DeskJet 720C (Hewlett Packard).

Microsoft® Windows 2000.

Ordenador (AMD Athlon).

Procesador de texto Microsoft® Word 2000.

Programa de tratamiento estadístico SPSS 10.0 (SAS, Cary, NC, USA)

Programa de tratamiento estadístico y gráficas Graph Pad Inplot 4.1 (GraphPad Software Inc. San Diego, CA, USA)

Programa de tratamiento farmacocinético PK Solution. FARRIER, D.S. (2000). Pk Solutions 2.0. Noncompartmental Pharmacokinetics Data Analysis.

Programa de tratamiento farmacocinético PCnonlin V 4.0.(Statistical Consultants Inc. Lexington K.Y. USA)

III.2. MÉTODOS

III.2.1. ACONDICIONAMIENTO Y ADAPTACIÓN DE LOS ANIMALES

Los terneros fueron retirados de sus madres después del calostrado, siendo en un primer momento el sustituto lácteo la base de su alimentación con libre acceso a la ración de cría, en sus corrales. A partir de los 42 días fueron alimentados con heno de alfalfa y tuvieron acceso al agua de bebida *ad libitum*.

Los búfalos permanecieron un período de un mes para su aclimatación a las condiciones en las que sería llevado a cabo el estudio, fueron alojados en corrales y alimentados a base de heno de alfalfa y tuvieron acceso al agua de bebida *ad libitum*.

Previo a cada estudio todos los animales fueron sometidos a exámenes clínicos y analíticas sanguíneas para verificar su estado de salud.

III.2.2. PRODUCCIÓN EXPERIMENTAL DE UN CUADRO FEBRIL

El estado febril se indujo y se mantuvo durante, al menos, 13 horas siguiendo las pautas del método propuesto por Kume & Garg (1986) sobre 6 bovinos de 135 días de edad. Con el objeto de comprobar la eficacia de este método en nuestras condiciones experimentales, el mismo fue ensayado previamente, en 2 animales de similar edad que no formaban parte del grupo en estudio.

Durante la semana previa al estudio se tomó la temperatura rectal de los animales, 3 veces por día (a las 9, a las 13 y a las 18 horas), con el fin de conocer la temperatura rectal del grupo en estudio en condiciones normales.

Se preparó una solución de lipopolisacárido de pared de *Escherichia coli* serotipo 055:B5 a una concentración de 1 $\mu\text{g/ml}$ en solución salina isotónica. Se inyectó por vía intravenosa una dosis de 0.1 $\mu\text{g/kg}$. Ocho horas después de administrada la toxina se repitió la inoculación a una dosis de 0.05 $\mu\text{g/kg}$ para prolongar el mantenimiento del aumento de temperatura.

La administración de la sulfametazina se realizó por vía intravenosa una hora después de la primera inoculación del pirógeno. Las pautas de administración y extracción de muestras son las mismas que se describen a continuación en el punto III.2.3. en los apartados sobre toma de muestras y administración intravenosa.

Se controló la temperatura de los animales inmediatamente antes y durante las 48 horas posteriores a la administración del pirógeno, a fin de confeccionar una curva que reflejara la evolución de la temperatura rectal en función del tiempo. La toma de temperatura se realizó a intervalos de 15 minutos durante la primera hora después de la inoculación, y luego coincidentemente con los tiempos de toma de muestras sanguíneas.

III.2.3. ADMINISTRACIÓN DEL FÁRMACO Y TOMA DE MUESTRAS

Pautas de utilización de los animales

Los seis terneros fueron utilizados a los 7, 21, 50 y 105 días de edad para el estudio de la influencia del desarrollo en el comportamiento farmacocinético de la sulfametazina tras la administración intravenosa.

Estos animales cuando llegaron a los 135 días de edad se los utilizó para caracterizar el comportamiento cinético del fármaco previa inducción de un estado febril. Con anterioridad, dos bovinos machos adultos que no formaron parte del grupo en estudio, fueron utilizados para comprobar la eficacia del método de producción del cuadro febril propuesto por Kume & Garg (1986) aplicado a nuestras condiciones experimentales.

Los seis búfalos machos adultos, se utilizaron para caracterizar el comportamiento farmacocinético de la sulfametazina tras la administración intravenosa.

La tabla 8 resume las pautas de utilización de los animales.

TABLA 8. Animales utilizados en las distintas pruebas del estudio del comportamiento farmacocinético de sulfametazina por vía intravenosa.

Prueba	Forma de administración	Identificación de los animales												
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	
A	IV a los 7 días de edad	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
B	IV a los 21 días de edad	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
C	IV a los 50 días de edad	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
D	IV a los 105 días de edad	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
E	IV luego de cuadro febril	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
F	IV búfalos							✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Obtención de las muestras

Previo al inicio de las pruebas se procedió a la colocación de catéteres intravenosos en la vena yugular a través de los cuales se extraerían las muestras. A tal fin, se depiló el cuello de los animales, dejando visibles los cursos cervicales de las dos venas yugulares. Se realizaron los lavados correspondientes con solución jabonosa de povidona iodada para desinfectar el área. Posteriormente se procedió a la colocación de los catéteres (16 G x 2") previamente heparinizados, se fijaron a la piel mediante 1 punto de sutura y se cerraron con los correspondientes mandriles obturadores.

Los catéteres se retiraron a las 24 horas de iniciar el ensayo.

Administración intravenosa en bovinos y bufalinos

Se administró una dosis única de 60 mg de sulfametazina por kilogramo de peso vivo en forma de bolus (<1 minuto), de una solución sulfametazina al 30% en la vena yugular contralateral a la utilizada para la colocación del catéter.

Las tomas de muestras se realizaron a través del catéter dispuesto a tal fin, mediante jeringas estériles previamente heparinizada, extrayéndose 4 ml de sangre en cada toma.

Las extracciones de sangre se realizaron antes de la administración del fármaco y a los 5, 10, 20, 30, 45, 60 minutos y 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36 y 48 horas después de la administración.

Registro de la toma de muestras

El registro de las tomas de muestras se llevó a cabo en planillas diseñadas a tal fin en las que constaban los datos de todos los animales (código de identificación, peso y edad del animal, señas particulares), la dosis y cantidad total de fármaco inyectado en cada caso, la vía de administración, los tiempos de extracción de las muestras y la fecha del ensayo.

III.2.4. ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Una vez extraídas las muestras con las jeringas, la sangre se colocaba en tubos de vidrio y se centrifugaban antes de transcurrida media hora de su extracción, a 3000 rpm durante 15 minutos. El plasma resultante se separaba mediante pipetas Pasteur y se dividía en dos alícuotas que se colocaban en sendos viales rotulados según los códigos asentados en la planilla de registro de toma de muestras. Posteriormente las muestras se refrigeraban y se almacenaban a -18 °C hasta su análisis.

III.2.5. METODOLOGÍA ANALÍTICA

Para realizar la separación de la droga del plasma fueron utilizados cartuchos de extracción líquido-sólido Carbono 18 (Sep-Pack Cartridges, Waters Inc.) siguiendo los sucesivos pasos:

- 1) Preparación de los cartuchos: Elución de 5 ml de metanol y luego 3 ml de Agua de pH 3.0 con ácido acético, a través de los mismos.
- 2) Elución de 0,9 ml de muestra plasmática.
- 3) Lavado: Elución de 5 ml de agua destilada.
- 4) Arrastre de la droga: con 3 ml de acetonitrilo. Se recogen sólo 2,5 ml del mismo.
- 5) Deseccación en atmósfera de Nitrógeno.
- 6) Reconstitución de 500 µl de Fase móvil.

Condiciones Analíticas Cromatográficas

Columna: RP C18 25 x 0,4 cm. SPHERISORB 5 µm.

Precolumna: RP C18.

Fase Móvil: acetonitrilo: solución de ácido acético pH 3,0 (8:92)

Flujo: 1,5 ml/min.

Detector: UV a 270 nm.

Temperatura: 35 °C.

Validación

Para la validación, las variables que se tuvieron en cuenta fueron: linealidad, recuperabilidad, reproducibilidad, límite de detección y límite de cuantificación.

Linealidad: el estudio se hizo en un rango de concentraciones de sulfametazina sódica que oscilan entre 1 y 100 µg/ml. Se realizaron soluciones en metanol de diferentes concentraciones, para lo cual se partió de una solución concentrada de sulfametazina sódica (solución madre), de acuerdo al siguiente esquema:

Solución madre (SM): 20 mg de SMZ + 10 ml metanol = 2.000 µg/ml

Dilución 1: 750 µl SM + 250 µl metanol = 1500 µl

Dilución 2: 400 µl SM + 600 µl metanol = 800 µl

Dilución 3: 100 µl SM + 900 µl metanol = 200 µl

Dilución 4: 500 µl SM + 500 µl metanol = 100 µl

Dilución 5: 100 µl SM + 900 µl metanol = 20 µl

Estas diluciones se utilizaron para obtener concentraciones conocidas de sulfametazina en el plasma bovino y bufalino, según el siguiente esquema:

1) 950 µl plasma + 50 µl Dilución 5 = 1 µg/ml

2) 950 µl plasma + 50 µl Dilución 4 = 5 µg/ml

3) 950 µl plasma + 50 µl Dilución 3 = 10 µg/ml

4) 950 µl plasma + 50 µl Dilución 2 = 40 µg/ml

5) 950 µl plasma + 50 µl Dilución 1 = 75 µg/ml.

6) 950 µl plasma + 50 µl SM = 100 µg/ml

Los datos de concentraciones y de ABC se ajustaron a una recta por regresión lineal, obteniéndose una recta (recta de calibrado) utilizada para la cuantificación de los resultados por interpolación.

Recuperabilidad: la recuperabilidad de la sulfametazina en plasma bovino y bufalino se calculó a partir de las diluciones en plasma frente a las diluciones en metanol, comparando sus valores de ABC, obteniendo su porcentaje de recuperación.

$$\text{Recuperabilidad (\%)} = \text{ABC plasma} / \text{ABC metanol} \times 100$$

Reproducibilidad del ABC Cromatográfica: Se estudió realizando 6 preparaciones de cada una de las concentraciones elegidas, una por la mañana y otra por la tarde, para poder evaluar las variaciones intradía, por el coeficiente de variación (CV) obtenido de las medias de las determinaciones de cada concentración. Lo mismo se realizó durante tres días diferentes, para poder evaluar las variaciones interdía.

Límite de Detección y Cuantificación: El límite de detección (LD) de la sulfametazina se obtuvo con un margen de confianza de 3 veces la desviación típica del ABC de plasma sin sulfametazina (solución patrón blanca), según la fórmula:

$$LC = K \times DT/m$$

Donde

K = margen de seguridad (3)

DT = desviación típica de la solución patrón blanca

M = pendiente de la recta de regresión.

El límite de cuantificación (LC) de la sulfametazina se obtuvo con un margen de confianza de 10 veces la desviación típica del ABC de plasma sin sulfametazina (solución patrón blanca), según la fórmula:

$$LC = K \times DT/m$$

Donde

K = margen de seguridad (10)

DT = desviación típica de la solución patrón blanca

M = pendiente de la recta de regresión

III.2.6. TRATAMIENTO FARMACOCINÉTICO

Los valores de la evolución de las concentraciones plasmáticas de sulfametazina en función del tiempo se ajustaron a modelos farmacocinéticos compartimentales y no compartimentales basados en la teoría de los momentos estadísticos mediante los programas de cálculo de parámetros farmacocinéticos PCnonlin V 4.0 y PKSolution.

Los criterios utilizados a la hora de elegir el modelo farmacocinético compartimental al que mejor se ajustaban los datos obtenidos experimentalmente fueron: el criterio de Akaike (AIC), el criterio de disminución del sumatorio de los residuales al cuadrado ($\sum \text{res}^2$) y la aleatoriedad en la distribución de residuales

Los valores de las concentraciones plasmáticas obtenidos de cada animal fueron procesados y ajustados de forma individual y posteriormente se procedió al cálculo de la media de los parámetros farmacocinéticos entre los (n) individuos que conformaban cada uno de los ensayos realizados.

III.2.7. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos se sometieron a un estudio descriptivo y se expresaron como media aritmética, corregida por una medida de dispersión (desviación estándar).

Se determinó el tipo de distribución de los valores de las variables mediante los tests de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk.

El estudio de la linealidad del método analítico y de la relación entre las distintas concentraciones de sulfametazina y el cociente entre área bajo la curva cromatográfica de sulfametazina y del patrón interno se basó en la estimación de la recta de regresión mediante mínimos cuadrados, comprobando la aleatoriedad, la linealidad y la homogeneidad de varianzas. La medida de asociación para la variable cuantitativa se valoró mediante el coeficiente de correlación lineal (r^2). La bondad del ajuste se evaluó en función a la proximidad de este coeficiente a la unidad.

Para comparar los resultados obtenidos en las diferentes pruebas se aplicó el test paramétrico de Análisis de Varianza y los siguientes tests no paramétricos:

Test de Wilcoxon, para dos muestras relacionadas (edad y estado sanitario).

Test de Friedman, para más de dos muestras relacionadas (edad).

Test de U de Mann-Whitney, para dos muestras independientes (especie).

El nivel de significación fue de $p < 0,05$.

El estudio estadístico se llevó a cabo con el programa informático SPSS 10.0

IV. RESULTADOS

IV.1. MÉTODO ANALÍTICO

Con el método cromatográfico utilizado, tanto para la cuantificación de sulfametazina sódica en plasma bovino como en el bubalino, el fármaco eluyó a un tiempo de retención de $5,00 \pm 0,47$ minutos, sin interferir con los picos correspondientes al frente de solvente u otros correspondientes a componentes del plasma (Figuras 6 y 7).

Los ensayos de recuperabilidad en plasma arrojaron un valor promedio de $97,6 \pm 0,7\%$ y $98,8 \pm 0,2 \%$ en bovinos y búfalos, respectivamente.

En ambos grupos comparados, bovinos y bubalinos, el fármaco demostró comportamiento lineal cuando se inyectaron concentraciones estándar entre 1 y 100 $\mu\text{g/ml}$. Con los valores resultantes (Tablas 9 y 10) se realizó un ajuste mediante regresión lineal por mínimos cuadrados, obteniéndose las siguientes ecuaciones:

$$\text{Bovinos: } ABC = 31571 \cdot CC + 7369$$

$$\text{Coeficiente de ajuste } r^2 = 0.997$$

Donde: ABC: área bajo la curva del pico cromatográfico

CC: concentración del analito

$$\text{Búfalos: } ABC = 10979 \cdot CC - 4689.9$$

$$\text{Coeficiente de ajuste } r^2 = 0.9945$$

Donde: ABC: área bajo la curva del pico cromatográfico

CC: concentración del analito

La representación gráfica de los resultados de la regresión lineal se muestra en los Gráficos 1 y 2.

Se calcularon los coeficientes de variación intradía e interdía de los valores medios para cada concentración utilizada para la recta de regresión lineal.

Para bovinos:

$$V_{\text{intra.}} = 7.24 \%$$

$$V_{\text{inter.}} = 8.31 \%$$

Para búfalos:

$$V_{\text{intra.}} = 6.33 \%$$

$$V_{\text{inter.}} = 9.11 \%$$

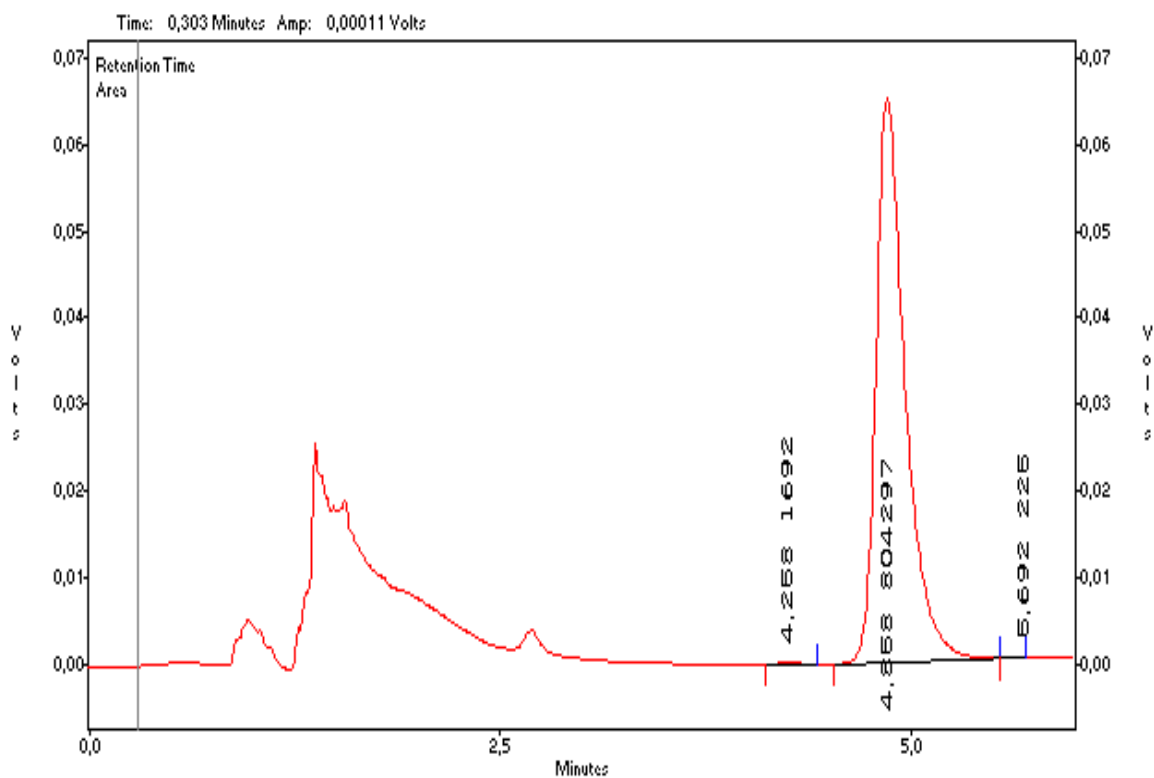


FIGURA 6: Cromatograma de una solución de 20 µg/ml de sulfametazina sódica en metanol.

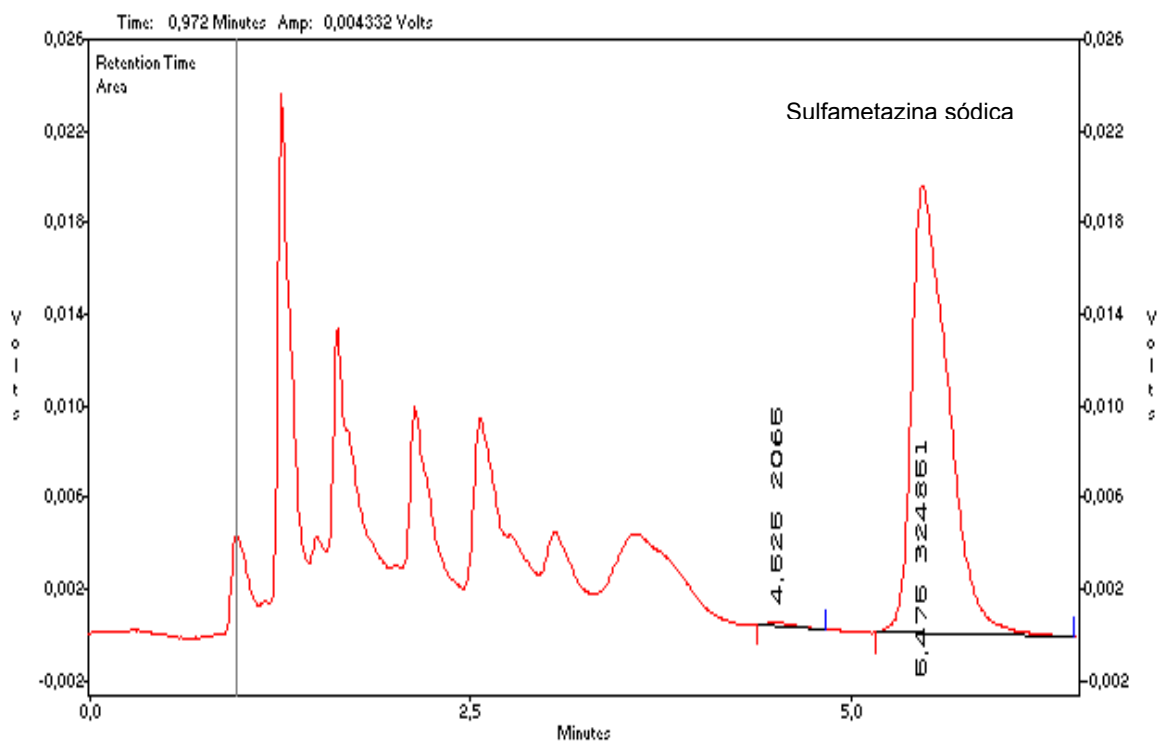


FIGURA 7: Cromatograma de una muestra de plasmática con sulfametazina sódica. (4,1 $\mu\text{g/ml}$).

TABLA 9: Datos de áreas bajo la curva correspondientes a la recta de calibrado para sulfametazina sódica en plasma de bovino. Los valores individuales corresponden al promedio de dos inyecciones.

Sulfametazina sódica ($\mu\text{g/ml}$)	AREA BAJO LA CURVA (ABC)					
	Día 1 (mañana)	Día 1 (tarde)	Día 2 (mañana)	Día 2 (tarde)	MEDIA ARITM.	D.E.
1	38680	41609	31799	38930	37754	4186
5	179909	156884	130544	153986	155330	20188
10	320234	355696	295332	314117	321344	25233
40	1460973	1473878	1206096	1298518	1359866	129910
75	2214021	2219850	220658	2211340	2212952	5529
100	3066721	2995219	3620090	3333871	3253975	284278

D.E.: Desvío estándar

TABLA 10: Datos de áreas bajo la curva correspondientes a la recta de calibrado para sulfametazina sódica en plasma bupalino. Los valores individuales corresponden al promedio de dos inyecciones.

Sulfametazina sódica ($\mu\text{g/ml}$)	AREA BAJO LA CURVA (ABC)					
	Día 1 (mañana)	Día 1 (tarde)	Día 2 (mañana)	Día 2 (tarde)	MEDIA ARITM.	D.E.
1	16328	15260	17263	15246	16254	1426
5	50488	48085	73547	75592	61928	1446
10	100725	104389	115671	117647	109608	1397
40	369861	380833	366047	383372	375028	12251
75	844628	877621	862774	857401	861124	23330
100	1138764	1156416	1012230	1028725	1084033	11664

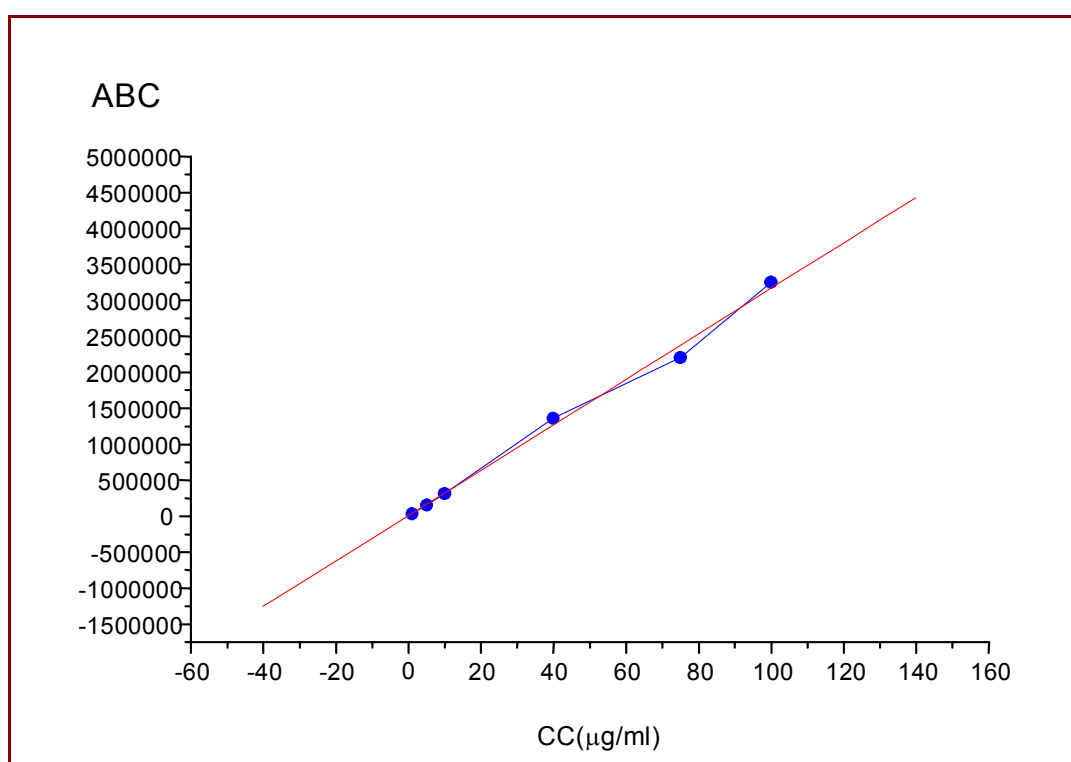


GRÁFICO 1: Representación de la recta de regresión lineal de sulfametazina sódica en plasma bovino.

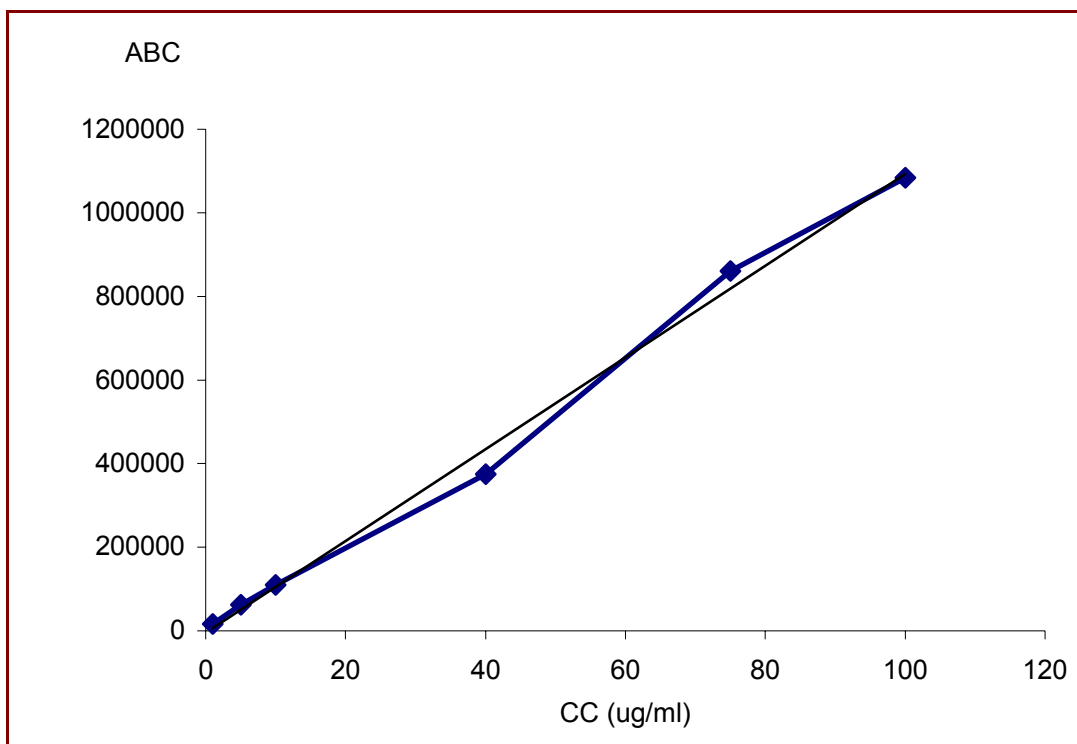


GRÁFICO 2: Representación de la recta de regresión lineal de sulfametazina sódica en plasma de búfalo.

El límite de detección, calculado con un coeficiente de seguridad de tres veces la desviación estándar del blanco, fue de 0,10 µg/ml y 0,15 µg/ml para plasma de bovino y búfalo, respectivamente.

El límite de cuantificación, calculado con un coeficiente de seguridad de diez veces la desviación estándar del blanco, fue de 0,36 µg/ml y 0,5 µg/ml para plasma de bovino y búfalo, respectivamente.

IV.2. FARMACOCINÉTICA EN TERNEROS DE DIFERENTES EDADES

Las Tablas 11 a 14 inclusive, muestran los valores de las concentraciones plasmáticas de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en dosis de 60 mg/kg a seis terneros a los 7, 21, 50 y 105 días de vida. Se incluyen los datos individuales de cada animal y las medias aritméticas \pm desvío estándar para cada tiempo de extracción de muestras. Los Gráficos 3, 4, 5, 6 y 7 representan la curva de concentración plasmática media \pm desvío estándar vs. tiempo para los mismos datos.

Los valores de los principales parámetros farmacocinéticos obtenidos para cada bovino se detallan en las Tablas 15 a 18 inclusive. Se muestran también los valores promedio y desvío estándar de cada parámetro.

El ajuste de las curvas de concentración plasmática frente al tiempo se efectuó en todos los animales a ecuaciones biexponenciales y el modelo que describió mejor el comportamiento cinético del fármaco es el bicompartimental.

Durante el ensayo realizado con los animales neonatos (7 días de vida) se tuvo que descartar el ternero número 5 debido a que presentó un ligero cuadro diarreico a las 3 horas de la inyección del producto, el que posteriormente desapareció, no teniendo relación con la administración del fármaco. Sin embargo, dicho animal fue considerado luego para continuar con el estudio.

En el mismo grupo, la concentración plasmática máxima ($C_{p(0)}$) fue de $242,4 \pm 47,6$ $\mu\text{g/ml}$, dicha concentración disminuyó rápidamente (fase distributiva), aproximadamente hasta la hora de administrado el fármaco, para luego eliminarse en forma lenta ($t_{1/2\beta}$ $9,46 \pm 0,9$ h).

Se mantuvieron concentraciones plasmáticas terapéuticas (> 50 $\mu\text{g/ml}$) hasta las 16 horas pos-administración.

El grupo de 21 días de vida presentó una concentración plasmática máxima ($C_{p(0)}$) de $222,4 \pm 21,8$ $\mu\text{g/ml}$. La fase distributiva, según surge de la inspección de las curvas de disposición plasmática, tuvo un patrón similar al grupo de 7 días, mientras que la eliminación fue un proceso levemente más lento.

En el ensayo sobre animales de 50 días de vida se alcanzó una $C_{p(0)}$ algo inferior a los grupos anteriores ($185,2 \pm 23,2 \mu\text{g/ml}$). La fase distributiva se caracterizó por una rápida caída de las concentraciones plasmáticas hasta la hora posterior a la administración, apareciendo luego un nuevo pico plasmático en la muestra tomada a las dos horas post-administración. A pesar de ello, la fase de eliminación se caracterizó por una semivida más corta ($t_{1/2\beta} 8,32 \pm 0,96$) que la hallada en las edades anteriores.

En los bovinos de 105 días de edad, el proceso distributivo se prolongó hasta los 45 minutos post-administración, ocurriendo, similarmente al grupo anterior, un pico plasmático secundario entre la toma de 1 hora y la de 4 horas post-administración.

La semivida de eliminación fue más corta que para todos los otros grupos ($t_{1/2\beta} 7,45 \pm 1,04 \text{ h}$), manteniéndose concentraciones terapéuticas solo hasta las 12 horas post-administración.

Se han determinado diferencias estadísticas entre las diferentes edades en algunos parámetros farmacocinéticos. En la Tabla 19 se detallan los grupos que presentaron diferencias en la Prueba de Friedman.

TABLA 11: Concentraciones plasmáticas de sulfametazina sódica en terneros de 7 días de vida. NC: muestra no cuantificada

Tiempo (hs.)	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 6	MEDIA	DESV EST.
0,083	279,56	420,13	396,21	436,87	401,27	386,8	62,1
0,16	343,56	414,37	378,45	395,45	376,45	381,7	26,2
0,33	318,57	390,61	316,54	NC	NC	341,9	42,2
0,5	275,12	290,13	266,32	301,45	NC	283,3	15,6
0,75	201,35	295,36	221,78	273,89	243,45	247,2	38,1
1	186,75	271,21	198,26	226,19	169,12	210,3	39,9
2	161,45	261,26	175,23	186,95	136,09	184,2	47,1
4	143,31	210,32	155,41	165,45	117,94	158,5	34,0
6	96,85	172,61	121,32	131,45	86,49	121,7	33,7
8	116,42	128,54	98,74	87,52	81,43	102,5	19,7
12	84,15	111,84	73,21	221,6	64,19	111,0	64,4
16	48,32	79,15	56,25	64,2	42,78	58,1	14,3
24	27,95	31,25	41,54	24,83	NC	31,4	7,3
36	13,08	19,17	27,14	NC	23,47	20,7	6,0
48	6,21	11,54	12,43	8,42	9,73	9,7	2,5

TABLA 12: Concentraciones plasmáticas de sulfametazina sódica en terneros de 21 días de vida. NC: muestra no cuantificada

Tiempo (hs.)	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESV. EST.
0,083	391,19	416,51	NC	375,19	NC	401,58	396,12	17,4
0,16	364,85	385,27	365,71	361,09	323,14	343,15	357,20	21,4
0,33	291,08	364,09	322,1	321,12	271,18	254,19	303,96	39,9
0,5	NC	296,19	263,1	216,47	213,08	201,57	238,08	40,1
0,75	264,41	237,71	209,57	214,41	183,19	231,98	223,55	27,7
1	217,45	198,19	174,2	185,42	148,87	191,77	185,98	23,2
2	132,56	176,49	136,13	175,31	NC	163,42	156,78	21,1
4	NC	143,27	NC	163,52	136,02	136,28	144,77	12,9
6	101,45	116,19	91,84	120,54	117,45	120,46	111,32	11,9
8	98,24	78,97	64,23	NC	89,15	101,19	86,36	15,1
12	79,23	61,19	46,23	105,42	65,49	83,41	73,50	20,5
16	64,19	43,45	37,08	98,34	48,26	64,15	59,25	22,1
24	38,7	29,11	21,44	45,63	33,18	NC	33,61	9,2
36	19,57	17,08	11,51	28,27	19,44	21,08	19,49	5,5
48	12,54	7,34	4,81	15,45	11,32	9,15	10,10	3,8

TABLA 13: Concentraciones plasmáticas de sulfametazina sódica en terneros de 50 días de vida. NC: muestra no cuantificada

Tiempo (hs.)	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESV EST.
0,083	291,52	321,54	322,1	305,44	299,57	341,77	313,60	22,7
0,16	260,72	295,15	289,55	270,24	246,75	301,42	278,72	23,7
0,33	216,23	271,65	223,08	231,77	191,02	278,56	236,11	37,6
0,5	191,45	216,32	176,32	180,65	132,97	216,27	186,67	34,5
0,75	133,2	185,23	141,8	148,63	98,84	171,77	146,17	33,9
1	101,98	128,25	122,56	135,22	175,29	126,68	130,95	26,9
2	126,37	216,94	176,15	124,48	121,05	199,21	168,53	38,4
4	176,19	125,23	131,32	101,55	89,24	136,08	126,60	30,3
6	103,21	77,16	98,54	86,24	68,85	104,91	89,82	14,8
8	88,85	64,26	78,56	71,42	53,12	83,01	73,20	13,1
12	51,19	67,32	54,35	NC	67,2	61,09	60,23	7,3
16	29,45	35,85	NC	39,1	27,16	42,83	34,88	6,5
24	12,57	14,11	21,89	21,55	13,85	24,7	18,11	5,2
36	5,62	8,31	11,65	11,66	8,45	13,53	9,87	2,9
48	2,73	3,22	5,27	7,24	3,57	3,82	4,31	1,7

TABLA 14: Concentraciones plasmáticas de sulfametazina sódica en terneros de 105 días de vida. NC: muestra no cuantificada. MLC: Menor al límite de cuantificación.

Tiempo (hs.)	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESV EST.
0,083	317,41	101,75	291,56	361,32	316,25	215,02	267,22	94,3
0,16	301,25	298,8	315,85	307,41	307,23	296	304,42	7,2
0,33	298,89	226,52	231,84	291,52	281,61	216,41	257,80	36,8
0,5	216,25	161,54	173,51	274,31	246,29	196,32	211,37	43,2
0,75	32,98	116,07	162,85	211,16	194,37	131,21	141,44	64,2
1	175,54	232,15	125,6	184,26	123,82	98,32	156,62	49,5
2	129,65	171,43	213,47	224,85	103,65	176,46	169,92	46,8
4	265,32	123,9	164,25	176,55	198,24	94,53	170,47	59,6
6	193,73	91,41	103,51	98,71	116,73	73,51	112,93	42,1
8	118,85	53,62	86,32	71,21	94,5	51,85	79,39	25,8
12	89,06	31,24	54,23	59,16	73,08	41,94	58,12	20,9
16	48,59	22,69	NC	31,26	45,83	27,1	35,09	11,5
24	21,09	9,17	16,07	17,26	23,19	17,35	17,36	4,8
36	NC	3,21	9,82	9,06	16,42	6,61	9,02	4,9
48	3,64	MLC	4,16	2,19	5,91	1,53	3,49	1,7

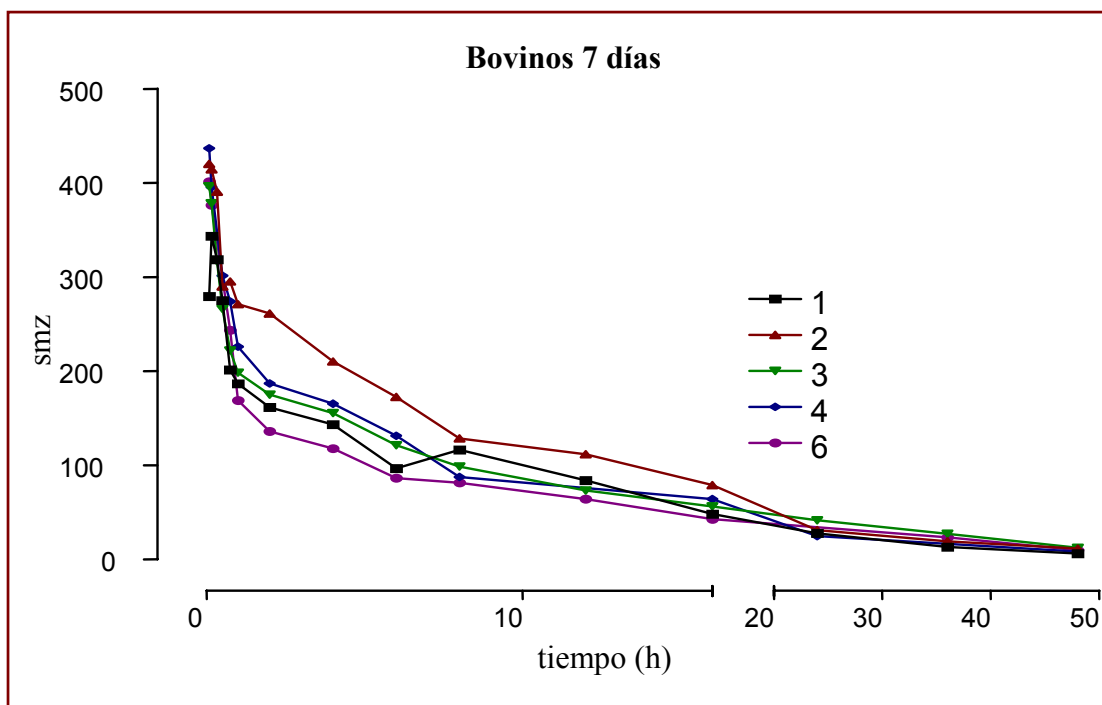


GRÁFICO 3: Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en bovinos de 7 días de edad.

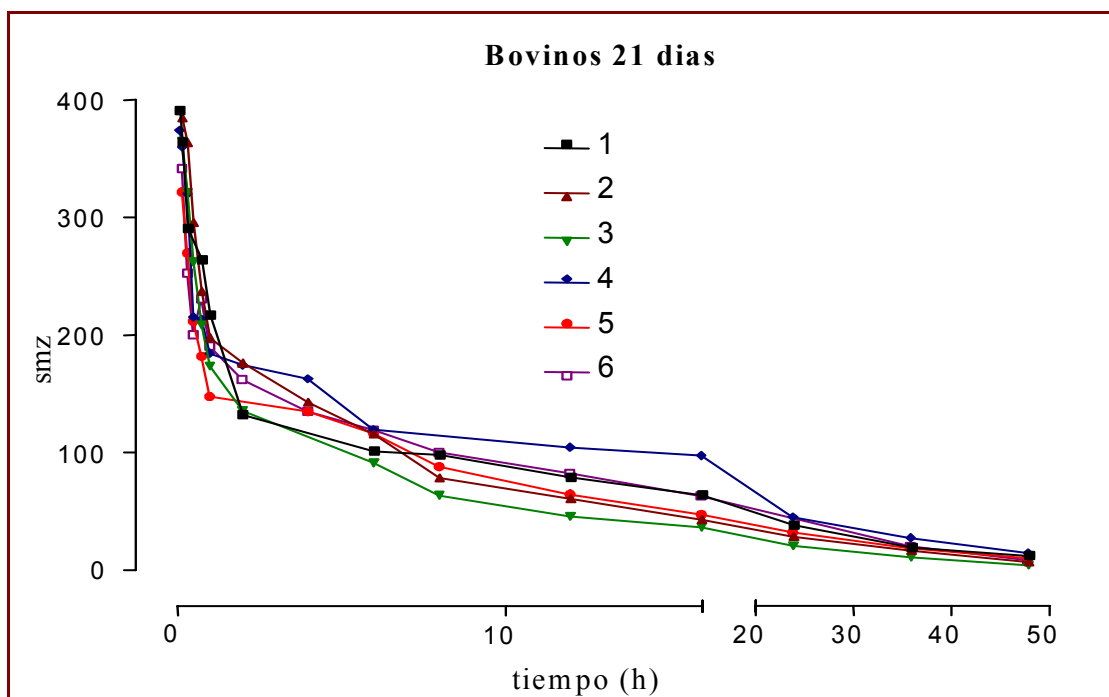


GRÁFICO 4: Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en bovinos de 21 días de vida.

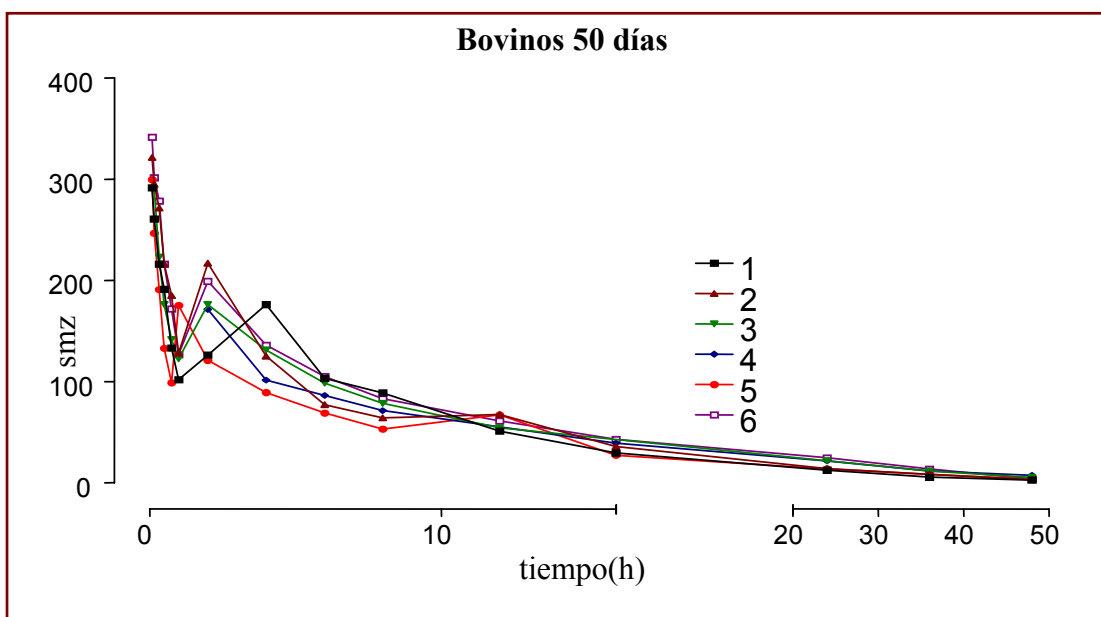


GRÁFICO 5: Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en bovinos de 50 días de vida.

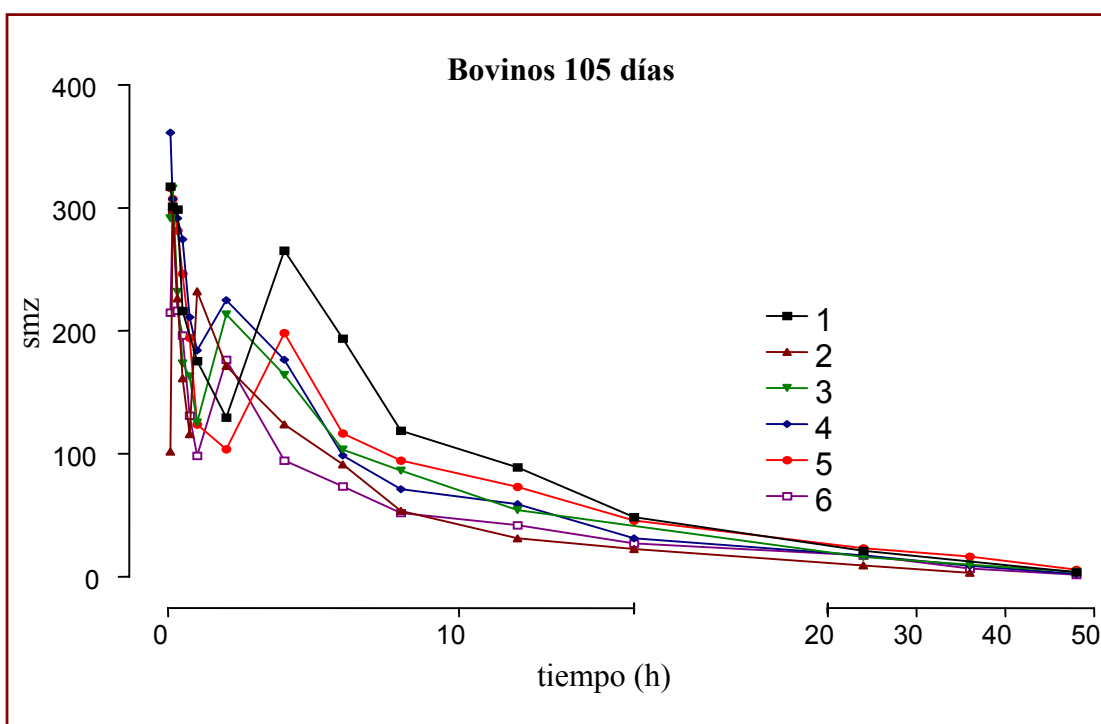


GRÁFICO 6: Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en bovinos de 105 días de vida.

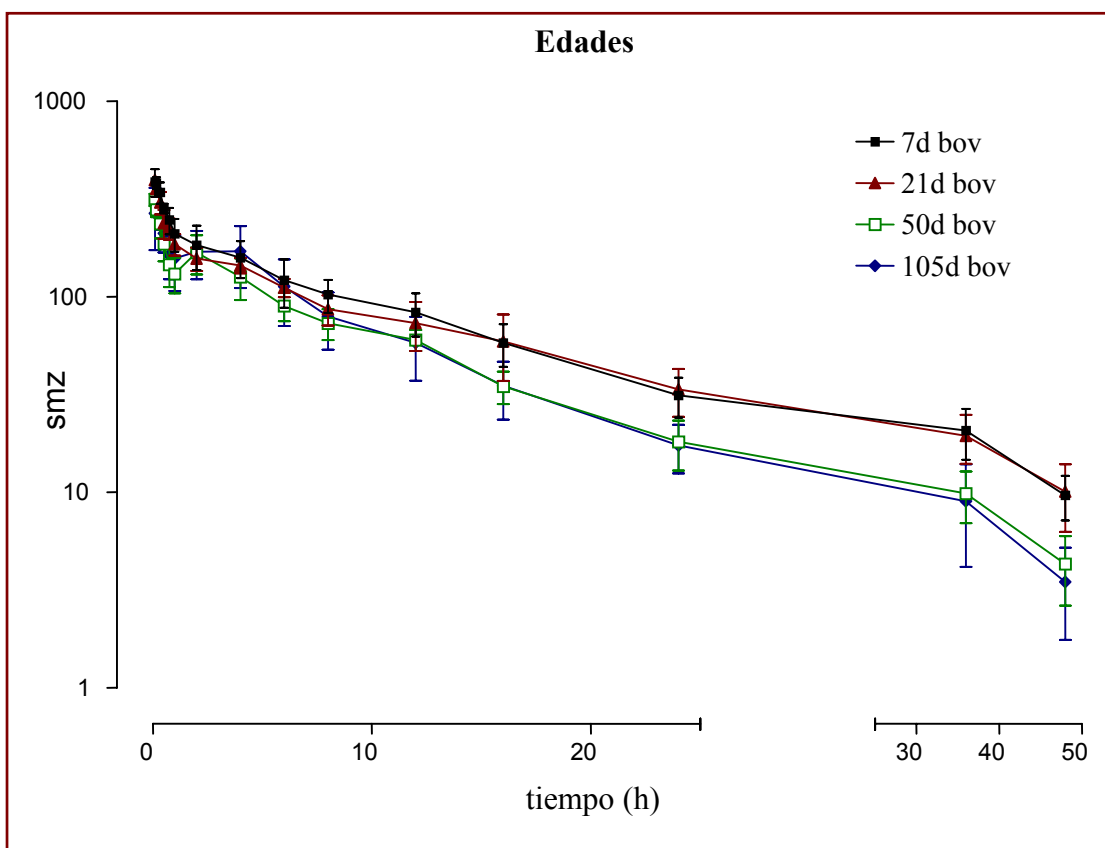


GRÁFICO 7: Representación semilogarítmica de la disposición plasmática de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en bovinos de diferentes edades.

TABLA 15: Valores de parámetros farmacocinéticos de sulfametazina sódica en bovinos de 7 días de vida.

PARÁMETRO	An. # 1	An. # 2	An. # 3	An. # 4	An. # 6	Media	D.E.
$C_{p(0)}$ ($\mu\text{g/ml}$)	229,9	308,8	235,6	242,6	195,4	242,42	47,68
AUC ($\mu\text{g-h/ml}$)	2525,3	3545,7	2935,8	2750,0	2435,0	2838,36	441,11
$V_{D(\text{area})}$ (L/kg)	0,286	0,212	0,290	0,264	0,351	0,281	0,05
β (1/h)	0,080	0,076	0,066	0,080	0,066	0,074	0,007
$t_{1/2}(\beta)$ (h)	8,62	9,06	10,47	8,71	10,48	9,46	0,93
CL_B (ml/h/kg)	23,05	16,23	19,21	21,64	23,23	20,67	2,96
MRT	12,8	13,3	16,6	12,6	16,1	14,28	1,91

TABLA 16: Valores de parámetros farmacocinéticos de sulfametazina sódica en bovinos de 21 días de vida.

PARÁMETRO	An. # 1	An. # 2	An. # 3	An. # 4	An. # 5	An. # 6	Media	D.E.
$C_{p(0)}$ ($\mu\text{g/ml}$)	231,2	241,8	200,6	243,0	190,7	227,4	222,4	21,8
AUC ($\mu\text{g-h/ml}$)	2725,9	2464,5	1945,0	3431,8	2474,1	2905,1	2657,7	498,8
$V_{D(\text{area})}$ (L/kg)	0,303	0,290	0,350	0,270	0,350	0,280	0,307	0,035
β (1/h)	0,068	0,080	0,084	0,061	0,065	0,069	0,071	0,009
$t_{1/2}(\beta)$ (h)	10,21	8,70	8,22	11,42	10,66	10,01	9,87	1,20
CL_B (ml/h/kg)	20,61	23,47	29,96	16,27	22,65	19,750	22,11	4,59
MRT	16,5	13,4	12,4	17,6	16,5	14,8	15,2	2,0

TABLA 17: Valores de parámetros farmacocinéticos de sulfametazina sódica en bovinos de 50 días de vida.

PARÁMETRO	An. # 1	An. # 2	An. # 3	An. # 4	An. # 5	An. # 6	Media	D.E.
$C_{p(0)}$ ($\mu\text{g/ml}$)	184,2	203,0	175,6	152,3	210,8	186,4	185,2	23,2
AUC ($\mu\text{g-h/ml}$)	1843,3	1956,2	2077,3	1497,4	2251,7	1988,0	1935,6	254,4
$V_{D(\text{area})}$ (L/kg)	0,330	0,320	0,360	0,460	0,310	0,408	0,365	0,059
β (1/h)	0,095	0,093	0,077	0,086	0,085	0,070	0,084	0,010
$t_{1/2}(\beta)$ (h)	7,26	7,46	9,01	8,19	8,19	9,83	8,324	0,965
CL_B (ml/h/kg)	32,05	33,13	27,96	38,97	26,12	28,73	31,16	4,631
MRT	9,9	10,5	12,6	11,8	12,1	14,2	11,85	1,53

TABLA 18: Valores de parámetros farmacocinéticos de sulfametazina sódica en bovinos de 105 días de vida.

PARÁMETRO	An. # 1	An. # 2	An. # 3	An. # 4	An. # 5	An. # 6	Media	D.E.
$C_{p(0)}$ ($\mu\text{g/ml}$)	174,9	179,5	202,6	203,8	208,3	168,4	192,5	17,5
AUC ($\mu\text{g-h/ml}$)	2404,0	1519,7	2150,0	2002,2	2398,1	1581,7	2009,3	381,1
$V_{D(\text{area})}$ (L/kg)	0,271	0,320	0,310	0,310	0,310	0,380	0,317	0,035
β (1/h)	0,091	0,110	0,087	0,085	0,070	0,098	0,090	0,013
$t_{1/2}(\beta)$ (h)	7,65	5,80	8,01	7,30	8,95	7,08	7,45	1,04
CL_B (ml/h/kg)	24,55	38,79	27,29	29,62	24,24	37,56	30,34	6,38
MRT	11,0	7,7	10,7	10,0	13,2	10,3	10,48	1,77

TABLA 19: Comparación estadística entre las medias aritméticas de los cuatro grupos testados. Diferentes subíndices indican diferencias significativas.

PARÁMETRO	7 días	21 días	50 días	105 días
AUC ($\mu\text{g-h/ml}$)	2838,3 _a	2657,7 _{a,b}	1935,6 _c	2009,3 _{b,c}
$V_{D(\text{area})}$ (L/kg)	0,281	0,307	0,365	0,317
β (1/h)	0,074 _a	0,071 _{a,b}	0,084 _{b,c}	0,090 _c
$t_{1/2}(\beta)$ (h)	9,46 _a	9,87 _{a,b}	8,32 _{b,c}	7,45 _c
CL_B (ml/h/kg)	20,67 _a	22,11 _{a,b}	31,16 _c	30,34 _{b,c}
MRT	14,3 _a	15,2 _a	11,8 _b	10,5 _b

a-b-c: diferentes subíndices indican diferencias significativas.

IV.3. FARMACOCINÉTICA EN ANIMALES CON CUADRO FEBRIL

Las Tabla 20 muestra los valores de las concentraciones plasmáticas de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en dosis de 60 mg/kg a cinco bovinos rumiantes con cuadro febril inducido por la inyección de lipopolisacárido de *Escherichia coli* serotipo 055:B5 a una concentración de 1 µg/ml en solución salina isotónica por vía endovenosa a la dosis de 0.1 µg/kg más una segunda inoculación de 0.05 µg/kg a las ocho horas de la primera. Se excluyó el animal 6 debido a inconvenientes en la toma y conservación de la muestra. Se incluyen los datos individuales de cada animal y las medias aritméticas \pm desvío estándar para cada tiempo de extracción de muestras. El Gráfico 8 representa la curva de concentración plasmática media \pm desvío estándar vs. tiempo para los mismos datos, y el Grafico 9 compara con las concentraciones plasmáticas de los bovinos de 105 días.

La inducción del cuadro febril se verificó mediante control de las frecuencias cardíaca, respiratoria y temperatura rectal a lo largo de todo el muestreo de sangre. Los Gráficos 10, 11 y 12 muestran la evolución de frecuencia cardíaca, respiratoria y temperatura rectal promedio.

El ajuste de las curvas de concentración plasmática frente al tiempo se efectuó en todos los animales a ecuaciones biexponenciales y el modelo que describió mejor el comportamiento cinético del fármaco es el bicompartimental.

La concentración plasmática al tiempo cero ($C_p(0)$) fue de $123,9 \pm 36,8$ µg/ml, dicha concentración disminuyó rápidamente (fase distributiva), aproximadamente hasta la hora de administrado el fármaco, para luego eliminarse con una semivida ($t_{1/2\beta}$) $5,56 \pm 0,81$ h).

Se mantuvieron concentraciones plasmáticas terapéuticas (> 50 µg/ml) hasta las 12 horas post-administración.

Los valores de los principales parámetros farmacocinéticos obtenidos, sus promedios y desvío estándar para cada bovino sano se detallaron en las Tablas 15 a 18 y los correspondientes a los bovinos con cuadro febril en la Tabla 21.

En la Tabla 22, se muestran los resultados de la comparación estadística (Test de Mann-Whitney) entre los animales sanos (grupo de 105 días de vida) y los febriles para los principales parámetros farmacocinéticos.

TABLA 20: Concentraciones plasmáticas de sulfametazina sódica en bovinos de 135 días de vida con cuadro de hipertermia inducida por endotoxina. NC: muestra no cuantificada. MLC: Menor al límite de cuantificación.

Tiempo (hs.)	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	MEDIA	DESV EST.
0,083	292,45	276,48	215,15	301,24	245,19	266,94	31,9
0,16	232,74	221,41	181,47	227,41	231,84	218,55	19,2
0,33	191,18	146,07	132,1	196,54	175,25	165,44	26,1
0,5	116,74	167,83	85,41	132,02	123,32	121,09	28,3
0,75	98,45	121,47	61,47	85,08	146,17	98,08	31,2
1	86,18	83,45	116,2	61,1	116,35	87,39	24,8
2	124,08	61,47	73,08	116,21	98,16	87,91	29,2
4	76,29	47,1	58,09	81,07	76,75	72,95	18,1
6	48,84	19,4	43,54	62,37	58,39	50,68	18,2
8	31,89	11,27	27,19	34,41	32,15	31,73	13,5
12	23,47	11,88	13,5	41,09	28,19	24,60	10,9
16	16,85	4,31	NC	22,81	19,85	15,21	7,2
24	7,2	4,72	3,21	NC	8,76	5,97	2,5
36	2,81	1,59	1,41	MLC	3,77	2,40	1,1
48	MLC	MLC	MLC	MLC	1,71	1,71	0,0

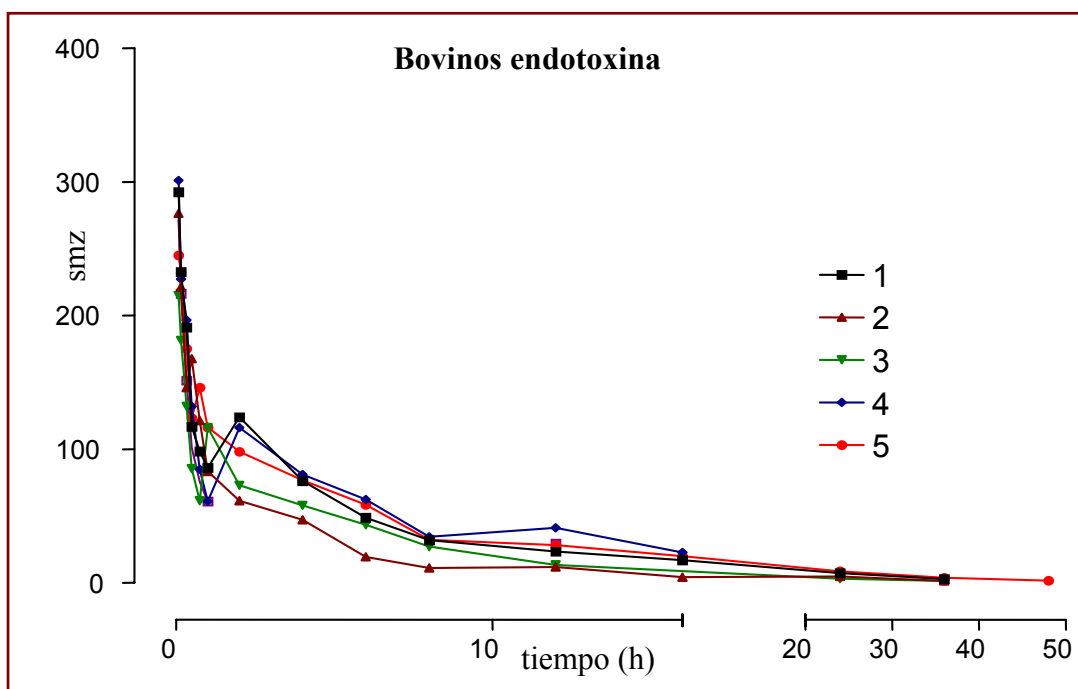


GRÁFICO 8: Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en bovinos de 135 días con hipertermia inducida por endotoxina de *E. coli*.

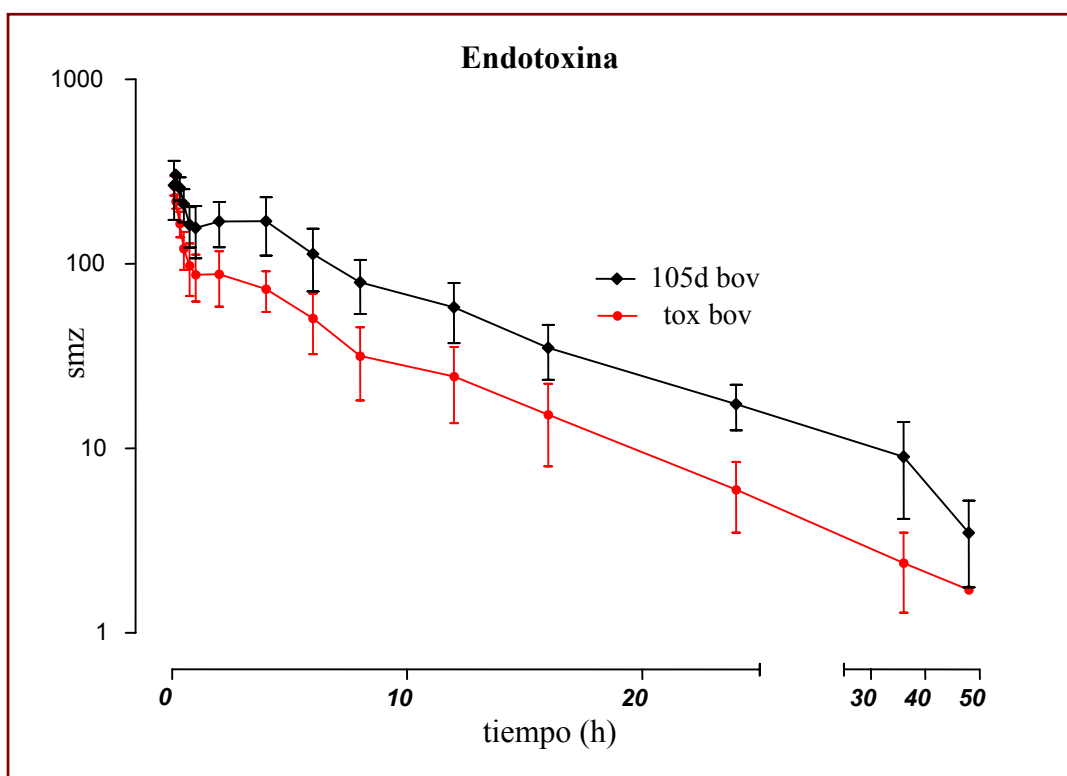


GRÁFICO 9: Representación semilogarítmica de la disposición plasmática de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en bovinos de 105 días vs bovinos de 135 días con hipertermia inducida por endotoxina de *E. coli*

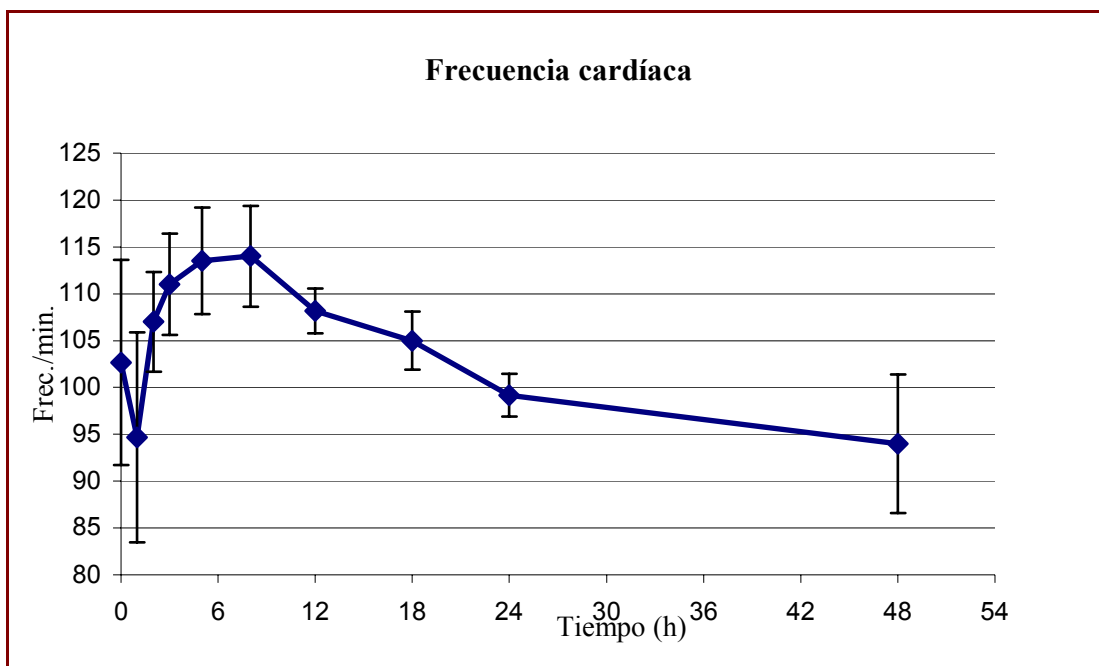


GRÁFICO 10: Frecuencia cardíaca promedio en bovinos de 135 días tratados con endotoxina de *E. coli*.

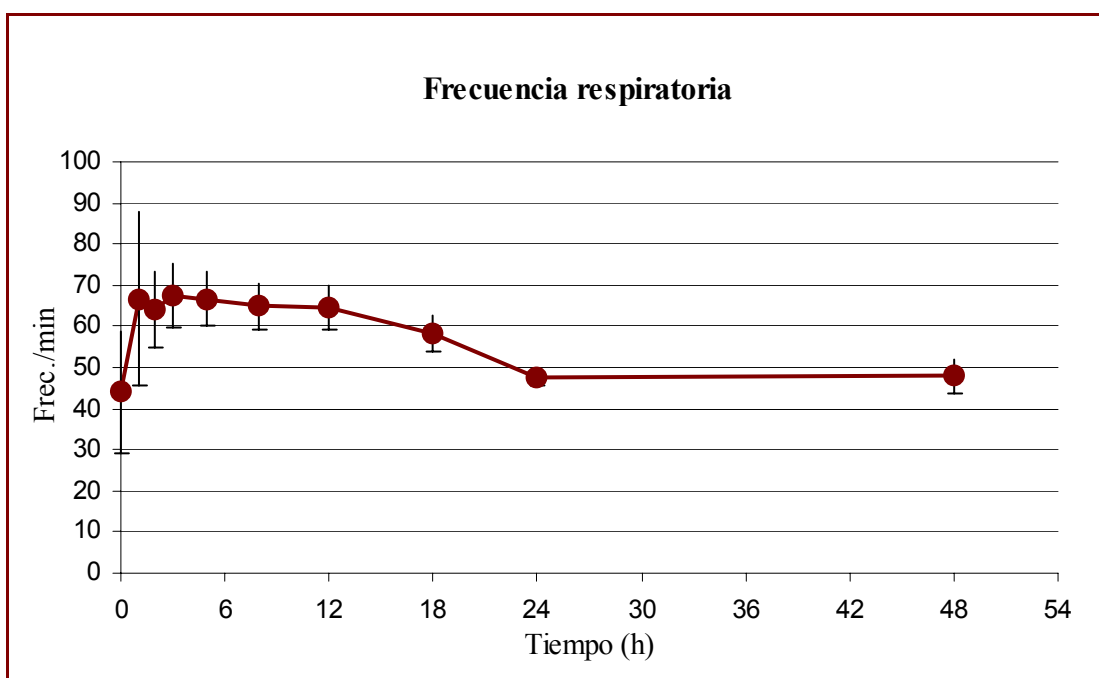


GRÁFICO 11: Frecuencia respiratoria promedio en bovinos de 135 días tratados con endotoxina de *E. coli*.

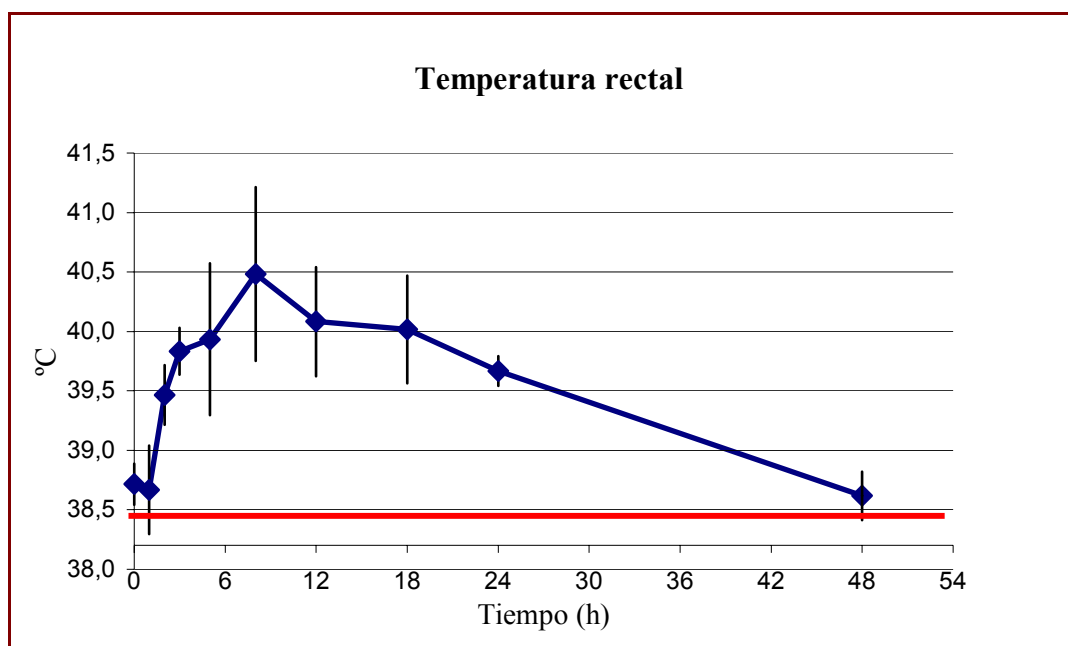


GRÁFICO 12: Temperatura rectal promedio en bovinos de 135 días tratados con endotoxina de *E. coli*.

TABLA 21: Valores de parámetros farmacocinéticos de sulfametazina sódica en bovinos con hipertermia inducida por endotoxina de *Escherichia coli*.

PARÁMETRO	An. # 1	An. # 2	An. # 3	An. # 4	An. # 5	Media	D.E.
$C_{p(0)}$ (ug/ml)	137,8	104,8	109,4	133,7	134,0	123,94	15,54
AUC (ug-h/ml)	1009,2	585,5	722,0	1107,70	882,3	861,34	211,24
V_D (area) (L/kg)	0,500	0,720	0,610	0,531	0,449	0,559	0,108
β (1/h)	0,120	0,140	0,134	0,100	0,138	0,126	0,017
$t_{1/2}$ (β) (h)	5,78	4,96	5,16	6,90	5,03	5,56	0,81
CL_B (ml/h/kg)	58,10	100,51	91,91	53,34	61,78	73,128	21,49
MRT	8,3	6,9	6,8	9,8	7,3	7,820	1,256

TABLA 22: Parámetros farmacocinéticos de sulfametazina sódica administrada por vía intravenosa, determinados en bovinos rumiantes sanos y con hipertermia inducida por endotoxina de *E. Coli*. Se indican las diferencias significativas en la estadística del Test de Mann-Whitney ($P < 0,05$).

PARÁMETRO	Sanos	Febriles
$C_{p(0)}$ ($\mu\text{g/ml}$)	192,5	$123,94 \pm 15,54$
AUC ($\mu\text{g-h/ml}$)	2009,3 _a	$861,34 \pm 211,24$ _b
V_D (area) (L/kg)	0,317 _a	$0,559 \pm 0,108$ _b
β (1/h)	0,090 _a	$0,126 \pm 0,017$ _b
$t_{1/2}(\beta)$ (h)	7,45 _a	$5,56 \pm 0,81$ _b
CL_B (ml/h/kg)	30,34 _a	$73,128 \pm 21,49$ _b
MRT	10,5 _a	$7,82 \pm 1,25$ _b

a-b: Diferentes subíndices indican significación estadística

IV.4. FARMACOCINÉTICA EN BUFALOS DE AGUA

La Tabla 23 muestra los valores de las concentraciones plasmáticas de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en dosis de 60 mg/kg a seis búfalos rumiantes. Se incluyen los datos individuales de cada animal y las medias aritméticas \pm desvío estándar para cada tiempo de extracción de muestras. El Gráfico 13 representa la curva de concentración plasmática media \pm desvío standard vs. tiempo para los mismos datos comparativamente con la curva de disposición plasmática de sulfametazina en bovinos adultos.

Los valores de los principales parámetros farmacocinéticos obtenidos para cada animal se detallan en la Tabla 24. Se muestran los valores promedio y desvío estándar de cada parámetro. Se excluyó el animal n° 2 debido a que se produjeron extravasaciones durante la administración.

El ajuste de las curvas de concentración plasmática frente al tiempo se efectuó en todos los animales a ecuaciones biexponenciales, y el modelo que describió mejor el comportamiento cinético del fármaco es el bicompartimental.

Los resultados de las comparaciones estadísticas para los principales parámetros farmacocinéticos se detallan en la Tabla 25.

TABLA 23: Concentraciones plasmáticas de sulfametazina sódica en búfalos adultos. NC: muestra no cuantificada.

Tiempo (min.)	BÚFALO 1	BÚFALO 3	BÚFALO 4	BÚFALO 5	BÚFALO 6	MEDIA	DESV EST.
0,083	261,53	242,06	NC	68,88	304,43	219,23	103,56
0,16	177,52	291,17	177,52	152,16	255,48	210,77	59,39
0,33	260,65	241,44	NC	217,17	222,58	235,46	19,75
0,5	158,55	144,18	121,30	152,68	214,64	158,27	34,55
0,75	72,58	62,19	132,73	216,85	171,45	131,16	65,49
1	117,76	105,54	111,51	178,18	163,39	135,28	33,12
2	181,20	160,17	50,43	118,41	196,93	141,43	58,79
4	100,20	88,81	61,80	113,76	115,98	96,11	22,10
6	71,00	62,79	NC	75,63	62,07	67,87	6,57
8	43,65	38,55	27,74	34,98	70,42	43,07	16,35
12	47,82	42,58	33,04	21,97	52,72	39,63	12,27
24	8,61	6,83	9,52	NC	19,45	11,10	5,68
36	2,58	1,71	3,07	4,78	6,72	3,77	1,99
48	NC	0,58	0,94	5,51	NC	2,34	2,75

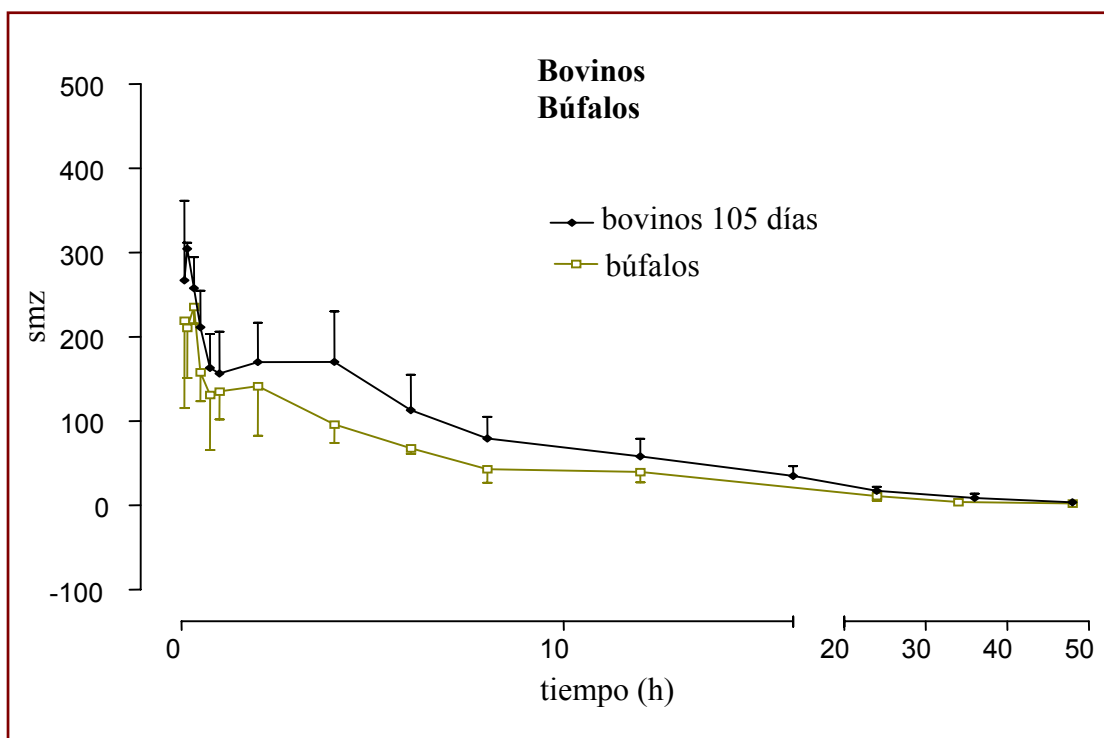


GRÁFICO 13: Representación de la disposición plasmática de sulfametazina sódica administrada por vía endovenosa en búfalos y bovinos adultos.

TABLA 24: Valores de parámetros farmacocinéticos de sulfametazina sódica en búfalos adultos.

PARÁMETRO	An. # 1	An. # 3	An. # 4	An. # 5	An. # 6	Media	D.E.
$C_{p(0)}$ ($\mu\text{g/ml}$)	170,1	158,6	108,0	131,0	204,2	154,38	36,89
AUC ($\mu\text{g-h/ml}$)	1454,6	1314,2	977,0	1336,0	1824,3	1381,22	304,80
$V_{D(\text{area})}$ (L/kg)	0,300	0,366	0,595	0,530	0,306	0,425	0,129
β (1/h)	0,120	0,124	0,102	0,080	0,104	0,106	0,017
$t_{1/2}(\beta)$ (h)	5,57	5,57	6,78	8,60	6,68	6,644	1,243
CL_B (ml/h/kg)	40,66	45,49	60,83	42,72	31,76	44,294	10,578
MRT	7,8	7,6	9,8	11,1	9,7	9,200	1,478

TABLA 25: Parámetros farmacocinéticos de sulfametazina sódica administrada por vía intravenosa, determinados en bovinos y búfalos adultos. Se indican las diferencias significativas en la estadística del Test de Mann-Whitney ($P < 0,05$).

PARÁMETRO	Bovinos	Búfalos
$C_{p(0)}$ ($\mu\text{g/ml}$)	192,5	154,38 \pm 36,8
AUC ($\mu\text{g-h/ml}$)	2009,3 _a	1381,22 \pm 304,8 _b
$V_{D(\text{area})}$ (L/kg)	0,317	0,425 \pm 0,12
β (1/h)	0,090	0,106 \pm 0,017
$t_{1/2}(\beta)$ (h)	7,45	6,644 \pm 1,24
CL_B (ml/h/kg)	30,34 _a	44,294 \pm 10,57 _b
MRT	10,5	9,20 \pm 1,47

a-b: Diferentes subíndices indican significación estadística.

IV.5. ESTADISTICA

Las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smimov y Shapiro –Wilk muestran que con el primer método la significación no es válida debido al reducido tamaño de la muestra. El análisis estadístico con la prueba de Shapiro-Wilk indican la normalidad de la muestra ($p < 0,05$) (Anexo 1).

El resultado de las pruebas no paramétricas, tal y como se describe en el apartado de material y métodos II.2.7 con un nivel de significación de $p < 0,05$.) se presentan en Anexo 2.

V. DISCUSIÓN

V.1. MATERIAL

V.1.1.MATERIAL BIOLÓGICO

Los animales empleados en el estudio fueron bovinos machos, de raza Holando argentino (nacidos, criados y alimentados en iguales condiciones). Dichos animales se utilizaron a los 7, 21, 50 días de vida y como adultos sanos (105 días) y enfermos (135días). Esta selección de los individuos se realizó siguiendo el principio que indica que la homogeneidad en el grupo de animales empleados para estudios farmacocinéticas, en los que no se utiliza un gran número de sujetos, es un factor importante para poder reducir al mínimo la variabilidad interindividual.

Para la selección de los animales se siguió un sistema de prioridades a fin de mantener la uniformidad del grupo. De esta manera, se tuvieron en cuenta los siguientes factores (Baggot, 2001):

1. El estado de salud se consideró como condición principal para la inclusión de los sujetos en el grupo de estudio. Cualquier indicio sobre posibles afecciones en el estado general, la función circulatoria, gastrointestinal, hepática o renal de los animales sería considerado como causa de exclusión.
2. La edad a la que se realizaron los estudios en los terneros fue elegida en función del desarrollo de los sistemas excretores (renal, hepático) y del sistema digestivo, debido a la importancia del mismo en la disposición de los fármacos en rumiantes.
3. Raza. Para conservar la uniformidad del sistema experimental se seleccionaron animales que pertenecieran a una misma raza. Se escogió la raza Holando Argentino por ser la más representativa de la población.

Dada la homogeneidad del grupo en estudio y de los resultados obtenidos, puede considerarse que el número de animales utilizados (6 terneros) fue suficiente para la realización del estudio farmacocinético. Debido a razones éticas se buscó trabajar con un número reducido de animales, que a su vez, permitiera llevar a cabo un estudio farmacocinético válido. El número de individuos empleados fue similar al utilizado en

otros trabajos que habían sido desarrollados con sulfamidas bovinos (Nouws *et al.*, 1986b; Nouws *et al.*, 1989a; Nouws *et al.*, 1991), en búfalos (Mody & Malik 1997) y en otras especies (Van Gogh *et al.*, 1977; Srivastava *et al.*, 1988; Elsheikh *et al.*, 1991; Witkamp *et al.*, 1992; Rátz *et al.*, 1995; Van Duijkeren *et al.*, 1995; Kumar *et al.*, 1998; Peck *et al.*, 2002; Kumar & Malik 2003).

También se utilizaron 6 bubalinos (Búfalos de agua) machos, de peso y edades semejantes a los de los bovinos con objeto de atribuir las posibles diferencias que se encontraran a la especie y no a otros factores como ya acabamos de mencionar. El planteamiento anterior en cuanto a número de individuos y a las razones éticas del trabajo se considero también para este grupo.

V.1.2. FÁRMACOS Y PRODUCTOS BIOLÓGICOS UTILIZADOS, REACTIVOS E INSTRUMENTACIÓN

El patrón y la especialidad farmacéutica de sulfametazina fueron provistos por el Laboratorio de Especialidades Veterinarias Allignani S.R.L. (Santa Fe, Argentina). Para la manipulación y almacenamiento de los mismos se siguieron las instrucciones recomendadas por dicho laboratorio.

Se realizaron controles periódicos de mantenimiento, calibrado y limpieza de los aparatos utilizados para la detección y el procesado de los datos siguiendo las instrucciones recomendadas y teniendo en cuenta las Buenas Prácticas de Laboratorio.

Con este sistema se intentó asegurar la máxima calidad de los productos a utilizar, el buen estado de los instrumentos y por tanto, la integridad de los datos obtenidos.

Para la inducción del cuadro febril se escogió el lipopolisacárido de pared de *Escherichia coli* del serotipo 055:B5, utilizado en varios ensayos similares por otros autores (Wilson *et al.*, 1983; Spurlock *et al.*, 1985; Jernigan *et al.*, 1988b; Ahmad *et al.*, 1994; Kumar & Malik, 2001). *Escherichia coli* es un patógeno ampliamente distribuido en las explotaciones ganaderas y las enfermedades relacionadas con el mismo son de frecuente aparición. Se prefirió la administración de toxina a una infección experimental mediante inoculación del microorganismo porque brinda una respuesta

relativamente uniforme en cuanto a la producción de sintomatología y a la duración de la misma, a la vez que disminuye los riesgos que conlleva la manipulación de patógenos.

V.2. MÉTODOS

V.2.1. PRODUCCIÓN EXPERIMENTAL DEL CUADRO FEBRIL

Se siguieron las pautas del protocolo descrito por Kume & Garg (1986), que fue previamente ensayado, para esta raza y en nuestras condiciones experimentales, en dos animales que no fueron incluidos en el resto de las pruebas.

Se administró una primera dosis de pirógeno (0,1 µg/kg) y una hora más tarde se procedió a la inyección de la sulfametazina por vía intravenosa. Esta dosis se escogió en función de las observaciones realizadas por numerosos autores que utilizan dosis similares (0,1-0,2 µg/kg) de lipopolisacárido en las distintas especies para la producción experimental de un cuadro febril (Groothuis *et al.*, 1978; Wilson *et al.*, 1984; Salam Abdullah & Baggot, 1984, 1986; Kume & Garg, 1986; Ahmad *et al.*, 1994; Waxman *et al.*, 2003). Sin embargo, se han llegado a administrar dosis de 0,5 µg/kg en gatos (Jernigan *et al.*, 1988b), 1 µg/kg en ovejas, terneros y búfalos (Semrad *et al.*, 1993; Singh *et al.*, 1998; Chaudhary *et al.*, 1999; Kumar & Malik, 2001, 2003), 1,5 µg/kg en cerdos (Ladefoged, 1979a), 10 µg/kg en caballos (Spurlock *et al.*, 1985) y hasta 25 µg/kg en bovinos (Andersen *et al.*, 1996).

Tras administrar la toxina, el momento indicado para la administración del fármaco a ensayar difiere según los distintos autores que estudiaron la influencia de la endotoxina de *Escherichia coli* en el comportamiento cinético de los fármacos, ya que, mientras que algunos administran el fármaco cuando la temperatura corporal aumenta 1°C (Wilson *et al.*, 1983, 1984; Jernigan *et al.*, 1988a, 1988b; Ahmad *et al.*, 1994), otros lo hacen una hora después de administrada la toxina (Ladefoged, 1979a; Salam Abdullah & Baggot, 1984, 1986; Kume & Garg, 1986). Al ensayar el método, en los dos bovinos que se destinaron a tal fin, se obtuvieron a la hora de la administración de la endotoxina, aumentos de temperatura cercanos a un grado centígrado por lo que se decidió administrar la sulfametazina una hora después de la inyección del lipopolisacárido, lo cual aunaba ambos criterios.

Debido a que la temperatura corporal de los animales experimenta un descenso, que comienza a partir de las 4-5 horas de la administración de la toxina (Grafico 12), se realizó una segunda inyección del pirógeno, a la mitad de la dosis inicial (0,05 µg/kg), 8 h después de la primera administración, con el fin de prolongar el mantenimiento del síndrome febril, al igual que en el protocolo descrito por Kume & Garg (1986). De esta manera, se logró que la temperatura se mantuviera por encima de los niveles basales hasta 12 horas después de la administración de sulfametazina (13 horas después de la primera administración de la toxina). Con el protocolo escogido se intenta lograr una duración del síndrome febril que de lugar a que las posibles modificaciones que se producen con el mismo ejerzan su influencia en la disposición del fármaco, ya que según los datos disponibles en la literatura, hacían pensar en que la presencia de la sulfametazina en el organismo de estos animales superara las 8 horas de duración que suponía una sola administración de la toxina (LPS). Con este protocolo nos asegurábamos que la influencia del síndrome febril afectara el mayor tiempo posible a la permanencia del fármaco en los bovinos y así se asemejara en lo posible a lo que sucede en los casos reales de hipertermia en el ganado. La hipertermia no puede ser prolongada por mucho más tiempo, debido a que la administración parenteral de la toxina resulta en un aumento de la resistencia a sus efectos pirogénicos, lo que puede estar relacionado con la formación de anticuerpos, con la estimulación del sistema retículo endotelial o con un aumento de la degradación de la toxina (Van Miert *et al.*, 1982; Jernigan *et al.*, 1988b).

En función de los resultados obtenidos, este protocolo resulta adecuado y por lo tanto válido para el objetivo propuesto inicialmente, como veremos en el apartado correspondiente V.5.

V.2.2. PROTOCOLOS DE ADMINISTRACIÓN DEL FÁRMACO, OBTENCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

La dosis de sulfametazina a administrar (60 mg/kg en material y métodos y resultados mg/kg) se escogió teniendo en cuenta las indicaciones sobre dosificación en la especie bovina (Nouws *et al.*, 1988b; Nouws *et al.*, 1989b) y a su vez, está en concordancia con trabajos en los que se administró este mismo fármaco en diversas

especies (Srivastava *et al.*, 1989; Elsheikh *et al.*, 1991; Bulgin *et al.*, 1991; Evrard *et al.*, 1995).

Debido a la complejidad que presenta el aparato digestivo de las especies rumiantes y con el objeto de poder establecer con absoluta seguridad que las posibles diferencias encontradas en los animales de diferentes edades, se debieran exclusivamente a este factor y no a otros como grado de biodisponibilidad por diferentes vías o retraso en los procesos de absorción, metabolismo etc., como consecuencia del paso por preestomagos, etc, se optó por utilizar la vía endovenosa y así poder trabajar con biodisponibilidades totales. Por otro lado y por semejantes motivos, y de cara a las comparaciones más precisas por estado de salud y especie, se consideró que esta vía sería la idónea para conseguir unos resultados mas fiables. (Nouws *et al.*, 1991; Mody & Malik, 1997; Shoaf *et al.*, 1989; Watson *et al.*, 1987).

El protocolo de toma de muestras cumplió con el objetivo de abarcar un período que finalizara cuando las concentraciones plasmáticas se encontraran por debajo del límite de cuantificación 0,36 µg/ml. Dicho protocolo se diseñó de acuerdo a los estudios sobre la farmacocinética de sulfamidas en general y sulfametazina en particular llevados a cabo en bovinos y otras especies (Nielsen *et al.*, 1978; Righter *et al.*, 1979; Shoaf *et al.*, 1987; Shoaf *et al.*, 1989; Rätz *et al.*, 1995).

V.2.3. METODOLOGÍA ANALÍTICA

La metodología analítica utilizada para la detección y cuantificación de la sulfametazina fue la cromatografía líquida de alta eficacia, basada en el método propuesto por Loscher *et al.* (1990), debido a que es una sustancia con alta absorbancia en el espectro ultravioleta, con buenas propiedades cromatográficas y que, a la dosis empleada, había dado por resultado, en otras especies, un intervalo de concentraciones plasmáticas fácilmente detectables mediante esta metodología. Algunos autores utilizan el método microbiológico para la detección de sulfametazina pero obtienen un límite de cuantificación más elevado que el obtenido en nuestro ensayo (Milashki, 1989; Nouws, 1981; Rheinwald, 1981).

Existen otros métodos para detectar sulfametazina en diferentes matrices, como radioinmunoensayo (RIA) (Männistö, 1982; Desai, 1993), inmunoensayo de enzimas

múltiples (EMIT), (Miglioli, 1989; Delaney *et al.*, 1982) fluoroinmunoensayo (FIA) (Männistö, 1982) y cromatografía en capa fina (CCF) (Martínez García *et al.*, 1998), estos métodos son validados de la misma manera que los descritos en este trabajo y presentan la misma confiabilidad, no obstante la cromatografía líquida y la microbiología son los más utilizados en los diferentes ensayos con antimicrobianos: estudios cinéticos, concentraciones en preparados comerciales, residuos, etc. y son los solicitados por los diferentes organismos nacionales e internacionales de control de alimentos de origen animal.

La técnica cromatográfica empleada permite claramente separar el frente de picos debido a los componentes plasmáticos y a la sulfametazina, presentando un tiempo de retención corto de 2,9 minutos, otorgándole rapidez y economicidad a la detección del fármaco. La proporción de fase móvil, agua pH 3.0 con ácido acético y acetonitrilo (92:8), coincide con Loscher *et al.* (1990), quienes determinaron el compuesto en plasma de pollo. En cambio en otros trabajos que detectan también la sulfametazina en plasma de distintas especies de animales domésticos, utilizaban agua con acetato de amonio pH 6,6 y acetonitrilo (85:15) (Roudaut & Garnier, 1993); agua con tampón fosfato pH 6 y metanol (Ratz, 1995); metanol, acetonitrilo y agua, (Suhren & Heeschen, 1993); agua con acetato de amonio y acetonitrilo (80:20) (Agarwal, 1991).

La recuperación de sulfametazina a partir del plasma es del 96,7%, similar al trabajo del cual obtuvimos nuestra técnica (Loscher *et al.*, 1990). Este valor es más elevado que los conseguidos por Agarwal (1991) de 85,9% y Suhren & Heeschen (1993) de 85 % y menor de lo alcanzado por Takeda & Akiyama (1992) de 114 %.

La longitud de onda a la que la sulfametazina muestra su máxima absorbancia ($\lambda = 270$ nm) es semejante a la señalada por Shuren & Heeschen (1993) de 275 nm, por Smedley (1994) de 265 nm y totalmente diferente a las utilizadas por Takeda & Akiyama, (1992) de 495 nm.

Para separar el fármaco del plasma se utilizó cartuchos de extracción líquido-sólido carbono 18, eluyendo con metanol, agua con ácido acético y acetonitrilo. Otros autores utilizan hexano (Agarwal, 1991) o cloroformo y acetona (Smedley, 1994), siendo la recuperabilidad menor a la alcanzada por nosotros.

Las pruebas de validez del método analítico mostraron resultados satisfactorios. Las concentraciones utilizadas para comprobar la linealidad (1-100µg/ml) entre las distintas concentraciones de sulfametazina y el área bajo la curva cromatográfica correspondiente, se escogieron de manera tal que abarcara el intervalo de concentraciones plasmáticas esperadas, en función de las registradas en los estudios previos.

El análisis estadístico de la variabilidad intradía e interdía mostró resultados satisfactorios, implicando una buena reproducibilidad del método.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el método analítico resultó un procedimiento útil y adecuado para la detección y cuantificación de la sulfametazina.

V.2.4. TRATAMIENTO FARMACOCINÉTICO Y ESTADÍSTICO

La aplicación de un análisis no compartimental para el estudio de los parámetros farmacocinéticos tras la administración intravenosa, fue adoptado al no existir un modelo compartimental al cual, todos los resultados de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo obtenidos para cada animal se ajustaran adecuadamente; así hemos podido establecer parámetros comparables entre las diferentes pruebas realizadas en las que se ha evaluado la influencia de la edad, estado sanitario y especie.

Si bien en la mayoría de las ocasiones el modelo que describió mejor el comportamiento cinético del fármaco es el bicompartimental, tanto en las diferentes edades, como los inducidos a hipertermia y en los búfalos. No obstante se tomó la decisión de utilizar modelos no compartimentales, influidos por la menor dependencia que tienen los parámetros obtenidos con este sistema, de otros factores menos objetivos, y que podría influir en el resultado final.

Debido al reducido número de individuos recomendado para este tipo de estudios y teniendo en cuenta los resultados de las pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk), se decidió utilizar tests no paramétricos para la comparación de los parámetros farmacocinéticos, aunque los resultados obtenidos nos indicaban que todos los resultados eran “normales” ($p > 0.05$) también se hubiese podido emplear tests paramétricos. (Anexos I y II)

V.3.PARAMETROS FARMACOCINETICOS

V.3.1. FARMACOCINÉTICA EN BOVINOS RUMIANTES

En el presente trabajo, la evolución de las concentraciones plasmáticas de sulfametazina tras la administración intravenosa en bovinos de 3,5 meses de edad, mostró una media de 58,12 µg/ml a las 12 h, siendo este valor similar a los encontrados por Evrard (1995) de 62,8 µg/ml en ovinos a las 8 h, Srivastava *et al.* (1988) de 76,2 µg/ml a las 18 h en bovinos cruza y Pulido *et al.* (1998) quien encontró valores de 58 a 65 µg/ml a las 12 hs. en ovejas. Este resultado es concordante con la clasificación propuesta por Spoo & Riviere (2001) para dicho fármaco, en base a la concentración plasmática de 50µg/ml por mas de 12 h y encuadrándola como una sulfamida de acción intermedia y adecuada como terapia antibacteriana. Sin embargo, Srivastava & Rampal (1990), consideran una concentración plasmática de 25 µg/ml como efectiva contra organismos susceptibles en ovinos.

El Vd de la sulfametazina en bovinos de 3,5 meses de edad observado fue de $0,317 \pm 0,035$ L/kg, el que podría indicar una distribución moderada a los tejidos y está en concordancia con los encontrados en bovinos por Spoo & Riviere (2001) de 0,34 L/kg y 0,37 L/kg (Witcamp *et al.*, 1992); también es similar a lo reportado en otras especies rumiantes de 0,28 L/kg en cabras machos (Witcamp *et al.*, 1992) y 0,41 L/kg en carnero (Bulgin *et al.*, 1991) y como en otras especies herbívoras de 0,44 L/kg en equinos (Nouws *et al.*, 1985) y 0,42 L/kg en conejos (Witcamp *et al.*, 1992). Srivastava & Rampal (1990) observaron un Vd de $0,6 \pm 0,1$ L/kg en ovinos, concluyendo al respecto que la sulfametazina se encontraría de moderada a ampliamente distribuida en los fluidos y tejidos. En base a esta aseveración se considera también lo encontrado por Vanpoucke & Vanpeteghem, (1994) en cerdos y por Oukessou & Alsouss (1998) en burros de $0,77 \pm 0,06$ L/kg y $0,68 \pm 0,08$ L/k respectivamente. Younan *et al.* (1989) considera un valor alto el encontrado para dicho parámetro en el camello de 0,73 L/kg, atribuyendo esto al sistema de recirculación de los líquidos, por la diferente estructura renal y digestiva. No obstante, otro estudio realizado por Elsheik *et al.* (1991) describen para esta especie un Vd de 0,394 L/kg, si bien estos autores realizaron una asociación con antipirina que interacciona en el mismo complejo metabólico de la sulfametazina, siendo una de las posibles causas de la disminución del Vd, aunque también atribuyen este fenómeno al sistema fisiológico de retención de agua de esta especie.

La sulfametazina presenta un aclaramiento de $Cl = 30,34 \pm 6,38$ ml/h·kg similar al observado en otros trabajos en bovinos de $30,41 \pm 8,8$ ml/h·kg (Srivastava *et al.*, 1988) y de 45 ml/h·kg (Witkamp *et al.*, 1992); en cabras de 20 ml/h·kg (Witkamp *et al.*, 1992); en ovejas de 26,1 ml/h·kg (Bulgin *et al.*, 1991); en camellos de 40 ml/h·kg (Younan *et al.* 1989), y en equinos de 32 ml/h·kg (Nouws *et al.*, 1985). El hecho de que todas estas especies sean de alimentación herbívora condiciona el pH de la orina y por tanto la eliminación de esta molécula es semejante en todos ellos.

La semivida de eliminación con la administración de una dosis de 60 mg/kg en nuestro ensayo se consideró prolongada, de $7,45 \pm 1,04$ h, similar a lo reportado en bovinos y cabras por Witkamp *et al.* (1992). Se presentan diferencias con lo observado en otras especies herbívoras como el ovino con una semivida de eliminación de 10,8 h (Bulgin *et al.*, 1991), en camellos de 13,2 h (Younan *et al.*, 1989) y en equinos de 9,5 h (Nouws *et al.*, 1985), debido a las diferencias metabólicas y de fisiología renal y digestivas (principales vías de excreción) en estas especies, en relación con los bovinos. También Witkamp *et al.* (1992) reporta semividas de eliminación de 3,6 h en vacas con dosis de 20 mg/kg y Nouws *et al.* (1986b) con 10 mg/kg. Considerando estos reportes se infiere que las variables farmacocinéticas también serían dosis dependientes en el bovino.

Este estudio se realizó con bovinos machos de 3,5 meses, no observándose diferencias significativas en la semivida de eliminación con los resultados obtenidos por Witkamp *et al.* (1992) que trabajaron con ambos sexos. Sin embargo, estudiando otras especies (ratas, conejos y cabras) estos autores encontraron diferencias entre los sexos, tanto en la eliminación como en la formación de metabolitos, debido posiblemente a que el sistema enzimático P-450 se encuentra afectado por hormonas sexuales en los animales maduros.

Resultados de estudios farmacocinéticos con otras sulfamidas en diferentes especies, muestran variaciones en los parámetros estudiados. Al respecto Van Duijkeren *et al.* (1995) luego de administrar por vía endovenosa (25 mg/kg) en equinos sulfaclopiridazina, observaron un menor Vd 0,26 L/kg, en relación al obtenido en el presente estudio, atribuyendo los autores al alto grado de ionización de esta sulfamida (pK_a 6) como también el grado de unión a proteínas plasmáticas que puede contribuir a esta diferencia. La semivida de eliminación fue de 3,78 h mayor que los valores reportados para bovinos con la sulfaclopiridazina. Rätz *et al.* (1995) describen los

distintos parámetros farmacocinéticos observados luego de administrar vía intravenosa una dosis de 30mg/kg a cabras enanas, de sulfametoxazol, sulfatroxazol y sulfamerazina. Respecto al V_d los valores reportados (sulfametoxazol: 0,33 L/kg; sulfatroxazol: 0,32 L/kg; sulfamerazina: 0,31 L/kg) coinciden con los obtenidos por nosotros; mientras que los de semivida de eliminación (0,49, 1,8 y 1,3 h respectivamente) fueron relativamente mas cortos en comparación con otras especies y con el presente trabajo (7,45 h). También Weijkamp *et al.* (1994) reportan en la misma especie luego de administrar 100mg/kg IV sulfatiazol, sulfamoxazol y sulfametoxidiazina valores de V_d (0,23 L/kg, 0,23 L/kg y 0,33 L/kg) similares a los hallados en nuestro trabajo y valores de semivida de eliminación menores a los descriptos en los bovinos (0,80 h, 2,35 h y 3,36 h). Analizando estos datos los autores indican que debe tenerse en cuenta la dosis al momento de comparar los resultados, ya que la farmacocinética de estas sulfamidas y otras más puede ser dosis dependiente, debido a la limitada capacidad de eliminación. Dicha observación también fue descripta en bovinos (de 5 años de edad) por Nouws *et al.* (1988b) en quienes observaron una semivida de eliminación de 4,8 h con una dosis de 10 mg/kg, la que se incremento a 6,7 h con una dosis de 50 mg/kg.

V.4. INFLUENCIA DEL DESARROLLO EN EL COMPORTAMIENTO FARMACOCINÉTICO

En el presente estudio, el volumen de distribución de la sulfametazina no presentó diferencias significativas con la edad, siendo en terneros de 7 días ($V_d = 0,281 \pm 0,050$ L/kg), de 21 días ($V_d = 0,307 \pm 0,035$ L/kg), de 50 días de edad ($V_d = 0,365 \pm 0,059$ L/kg) y en los de 105 días ($V_d = 0,317 \pm 0,035$ L/kg) (Tabla 15 a 18). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Nouws *et al.* (1989b y 1991) quienes utilizaron sulfadimidina en cabritos de 12 y 18 semanas de edad obteniendo 0,43 y 0,50 L/kg, respectivamente; y sulfametoxazol en terneros y animales adultos con valores de 0,24 y 0,25 L/kg respectivamente, no encontrando diferencias entre las edades. También Nouws *et al.* (1989a) obtuvieron similares valores de V_d con sulfatroxazol en terneros y bovinos de 6 días, 10 semanas y 4-5 años; y Kaartinen *et al.* (2000), utilizando sulfadoxina, en terneros prurumiantes, valores de 0,44 L/kg. Por otra parte, Pulido *et al.* (1998) observaron en ovejas un V_d de 0,43 L/kg y en la saliva de las mismas 0,37 L/kg, similares a los obtenidos por nosotros.

Sin embargo, Shoaf *et al.* (1989) observaron diferencias en el volumen de distribución con el trimetoprim y no con la sulfadiazina, en terneros de 1 a 42 días, pudiendo esto estar relacionado con varios factores como la proporción de agua corporal, la cantidad de tejido adiposo, la unión a proteínas plasmáticas y tisulares, el gasto cardíaco y flujo sanguíneo regional, la permeabilidad de ciertas barreras y, en el caso de los rumiantes, el grado de desarrollo de los preestómagos.

En la mayoría de los mamíferos, la proporción de agua es más alta en el neonato que en el adulto (el agua corporal total representa entre un 70 y un 75 % del peso corporal en el neonato y sólo un 50 a 60 % en el adulto), mientras que la proporción de grasa corporal aumenta con la edad. Por esta razón, podría ser de esperar que los fármacos más hidrosolubles tengan un volumen de distribución mayor en los neonatos y que para los más liposolubles, el volumen de distribución aumente con la edad (Solans Artigas, 1998); sin embargo no se evidencia en los resultados obtenidos en el presente trabajo como así también en los descritos por otros autores citados previamente.

Esta circunstancia puede estar relacionada con el bajo volumen de distribución, que no es capaz de verse influido por los factores anteriormente mencionados, al ser reducido la presencia del fármaco por toda la economía animal, en cambio para ciertos fármacos cuyo Vd es mayor, tiene influencia el desarrollo por la diferente composición corporal, ya que es capaz de distribuirse por todos los tejidos con su diferente composición o proporción agua/grasa. En el caso de ciertas Fluoroquinolonas liposolubles y con amplio volumen de distribución este aumenta con la edad (Mevius *et al.*, 1990; Kaartinen *et al.*, 1997; Solans Artigas, 1998; Waxman *et al.*, 2004). Si nos fijamos en la prueba de Friedman vemos que se confirma que tan solo el volumen de distribución no es estadísticamente diferente, el mismo es parámetro independiente y al no modificarse el pH orgánico no se modifica el grado de ionización y por tanto no cambia con la edad

La unión de los fármacos a las proteínas del plasma está en función, entre otros factores, de la cantidad de proteínas disponibles, de la afinidad del fármaco por estas proteínas, del número de sitios de unión disponibles y de la presencia de compuestos endógenos que pueden alterar esta interacción (Baggot, 2001). Algunos autores sostienen que la concentración de proteínas plasmáticas en el recién nacido suele ser baja, fundamentalmente, la fracción de albúminas, por lo que en los neonatos podría observarse una menor unión a proteínas y, en consecuencia, un mayor volumen de

distribución, sobre todo de aquellos fármacos que usualmente presentan una tasa alta de unión (De Backer, 1986). Trabajando con sulfametoxazol, Nouws *et al.* (1991) en terneros de 4, 7 y 14 días de edad y en 2 vacas con dosis de 15 mg/kg y 10 mg/kg, respectivamente, observaron que los porcentajes de unión a las proteínas fueron de 44.9% para el de menor edad, el que se incrementó hasta 51.1% a los 14 días y 64% en las vacas. Para la sulfametazina, sin embargo, se describe en el bovino, una alta variabilidad en la unión a proteínas de 43 al 70 % en todas las edades (Costa-Batlloori, 1996).

La eliminación de la sulfametazina se vio modificada con el desarrollo. Los valores de aclaramiento plasmático registrados en terneros a los 7 días ($20,67 \pm 2,95$ ml/h·kg) y 21 días ($22,11 \pm 4,59$ ml/h·kg) fueron significativamente menor a los que se observan a los 50 días ($31,16 \pm 4,6$ ml/h·kg) y 105 días ($30,34 \pm 6,38$ ml/h·kg) (Tabla 15-18), lo mismo ocurre con la semivida de eliminación en donde los grupos de edades menores (7 y 21 días) tiene semivida más largas que los grupos de mayor edad (50 días y 105 días) (Tabla 15-18). Los resultados del aclaramiento concuerdan con los expresados por Nouws (1992) para la sulfametazina administrada a terneros de 5, 18, 63 días y adultos.

Estas diferencias en los parámetros de eliminación pueden deberse a numerosos factores:

En primer lugar, el metabolismo de los fármacos se encuentra poco desarrollado en los neonatos y se ha observado que la tasa de metabólica aumenta con la edad. Estudios realizados en rumiantes (Eltom *et al.*, 1993a, 1993b) indican que la capacidad metabólica de los tejidos (hepático, pulmonar y renal) es muy baja al nacimiento y que esta actividad va en aumento, hasta alcanzar los valores del adulto, a las 6 semanas de edad. El grado de desarrollo de vías metabólicas, como por ejemplo reacciones de fase I (oxidación, reducción) y de fase II (conjugación) difieren al nacimiento, siendo la acetilación en terneros y en cerdos las más desarrolladas en neonatos. La concentración de proteína microsomal hepática aumenta, gradualmente, hasta lograr un máximo a las 6 semanas de vida, experimentando un incremento de 3 veces su valor. De la misma manera, el contenido hepático de P-450 y la actividad de oxidasas, de glucuronil transferasa y de glutatión transferasa aumenta a medida que los animales maduran (De Backer, 1986; Nouws *et al.*, 1989a; Nouws, 1992; Van Kloster *et al.*, 1993).

La menor capacidad metabólica de los tejidos a edades tempranas podría ser uno de los factores que contribuye a que los valores de aclaramiento de la sulfametazina resulten inferiores en animales más jóvenes (Schwark, 1992; Baggot, 2001).

Trabajos de Nouws *et al.* (1989a) indican que a pesar de analogías estructurales en las moléculas de sulfatroxazol y sulfametoxazol, observaron diferentes comportamiento metabólico y farmacocinéticos en los rumiantes. Estudios con el sulfatroxazol mostraron resultados similares a los de la presente investigación, con una prolongada semivida de eliminación de 18,8 h en terneros recién nacidos, de 9,3 h en terneros de 10 semanas y de 6,6 h en vacas de 4-5 años, además de un disminuido aclaramiento total de 8,3 ml/k·h contra 19 y 23 ml/k·h en los terneros de 10 semanas y adultos, respectivamente. En los terneros se excretó por secreción tubular en un 40-52% como metabolito acetilado, mientras que en los adultos el fármaco se eliminó inalterado en un 36% y en proporciones iguales como metabolito acetilado e hidroxilado. Sin embargo, observaron que el sulfametoxazol tenía una semivida menor en los adultos (2-4 h), solamente se acetila y no encontraron hidroximetabolitos en plasma y orina, explicado en parte por la presencia de diferentes cantidades y tipos de isoenzimas para la hidroxilación en el hígado.

También Kaartinen *et al.* (2000) describen para la sulfadoxina, administrada en terneros prerumiantes, una semivida de eliminación de 12,9 h y un valor de aclaramiento total de 24 ml/h./kg., ambos cercanos a los detectados en el presente trabajo. En estudios con sulfadiazina y trimetoprim en bovinos en lactancia, observaron luego de administrar 40 mg/kg y 8 mg/kg, respectivamente, vía IV, IM y subcutánea, una semivida de eliminación de 4,4 a 5,0 h, no teniendo diferencias entre las vías de administración; sin embargo, la misma modificó los valores de semivida para el trimetoprim (Kaartinen *et al.*, 1999).

Otro factor que podría influir en el aumento de los valores de aclaramiento con la edad es el desarrollo de la función renal. Los rumiantes poseen una función renal más desarrollada que la de otros mamíferos (cerdo, perro y humano) al nacimiento; la función de filtración glomerular se completa de dos a siete días después del nacimiento y los procesos de secreción tubular requieren al menos, tres semanas (Nouws, 1992). En consecuencia, este factor podría contribuir a un aumento en los valores de aclaramiento plasmático con la edad, aunque no sería la causa principal, sino que

influiría, fundamentalmente, en la eliminación del fármaco en el grupo de animales de 7 y 21 días de edad.

Las diferencias en el aclaramiento plasmático en las distintas edades podrían, también, estar relacionadas con una variación en el pH urinario. La progresiva variación de una dieta exclusivamente láctea a una dieta a base de forraje y pienso se acompaña de un aumento en el pH de la orina, desde ácida en los lactantes, a un pH alcalino en los animales rumiantes (Watson *et al.*, 1987; Nouws *et al.*, 1989b). Dadas las características ácidas de la molécula favorecería el mayor grado de disociación de la misma en un pH más alcalino y por tanto quedaría atrapada en la orina, dificultando su reabsorción, lo que produciría una reducción de la reabsorción tubular pasiva que traería como consecuencia un aumento de la excreción urinaria de la sulfametazina y del aclaramiento plasmático (Prescott, 2002),

Los cambios anátomo-fisiológicos relacionados con la edad, fundamentalmente la composición corporal, el desarrollo de los proventrículos y el pH urinario, influyen en la eliminación de la sulfametazina en bovinos, sin embargo Nouws *et al.* (1989b) sugieren que como la sulfametazina es extensivamente metabolizada por hidroxilación y acetilación, las modificaciones en los parámetros farmacocinéticos pueden ser el resultado de alteraciones en el metabolismo hepático.

Los parámetros que hacen referencia a la permanencia en el organismo, como son las semividas, el MRT y el AUC vuelven a poner de manifiesto las diferencias entre estos dos grupos de edad, ya que los terneros de 7 y 21 días tienen valores semejantes entre sí y diferentes estadísticamente a los de 50 y 105 días. Lógicamente el MRT y AUC disminuyen con la edad puesto que el aclaramiento es mayor.

Como se aprecia en el Gráfico 7 hay una diferencia notable entre los dos grupos de edad más dispares, así los terneros de 7 y 21 días cuyo desarrollo es claramente prerrumiante es semejante entre sí, pero distinto a los animales de 50 y 105 días cuyo desarrollo se puede considerar completado.

Si analizamos los resultados de las pruebas no paramétricas y observamos que no se presentan diferencias entre los terneros de 7 y 21 días en ninguno de los casos, tampoco hay diferencias entre “adultos rumiantes” los de 105 días y 50 días entre sí. Por otro lado el test de Friedman pone de manifiesto que tan solo el Vd no es estadísticamente significativo entre los diferentes grupos de edad.

El grupo de terneros de 21 días presenta un comportamiento un tanto llamativo como consecuencia del animal nº 3 que tiene un aclaramiento muy alto y esto influye en el resto de parámetros. Al tratarse de una etapa de edad crítica (prerumiantes a rumiantes) es normal que alguno de los animales se comporte de manera diferente a lo que sería la norma para su edad y pueda dar valores más próximos a los de otros grupos.

V.5. INFLUENCIA DE UN ESTADO FEBRIL EN EL COMPORTAMIENTO FARMACOCINÉTICO

Tras la inoculación de la toxina, la evolución de la temperatura corporal se comportó como estaba previsto y la hipertermia se mantuvo, al menos, hasta 12 h después de administrada la sulfametazina. Algunos animales mostraron signos como depresión, anorexia, adinamia, accesos de tos o temblores musculares. Estos signos, junto con otros como diarrea, emesis, letargo, somnolencia, inquietud, sudoración, aumento de la micción y la salivación y signos de dolor abdominal han sido descritos en varias especies tras la administración de endotoxina de *Escherichia coli* (Van Miert & Frens, 1968; Van Miert, 1973; Van Gogh & Van Miert, 1977; Groothuis *et al.*, 1978; Groothuis & Werdler, 1980; Wilson *et al.*, 1983; Jernigan *et al.*, 1988a, 1988b; Van Miert, 1990; Semrad *et al.*, 1993; Sharma *et al.*, 1996; Jha *et al.*, 1996; Rao *et al.*, 2000; Waxman *et al.*, 2004) y tras la administración de enterotoxina β de *Stafilococcus spp* (Van Gogh *et al.*, 1984).

La evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas de sulfametazina en animales sanos y febriles siguió una dinámica similar, pero las concentraciones plasmáticas observadas en los animales febriles resultaron inferiores a las registradas en los animales sanos en todos los puntos (Gráfico 9). Resultados similares fueron reportados por Van Gogh *et al.* (1984) luego de la administración intraruminal de sulfametazina en cabras, previa aplicación de enterotoxina β del *Stafilococcus spp*.

La distribución del fármaco en el organismo se vio afectada por la administración de la toxina, siendo el volumen de distribución significativamente mayor en los animales febriles ($V_d = 0,55 \pm 0,10$ L/kg) que en los sanos ($V_d = 0,31 \pm 0,03$ L/kg).

Por un lado, este aumento en los animales febriles puede estar relacionado con cambios en la permeabilidad de las membranas, el pH de los tejidos y del plasma y alteraciones hemodinámicas. La presión arterial media, la presión venosa central y el gasto cardíaco disminuyen durante el cuadro febril (Burrows, 1971; Salam Abdullah & Baggot, 1984, 1986; Jeringan *et al.*, 1988a), lo que puede afectar la distribución del fármaco. La toxina induce acidosis metabólica y al ser la sulfametazina un ácido débil el grado de ionización es menor, por lo tanto es más liposoluble y atraviesa mejor las membranas tisulares y celulares, aumentando el volumen de distribución.

Al respecto, Andersen *et al.* (1996) estudiando el tiempo de permanencia de endotoxina de *E. coli* O55:B5 en cuatro grupos de bovinos, observaron que en uno de ellos se presentó espontáneamente en todos los bovinos, esteatosis hepática, lo que impidió el aclaramiento de la toxina y provocó la muerte de algunos animales

El cuadro febril inducido por la endotoxina produce una respuesta de fase aguda caracterizada por una hipoalbuminemia, que puede causar un incremento en el volumen de distribución al aumentar la fracción de fármaco libre en plasma. A su vez, la hiperbilirrubinemia que se observa en la reacción febril puede desplazar a los fármacos de su unión a la albúmina y, de esa manera, aumentar también el volumen de distribución (Baggot, 2001). Por lo tanto, la unión de los fármacos a las proteínas plasmáticas puede verse modificada por alteración de la cantidad de proteínas disponibles, por una variación en la afinidad de los fármacos por las proteínas, así como también por el estado de conformación de la albúmina. Sin embargo, el efecto de las modificaciones en la unión a las proteínas del plasma se hace más evidente en aquellos fármacos que presentan una alta tasa de unión (> 80 %) (Baggot, 2001), por lo que es probable que estos factores hayan influido de manera decisiva en la variación del volumen de distribución de la sulfametazina, aunque su grado de unión a proteínas sea variable (Costa-Batllori, 1996).

Mengellers *et al.* (1995), en estudios similares en cerdos con administración de toxinas de *Actinobacillus spp* y luego de sulfadimetoxina y sulfametoxazol, observaron un pequeño Vd (0,24 l/k) y una elevada semivida (13 h) con la primera; en contraste con el sulfametoxazol donde obtuvieron un alto Vd (0,40 l/k), corta semivida (2,7 h) y un aclaramiento total relativamente alto comparado con la primera, explicándose por las diferencias que tienen estos fármacos en la unión a las proteínas (94-99% y 45-56% respectivamente), el metabolismo y el aclaramiento renal.

La eliminación de la sulfametazina en bovinos también se vio afectada por el estado febril. Los animales sanos presentaron un aclaramiento plasmático de $30,34 \pm 6,38$ ml/h·kg, mientras que tras la administración del lipopolisacárido, la eliminación fue significativamente más rápida ($73,12 \pm 21,41$ ml/h·kg). Este aumento en la eliminación del fármaco puede deberse a alteraciones renales y/o hepáticas causadas por la toxina.

Más probablemente, el aumento del aclaramiento se deba a un aumento de la eliminación a nivel renal. Como se ha descrito anteriormente, la endotoxemia puede alterar la unión a proteínas plasmáticas de algunos compuestos. La tasa de unión puede verse disminuida por una hipoalbuminemia o por aumentos en las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos libres o bilirrubina, producidos durante la fase febril, que compiten con los fármacos ácidos por los sitios de unión de la albúmina (Friis & Ladefoged, 1979; Baggot, 1980; Van Miert, 1990), al haber una fracción de fármaco libre mayor, las posibilidades de eliminación aumentan.

Además, la endotoxina induce efectos tóxicos y adversos en los riñones, como daño vascular directo del endotelio y agregación plaquetaria en los capilares glomerulares (Jernigan *et al.*, 1988a) y causa una serie de cambios funcionales que incluyen aumento del flujo plasmático renal y de la tasa de filtración glomerular y modificaciones en la hemodinámica intra renal que podrían ser la causa del aumento que se registra en los valores de aclaramiento de algunos fármacos (Friis & Ladefoged, 1979; Bergeron & Bergeron, 1986; Bergeron *et al.*, 1986; Jernigan *et al.*, 1988a; Ngeleka *et al.*, 1989; Hasegawa *et al.*, 1999). El efecto sobre la función renal inducido por la endotoxina se produce rápidamente y, probablemente, es reversible, ya que los valores de filtración glomerular retornan a la normalidad 24 horas después de la administración de endotoxina (Hasegawa *et al.*, 1999). Es probable que este aumento de la filtración glomerular debida a la endotoxemia influya, de manera importante, en el aumento del aclaramiento plasmático de los fármacos que son ampliamente eliminados a través de esa vía, como es el caso de la sulfametazina

Además, la endotoxemia puede producir una acidosis metabólica que causaría una disminución del pH urinario en los animales febriles (Baggot, 1980; Salam Abdullah & Baggot, 1984; Spurlock *et al.*, 1985; Van Miert, 1990) por lo que la diferencia con el pH urinario sería mayor y por tanto el grado de atrapamiento en la

misma redundaría en una mayor eliminación, que a su vez se vería favorecida por la mayor facilidad para atravesar inicialmente las membranas (acidosis orgánica = mayor solubilidad), hasta quedar atrapadas en la orina

Como consecuencia de la aumento del aclaramiento plasmático, el área bajo la curva de concentraciones plasmáticas en función del tiempo se vio disminuida con la administración de la endotoxina, siendo el valor obtenido en los animales febriles ($ABC = 861,34 \pm 211,24 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$) significativamente menor al hallado en los animales sanos ($ABC = 2009,28 \pm 387,13 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$).

La semivida de eliminación resultó diferente entre los dos grupos, por el aumento del aclaramiento plasmático debida a la endotoxemia, que alteró la permanencia del fármaco en el organismo, siendo el tiempo medio de residencia en los animales febriles ($MRT = 7,82 \pm 1,256$) significativamente menor que en los animales sanos ($MRT = 10,483 \pm 1,772$).

Se ha observado que las alteraciones en la disposición de los fármacos debidas a un estado febril están relacionadas, no sólo con la reacción febril *per se*, sino también con la etiología y patogenia de cada enfermedad (Salam Abdullah & Baggot, 1986). La endotoxina de *Escherichia coli* ha sido ampliamente utilizada en modelos de producción experimental de síndrome febril, para evaluar las modificaciones en la cinética de diversos fármacos en las especies domésticas debido a que, aun cuando la duración de la respuesta febril obtenida puede ser menor a la producida naturalmente, la administración de la endotoxina conduce a un cuadro que se asemeja a la septicemia clínica (Van Miert *et al.*, 1976; Van Gogh & Van Miert, 1977; Balsari *et al.*, 1978; Groothuis *et al.*, 1978; Ladefoged, 1978; Friis & Ladefoged, 1979; Ladefoged, 1979a, 1979b, 1979c; Groothuis y Werdler, 1980; Halkin *et al.*, 1981; Spurlock *et al.*, 1985; Jernigan *et al.*, 1988a, 1988b; Mody *et al.*, 1992; Thaker *et al.*, 1992; Kokwaro *et al.*, 1993; Rose *et al.*, 1993; Semrad *et al.*, 1993; Manna *et al.*, 1994; Ahmad & Nawaz, 1995; Sharma *et al.*, 1996; Ahmad & Sharma, 1997; Singh *et al.*, 1997, 1998; Srivastava *et al.*, 1998; Chaundhary *et al.*, 1999; Rao *et al.*, 2000; Rule *et al.*, 2000; Soliman, 2000; Waxman *et al.*, 2004).

Los resultados obtenidos por nosotros concuerdan con los descriptos por Mengelers *et al.* (1995) quien utilizó sulfametoxasol y sulfadimetoxina en combinación con trimetoprim en cerdos con neumonía inducida por *Actinobacillus pneumoniae*. Los

valores del aclaramiento de trimetoprim tuvieron diferencias significativas entre sanos y enfermos (34 y 41 ml/h·kg respectivamente). Con respecto a las dos sulfamidas utilizadas el aclaramiento del sulfametoxazol fue aproximadamente diez veces mayor que el de la sulfadimetoxina y observando también un elevado volumen de distribución para el sulfametoxazol vs sulfadimetoxina tanto en sanos como en enfermos. Estas diferencias son atribuidas a los distintos porcentajes de unión a proteínas (sulfametoxazol 52,9 % en sanos y 49,8 % en enfermos y para la sulfadimetoxina 98,6 y 97,8 respectivamente), a la vía metabólica y al aclaramiento renal.

No obstante, es más frecuente observar descenso en el aclaramiento de fármacos con síndromes febriles. En sulfametazina en cabras Van Gogh *et al.* (1984) encontraron mas elevado el aclaramiento en animales sanos con respecto a los enfermos. Lo mismo ocurre con el aclaramiento de fármacos con síndromes febriles inducidos por administración de endotoxinas de *Escherichia coli* en las distintas especies. En este sentido, Jha *et al.* (1996) con norfloxacin y Waxman *et al.* (2003) con marbofloxacin, observaron que, en cabras, se comportan de manera opuesta a lo registrado en nuestro trabajo, con disminución significativa en el aclaramiento plasmático del fármaco en los animales febriles, al igual que sucede con la enrofloxacin en esta misma especie. El aclaramiento de esta última fluorquinolona también disminuyó significativamente en cerdos experimentalmente infectados con *Escherichia coli* (Zeng & Fung, 1997).

Para otros fármacos también se ha descrito un descenso en el aclaramiento plasmático debido a alteraciones hepáticas y/o renales en diversas especies. Esto se ha observado tras la administración de ceftizoxima en ovejas (Rule *et al.*, 2000), la cefuroxima en terneros (Chaundhary *et al.*, 1999), la sulfadiazina y eritromicina en conejos (Ahmad y Nawaz, 1995; Ahmad *et al.*, 1999).

Sin embargo, algunos autores encontraron que el estado febril no produjo alteraciones significativas en la distribución (V_{ss}) y/o en la eliminación (Cl) de algunos fármacos. Este es el caso de la enrofloxacin, el cloranfenicol, la gentamicina o la cefazolina en cabras (Kume & Garg, 1986; Ahmad *et al.*, 1994; Roy *et al.*, 1999; Rao *et al.*, 2000), la fenilbutazona en terneros (Semrad *et al.*, 1993), la teofilina en conejos (Prince *et al.*, 1989), la sulfadimetoxina y sulfametoxazol en cerdos (Mengelers *et al.* 1995) y la gentamicina en ovejas y caballos y gatos (Wilson *et al.*, 1983, 1984). A diferencia del protocolo escogido para la producción del síndrome febril en los bovinos, estos autores realizaron una única administración del pirógeno y algunos sugieren que la

ausencia de modificaciones podría deberse a que la duración de la respuesta febril tras la administración de la toxina suele ser menor que la que se produce tras la infección natural por microorganismos gram negativos y, por lo tanto, podría no resultar lo suficientemente prolongada como para influir en la disposición de los fármacos (Groothuis *et al.*, 1978; Wilson *et al.*, 1984).

V.6. COMPORTAMIENTO FARMACOCINÉTICO EN BÚFALOS

El comportamiento de las curvas de concentración plasmática frente al tiempo se ajustan a un modelo bicompartimental, aunque para poder comparar con las diferentes pruebas se eligió un modelo no compartimental.

La evolución de las concentraciones plasmáticas de sulfametazina tras la administración intravenosa en búfalos muestra concentraciones mayores a las terapéutica (50 µg/ml) por más de seis horas, siendo una sulfamida de acción corta de acuerdo a estos resultados y diferente a lo postulado por Spoo & Riviere (2001) para bovinos y a lo observado en búfalos por Mody & Malik (1997) que la ubican en acción intermedia por más de doce horas. No obstante Srivastava *et al.* (1989) postulan para sulfamidas en búfalos una CIM de 25 µg/ml, obteniendo igual que en este trabajo concentraciones mayores a esta por más de 12 horas. También Jain *et al.* (2000) observaron similares concentraciones (por encima de 40 µg/ml) entre 4 y 12 horas con una dosis de 150 mg/kg vía oral.

El Vd de la sulfametazina en búfalos ($0,42 \pm 0,12$ L/kg) indica una distribución a los tejidos mediana y está en concordancia con el observado en búfalos adultos por Atef *et al.* (1981) y en búfalos de 50 a 72 kg por Mody & Malik (1997), similar a lo observado en los bovinos de este ensayo y a otros estudios en la misma especie con 0,43 L/kg (Bevill *et al.*, 1977) y 0,37 L/kg (Witcamp *et al.*, 1992), también es similar a lo reportado en otras especies rumiantes de 0,28 L/kg en cabras machos (Witcamp *et al.*, 1992) y 0,41 L/kg en carnero (Bulgin *et al.*, 1991) y como en otras especies herbívoras de 0,44 L/kg en equinos (Nouws *et al.*, 1985) y 0,42 L/kg en conejos (Witcamp *et al.*, 1992). Esto difiere de lo publicado por Singh *et al.* (1988) que describe en búfalos un alto Vd de $1,23 \pm 0,07$ L/kg. y de Srivastava *et al.* (1989) con un Vd de $1,00 \pm 0,016$ L/kg. También, una experiencia con sulfadimetoxina en terneros búfalos dosificado con 100 mg/kg demostró un elevado Vd de 2,28 L/kg (Srivastava *et al.*, 1996).

Los resultados de la semivida de eliminación fueron similares en los dos grupos comparados (6,64 h en búfalos y 7,45 h en los bovinos de 105 días), observándose un valor mayor en lo reportado por Atef *et al.* (1981) en búfalos de 500 kg. con sulfametazina (9,37 h); documentando además valores de 3,30 y 3,83 h para el sulfatiazol y sulfadiazina en los mismos animales.

La sulfametazina presenta un aclaramiento de $Cl = 44,29 \pm 10,5$ ml/h·kg, similar al observado en otros trabajos en búfalos (Atef *et al.*, 1981; Mody & Malik, 1997) y siendo significativamente mayor a lo presentado en nuestro ensayo en bovinos y de otras especies herbívoras como en cabras de 20 ml/h·kg (Witcamp *et al.*, 1992), ovejas 26,1 ml/h·kg (Bulgin *et al.*, 1991) y equinos de 32 ml/h·kg (Nouws *et al.*, 1985).

Este alto aclaramiento podría ser por diferencias en el pH urinario del búfalo que ingiere más fibra que el bovino con una orina con mayor pH (Khanikor *et al.*, 1986b) y por ende las sulfamidas que son ácido orgánicos débiles estarían más ionizadas, tal y como hemos visto que sucede con los cambios de pH relacionadas con la edad en rumiantes. Esto afectaría a los valores de reabsorción que disminuirían y por tanto aumentaría la eliminación del fármaco. Otra explicación podría ser por las diferencias en el metabolismo del búfalo con respecto a los bovinos que influyen directamente en el aclaramiento (Khanikor *et al.*, 1986a). En búfalos, la acetilación es el mecanismo metabólico más importante, observando que la sulfanilamida administrada intravenosa a 100 mg/kg fue acetilada en un 56,8 % del total de la concentración plasmática a las 18 horas post-administración, no obstante describen que ya a las 5 horas ha sido metabolizado más del 34 % (Srivastava *et al.*, 1989). En terneros búfalos, Jain *et al.* (2000) describen porcentajes de N4-acetilmetabolitos en el rango de 7 a 19 % entre las primeras 4 y 12 horas de la administración, y encontrándose en orina una mayor proporción comparativamente con lo detectado en plasma.

Estas diferencias en el aclaramiento entre búfalos y bovinos que no afectan al tiempo de permanencia implica que se debería ajustar la dosis en búfalos pero no el intervalo de dosis (Baggot, 1992).

VI. CONCLUSIONES

1- La sulfametazina, tras la administración intravenosa de 60 mg/kg en bovinos de diferentes edades, presenta una distribución media y una prolongada permanencia en el organismo con concentraciones plasmáticas superiores a las terapéuticas durante más de doce horas y cuyo comportamiento farmacocinético se ajusta mejor a un modelo bicompartimental.

2- En las diferentes edades estudiadas, se aprecian dos grupos, uno de 7 y 21 días y otro de 50 y 105 días. No existiendo diferencias dentro de los grupos pero sí entre ellos en los diferentes parámetros no compartimentales, a excepción hecha del Volumen de distribución.

3- El desarrollo modifica la farmacocinética de la sulfametazina en bovinos, observándose un incremento del aclaramiento plasmático con la edad, que a su vez implica una disminución del MRT, AUC y semividas de β . Estas diferencias pueden llegar a hacer necesario un ajuste de la dosis, sobre todo en animales menores de 21 días.

4- El síndrome de hipertermia provocado por la administración de la endotoxina del lipopolisacárido de pared de *Escherichia coli* altera la disposición de la sulfametazina, aumentando la distribución y sobre todo el aclaramiento del fármaco. Esto implica una menor permanencia de dicho fármaco en el organismo que presenta diferencias estadísticamente significativas entre los valores de AUC, MRT y semivida de β .

5- El comportamiento cinético de la sulfametazina en búfalos (*Bubalus bubalis*) tras la administración endovenosa de 60 mg/kg, se ajusta mejor a un modelo bicompartimental, con unos valores de distribución y aclaramiento superiores a los de bovinos (*Bos taurus*).

6- La semivida de β y el MRT, parámetros indicativos del tiempo de permanencia del fármaco en el organismo, no presentan diferencias entre ambos géneros, lo que desde el punto de vista terapéutico, implica la necesidad de un ajuste de la dosis pero no del intervalo de tiempo de administración.

VII. RESUMEN

Se administró por vía endovenosa una dosis de 60 mg/kg de sulfametazina a seis terneros machos a los 7, 21, 50 y 105 días de edad y a seis búfalos de 140 kg para evaluar el comportamiento farmacocinético y compararlo entre las diferentes edades y géneros. A su vez para comparara la influencia del estado febril sobre el comportamiento cinético de dicho fármaco, se produjo un cuadro experimental de hipertermia mediante la inyección de toxina de *E. coli* a los bovinos con 135 días. En los terneros de 7 días de edad la Cp_0 fue de $242,4 \pm 47,6$ $\mu\text{g/ml}$, que disminuyó rápidamente hasta una hora posterior a su administración para eliminarse en forma lenta con un $t_{1/2\beta}$ de $9,46 \pm 0,9$ h. Concentraciones plasmáticas $>$ de 50 $\mu\text{g/ml}$ se encontraron hasta pasadas las 16 horas. El grupo de 21 días presentó Cp_0 $222,4 \pm 21,8$ $\mu\text{g/ml}$. El patrón de distribución fue similar al grupo de 7 días, con un $t_{1/2\beta}$ de $9,87 \pm 1,20$ h. A los 50 días la Cp_0 fue de $185,2 \pm 23,2$ $\mu\text{g/ml}$ y la fase distributiva se caracterizó por una rápida caída de las concentraciones plasmáticas hasta la hora posterior de la administración. La fase de eliminación fue de $8,32 \pm 0,36$ h. En los bovinos de 105 días se observó una semivida de $7,45 \pm 1,04$ h con diferencias significativas con los grupos anteriores, encontrándose además concentraciones por encima de los 50 $\mu\text{g/ml}$ solo hasta las 12 horas pos administración. El V_d no presentó diferencias significativas, siendo para los de 7, 21, 50 y 105 días de 0,281; 0,307; 0,365 y 0,317 L/kg., respectivamente. El aclaramiento total del cuerpo fue de 20,67ml/h/kg a los 7 días; 22,11 ml/h/kg a los 21 días y aumentó con la edad, encontrándose diferencias significativas con respecto al de 105 días (30,34 ml/h/kg).

Los bovinos con cuadro febril mostraron diferencias significativas con los animales sanos de 105 días en AUC con valores de 861,34 y 2009,3 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$, respectivamente; $t_{1/2\beta}$ de 5,56 y 7,45 h, respectivamente; un CL de 73,128 frente a 30,34 ml/h/kg y un MRT de 7,82 y 10,5, respectivamente.

Los búfalos se compararon con los bovinos de 105 días, presentando diferencias significativas en AUC (1381,22 y 2009,3 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$, respectivamente) y en el CL con valores de 44,294 y 30,34 ml/h/kg y sin diferencias en V_d , $t_{1/2\beta}$ y en MTR.

Se concluye que en la disposición cinética de la sulfametazina en bovinos, se aprecian claramente dos grupos de edad diferentes estadísticamente significativos como son los terneros de 7 y 21 días frente a los de 50 y 105 días, excepto en el volumen de

distribución, como consecuencia, fundamentalmente, de un incremento del aclaramiento con la edad.

El cuadro de hipertermia, también tiene influencia sobre dicha disposición, por lo que se debe tener en cuenta en el momento de establecer un régimen o pauta posológica, ya que el aclaramiento está muy aumentado en los animales febriles y consecuentemente los parámetros de permanencia en el organismo (AUC, semividas y MRT) son menores.

Las diferencias observadas con los búfalos ponen de manifiesto un mayor aclaramiento de esta especie y menores tiempos de semividas de eliminación, MRT y AUC, por lo que como en las ocasiones anteriores es necesario adecuar la dosis y frecuencia de la misma con objeto de evitar problemas de sobre dosificación u otro tipo de fracasos terapéuticos por una inadecuada extrapolación de dosis.

Por todo lo anterior se puede concluir que la edad, estado sanitario y especie de los individuos son factores que influyen notablemente sobre la disposición cinética de la sulfametazina.

VIII. SUMMARY

Sixty milligrams per kilogram of sulphametazine was administered intravenously to six male calves at 7, 21, 50 and 105 days of age and to six buffalos of 140 kg. of weight, to evaluate pharmacokinetics behavior and compare among different ages and genus. Further more, to compare the same parameters on animals with fever, the six bovines of 135 days of age received a *E. coli* toxin injection to produce an experimental hyperterm illness. On 7-day-old calves, the Cp_0 was $242,4 \pm 47,6 \mu\text{g/ml}$, which quickly diminished up to an hour later of the administration and it was slowly eliminated with $t_{1/2\beta}$ de $9,46 \pm 0,9$ h. Plasmatic concentrations of sulphametazine above 50 mg/kg were detected over 16 hours. The group of 21 days presented Cp_0 $222,4 \pm 21,8 \mu\text{g/ml}$. The pattern of distribution was similar to the group of 7 days with $t_{1/2\beta}$ de $9,87 \pm 1,20$ h. At 50 days the Cp_0 was de $185,2 \pm 23,2 \mu\text{g/ml}$ and distributive stage was distinguished by a quick fall of plasmatic concentration up to an hour after administration. Elimination stage was $8,32 \pm 0,36$ h. In bovine of 105 days of age it was observed a half life of $7,45 \pm 1,04$ h with significant difference with the previous groups, also finding concentration over $50\mu\text{g/ml}$ up to 12 hours post administration. The V_d did not show significant differences, being for 7, 21, 50 and 105 days of age of 0,281; 0,307; 0,365 y 0,317 L/kg., respectively. The total body clearance was 20,67ml/h/kg at 7 days; 22,11 ml/h/kg at 21 days and increased with age, finding significant differences with regard to 105 days (30,34 ml/h/kg).

The bovine with fever showed significant differences with regard to healthy animals of 105 days in AUC with values of 861,34 y 2009,3 $\mu\text{g.h/ml}$, respectively; $t_{1/2\beta}$ de 5,56 y 7,45 h, respectively; a CL of 73,128 and 30,34 ml/h/kg respectively, and MRT of 7,82 and 10,5, respectively.

The buffalos were compared with bovine at 105 days, showing significant difference in AUC (1381,22 and 2009,3 $\mu\text{g.h/ml}$, respectively) and in the total body clearance with values of 44,294 y 30,34 ml/h/kg, without differences in V_d , $t_{1/2\beta}$ and MTR.

It was concluded that sulphametazine kinetic disposition in bovine was clearly seen two different groups of ages, statistically significant as it were 7 and 21-day-old calves and 50 and 105-day-old calves, except in the V_d , as a consequence mainly of an increase of age clearance.

The fever has also influence on kinetic, so it must be taken into account in the moment of stating the best therapeutic regimen, provide the clearance is very increased in these kind of animals and as a consequence, the parameters of AUC, $t_{1/2B}$ and MRT are lower.

The differences in buffalos show a greater clearance and lower elimination half life, MTR and AUC, so it is necessary to adequate the doses to avoid over dosification problems or other type of therapeutic failures.

It is concluded that the age, sanitary state and species are factors which influence over sulphametazine kinetics.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

AGARWAL, V. K. 1991. A high performance liquid chromatographic method for the determination of nine sulfonamides in milk. Analysis of antibiotic-drug residues in food products of animal origin. Proceedings of an American Chemical Society Agricultural and Food Chemistry Division Symposium, New York, USA, 25-30 August 1992, 165-172.

AHMAD, M.; AHMAD, T.; BUKHARY, M.I. 1999. Disposition kinetics of erythromycin in normally and experimentally-induced febrile rabbits. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 24: 127-132.

AHMAD, A.H.; BAHGA, H.S.; SHARMA, L.D. 1994. Pharmacokinetics of gentamicin following single dose intravenous administration in normal and febrile goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 17:369-373.

AHMAD, M.; NAWAZ, M. 1995. Effect of *E. coli* endotoxin induced fever on the pharmacokinetics of sulphadiazine in rabbits. *Pakistan Vet. J.* 15:187-191.

AHMAD, S.; NAWAZ, M.; AHMAD, R.; NAWAZ, R. 1988. In vitro protein binding of sulfadimidine in domestic ruminants. *Pakistan Vet. J.* 8:29-32 .

AHMAD, A.H.; SHARMA, L.D. 1997. Disposition kinetics of gentamicin in normal and febrile goats following single dose intramuscular administration. *Indian J. Animal Sc.* 67:381-383.

ANDERSEN, P.H.; JARLOV, N.; HESSELHOLT, M.; BAEK, L. 1996. Studies on in-Vivo Endotoxin Plasma disappearance times in cattle. *J. Vet. Med. A.* 43.2:93-101.

ARGAW, T.; BRUGERE, H. 1990. Changes in disposition kinetics of sulphadimidine in response to acute regional liver damage in sheep. *J. Vet. Med. A* 37:787-794.

ATEF, M.; EL-SAYED M.G.A.; YOUSSEF, SEA.; EL-GENDI A.Y.; FADALI M. 1981. Pharmacokinetics of some sulphonamides in Buffaloes. *Zbl. Vet. Med. A.* 28:122-130.

BAGGOT, J. 1977. Principios de farmacología clínica veterinaria. Ed Acribia. Zaragoza.

BAGGOT, J.D. 1980. Distribution of antimicrobial agents in normal and diseased animals. *J.A.V.M.A.* 176:1085-1090.

BAGGOT, J. 1992. Clinical pharmacokinetics in veterinary medicine. *Clin. Pharmacokinetic.* 22:254-273.

BAGGOT, J. 2001. The physiological basis of veterinary clinical pharmacology. Ed Blackwell Science Ltd. Oxford.

BALSARI, A.; PONTI, W.; POLI, G. 1978. Effect of pyrexia induced by bacterial endotoxin or endogenous pyrogen on the blood gentamicin content in the rabbit. *Archivio Veterinario Italiano,* 29:46-48.

BEDFORD, S.J.; Mc DONNELL, S.M. 1999. Measurement of reproductive function in stallion treated with trimetoprim-sulfametoxsole and pyrimethamine. *J.A.V.M.A.* 215.9:1317-1319.

BENET, L.; KROETZ, D.; SHEINER, L. 1996. Farmacocinetica. En: HARDMAN, J.; LIMBIRD, L.; MOLINOFF, P.; RUDDON, R.; GOODMAN GILMAN, A. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Ed. McGraw-Hill. Interamericana. México. pp. 3-29.

BERGERON, M.G.; BERGERON, Y. 1986a. Influence of endotoxin on the intrarenal distribution of gentamicin, netilmicin, tobramycin, amikacin and cephalotin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 29:7-12.

BERGERON, M.G.; BERGERON, Y.; MAROIS, Y. 1986b. Autoradiography of tobramycin uptake by the proximal and distal tubules of normal and endotoxin-treated rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 29:1005-1009.

BEVILL, R.F.; SHARMA, R.M.; MEACHUM, S.H. ; WOZNIAK, S.C.; BOURNE, W.A.; DITTERT, L.W. 1977. Disposition of sulfonamides in food-producing animals: concentration of sulfamethazine and its metabolites in plasma, urine, and tissues of lambs following intravenous administration. *Am. J. Vet. Res.* 38.7:973-977.

BLANCO, M.T.; MORAN F.J.; PEREZ, C. 2002. Resistencia bacteriana. Valoración de antibacterianos. En: VADILLO, S.; PIRIZ, S.; MATEOS, E. Manual de Microbiología Veterinaria. Ed. Mac Graw-Hill. Interamericana. Madrid.

BRANSON, K.; BOOTH, N. 1995. Injectable anesthetics (pp 209-267). En: ADAMS, R. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. The Iowa State University Press-Ames. Iowa.

BROOKS, G. 2001. Comparison of two treatments after retained fetal membranes on clinical signs in cattle. *Vet. Rec.* 24.148:243-244.

BRUMBAUGH, G.W. 2001. Adverse drug reaction and interactions in the horse. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 17.3:445-453.

BULGIN, M.S.; LANE, V.M.; ARCHER, T.E.; BAGGOT, J.D.; CRAIGMILL, A.L. 1991. Pharmacokinetics, safety and tissue residues of sustained-release sulfamethazine in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 14:36-45.

BURROWS, G.E. 1971. *Escherichia coli* endotoxemia in the conscious pony. *Am. J. Vet. Res.* 32: 243-248.

BURROWS, G.; BARTO, P.; MARTÍN, B.; TRIPP, M. 1983. Comparative pharmacokinetics of antibiotics in new born calves: chloramphenicol, lincomycin and tylosin. *Am. Vet. Res.* 44:1053-1057.

CAPRILE, K.; SHORT, C. 1987. Pharmacologic consideration in drug therapy in foals. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 3:123-124.

CHAUNDHARY, R.K.; SRIVASTAVA, A.K.; RAMPAL, S. 1999. Modification of the pharmacokinetics and dosage regimen of cefuroxime by endotoxin-induced fever in buffalo calves. *Vet. Res. Com.* 23:361-368.

COLLINS, B.K.; MOORE, C.P.; HAGEE, J.H. 1986. Sulfonamide—associated keratoconjunctivitis sicca and corneal ulceration in a dysuric dog. *J.A.V.M.A.* 189.8:924-926.

COSTA-BATLLORI, P. 1996. Las Sulfamidas: actualidad como agentes terapéuticos. *Med. Vet.* 13.11:585-593.

CRIBB, A.E.; MILLER, M.; LEEDER, J.S.; HILL J.; SPIELBERG S.P. 1991. Reactions of the nitroso and hydroxylamine metabolites of sulfamethoxazole with reduced glutathione: Implications for idiosyncratic toxicity. *Drug. Metab. Dispos.* 19.5:900-906.

CRIBB, A; SPIELBERG, S. 1990. An in vitro investigation of predisposition to sulfonamide idiosyncratic toxicity in dogs. *Vet. Res. Com.* 14.3:241-252.

DAFT, B.M.; BICKFORD, A.A.; HAMMARLUND, M.A. 1989. Experimental and field sulfakinoxaline toxicosis in Leghorn chickens. *Avian Dis.* 33:30-34. Citado en: SPOO, J.W.; RIVIERE, J.E. 2001. En: Adams, H.R. 2001. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa. State University Press. Ames.

DE BACKER, P. 1986. Comparative neonatal pharmacokinetics. In VAN MIERT, A.; BOGAERT, M.; DEBAKERE, M. (ED) *Comparative Veterinary Pharmacology, Toxicology and Therapy*. Proc. 3er Congr. Europ. Assoc. Vet. Pharmacol. Toxicol. August 25-29, 1985. Univ of Ghent, Belgium. MTP Press Ltd Lancaster, UK.

DE BACKER, P.; DEBAKERE, M.; DE CORTE-BAETEN. 1978. Plasma levels of chloramphenicol after oral administration in calves during the first weeks of life. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 1:135-139.

DELANEY, C. J.; OPHEIM, K. E.; SMITH, A. L.; PLORDE, J. J. 1982. Performance characteristics of bioassay, radioenzymatic assay, homogeneous enzyme immunoassay, and high-performance liquid chromatographic determination of serum gentamicin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 21.1.

- DE OLIVEIRA, A.P.; WATTS, J.L.; SALMON, S.A.; AARESTRUP, F.M. 2000. Antimicrobial susceptibility of staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis in Europe and the United States. *J. Dairy Sci.* 83. 855-862.
- DESAI, S. 1993. Ocular pharmacokinetics of tobramycin. *International Ophthalmology* 17:201-210.
- DODDS, W.J. 1993. Hemorrhagic complications attributable to certain drugs. *J.A.V.M.A.* 202.5:702-703.
- DUNLOP, R. 1983. Ruminal influence on drug action. (pp 165-181). En: RUCKEBUCH, Y.; TOUTAIN, P.; KORITZ, G. *Veterinary Pharmacology and Toxicology*. MTP Press Limited. Lancaster.
- DURAND, R.; SAVEL, J. 2001. Dihydrofolate reductase inhibitors: new developments in antiparasitic chemotherapy *Expert. Opin. Ther. Patents.* 11.8:1285-1290.
- EL-BANNA, H.A. 1999. Pharamcokinetic interactions between Flunixin and Sulphadimidine in horses. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 106:400-403.
- ELSHEIKH, H.A.; ALI, B.H.; HOMEIDA, A.M.; HASSAN, T.; HAPKE, H.J. 1991. Pharmacokinetics of antipyrine and sulphadimidine (sulfamethazine) in camels, sheep and goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 14:269-275.
- ELTOM, S.E.; BABISH, J.G.; SCHWARK, W.S. 1993a. The postnatal development of drug-metabolizing enzymes in hepatic, pulmonary and renal tissues of the goat. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 16: 152-163.
- ELTOM, S.E.; GUARD, C.L.; SCHWARK, W.S. 1993b. The effect of age on phenylbutazone pharmacokinetics, metabolism and plasma protein binding in goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 16: 141-151.
- EVRARD, B.; DELAHAUT, P.; HUBERT, P.; CROMMEN, J.; DELATTRE, L. 1995. Biopharmaceutical aspects of the development of sulfamethazine oral sustained release bolus for lambs. *J. Controlled. Release.* 35:107-115.

FRIIS, C. 1983. Postnatal development of renal function in goats. In: Veterinary Pharmacology and Toxicology. Eds. RUCKEBUSH, P.; TOUTAIN, P.; KORITZ, G. Ed. MTP Press. Lancaster. UK.

FRIIS, C.; LADEFOGED, O. 1979. Renal clearance of sulfathiazole in pigs with *E. coli* endotoxemia. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin A* 26:146-151

GEORGE, L.W. 1996. Disease in nervous systems (pp 1101-1175). En: SMITH, B.P. Large Animal Internal Medicine. 2da. Ed. Mosby. St Louis.

GIRARDI, C.; FARCA, A.; CELLI, L.; EANDI, M.; LEONORI CECINA, G.; GUILLONI, A. 1986. Cinética emática dell amminosidine somministrata per via orale nel vitalli. *Riv. Zootec. Vet.* 14: 105. Citado por NOUWS, J. 1992. Pharmacokinetics in immature animals: A review. *J. Anim. Sci.* 70:3626-3634.

GONZALEZ, Z.; TEJEDOR, M.T.; LUPIOLA, P. A. 2002. Otras enterobacterias de interés Veterinario. En: VADILLO, S.; PIRIZ, S.; MATEOS, E. Manual de Microbiología Veterinaria. Ed. Mc Graw-Hill. Interamericana. Madrid.

GOODMAN, L.; GILMAN, A. 1945. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. (2 tomos) Ed. Union Tipografica – Ed. HISPANOAMERICANA. México

GROOTHUIS, D.G.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; ZIV, G.; NOUWS, J.F.M. 1978. Effects of experimental *Escherichia coli* endotoxemia on ampicillin: amoxicillin blood levels after oral and parenteral administration in calves. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 1:81-84.

GROOTHUIS, D.G.; WERDLER, M.E.B. 1980. Factors affecting the absorption of ampicillin administered intramuscularly in dwarf goats. *Res. Vet. Sc.* 29, 116-117.

GYRD-HANSEN, H.; FRIIS, C.; NIELSEN, P.; RASMUSSEN, F. 1984. Metabolism of trimetopim in neonatal and young pigs: comparative *in vivo* and *in vitro* studies. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 55:402.

HALKIN, H.; LIDJI, M.; RUBINSTEIN, E. 1981. The influence of endotoxin-induced pyrexia on the pharmacokinetics of gentamicin in the rabbit. *J.Pharmacol. Experimental Therapeutics* 216:415-418.

HANNA, P.E. 1996. Metabolic activation and detoxification of Arylamines. *Current. Med. Chem.* 3:195-210.

HASEGAWA, T.; TAKAGI, K.; KITAICHI, K. 1999. Effects of bacterial endotoxin on drugs pharmacokinetics. *Nagoya J. Med. Sc.* 62:11-28.

HOMEIDA, A.M. 2000. Phenotypic variation in sulphonamide acetylation. *J. Camel. Pract. Reserch.* 7.1:109-111.

HURTADO, C.; GOMEZ, A. C. 2002. Antibacterianos, esterilización y desinfección. En: VADILLO, S.; PIRIZ, S.; MATEOS, E. Manual de Microbiología Veterinaria. Ed. Mc Graw-Hill. Interamericana. Madrid.

JAIN, S.K.; PUNIA, J.S.; GARG, B.D. 2000. Pharmacokinetics and urinary excretion of sulphadimidine in buffalo calves. *J. Vet. Med. A.* 47. 8: 501-505.

JANUS, K.; ANTOSZE.K, J.; SUSZYCKI. S.; GROCHOWINA, B.; MUSZCZYNSKI, Z. 2003. Acetylator phenotype in Black and White breed and BW x HF cross breed calves. *Med. Wet.* 59.7: 643-646.

JERNIGAN, A.D.; HATCH, R.C.; WILSON, R.C.; BROWN, J.; CROWELL, W.A. 1988a. Pathologic changes and tissue gentamicin concentrations after intravenous gentamicin administration in clinically normal and endotoxemic cats. *Am. J. Vet. Res.* 49:613-617.

JERNIGAN, A.D.; HATCH, R.C.; WILSON, R.C.; BROWN, J.; TULER, S. 1988b. Pharmacokinetics of gentamicin in cats given *Escherichia coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 49:603-607.

JHA, K., ROY, B.K.; SINGH, R.C.P. 1996. The effect of induced fever on the biokinetics of norfloxacin and its interaction with probenecid in goats. *Vet.Res.Com.* 20:473-479.

KAARTINEN, L.; GIPS, M.; LAURILA, T.; HARTEL, H.; SOBACK, S.; PYÖRÄLÄ, S. 2000. Pharmacokinetics of sulphadoxine-trimethoprim and tissue irritation cause by too sulphadoxine.trimethoprim containing products after subcutaneous administration in pre-rumiant calves. *Vet. Res.* 31.5: 517-526.

KAARTINEN, L.; LOHONEN, K.; WIESE, B.; FRANKLIN, A.; PYÖRÄLÄ, S. 1999. Pharmacokinetics of sulphadiazine-trimethoprim in lactating dairy cows. *Acta Vet. Scandinavica.* 40.3: 271-278.

KAARTINEN, L.; PYÖRÄLÄ, S.; MOILANEN, M.; RAISANEN, S. 1997. Pharmacokinetics of enrofloxacin in newborn and one-week-old calves. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 20. 479-482.

KAMI, G.; MERRITT, A. ; DUELLY, P. 1984. Preliminary estudies of plasma and extracellular fluid volume in neonatal ponies. *Eq. Vet. J.* 16:356-358.

KARALLIEDDE, L.; HENRY, J. 1998. Handbook of Drug Interactions. Ed. ARNOLD. London.

KAWALEK, J.; EL SID, K. 1991. Effect of diet on the development of hepatic drug metabolizing enzymes in food producing animals. *J. Anim. Sci.* 69 (suppl. 1):497.

KHANIKOR, H.; SRIVATAVA, A.K.; PAUL, B.S. and MALIK, J.K. 1986a Pharmacokinetic and tissue distribution studies of ampicillin in *Bubalus bubalis*. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 9: 223 – 226.

KHANIKOR, H.; SRIVATAVA, A.K.; PAUL, B.S. and MALIK, J.K. 1986b. Kinetic disposition and biodistribution of amoxycillin in *Bubalus bubalis*. *J. Vet. Med. A.* 33:212 – 218.

KODAM, K.M.; GOVINDWAR, S.P. 1997. In-Vivo and in-Vitro Effect of Sulfamethazine on Hepatic Mixed-Function Oxidases in Rats. *Veterinary and Human Toxicology.* 39.3:141-146.

KOKWARO, G.O.; ISMAIL, S.; GLAZIER, A.P.; WARD, S.A.; EDWARDS, G. 1993. Effect of malaria infection and endotoxin-induced fever on the metabolism of antipyrine and metronidazole in the rat. *Biochemical Pharmacol.* 45:1243-1249.

KUMAR, R.; MALIK, J.K. 2001. Effects of multiple injections of *Escherichia coli* endotoxin on the pharmacokinetics and dosage regimens of a long-acting formulation of oxytetracycline (OTC-LA) in cross-breed calves. *Veterinarski Arhiv*. 71.5: 245-263

KUMAR, R.; MALIK, J.K. 2003. Influence of endotoxin on the disposition kinetics and dosage regimens of oxytetracycline in calves. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 26.3:159-164.

KUMAR, R.; PRATAP SINGH, A.; KUMAR RAI, A. 1999. Pharmacokinetics, bioavailability and dosage regimen of sulphadimidine in camels (*Camelus dromedarius*) under hot, arid environmental conditions. *Vet. Res.* 30:39-47.

KUMAR, R.; SINGH, A.P.; KAPOOR, M.; RAI, A.K. 1998. Bioavailability and dosage regimen of Sulfadiazine (Sdz) in Camels (*Camelus Dromedarius*). *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 21.5:393-399.

KUME, B.B.; GARG, R.C. 1986. Pharmacokinetics and bioavailability of chloramphenicol in normal and febrile goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 9:254-263.

LADEFOGED, O. 1978. Endotoxin induced changes in the pharmacokinetics of warfarin in rabbits. *Acta Veterinaria Scandinavica* 19:479-486.

LADEFOGED, O. 1979a. Pharmacokinetics of antipyrine and trimethoprim in pigs with endotoxin-induced fever. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 2:209-214.

LADEFOGED, O. 1979b. The absorption half-life, volume of distribution and elimination half-life of trimethoprim after peroral administration to febrile rabbits. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin A* 26:580-586.

LADEFOGED, O. 1979c. Plasma concentration of sulphadimethoxine in pigs after multiple dosing and during injections of *Escherichia coli* endotoxin. *Vet. Sc. Com.* 3:73-77.

LINDSAY D.S.; BUTLER, J.M.; RIPPEY N.S.; BLAGBURN B.L. 1996. Demonstration of synergistic effects of sulfonamides and dihydrofolate

reductase/thymidylate synthase inhibitors against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells, and characterization of mutants resistant to pyrimethamine. *Am. J. Vet. Res.* 57.1:68-72.

LINDSAY D.S.; DUBEY, J.P. 1999. Determination of the pyrimethamine, trimethoprim, sulfonamides, and combinations of pyrimethamine and sulfonamides against *Sarcocystis neurona* in cell cultures. *Vet. Parasit.* 82:205-210.

LINDSAY, D.S.; RIPPEY, N.S.; COLE, R.A.; PARSONS, L.C.; DUBEY, J.P.; TIDWELL, R.R.; BLAGBURN, B.L. 1994. Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells. *Am. J. Vet. Res.* 55.7:976-981.

LITTLEFIELD, N.A.; GAYLOR, W.; BLACKWELL, B.N.; ALLEN, R. R. 1989. Chronic toxicity/carcinogenicity studies of sulphamethazine in B6C3F mice. *Fd. Chem. Toxicol.* 27. 7:455-463. Citado en: SPOO, J.W.; RIVIERE, J.E. 2001. En: Adams, H.R. 2001. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa. State University Press. Ames.

LOSCHER, W. C. P.; FABBENDER, M.; WEISSING, M.; KIETZMANN. 1990. Drug plasma levels following administration of trimetoprim and sulphonamide combinations to broilers. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 13:309-319

MACKAY, R.L. 1997. Equine protozoal myeloencephalitis. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* 13:79-96.

MANNA, S.; MANDAL, T.K.; CHAKRABORTY, A.K.; DATTA GUPTA, R. 1994. Modification of the disposition kinetics of paracetamol by oxytetracyclin and endotoxin induced fever in goats. *Indian J. Animal Sc.* 64:248-252.

MÄNNISTÖ, P.T. 1982. Assay of gentamicin in serum: a comparison of four methods. *Meth. Find. Exptl. Clin. Pharmacol.* 14. 3:167-171.

MARTIN-JIMENEZ, T. 2002. Sulfamidas y diaminopirimidinas. (pp.446-492). En: Botana, L.M.; Landoni, F.; Martin-Jimenez, T. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. Mc Graw-Hill. Interamericana. Madrid.

MARTINEZ GARCIA, E.; CAMACHES, M.D.M.; PACHECO MARTINEZ, E.; MARTINEZ GAMBIN, R. 1998. Estudio comparativo de los métodos de cromatografía en capa fina (CCF) y cromatografía líquida (HPLC) para la determinación de sulfametazina. *Alimentaria*. Nov. 297: 77-82

MC EVOY, J.D.G.; MAYNE, C.S.; HIGGINS, H.C.; KENNEDY, D.G. 1999. Transfer of sulphamethazine from contaminated dairy feed to cows`milk. *Vet. Rec.* 144.17:470-475.

MENGELERS, M.J.B.; HOUGEE, P.E.; JANSSEN L.H.M.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1997. Structure-activity relationships between antibacterial activities and physicochemical properties of sulfonamides. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 20:276-283.

MENGELERS, M.J.B.; VAN GOGH, E.R.; KUIPER, H.A.; PIJPERS, A.; VERHEIJDEN, J.H.M.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1995. Pharmacokinetics of sulfadimethoxine and sulfamethoxazole in combination with trimethoprim after intravenous administration to healthy and pneumonic pigs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 18:243-253.

MEVIUS, D.J.; BREUKINK, H.J.; GUELEN, P.J..M.; JANSEN, T.; DE GRÈVE, B. 1990. Pharmacokinetics, metabolism and renal clearance of flumequine in veal calves. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 13. 159-169.

MIGLIOLI, P.A. 1989. Gentamicin distribution in tissues and pleural exudate. A comparison between bolus vs drip-infusion, microbiological assay vs enzyme multiplied immunoassay technique. *Journal of chemotherapy* 1.4:248-252.

MILASHKI, S. 1989. Inhibition zones in tests on white pickled cheese by the agar diffusion method with the test organisms *B. stearothermophilus* var. *Calidolactis*, C953 and *B. subtilis*, BGA. *Veterinarna – Sbirka* 87:7. 48-50.

MODY, S.K.; MALIK, J.K. 1997. Clinical pharmacokinetic of sulfamethazine in buffalo calves. *Buffalo J.* 2:195-201.

MODY, S.K.; TRIPATHI, R.M.; MAKKAR, M.S.; MALIK, J.K. 1992 . Influence of experimental fever on the plasma levels of sulphadimidine in buffalo calves following oral administration. *Indian J. Animal Sc.* 62:647-648.

MUNSEY, T.; GRIGG, R.E.; McCORMACK, A.; SYMONDS, H.W.; BOWMER, C.J. 1996. Binding of sulphamethazine to pig plasma proteins and albumins. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 19:135-141.

MURPHY, J.; WONG, M.; RAY, W. 1986. The advantages of a timed-release sulfamethazine bolette for calves. *Vet. Med.* 9:882-885.

NAWAZ, M. & KHAN, F.H. 1979. Pharmacokinetics and urinary excretion of sulphadimidine in sheep and goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 2:129-132.

NEER, T.; SAVANT, R. 1992. Hypoprothrombinemia secondary to administration of sulfaquinoxaline to dogs in a kennel setting. *J. Am. Vet. Medical Assoc.* 200.9:1344-1345.

NGELEKA, M.; AUCLAIR, P.; TARDIF, D., BEAUCHAMP, D.; BERGERON, M.G. 1989. Intrarenal distribution of vancomycin in endotoxemic rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 33:1575-1579.

NIELSEN, P.; ROMVARI, A.; RASMUSSEN, F. 1978. Sulphadoxine and trimethoprim in goats and cows: absorption fraction, half-lives and degrading effect of the ruminal flora. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 1:37-46.

NOLI, C.; KOEMAN, J.P.; WILLEMSE, T. 1995. A retrospective evaluation of adverse reaction to Trimethoprim – sulphonamide combination in dogs and cats. *Vet. Quaterly.* 17.4:123-128.

NOUWS, J.F.M. 1981. Microbiological assay method for sulfonamides in animal tissues, serum, and milk. *Vet. Quarterly.* 3. 3:136-142.

NOUWS, J.F.M. 1992. Pharmacokinetics in immature animals: A review. *J. Anim. Sci.* 70:3227-3634.

NOUWS, J.; GUELEN, P.; MEVIUS, D.; DRIESSENS, F. 1986a. Age difference in pharmacokinetics of amoxicillin trihydrate 15% formulation administered intramuscularly to ruminants. *Vet. Quarterly*. 8:339-342.

NOUWS, J.F.M.; MEESEN, B.P.W.; VAN GOGH, H.; KORSTANJE, C.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; VREE, T.B.; DEGEN, M. 1988a. The effect of testosterone and rutting on the metabolism and pharmacokinetics of sulphadimidine in goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 11:145-154.

NOUWS, J.F.M.; MEVIUS, D.; VREE, T.B.; BAAKMAN, M.; DEGEN, M. 1988b. Pharmacokinetics metabolism and renal clearance of sulfadiazine, sulfamerazine and sulfamethazine and of their N₄-acetyl and hydroxy metabolites in calves and cows. *Am. J. Vet. Res.* 49.7:1059-1065.

NOUWS, J.F.M.; VAN GINNEKEN, C.A.M.; ZIV, G. 1983b. Age-dependent pharmacokinetics of oxytetracycline in ruminants. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 6:59-66.

NOUWS, J.F.M.; VREE, T.B.; BAAKMAN, M.; DRIESSENS, F.; BREUKINK, H.J.; MEVIUS, D. 1986b. Age and dosage dependency in the plasma disposition and renal clearance of sulfamethazine and its N₄ acetyl and hydroxy metabolites in calves and cows. *Am. J. Vet. Res.* 47:642-649.

NOUWS, J.F.M.; VREE, T.B.; BAAKMAN, M.; DRIESSENS, F.; SMULDERS, A.; HOLTKAMP, J. 1985. Disposition of sulfadimidine and its N₄acetyl and Hydroxy metabolites in horse plasma. *J. Vet. Pharmacol. Therap* 8:303-311.

NOUWS, J.F.M.; VREE, T.B.; BAAKMAN, M.; TIJHUIS, M. 1983a. Effect of ege on the acetylation and deacetylation reactions of sulphadimidine and N₄-acetylsulphadimidine in calves. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 6:13-22.

NOUWS, J.F.M.; VREE, T.B.; DEGEN, M.; MEVIUS, D. 1991. Pharmacokinetics of sulphametoxazol in calves and cows. *Vet. Quarterly*. 13.1:10-15.

NOUWS, J.F.M.; VREE, T.B.; MEVIUS, D.; DEGEN, M. 1989a. Pharmacokinetics, metabolism and renal clearance of sulphatroxazole in calves and cows. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 12:50-57.

- NOUWS, J.F.M.; WATSON, A.D.J.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; DEGEN, M.; VAN GOGH, H.; VREE, T.B. 1989b. Pharmacokinetics and metabolism of sulphadimidine in kids at 12 and 18 weeks of age. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 12:19-24.
- NUNEZ, B.S.M.; CANON, H.; IRAGUEN, D.; ESPINOZA, S.; LILLO, J. 2001. Depletion study of trimethoprim and sulphadiazine in milk and its relationships with mastitis pathogenic bacterial strains minimum inhibitory concentration (MICs) in dairy cows. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 24.2:83-88.
- OUKESSOU, M.; ALSOUSS, L. 1998. Pharmacokinetics of Sulfonamides and trimetoprim in the Donkey (*Equus Asinus*). *J. Vet. Med. A.* 45.4:191-198.
- PALMER, G.; BYWATER, R.; STANTON, A. 1982. The effect of milk replacer, water or an oral fluid replacer on the absorption of antibiotics in preruminant calves. *Pharmacol Toxicol. Vétérinaires.* INRA Publ. Paris. 8:199.
- PECK, K.E.; MATTHEWS, N.S.; TAYLOR, T.S.; MEALEY, K.L. 2002. Pharmacokinetics of sulfamethoxazole and trimethoprim in donkeys, mules and horses. *A.J.V.R.* 63. 3:349-353.
- PLUMB, D.C. 1999. *Veterinary Drug Handbook*. 3^o Ed. Iowa State University Press-Ames.
- POIRIER, L.A.; DOERGE, D.R.; GAYLOR, D.W.; MILLER, M.A.; LORENTZEN, R.J.; CASCIANO, D.A.; KADLUBAR, F.F.; SCHWETZ, B.A. 1999. An FDA Review of sulfamethazine toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* 30:217-222.
- PRESCOTT J.F. 2002. Sulfonamidas, diaminopirimidinas y sus combinaciones (pp 256-277). En: PRESCOTT J.F.; BAGGOT, J.D.; WALKER, R.D. *Terapeutica Antimicrobiana en Medicina Veterinaria*. Inter-Medica. Buenos Aires.
- PRINCE, R.A.; JOHNSON, J.A.; WEINBERGER, M.M. 1989. Influence of endotoxin-induced fever on the pharmacokinetics of theophylline in the rabbit model. *Pharmacotherapy.* 9: 240-244.

PULIDO, E.; MEOT, F.; SUMANO, H.; BOIVIN, R. 1998. Comparative pharmacokinetics of sulphametazine in plasma and parotid saliva of sheep. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 21:138-143.

RAO, G.S.; RAMISH, S.; AHMAD, A.H.; TRIPATHI, H.C.; SHARMA, L.D.; MALIK, J.K. 2000. Effects of endotoxin-induced fever and probenecid on disposition of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravascular administration of enrofloxacin in goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 23.6:365-372.

RÁTZ, V.; MAAS, R.; SEMJEN, G.; VAN MIERT, A.S.P.J.A.M.; WITKAMP, R.F. 1995. Oral bioavailability of sulfonamides in ruminants: a comparison between sulphametoxazole, sulfatroxazole, and sulphamerazine, using the dwarf goat as animal model. *Vet. Quartely.* 17.3:82-87.

REICHE, R. 1983. Drug disposition in the new born. In: RUCKBUSH, P.; TOUTAIN, P.; KORITZ, G. *Veterinary Pharmacology and Toxicology. Proc. 2rd Congr. Europ. Assoc. Vet. Pharmacol. Toxicol. Sept. 13-17, 1982. Univ. of Toulouse, France. AVI Publishing Co. Wesport, CT.*

RHEINWALD, M. 1981. Microbiological and chemical assay of sulfonamide residues in milk (pp105). Ludwig-Maximilian-Universitat, Munich, Alemania

RIGHTER, H.F.; SHOWALTER, D.H.; TESKE, R.H. 1979. Comparative plasma kinetics of orally administered sulfamethazine in clinically parasitized and parasitism-treated lambs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 2:203-208.

ROSE, M.L.; SEMRAD, S.D.; PUTNAM, M.L.; BROWN, S.A. 1993. Effect of endotoxin on tirlazad mesylate (U74006F) pharmacokinetic parameters in neonatal calves. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 16:438-445.

ROUDAUT, B.; GARNIER, M. 1993. Sulphonamide and dapsone residues in bovine milk following intramammary infusion. *Food additives and contaminants.* 10.4:461-468.

RULE, R.; LACCHINI, R.; QUIROGA, G.; MORENO, L.; BUSCHIAZZO, P. 2000. Pharmacokinetics and penetration into tissue fluid of ceftizoxime in normal and hyperthermic sheep. *Small Ruminant Research*. 37:43-49.

SALAM ABDULLAH, A.; BAGGOT, J.D. 1984. Influence of *Escherichia coli* endotoxin-induced fever on pharmacokinetics of imidocarb in dogs and goats. *Am. J. Vet. Res.* 45:2645-2648.

SALAM ABDULLAH, A.; BAGGOT, J.D. 1986. Influence of induced disease states on the disposition kinetics of imidocarb in goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 9:192-197.

SAUNDERS, N. 1977. The blood-brain barrier in the fetal and newborn lamb. *Ann. Rech. Vet.* 8:384.

SCHWARK, W. 1992. Factors that affect drugs disposition in food – producing animals during maturation. *J. Anim. Sci.* 70:3635–3645.

SEMRAD, S.D.; MCCLURE, J.T.; SAMS, R.A.; KAMINSKI, L.M. 1993. Pharmacokinetics and effects of repeated administration of phenylbutazone in neonatal calves. *Am. J. Vet. Res.* 54:1906-1912.

SHARAN, K.K. & BANERJEE, N.C. 1982. Pharmacokinetic studies on sulphamoxole in buffalo-calves. *Indian J. Anim. Sci.* 52.4:228-231.

SHARMA, S.K.; DUMKA, V.K.; SRIVASTAVA, A.K.; BAL, M.S. 1996. Influence of *Escherichia coli* endotoxin-induced fever on pharmacokinetics of sulphadimethoxine in crossbreed calves. *Indian J. Animal Sc.* 66.11:36-1138.

SHIMODA, M.; OKAMOTO, K.; SIKAZWE, G.; FUJII, C.; SON, D.S. 1997. Deacetylation as a determinant of sulphonamide pharmacokinetics in pigs. *Vet Quarterly*. 19.4: 186-191.

SHING, M. K., JAYACHANDRAN, C.; ROY, G.P.; BANERJEE, N.C. 1988. Pharmacokinetic and distribution of sulfadimidina in plasma, milk and uterine fluid of female buffaloes. *Vet. Res. Commun.* 12: 41–46.

- SHOAF, S.; SCHWARK, W.; GUARD, C. 1989. Pharmacokinetics of sulphadiazine trimethoprim in neonatal male calves. Effect of age penetration into cerebrospinal fluid. *Am. J. Vet. Res.* 50:396-403.
- SHORT, C.; TUMBLESÓN, M. 1973. Binding of drugs to plasma proteins of swine during the perinatal period. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 24:612
- SINGH, M.K.; AHMAD, A. 1976. Pharmacokinetics studies on sulfadimidine and sulfaphenazole in buffalo. *Indian J. Anim. Sci.* 46.11:598-602.
- SINGH, R.P.; SRIVASTAVA, A.K.; SHARMA, S.K.; NAURIYAL, D.C. 1997. Pharmacokinetics and urinary excretion of cephaloridine in febrile crossbreed calves. *Indian J. Animal Sc.* 67:949-952.
- SINGH, R.P.; SRIVASTAVA, A.K.; SHARMA, S.K.; NAURIYAL, D.C. 1998. Influence of Escherichia coli endotoxin induced fever on the pharmacokinetics and dosage regimen of oxytetracycline in cross-breed calves. *Acta Veterinaria Hungarica* 46:95-100.
- SKÖLD, O. 2001. Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Vet. Res.* 32:261-273.
- SMEDLEY, M.D. 1994. Liquid chromatographic determination of multiple sulfonamide residues in bovine milk: collaborative study. *Journal-of-AOAC-Internacional* 77. 5:1112-1122.
- SOLANS ARTIGAS, C. 1998. Modificaciones en la cinética de verapamilo durante la gestación, lactación y ontogenia en el conejo. Tesis Doctoral Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
- SOLIMAN, G.A. 2000. Tissue distribution and disposition kinetics of enrofloxacin in healthy and *E. coli* infected broilers. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.* 107:23-27.
- SPOO, J.W.; RIVIERE, J.E. 2001. Sulfonamides (pp 796-817). En: Adams, H.R. 2001. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa. State University Press. Ames.

SPURLOCK, H.; LAUNDRY, S.L.; SAMS, S.; MC GUIRK, S.; MUIR, W.W. 1985. Effect of endotoxin administration on body fluid compartments in the horse. *Am. J. Vet. Res.* 46:1117-1120.

SRIVASTAVA, A.K.; CHAUDHARY, R.K.; BAL, M.S. 1996. Pharmacokinetics plasma-protein binding and dosage regimen of Sulfadimetoxine in buffalo calves. *Indian J. Animal Sc.* 66.3:215-218.

SRIVASTAVA, A.K.; CHAUDHARY, R.K.; MALIK, J.K. 1988. Disposition kinetics and dosage of sulfamethazine in cross breed heifers. *J. Vety. Phisiol. Allied Science.* 7.1:21-29.

SRIVASTAVA, A.K.; RAINA, R.; RAMPAL, S; CHAUDHARY, R.K. 1989. Pharmacokinetics of sulfanilamide blood and erythrocyte level, urinary excretion and appropriate dosage regimen in Indian Buffalos (*Bubalus Bubalis*). *Acta Veterinaria-Beograd.* 39.1:39-48.

SRIVASTAVA, A.K.; RAMPAL, S. 1990. Disposition kinetics and dosage regimen of sulphametazine in sheep (*ovis aries*). *Br. Vet. J.* 146:239-242.

SRIVASTAVA, A.K.; SINGH, R.P.; JOHAL, B. 1998. Plasma levels and pharmacokinetics of salicylate in febrile buffalo calves. *Indian J. Animal Sc.* 68:1260-1261.

STARKENSTEIN, E. 1946. Tratado de Farmacología Toxicología y Arte de Recetar. Ed. LABOR S.A. Barcelona.

STOCKNER, P.K. 1993. More on hemorrhagic complications attributable to certain drugs. *J.A.V.M.A.* 202.10:1547.

SUHREN, G.; HEESCHEN, W. 1993. Detection of eight sulphonamides and dapsone in milk by a liquid chromatographic method. *Analytica-Chimica-Acta* 275.1-2:329-333.

SULLIVAN, P.S.; ARRINGTON, K.; WEST, R.; Mc DONALD, T.P. 1992. Trombocytopenia associated with administration of trimethoprim/sulfadiazine in a dog. *J.A.V.M.A.* 201.11:1741-1744.

SWEENEY, R.W.; BARDALAYE, P.C.; SMITH, C.M.; SOMA, L.R.; UBOB, C.E. 1993. Pharmacokinetic model for predictin sulfamethazine disposition in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 54.5:750-754.

TAKEDA, N.; AKIYAMA, Y. 1992. Rapid determination of sulphonamides in milk using liquid chromatographic separation and fluorescamine derivatization. *Journal-of-Chromatography* 607.1:31-35.

TAYLOR, P.M.; REST, R.J.; DUCKHAM, T.N.; WOOD, E.J.P. 1988. Possible potentiated sulphonamide and detomidine interactions. *Vet. Record.* 122.6:143.

TEUBER, M. 2001. Veterinary uses and antibiotic resistance. *Current. Opinion Microb.* 4:493-499.

THAKER, A.M.; SARVAIYA, J.G.; MALIK, J.K. 1992. Pharmacokinetics of salicylate in healthy and *Escherichia coli* endotoxin-pretreated buffalo calves. *Buffalo J.* 8:277-280.

THOMAS, H.L.; LIVESEY, M.A. 1998. Immune-mediated haemolytic anemia associated with trimetoprim-sulfametoxazole administration in a horse. *Can. Vet. J.* 39.3:171-173.

TORIBIO, R.E.; FAIRFIELD, T.B.; MRAD, D.; MESSER, N.T.; SELLERS, R.N.; HINCHCLIFF, K.W. 1998. Congenital defect in a newborn foal of mare treated for equine protozoal myeloencephalitis during pregnancy. *J.A.V.M.A.* 212:697-701.

TREPANIER, L.A.; DANHOF, R.; TOLL, J.; WATROUS, D. 2003. Clinical finding in 40 dogs with hypersensitivity associated with administration of potentiated sulfonamides. *J. Vet. Int. Med.* 17.5:647-652.

TROLLDENIER, H.; STEUBER, S; KROKER, R. 1998. Welche Arzneimittell-Vormischungen können sinnvoll in fütterungsarzneimitteln kombiniert werden? *Tieraerztl. Umschau.* 53.11:654-660.

TWEDT, D. C.; KIEHL, K.J.; LAPPIN, M.R.; GETZY, D. M. 1997. Association of hepatic necrosis with trimethoprim sulfonamide administration in 4 dogs. *J. Vet. Internal Med.* 11:1272-1276.

USP. 2000. Sulfonamides. Veterinary-Systemic. United States Pharmacopeia Veterinary monographs. Página web: <http://www.usp.org/pdf/veterinary/sulfonamides.pdf>.

VAN 'T KLOOSTER, G.; BLAAUBOER, B.; NOORDHOEK, J.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1993. Sulfadimidine metabolism in vitro: II comparative studies in cultured rat, goats, sheep and cattle hepatocytes. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 16:454-461.

VAN DUIJKEREN, E.; VAN KLINGEREN, B.; VULTO, A.G.; SLOET VAN OLDUITENBORGH-OOSTRBAAN, M.M.; BREUKINK, H.J.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; BREUKINK, H.J. 1994b. In vitro susceptibility of equine *Salmonella* strains to trimethoprim and sulfonamide alone or in combination. *Am. J. Vet. Res.* 55.10:1386-1390.

VAN DUIJKEREN, E.; VULTO, A.G.; SLOET VAN OLDUITENBORGH-OOSTRBAAN, M.M.; KESSELS, B.G.F.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; BREUKINK, H.J. 1995. Pharmacokinetics of trimetoprim / sulphachlorpyridazine in horses alter oral, nasogastric and intravenous administration. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 18:47-53.

VAN DUIJKEREN, E.; VULTO, A.G.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1994a. Trimetoprim /sulfonamide combinations in the horse: A review. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 17:64-73.

VAN GOGH, H.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1977. The absorption of sulfonamides from the gastrointestinal tract during pyrogen-induced fever in kids and goats-. *Zbl. Vet. Med. A*, 24:503-510.

VAN GOGH, H.; VAN DEURZEN, E.J.M.; VAN DUIN, C.T.M.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1984. Effect of staphylococcal enterotoxin B-induced diarrhoea on the pharmacokinetics of sulphadimidine in the goat. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 7:303-305.

VAN GOGH, H.; VAN DEURZEN, E.J.M.; VAN DUIN, C.T.M.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1990. Influence of gestation on the pharmacokinetics of four sulphonamides in goats. *Res. Vet. Sc.* 48:152-157.

VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; FRENS, J. 1968. The reaction of different animal species to bacterial pyrogens. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin A.* 15:532-543.

VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1973. Clinical symptoms induced by *E. coli* endotoxin in goats. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin A.* 20:614-623.

VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1990. Influence of febrile disease on the pharmacokinetics of veterinary drugs. *Ann. Recherche Vétérinaire.* 21.1: 11S-28S.

VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1994. The sulfonamide-diaminopyrimidine story. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 17:309-316.

VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; VAN DUIN, C.T.M.; VERHEIDJDEN, J.H.M.; SCHOTMAN, A.J.H. 1982. Endotoxin-induced fever and associated haematological and blood biochemical changes in the goat: the effect of repeated administration and the influence of flurbiprofen. *Res. Vet. Sc.* 33:248-255.

VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; VAN GOGH, H. 1976. The influence of pyrogen induced fever on absorption of sulpha drugs. *Vet. Rec.* 99:480-481.

VANPOUCKE, LSG.; VANPETEGHEM, C.H. 1994. Pharmacokinetics and tissues residues of Sulfathiazole and Sulfamethazine in pigs. *J. Food Protection.* 57.9:796-801.

VELASCO, A.; MORENO, A. 1992. Interacciones medicamentosas (pp 1166-1188). En: VELASCO, A.; LORENZO, P.; SERRANO, J.S.; ANDRES-TRELLES, F. Velásquez Farmacología. Ed. Interamericana. Mac Graw-Hill. Nueva York.

WATSON, A.D.J.; VAN GOGH, H.; VAN DEURZEN, E.J.M.; VAN DUIN, C.T.M. 1987. Pharmacokinetics of three sulphonamides in ruminant and preruminant kids. *Res. Vet. Sc.* 43:208-216.

WAXMAN, S.; SAN ANDRÉS, M.D.; GONZÁLEZ, F.; DE LUCAS, J.J.; SAN ANDRÉS, M.I.; RODRÍGUEZ, C. 2003. Influence of *Escherichia coli* endotoxin-induced fever on the pharmacokinetic behavior of marbofloxacin after intravenous administrations in goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 26: 65-69.

WAXMAN, S.; SAN ANDRÉS, M.D.; GONZÁLEZ, F.; SAN ANDRÉS, M.I.; DE LUCAS, J.J.; RODRÍGUEZ, C. 2004. Age-related changes on the pharmacokinetic behaviour of marbofloxacin after intravenous administration in goats. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 27. 31-35.

WEIJKAMP, K.; FAGHIHI, S.M.; NIJMEIJER, S.M.; WITKAMP, R.F.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1994. Oral Bioavailability of Sulphamethoxydiazine, Sulfathiazole and Sulphamoxole in Dwarf Goats. *Vet. Quarterly* 16.1:33-37.

WEISS, D. J.; KLAUSNER, J.S. 1990. Drug-associated aplastic anemia in dogs: eight cases. *J.A.V.M.A.* 196.3:472-475.

WIERUP; M. 2001. The experience of reducing antibiotics used in animal production in the Nordic countries. *International J. Antimicrobial Agents.* 18:287-290.

WILLIAMS, G. 1983. Drug effect during development and carcinogenicity. In: RUCKEBUSH, P.; TOUTAIN, P.; KORITZ, G. (Ed) *Vet Pharmacol and Toxicol. Proc. 2nd Congr. Europ. Assoc. Vet. Pharmacol. Toxicol. Sept. 13-17, 1982. Univ of Toulouse, France. AVI Publishing Co., Wesport, CT.*

WILLIAMS, JA.; STONE EM; FAKIS G; JONSON N; CORDELL JA.; MEINL W; GLATT H.; SIM E.; PHILLIPS D. 2001. N-Acetyltransferases, sulfotransferases and heterocyclic amine activation in the breast. *Pharmacogenetics.* 11:373-388.

WILSON, R.C.; GOETSCH, D.D.; HUBER, T.L. 1984. Influence of endotoxin induced fever on the pharmacokinetics of gentamicin in ewes. *Am. J. Vet. Res.* 45:2495-2497.

WILSON, R.C.; HAMMOND, L.S.; CLARCK, C.H.; RAVIS, W.R. 1989. Bioavailability and pharmacokinetics of sulphamethazine in the pony. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 12:99-102.

WILSON, R.C.; MOORE, J.N.; EAKLE, N. 1983. Gentamicin pharmacokinetics in horses given small doses of *Escherichia coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 44:1746-1749.

WITKAMP, R.F.; YUN, H.I.; VAN'T KLOOSTER, G.A.E.; VAN MOSEL, J.F.; ENSINK, J.M.; NOORDHOEK, J.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. 1992. Comparative aspects and sex differentiation of plasma sulfamethazine elimination and metabolite formation in rats, rabbits, dwarf goats, and cattle. *Am. J. Vet. Res.* 53.10:1830-1835.

YOUNAN, W.; NOUWS, J.F.M.; HOMEID, A.M.; VREE, T.B.; DEGEN, M. 1989. Pharmacokinetics and metabolism of sulphadimidine in the camel. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 12:327-329.

ZENG, Z.L.; FUNG, K. 1997. Effects of experimentally induced *Escherichia coli* infection on the pharmacokinetics of enrofloxacin in pigs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 20.1:39-40.

ZWEERS-ZEILMAKER, W.M.; HORBACH, G.J.; WITKAMP, R.F. 1998. Effect of non steroidal anti-inflammatory drugs and sulphonamides on hepatic cytochrome P-450C activity in vitro in goat and cattle. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 21:154-157.

X. ANEXOS

X.1.ANEXO1

Pruebas de normalidad con el test de Shapiro-Wilk. (gl = 6)

PARÁMETRO	7 días Sig.	21 días Sig.	50 días Sig.	105 días Sig.	Febriles Sig.
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	0.414	0.930	0.711	0.257	0.884
$V_{D(\text{area})}$ (L/kg)	0.863	0.174	0.331	0.161	0.755
β (1/h)	0.069	0.460	0.701	0.964	0.221
$t_{1/2}$ (β) (h)	0.068	0.742	0.630	0.947	0.115
CL_B (ml/h/kg)	0.354	0.750	0.611	0.174	0.178
MRT	0.105	0.614	0.897	0.698	0.235

X.2. ANEXO 2

Prueba de Wilcoxon: para dos muestras relacionadas
Comparación por edades

β	P<0,05	7 días	21 días	50 días	105 días
	7 días	XXXXX	0.6858	0.0431	0.0431
	21 días		XXXXX	0.0747	0.0277
	50 días			XXXXX	0.463
	105 días				XXXXX
$t_{1/2\beta}$	P<0,05	7 días	21 días	50 días	105 días
	7 días	XXXXX	0.685	0.0431	0.0431
	21 días		XXXXX	0.0747	0.0277
	50 días			XXXXX	0.1158
	105 días				XXXXX
AUC	P<0,05	7 días	21 días	50 días	105 días
	7 días	XXXX	0.685	0.04311	0.04311
	21 días		XXXX	0.04639	0.0747
	50 días			XXXX	0.4630
	105 días				XXXX
Vd	P<0,05	7 días	21 días	50 días	105 días
	7 días	XXXXX	0.0796	0.0796	0.3452
	21 días		XXXXX	0.1729	0.9155
	50 días			XXXXX	0.0678
	105 días				XXXXX
CI	P<0,05	7 días	21 días	50 días	105 días
	7 días	XXXXX	0.6858	0.04311	0.04311
	21 días		XXXXX	0.04639	0.07473
	50 días			XXXXX	0.6001
	105 días				XXXXX
MRT	P<0,05	7 días	21 días	50 días	105 días
	7 días	XXXXX	0.3452	0.04216	0.04311
	21 días		XXXXX	0.04639	0.02770
	50 días			XXXXX	0.1148
	105 días				XXXXX

Prueba de Friedman: para más de dos muestras relacionadas (edad)

Parámetro	P<0,05
β	0.0211
$t_{1/2}\beta$	0.0189
AUC	0.04056
Vd	0.2237
CI	0.04056
MRT	0.01694

Prueba de Wilcoxon : Comparación por estado sanitario

Parámetro	P<0.05	105 días /febriles	
β	0.04311	0.09	0.126
$t_{1/2}\beta$	0.04311	7.457	5.569
AUC	0.04311	2009.28	861.34
Vd	0.04311	0.317	0.559
CI	0.04311	30.342	73.128
MRT	0.04311	10.483	7.820

U de Mann-Whitney: Comparación por especies

Parámetro	Sig.asint / Sig.exacta		Bovinos/Búfalas	
β	0.1441	0.1774	0.09	0.106
$t_{1/2}\beta$	0.1441	0.1774	7.457	6.644
AUC	0.0176	0.0173	2009.28	1381.22
Vd	0.4611	0.5367	0.317	0.425
CI	0.0176	0.0173	30.342	44.294
MRT	0.2012	0.2467	10.483	9.2