



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE PROCESOS FARMACÉUTICOS:
DESARROLLO DE UNA FORMULACIÓN INYECTABLE DE LENTA
LIBERACIÓN DE SLENITO DE SODIO VÍA SUBCUTÁNEA,
PARA PEQUEÑOS RUMIANTES**

SERVICIO SOCIAL TITULACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :
SILVANA MASHENKA ROBLES MOLINA

ASESORES: DRA. RAQUEL LÓPEZ ARELLANO
DRA. ELIZABETH GARCÍA GARCÍA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, máxima casa de estudios por ofrecerme una formación de vida profesional, científica y cultural de calidad.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por permitirme aprender de excelentes profesores para realizar mis sueños y encontrar un segundo hogar.

A los mexicanos que contribuyen en instituciones educativas del gobierno que forman personas para un crecimiento educativo en México.

A la Dra. Raquel López Arellano por sus conocimientos y herramientas aportadas en este proyecto gracias por su confianza y apoyo.

A la Dra. Elizabeth García García por el tiempo dedicado, las grandes aportaciones y ayuda en la realización de este trabajo.

A la Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez por su gran confianza y ayuda otorgadas durante la etapa experimental.

A los profesores Juan José Díaz Esquivel y José Antonio Garduño Rosas por sus estímulos y apoyo.

A Industrias Monfel de México y BASF de México por las materias primas donadas.

A D. G. A. P. A. UNAM por su apoyo en el proyecto PAPIITIN212903.

A la unidad de producción animal de la FES-C campo 4.

DEDICATORIAS

Muy especialmente con todo mi amor y admiración a mi mamá por ser el mejor modelo de mujer a seguir por demostrarme que el éxito se logra con la inteligencia, el trabajo y la pasión en lo que haces. Mami, gracias por sentirte siempre cerca, por tu amor, apoyo, consejos, cuidados y fortaleza que siempre me das sin medida. Sigamos disfrutando nuestros logros juntas... Te amo

A mi papá con amor por tu gran ejemplo de conciencia ante mi país, por ser un gran hombre de lucha por la vida y de convicciones para un México mejor, sin duda es un orgullo ser tu hija. Gracias por tu amor, apoyo, por creer en mí y por los momentos llenos de felicidad.

Con todo cariño a Pau por ser una gran mujer llena de amor, inteligencia y belleza, te admiro por seguir creciendo aun cuando ya eres grande como persona. Gracias por tus cuidados, ayuda, confianza y complicidad. También, por darme una maravillosa sobrina Ashley que me llena siempre de alegría y ternura y por un segundo hermano y gran amigo Jesús son mi gran ejemplo de familia.

A mi hermano Joaquin por tu ejemplo de fortaleza, trabajo, sabiduría y entereza para afrontar la vida. Sin duda gracias por estar siempre pendiente de lo que me hace feliz, por tu cariño, por hacerme sentir siempre protegida y querida. Te quiero mucho.

Con especial y todo mi cariño a Javier por demostrarme que con inteligencia, entrega, trabajo, pasión y dedicación, se logran los éxitos y se disfrutan más. Muchas gracias por el impulso y apoyo incondicional que siempre me das para ser mejor, por lo inmensamente feliz que soy cuando estoy contigo y por las extraordinarias experiencias vividas juntos. Eres un ser maravilloso, te admiro y quiero muchísimo.

Con afecto a mis dos grandes amigos Christopher y Edgar por escucharme, darme ánimo, consejos y por estar siempre dispuestos a celebrar y compartir mis logros. Son únicos.

A Xoch, Selene y Leslie, mis amigas de la universidad, por darme ánimo siempre para salir victoriosa en mis proyectos y mucho cariño con el cual me hicieron fuerte y maravillosa esta etapa de mi vida. También a Angel, Heber, Hugo, Gabriel, Miguel, Mili, Raúl y Uriel, por los momentos más divertidos en la universidad.

Al gran equipo de trabajo del LEM-Farmacia: Adria, Aideé, Ara, Lupita, Tere, Vivi y Oscar, por el gran apoyo recibido de ustedes y los momentos tan padres compartidos.

A mi tía Teté, Ruth, y Vicky, A mis primas y primos, por todo su cariño y apoyo.

ÍNDICE	PÁGINAS
Índice de tablas	I
Índice de figuras	IV
Abreviaturas	VI
Introducción	1
I. OBJETIVOS	3
II. MARCO TEÓRICO	7
1. Generalidades del Selenio	9
2. Distribución geológica del Selenio	10
2.1 Fuentes de Selenio	10
2.1.1 Fuentes naturales	10
3. Propiedades generales del Selenio	11
3.1 Selenio	11
3.1.1 Propiedades fisicoquímicas	11
4. Funciones del Selenio	14
4.1 Antecedentes	14
4.2 Metabolismo del Selenio	15
4.2.1 Absorción	15
4.2.2 Distribución	15
4.2.3 Excreción	16
4.2.4 Mecanismo de acción	17
5. Factores que intervienen en el metabolismo del Selenio	18
5.1 Microorganismos del rumen	18
5.2 Influencia del azufre	18
5.3 Influencia del arsénico	18
5.4 Ingestión previa de Selenio	19
5.5 Influencia de la vitamina E	19



6.	Problemas asociados a la deficiencias de Selenio en rumiantes	20
6.1	Distrofia muscular nutritiva	21
6.2	Baja productividad	22
6.3	Retención placentaria	23
7.	Toxicidad del Selenio	24
7.1	Intoxicación aguda	24
7.2	Intoxicación subaguda	25
7.3	Intoxicación crónica	25
8.	Regulación , requerimientos y valores de referencia del Selenio	26
8.1	Regulación del Selenio	26
8.2	Requerimientos de Selenio	26
8.3	Valores de referencia de Selenio	27
9.	Importancia de la suplementación de Selenio	29
9.1	Formas de suplementación de Selenio	29
9.2	Selenio orgánico	31
9.2.1	Ventajas de Selenio orgánico	31
9.2.2	Inconvenientes de Selenio orgánico	31
9.3	Aplicación de Selenio en fertilizantes	31
9.3.1	Ventajas de aplicación de Selenio en fertilizantes	31
9.3.2	Inconvenientes de aplicación de Selenio en fertilizantes	31
9.4	Sales de Selenio	32
9.4.1	Ventajas de las sales de Selenio	32
9.4.2	Inconvenientes de las sales de Selenio	32
9.5	Bolos de Selenio	32
9.5.1	Ventajas de los bolos	32
9.5.2	Inconvenientes de los bolos	32
9.6	Bolos de liberación prolongada de Selenio	33
9.6.1	Ventajas de los bolos de liberación prolongada	33
9.6.2	Inconvenientes de los bolos de liberación prolongada	33
9.7	Dispositivos de retención en rumen	33
9.7.1	Ventajas de los dispositivos de retención en rumen	33
9.7.2	Inconvenientes de los dispositivos de retención en rumen	33

9.8	Inyectables de selenio	34
9.8.1	Ventajas de los inyectables	34
9.8.2	Inconvenientes de los inyectables	34
10.	Inyectables de Selenio en el mercado actual	35
10.1	Razones por las que se han desarrollado inyectables de Selenio	39
11.	Aspectos importantes para el desarrollo de un inyectable vía subcutánea	42
11.1	Aspectos a considerar para la selección de excipientes	43
11.2	Ventajas de la administración por vía subcutánea	44
III.	MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS	47
IV.	METODOLOGÍA	53
1.	Plan de trabajo	55
2.	Planteamiento de la formulación	56
3.	Metodología para el proceso de elaboración del inyectable de Selenio	57
3.1	Diagrama de flujo	58
4.	Estudios preeliminares	59
5.	Pruebas a realizar al inyectable	60
5.1	Aspecto	60
5.2	pH	60
5.3	Densidad relativa	61
5.4	Viscosidad	61
5.5	Contenido químico	62
5.6	Volumen de sedimentación	63
5.7	Facilidad de resuspendibilidad	64
5.8	Velocidad de Flujo	64
6.	Pruebas a realizar en los animales de experimentación	66
6.1	Cabras	66
6.1.1	Cuantificación de los niveles de Selenio en sangre total	67
6.2	Corderos	67
6.2.1	Influencia del Selenio en la ganancia de peso en los corderos	68



6.3	Diagramas de flujo	68
6.3.1	Cabras	69
6.3.2	Corderos	70
6.3.3	Digestión ácida	71
6.3.4	Cuantificación por EAA-GH	72
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	73
1.	Planteamiento de la formulación	75
2.	Resultados de las pruebas realizadas al Inyectable	81
2.1	Volumen de sedimentación y resuspendibilidad	81
2.2	pH	82
2.3	Densidad relativa	84
2.4	Viscosidad	86
2.5	Contenido químico de Selenio	90
2.6	Velocidad de Flujo	92
3.	Resultados de las pruebas en los animales de experimentación	95
3.1	Cabras	95
3.1.1	Cuantificación de los niveles de Selenio en sangre total	95
3.2	Corderos	105
3.2.1	Influencia del Selenio en el peso de los corderos	105
VI.	CONCLUSIONES	109
VII.	REFERENCIAS	113
VIII.	ANEXOS	123



ÍNDICE DE TABLAS

- TABLA 1. Propiedades del Selenio en la tabla periódica
- TABLA 2. Propiedades físicas y químicas del Selenio
- TABLA 3. Estados de oxidación de importancia biológica del Selenio
- TABLA 4. Características térmicas del Selenio
- TABLA 5. Diferentes compuestos orgánicos e inorgánicos que existen de Selenio
- TABLA 6. Isótopos del Selenio, donde el isótopo más usado es el ^{78}Se
- TABLA 7. Enfermedades más comunes relacionadas con la deficiencia de Selenio
- TABLA 8. Requerimientos de Selenio para ganado vacuno, lechero y ovino
- TABLA 9. Rangos de concentración del Selenio en suero, de acuerdo a la edad del animal
- TABLA 10. Métodos de suplementación de Selenio que existen en la actualidad
- TABLA 11. Presentaciones de diferentes inyectables de Selenio en el Prontuario de Especialidades Veterinarias Farmacéuticas, Biológicas y Nutricionales
- TABLA 12. Dos de los inyectables más usados en México, pero que no se mencionan en el PEV FBN
- TABLA 13. Presentaciones de inyectables de Selenio encontrados en Internet
- TABLA 14. Características generales del inyectable de Selenio de marca DEPOSEL
- TABLA 15. Especificaciones del equipo utilizado durante el desarrollo del inyectable
- TABLA 16. Especificaciones del material utilizado durante el desarrollo del inyectable
- TABLA 17. Especificaciones de los ingredientes de la formulación empleados en el inyectable
- TABLA 18. Especificaciones del equipo utilizado durante el análisis de muestras biológicas
- TABLA 19. Especificaciones de los reactivos utilizados durante el análisis de muestras biológicas
- TABLA 20. Especificaciones del material utilizado durante el análisis de muestras biológicas
- TABLA 21. Especificaciones de los gases utilizados durante el análisis de muestras biológicas
- TABLA 22. Datos generales del producto: Inyectable de Selenio
- TABLA 23. Ingredientes de la formulación, así como su función y cantidad en porcentaje (%)
- TABLA 24. Características generales de las suspensiones defloculadas
- TABLA 25. Datos generales de la formulación 1
- TABLA 26. Datos generales de la formulación 2
- TABLA 27. Datos generales de la formulación 3
- TABLA 28. Datos generales de la formulación 4
- TABLA 29. Datos generales de la formulación 5
- TABLA 30. Datos generales de la formulación 6
- TABLA 31. Datos generales de la formulación 7



TABLA 32. Especificaciones de los excipientes usados en la formulación, según la FDA y el Handbook of Pharmaceuticals Excipients

TABLA 33. Factores de cambio en el proceso de elaboración de los inyectables

TABLA 34. Resultados de las pruebas: volumen de sedimentación y resuspendibilidad

TABLA 35. Resultados de la prueba de pH

TABLA 36. ANOVA para el pH en función del contenido de Selenio en mg/mL

TABLA 37. Comparación múltiple del pH en función del contenido de Selenio (mg/mL)

TABLA 38. Resultados de la prueba de densidad relativa

TABLA 39. ANOVA para densidad relativa en función del contenido de Selenio en mg/mL

TABLA 40. Comparación múltiple de la densidad relativa (g/mL) en función del contenido de Selenio (mg/mL)

TABLA 41. Resultados de la prueba de viscosidad a 30 rpm

TABLA 42. Resultados de la prueba de viscosidad a 50 rpm

TABLA 43. ANOVA para viscosidad a 30 rpm en función del contenido de Selenio en mg/mL

TABLA 44. Comparación múltiple de la viscosidad a 30 rpm en función del contenido de Selenio (mg/mL)

TABLA 45. ANOVA para viscosidad a 50 rpm en función del contenido de Selenio en mg/mL

TABLA 46. Comparación múltiple de la viscosidad a 50 rpm en función del contenido de Selenio (mg/mL)

TABLA 47. Absorbancias de la curva de calibración

TABLA 48. Resultados de la concentración de Selenio en los inyectables

TABLA 49. Resultados de la prueba de velocidad de flujo

TABLA 50. ANOVA para velocidad de flujo en función del contenido de Selenio en mg/mL

TABLA 51. Comparación múltiple de la velocidad de flujo en función del contenido de Selenio (mg/mL)

TABLA 52. Absorbancias de las curvas de calibración empleadas para el análisis de las muestras de sangre

TABLA 53. Datos del análisis estadístico de las curvas de calibración empleadas

TABLA 54. Concentraciones de Selenio en sangre del grupo 1: tratamiento Se-FESC

TABLA 55. Concentraciones de Selenio en sangre del grupo 2: tratamiento MU-Se

TABLA 56. Concentraciones de Selenio en sangre del grupo 3: control, sin tratamiento

TABLA 57. ANOVA para niveles de Selenio en sangre (ppb) en función del tipo de suplementación

TABLA 58. Comparación múltiple de los niveles de Selenio en sangre en función del tratamiento

TABLA 59. Medias de los niveles de Selenio en sangre al 90% de confianza para el tratamiento FES-C

TABLA 60. Medias de los niveles de Selenio en sangre al 90% de confianza para el tratamiento MU-Se



TABLA 61. Medias de los niveles de Selenio en sangre al 90% de confianza para el grupo CONTROL
TABLA 62. Áreas bajo la curva de los niveles de Selenio para el tratamiento FES-C
TABLA 63. Áreas bajo la curva de los niveles de Selenio para el tratamiento MU-Se
TABLA 64. Áreas bajo la curva de los niveles de Selenio para el grupo CONTROL
TABLA 65. Grupo 2.1: control, sin suplementación de Selenio
TABLA 66. Grupo 2.2: tratamiento SELEJECT
TABLA 67. Grupo 2.3: tratamiento FES-C
TABLA 68. Ganancia de peso en los corderos de acuerdo a los diferentes tratamientos
TABLA 69. Niveles recomendados de vitamina E para dietas de animales jóvenes
TABLA 70. Dosis de vitamina E para animales jóvenes
TABLA 71. Concentraciones recomendadas según el Handbook of Excipients Pharmaceutics para el BHT
TABLA 72. Especificaciones farmacopéicas del BHT
TABLA 73. Concentraciones recomendadas según el Handbook of Excipients Pharmaceutics para la cutina
TABLA 74. Especificaciones farmacopéicas de la cutina
TABLA 75. Concentraciones recomendadas según el Handbook of Excipients Pharmaceutics para el metilparabeno
TABLA 76. Especificaciones farmacopéicas del metilparabeno
TABLA 77. Concentraciones mínimas Inhibitorias (MICs) del metilparabeno en solución acuosa
TABLA 78. Coeficientes de partición del metilparabeno en aceites vegetales y agua
TABLA 79. Solubilidad del metilparabeno
TABLA 80. Concentraciones recomendadas según el Handbook of Excipients Pharmaceutics para el myvacet
TABLA 81. Especificaciones farmacopéicas del myvacet
TABLA 82. Concentraciones recomendadas según el Handbook of Excipients Pharmaceutics para el propilparabeno
TABLA 83. Especificaciones farmacopéicas del propilparabeno
TABLA 84. Concentraciones mínimas inhibitorias (MICs) para el propilparabeno en solución acuosa
TABLA 85. Coeficientes de partición del propilparabeno en aceites vegetales y agua
TABLA 86. Solubilidad del propilparabeno
TABLA 87. Especificaciones farmacopéicas de la triacetina
TABLA 88. Solubilidad de la triacetina



ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Símbolo, nombre, peso molecular y número atómico del Selenio

FIGURA 2. Músculo blanco: haces de fibras musculares esqueléticas con fenómenos degenerativos y calcificación distrófica

FIGURA 3. Músculo del corazón de un cordero mostrando las lesiones de la enfermedad del músculo blanco

FIGURA 4. Músculos pélvicos de una oveja parida padeciendo la enfermedad del músculo blanco

FIGURA 5. Cordero mostrando claros signos de dificultad locomotora

FIGURA 6. Sitios de aplicación para la administración de formas farmacéuticas con Selenio

FIGURA 7. Capas de la piel

FIGURA 8. Técnica para la aplicación de una inyección vía subcutánea

FIGURA 9. Tejido subcutáneo hasta donde debe de llegar la aguja, para depositar el inyectable y formar el depósito

FIGURA 10. Potenciómetro: pH meter Model 7, CORNING

FIGURA 11. Picnómetro de vidrio para la determinación de la densidad relativa

FIGURA 12. Viscosímetro BROOKFIELD

FIGURA 13. Representación para medir el volumen de sedimentación

FIGURA 14. Representación para evaluar la facilidad de resuspendibilidad

FIGURA 15. Representación para determinar la velocidad de flujo

FIGURA 16. Dimensiones del material para la evaluación de la velocidad de flujo

FIGURA 17. Gráfico de barras del pH promedio de las formulaciones 5, 6 y 7

FIGURA 18. Medias de pH trazadas a un nivel de confianza del 95.0%

FIGURA 19. Gráfico de barras de la densidad relativa promedio de las formulaciones 5, 6 y 7

FIGURA 20. Medias de densidad relativa trazadas a un nivel de confianza del 95.0%

FIGURA 21. Gráfico de barras de la viscosidad a una velocidad de 30 rpm

FIGURA 22. Gráfico de barras de la viscosidad a una velocidad de 50 rpm

FIGURA 23. Medias de viscosidad a 30 rpm trazadas a un nivel de confianza del 95.0%

FIGURA 24. Medias de viscosidad a 50 rpm trazadas a un nivel de confianza del 95.0%

FIGURA 25. Gráfico correspondiente a los datos de la curva de calibración

FIGURA 26. Gráfico de barras del contenido químico de Selenio en las formulaciones 5, 6 y 7

FIGURA 27. Gráfico de barras de la velocidad de flujo de los inyectables 5, 6 y 7

FIGURA 28. Medias de velocidad de flujo (g/mL) trazadas a un nivel de confianza del 95.0%

FIGURA 29. Gráfico de residuales de las curvas de calibración empleadas para el análisis de muestras



FIGURA 29. Gráfico perteneciente a la curva de calibración 1

FIGURA 30. Gráfico perteneciente a la curva de calibración 2

FIGURA 32. Gráfico perteneciente a la curva de calibración 3

FIGURA 33. Medias de los niveles de Selenio en sangre (ppb) trazadas a un nivel de confianza del 95.0%

FIGURA 34. Medias de los niveles de Selenio en sangre (ppb) trazadas a un nivel de confianza del 90.0%

FIGURA 35. Medias de los niveles de Selenio en sangre (ppb) trazadas de los tres tratamientos a un nivel de confianza del 90%

FIGURA 36. Diagramas de caja y bigotes de los diferentes tratamientos en las cabras

FIGURA 37. Gráfico de la ganancia de peso de los tres grupos de corderos

FIGURA 38. Mecanismo postulado por Hokestra en 1974. Explica las interacciones del Selenio y la vitamina E



ABREVIATURAS

ABC	Área bajo la curva
Abs	Absorbancia
BP	Farmacopea Británica
cp	Centipoises
DW	Durbin-Watson
EAA	Espectrofotometría de absorción atómica
F	Formulación
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramos
GH	Generador de hidruros
GSH-Px	Glutación peroxidasa
Ha	Hipótesis alterna
Ho	Hipótesis nula
IM	Intramuscular
IV	Intravenosa
JP	Farmacopea Japonesa
kJ	Kilo joule
LIP	Límite inferior de la pendiente
LSP	Límite superior de la pendiente
M	Molar
m/m	Masa en masa
m/v	Masa en volumen
min.	Minutos
mL	Mililitros
Nac.	Nacimiento
NRC	National Research Council
Ph Eur	Farmacopea Europea
P. M.	Peso molecular
PMV	Prontuario Médico Veterinario
ppb	Partes por billón
ppm	Partes por millón
R. A.	Reactivo analítico



ABREVIATURAS

rpm	Revoluciones por minuto
SC	Subcutánea
Se	Selenio
USP	Farmacopea de Estados Unidos
W	Wats
v/v	Volumen en volumen
WMD	Distrofia muscular nutricional
°C	Grados Celcius
°F	Grados Fahrenheit
µg	Microgramos
µL	Microlitros
Nº	Número
%	Porciento

INTRODUCCIÓN.

El Selenio (Se) es un elemento traza esencial en los animales y los humanos para algunas funciones corporales, tales como el crecimiento, la reproducción, la prevención de enfermedades y la protección de la integridad de los tejidos, ya que es incorporado dentro de la molécula de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) la cual es vital para proteger a los glóbulos rojos y membranas celulares contra las reacciones indeseables con peróxidos solubles que se acumulan en el tejido (Sarabia, 2004).

El Selenio se requiere suplementar en nuestro país; especialmente en especies rumiantes, avícolas y porcinas. Los pequeños rumiantes son principalmente susceptibles a una deficiencia de Selenio, ya que la cantidad depende de ciertos factores como son; su estado fisiológico, de salud y de la cantidad de Selenio que contengan los forrajes que consumen, que éstos a su vez, dependen de las concentraciones y otros agentes de disponibilidad que se encuentran en el suelo.

La deficiencia de Selenio en los pequeños rumiantes ocasiona problemas de salud graves, que pueden manifestarse en muerte embrionaria, retención placentaria, neonatos débiles, enfermedad del músculo blanco, alta incidencia de mastitis y desórdenes en la fertilidad. Enfermedades que afectan al ganado en varias regiones del centro y norte de la República Mexicana (Valadez, 2005; Sarabia, 2004).

Por estos motivos, hoy en día es necesario hacer uso de suplementos minerales que cubran los requerimientos de los animales para un mantenimiento y producción animal adecuados (Wyatt, 1996).

En la actualidad existen diferentes presentaciones químicas de Selenio para suplementar al ganado, y son de fuentes inorgánicas o fuentes orgánicas. Además de diferentes formas como son: premezclas añadidas en el alimento, adición de Selenio al agua de beber, suplementación de los fertilizantes antes o durante la siembra, bolos de liberación lenta y formulaciones inyectables intramusculares o subcutáneas. Sin embargo se busca un método con el que sea posible dosificar con precisión, reducir la frecuencia del



tratamiento y mano de obra para el manejo de los animales, además de ser eficiente, que disminuya la incidencia del trauma en el animal, y que ofrezca disponibilidad por periodos prolongados. Un ejemplo de lo mencionado es el empleo de inyecciones subcutáneas de liberación lenta.

En este trabajo se desarrolló un inyectable de liberación lenta de Selenio para una administración subcutánea, para la suplementación de Selenio inorgánico en pequeños rumiantes (ovejas y cabras). Y la razón más importante del desarrollo de ésta forma farmacéutica es la optimización de la terapia (Desmond, 2002). Dado que las formas farmacéuticas por vía parenteral presentan una serie de ventajas como son: la elevada biodisponibilidad, la ausencia del efecto del primer paso, el acceso del principio activo a la circulación sistémica sin necesidad de salvar barreras fisiológicas y la posibilidad de controlar la liberación de moléculas durante largos periodos de tiempo (varios meses) (Vila J., 2001).

Así con este trabajo se intenta continuar con la investigación del Selenio en formas farmacéuticas en beneficio del área veterinaria, específicamente en los pequeños rumiantes (ovinos y cabras), que aportará avances en el manejo y control de enfermedades que permitirán hacer más eficiente la producción y aumentar sus niveles, para el beneficio del hombre y la ciencias del área de la salud animal.

I. OBJETIVOS



OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una formulación inyectable de Selenito de sodio que libere lentamente por vía subcutánea en pequeños rumiantes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar una búsqueda de información referente a inyectables con Selenio, para establecer las condiciones de elaboración del inyectable de Selenito de sodio a desarrollar.
2. Seleccionar el tipo y cantidad de excipientes para la formulación, que permitan una lenta liberación del Selenito de sodio vía subcutánea, en pequeños rumiantes.
3. Definir condiciones de operación del proceso de elaboración del inyectable en función de la viscosidad y velocidad de flujo del producto para facilitar su dosificación.
4. Evaluar los niveles de Selenio en sangre de cabras, administradas con el inyectable desarrollado y comparar con un inyectable de selenio de marca MU-Se.
5. Evaluar el peso de corderos administrados con el inyectable desarrollado y comparar los resultados con un inyectable de marca Seleject.

OBJETIVO ACADÉMICO

Presentar un caso de estudio para el desarrollo de un inyectable con Selenio de lenta liberación en cabras y borregos que le permita al estudiante de la carrera de Q.F.B. apoyar su formación en el campo de desarrollo de nuevos productos farmacéuticos.

OBJETIVO SOCIAL

Estudiar la factibilidad de poner a disposición de médicos veterinarios un producto para suplementar selenio con mayor facilidad de administración y contribuir así a resolver problemas de salud en los animales destinados a consumo humano.

II. MARCO TEÓRICO

II. MARCO TEÓRICO

1. GENERALIDADES DEL SELENIO

Existen minerales esenciales para el crecimiento, mantenimiento de la salud y el buen desempeño de las funciones bioquímicas y fisiológicas de todos los animales y humanos, dentro de los cuales se encuentra el Selenio.

El Selenio es un elemento traza esencial para los seres vivos; varios efectos han sido atribuibles a la deficiencia de Selenio en el ganado. Uno de ellos es la enfermedad del músculo blanco caracterizada por degeneración del miocardio en terneros y de los músculos esqueléticos estriados en corderos, por lo que hay rigidez y dificultad en la locomoción, y es más común en animales jóvenes que en adultos. En efecto el mayor porcentaje de mortalidad en corderos ocurre durante la etapa perinatal y neonatal, y más de la mitad de las muertes se presentan en la primera semana de vida. Una deficiencia de Selenio también causa retardo en el crecimiento de corderos y terneros, el cual varía desde crecimiento subnormal a condiciones de deterioro severo con rápida pérdida de peso (Voudouri et al., 2003).

Inicialmente, el Selenio fue considerado como un elemento altamente tóxico y carcinogénico; ya que este micronutriente presenta un estrecho margen de seguridad entre los niveles requeridos y los niveles tóxicos. Así niveles sanguíneos de 0.2 ppm causan deficiencia, mientras que dosis superiores de 5 ppm producen selenosis (Deore et al., 2005). Sin embargo, la deficiencia de Selenio produce diferentes anormalidades tanto en animales como en humanos.

El significado biológico de éste elemento no fue descubierto hasta 1856, que fue identificado como el agente tóxico asociado con la enfermedad alcalina, actualmente denominada selenosis, causada por el consumo de plantas en los territorios de Dakota y Wyoming en Estados Unidos. Hasta el año de 1957 se consideraba que la única importancia del Selenio estaba relacionada con su toxicidad. Pero en ese mismo año, Schuartz y Foltz reportaron que el Selenio era un mineral traza esencial y los nutricionistas partieron de este reporte para iniciar estudios extensivos para descubrir la función metabólica del Selenio y documentar las consecuencias de su deficiencia en alimentos para animales y humanos (Edens, 2002).



2. DISTRIBUCIÓN GEOLÓGICA DEL SELENIO

En el orden de abundancia de los elementos, el Selenio ocupa el sexagésimo noveno lugar, por lo tanto, es un elemento bastante escaso ya que su contenido en la corteza terrestre es de 0.09 ppm. Se localiza distribuido en pequeñas cantidades en los suelos, tanto forestales como agrícolas por lo general se encuentra constituyendo una mayor parte de 40 minerales y en menor parte de otros 37. Así, este elemento se localiza en mayor cantidad en suelos de rocas ígneas y sedimentarias, las concentraciones más frecuentes van de 0.1-2 ppm, aunque puede variar dependiendo de la región, dado que existen suelos que por su naturaleza son seleníferos y son de tipo alcalino, conteniendo gran cantidad de carbonato de calcio en forma libre. Este tipo de suelos se presentan en regiones de baja precipitación, normalmente a 8 mm de precipitación anual (NRC, 1980).

2.1 FUENTES DE SELENIO

La deficiencia de Selenio a nivel mundial es un problema geográfico. Hay áreas muy amplias en las cuales muchos granos y forrajes son bajos en Selenio en relación con las necesidades alimenticias del ganado (Bratakos y Ioannou, 1989; Ermakov, 1992; Lag, 1998; Maksimović y Djujić, 1992; Hintze et al., 2001; Tan et al., 2002; Wang et al., 2003). El Selenio está amplia pero variablemente distribuido en la corteza de la Tierra, con una abundancia promedio de cerca de 0.4 ppm. La concentración de Selenio en la mayoría de los suelos oscila entre 0.1 y 2 ppm (Sarabia-Martínez, 2004).

2.1.1 FUENTES NATURALES

La principal fuente natural de Selenio elemental son los suelos compuestos de selenitos, compuestos orgánicos y de Selenio férrico, también están las piritas seleníferas y grandes cantidades de pastos y hierbas acumuladoras de Selenio. Asimismo, existen las plantas de mayor acumulación como; *Astragalus*, *Oenothera*, *Stanleya haplopappos*, *Xylorrhiza* y *Machaeranthera*, conteniendo de 100 - 100,000 mg Se/ kg en materia seca (M. S.), continuándoles con una acumulación alta; *Aster spp*, *Gutierrezia spp*, *Atriplex spp*, *Grindelia spp*, *Castilleja spp* y *Comandra pallida* con niveles de 25 – 100 mg Se/ kg en M. S. finalmente las plantas consideradas no acumuladoras de Selenio tienen menos de 25 mg Se/ kg en M. S. (Humphreys, 1988; NRC, 1980).

Agricultura y ganadería: El Selenio igualmente se encuentra presente en diferentes alimentos como la alfalfa, cebada, maíz, trigo, soya, y otras semillas, subproductos de origen animal como harinas, carne, pescado y subproductos de avicultura. La concentración depende de la zona geográfica en cuestión (EVM, 2003).

Los complejos de Selenio orgánico y los aminoácidos que contienen Selenio son considerados los más biodisponibles. El Selenio presente en las levaduras naturales está habitualmente en forma de seleniometionina, donde el Selenio reemplaza al azufre en la molécula de metionina (Combs, 1986).

3. PROPIEDADES GENERALES DEL SELENIO

3.1 SELENIO

El Selenio fue descubierto en el año de 1817 por Jöns Jakob Berzelius, en Estocolmo, Suecia. El origen del nombre viene de la palabra griega *selene* que su significado es *la luna* (I.F.A.S.).

El Selenio posee propiedades metálicas y no metálicas, existe en varias formas alotrópicas (polvo rojo amorfo o vítreo, rojo cristalino, gris metálico y el Selenio negro que es la variedad metálica, en estado muy fino de subdivisión). Está relacionado con el azufre, el oxígeno y el telurio, con los que forma el grupo VI-A de la tabla periódica.

3.1.1 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

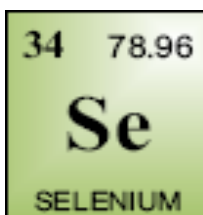


Figura 1. Símbolo, nombre, peso molecular y número atómico del Selenio
(<http://www.ktf-split.hr/periodni/en>)



Tabla 1. Propiedades del Selenio en la tabla periódica
(Tabla periódica de los elementos **Selenio**, 2005)

PROPIEDADES EN LA TABLA PERIÓDICA			
Número atómico	34	Símbolo	Se
Número de grupo	16	Número de periodo	4

Tabla 2. Propiedades físicas y químicas del Selenio
(Tabla periódica de los elementos **Selenio**, 2005)

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS			
Masa atómica relativa	78.96	Densidad	4790 g/dm ³
Estados de oxidación	-2 +4 +6	Electronegatividad	2.55
Conductividad térmica	2.04 W/m ² K	Estado a 20 °C	Sólido
Radio atómico	116 P.M.	Volumen molar	16.48 cm ³ /mol

Tabla 3. Estados de oxidación de importancia biológica del Selenio
(Tabla periódica de los elementos **Selenio**, 2005)

ESTADOS DE OXIDACIÓN DE IMPORTANCIA BIOLÓGICA	
NOMBRE	ESTADO
Seleniuro	Se ⁻²
Selenio elemental	Se ⁰
Selenito	Se O ₃ (como Se ⁺⁴)
Selenato	Se O ₄ (como Se ⁺⁶)

Tabla 4. Características térmicas del Selenio
(Tabla periódica de los elementos **Selenio**, 2005)

CARACTERÍSTICAS TÉRMICAS			
Punto de fusión	221 °C	Calor de fusión	5.1 mol/kJ
Punto de ebullición	685 °C	Calor de vaporización	90 mol/kJ
Temperatura crítica	1484 °C	Calor de atomización	226.4 mol/kJ

Tabla 5. Diferentes compuestos orgánicos e inorgánicos que existen de Selenio
(Sigma 2005-2006)

COMPUESTOS QUE CONTIENEN SELENIO		
NOMBRE	TIPO DE COMPUESTO	FÓRMULA CONDENSADA
Dióxido de Selenio	Inorgánico	SeO ₂
Sulfuro de Selenio	Inorgánico	Se S ₂
Selenio cistamina dihidroclorada	Orgánico	C ₄ H ₁₂ N ₂ Se ₂ · 2HCl
DL-Seleniocisteína	Orgánico	C ₆ H ₁₂ N ₂ O ₄ Se ₂
6-Seleniogaunosina	Orgánico	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄ Se
6-Selenioniosina	Orgánico	C ₁₀ H ₁₃ N ₄ O ₄ Se
L-Seleniometionina	Orgánico	C ₅ H ₁₁ NO ₂ Se
DL-Seleniometionina	Orgánico	C ₅ H ₁₁ NO ₂ Se
6-Seleniopurina	Orgánico	C ₅ H ₄ N ₄ Se
Ácido selenioso	Inorgánico	H ₂ SeO ₃
Metil-seleniocsteína hidroc lorada	Orgánico	C ₄ H ₉ NO ₂ Se · HCl
Selenato de sodio	Inorgánico	Na ₂ SeO ₄
Selenito de sodio	Inorgánico	Na₂SeO₃
Oxiclورو de Selenio	Inorgánico	SeOCl ₂
Tetrabromuro de Selenio	Inorgánico	SeBr ₄

Tabla 6. Isótopos del Selenio, donde el isótopo más usado es el ⁷⁸Se
(Tabla periódica de los elementos **Selenio**, 2005)

ISÓTOPOS DEL SELENIO		
ISÓTOPO	MASA ATÓMICA	ABUNDANCIA (%)
⁷⁴ Se	73.922477	0.89
⁷⁶ Se	75.919214	9.36
⁷⁷ Se	76.919915	7.63
⁷⁸ Se	77.917310	23.78
⁸⁰ Se	79.916522	49.61
⁸² Se	81.916700	8.73

4. FUNCIONES DEL SELENIO

4.1 ANTECEDENTES

El Selenio constituye uno de los elementos indispensables para los animales. Su función fisiológica se descubrió en 1973, en donde se determinó que era un constituyente principal de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) (Köhrle, 1999), dichas funciones biológicas están mediadas a través de al menos 13 selenoproteínas como selenocisteína. En los ochentas, se descubrió una gran cantidad de selenoproteínas, lo cual indica que el Selenio no desempeña un papel restringido a una función antioxidante (Tinggi, 2003).

En nuestro país, la deficiencia de Selenio se ha reportado en forrajes y ganado rumiante de Veracruz, Hidalgo, Texcoco, Toluca y Tlaxcala (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001b; Werner, 1988). También, primordialmente en el suroeste de Tlaxcala, donde la principal causa de muerte en corderos estaba asociada a distrofia muscular o enfermedad del músculo blanco, padecimiento asociado a la deficiencia de Selenio (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001a). Recientemente se ha manifestado la necesidad de la suplementación de Selenio en el Altiplano Mexicano; Puebla y Tlaxcala (Bribiesca *et al.*, 2004); sin embargo su papel como elemento tóxico puede ser de gran importancia en regiones de altas concentraciones de este elemento en los suelos como es el caso de algunas regiones de México; especialmente Zacatecas (Gartenberg *et al.*, 1990).

Se sabe que la carencia de Selenio en la dieta produce diferentes alteraciones patológicas, de las cuales la más importante es la enfermedad del músculo blanco. Lo que conduce a una liperoxidación tisular, que da lugar a una degeneración hialina y finalmente a la calcificación de las fibras musculares, que es la lesión más característica de la enfermedad (Enfermedad del Músculo Blanco, 2005).



Figura 2. Músculo blanco: haces de fibras musculares esqueléticas con fenómenos degenerativos y calcificación distrófica

4.2 METABOLISMO DEL SELENIO

4.2.1 ABSORCIÓN

Actualmente, no se cuenta con una extensa información sobre la eficiencia de la absorción de Selenio en los rumiantes. La digestibilidad aparente del Selenio en forrajes y concentrados está entre el 30 y 60 % para ovejas, cabras y vacas lecheras no lactantes. Datos limitados sugieren que la digestibilidad verdadera del Selenio a partir de los alimentos está entre 40 y 65 % para rumiantes. El Selenio como selenito de sodio, selenato de sodio y Selenio de levaduras tienen digestibilidades aparentes para rumiantes en un rango del 40 al 50 %.

La absorción de Selenio es significativamente más baja en rumiantes que en animales monogástricos del 29 – 35 % y del 77 al 85 % respectivamente, cuando es administrado como selenito por vía oral.

El principal sitio de absorción del Selenio es el duodeno la cantidad absorbida depende de la forma química en la cual es consumido, donde la forma orgánica del Selenio es la que mejor se absorbe. La diferencia de absorción es debida a la mayor pérdida del elemento ocasionada por los microorganismos del rumen, que convierten una porción de Selenio en formas insolubles (Selenio elemental y seleniuros) y otra porción la incorporan a sus proteínas para la formación de algunos selenoaminoácidos como seleniometionina y selenocistina (Harrison y Conrad, 1984a, 1984b; Hansard, 1983; Langlands, 1986; Combs et al., 1987).

Por lo tanto el Selenio se absorbe principalmente por el tracto gastrointestinal entre el duodeno y el íleon, para posteriormente distribuirse por todo el organismo.

4.2.2 DISTRIBUCIÓN

El Selenio se incorpora a las células rojas sanguíneas, leucocitos, mioglobulina, nucleoproteínas, miosina y varias enzimas, que incluyen el citocromo C. Asimismo, el Selenio penetra a todos los tejidos donde se almacena principalmente como seleniometionina y seleniocisteína, primordialmente en el riñón donde alcanza la máxima concentración de Selenio seguido por el hígado y otros tejidos glandulares como el bazo, páncreas y tiroides en los rumiantes. El músculo cardíaco contiene una cantidad de Selenio apreciablemente mayor que la de los músculos esqueléticos; los tejidos intestinales y pulmonares pueden ser



relativamente ricos en Selenio, mientras que su contenido es bajo en los tejidos nervioso y adiposo (Ullrey y col., 1980). El Selenio tisular alcanza mayores concentraciones en corderos o novillos alimentados con dietas que contienen Selenio natural que cuando el mismo nivel de Selenio se proporciona mediante la suplementación de dietas pobres en Selenio con selenito de sodio. La lana y el pelo podrían tener concentraciones relativamente elevadas (Sunde, 1997; De Blas, 1986; Church, 1992).

La transferencia placentaria de Selenio en su forma orgánica tal como selenocistina o seleniometionina con Se^{75} marcado es transferido mas fácilmente a través de la placenta que el selenito con Se^{75} en el ganado vacuno, lo que se demostró al prevenir la distrofia muscular en los corderos y en los terneros al suministrarle Selenio a la madre preñada y a través de estudios de rastreo radioactivo. La seleniometionina se transfiere mucho más fácilmente al feto que el Selenio inorgánico (Church, 1992).

Los niveles de Selenio en sangre son variables dependiendo de la dieta y otros factores, la mayor parte del Selenio que se presenta en el plasma y en los eritrocitos de las ovejas se asocia con la selenoenzima glutathion peroxidasa (GSH-Px), la actividad de esta enzima de los eritrocitos mantiene una elevada correlación con la concentración de Selenio en sangre completa. Así, la GSH-Px tisular responde de forma diferente ante diversos niveles de Selenio dietético dependiendo del tejido específico, la edad del animal o tipo de dieta.

4.2.3 EXCRECIÓN

Las pérdidas del Selenio se efectúan a través de los pulmones, heces y orina. La velocidad de excreción así como las cantidades relativas que pueden excretarse por cada ruta dependen de la vía de administración, la dosis, los niveles tisulares y la especie animal, así como también de las concentraciones previas a la exposición, el grado de exposición, el tiempo de exposición y la actividad física (NRC, 1983).

El Selenio es excretado por vía renal (Hoeckstra, 1974), pero también por la bilis aunque la cantidad de Selenio es muy pequeña, en promedio menor al 2 % de una dosis intravenosa de Selenio. Las heces constituyen la principal vía de excreción del Selenio administrado por vía oral, en contraste con lo que sucede con animales monogástricos en los que predomina la excreción de Selenio con la orina. En el caso del Selenio administrado por vía parenteral se excreta en mayor cantidad por la orina y en menor cantidad por las heces (Church, 1992).

Las pérdidas fecales indican principalmente, el Selenio que no se absorbe pero que también se excreta por la bilis del conducto pancreático y de las células mucosas intestinales (Hill, 1987; Korening, 1991).

4.2.4 MECANISMO DE ACCIÓN

El Selenio actúa en el organismo de los pequeños rumiantes mediante un mecanismo de acción específico de tipo enzimático, ya que está mediado por un receptor el cual consiste principalmente en alterar un sistema enzimático, específicamente en la enzima GSH-Px.

Ya que el Selenio es una parte esencial de la enzima GSH-Px, conteniendo 4g de átomos de Selenio por mol de la enzima (Rotruck et al., 1973). Esta enzima actúa como parte de los mecanismos antioxidantes del organismo, éstas son capaces de reducir la cantidad de peróxidos intra y extracelularmente (Allan et al., 1999). La glutatión peroxidasa extracelular se localiza en plasma, y protege las membranas celulares y subcelulares contra daños por oxidación y como parte de la GSH-Px, funciona destruyendo los peróxidos antes de que estos ataquen la membrana celular de los eritrocitos. También, estas enzimas constituyen un almacén de Selenio en el organismo.

Algunas otras funciones del Selenio según la NRC de 1983 son:

- Formar parte de una selenoproteína en el espermatozoide que sirve como proteína estructural de la mitocondria o como enzima.
- Está presente en el RNA debido a que el Selenio puede ser incorporado a las purinas o pirimidinas.
- Puede tener un papel en la síntesis de prostaglandinas y en el metabolismo de los ácidos grasos esenciales.
- El Selenio y la vitamina E son necesarios para una respuesta inmunológica normal en los animales de granja (Raya, 2004) .



5. FACTORES QUE INTERVIENEN EN EL METABOLISMO DEL SELENIO

Existen diversos factores que influyen en el metabolismo del Selenio. Algunos de estos factores son: la forma química del Selenio, presencia de azufre, arsénico, microorganismos, vitamina E y la ingestión previa de Selenio.

5.1 MICROORGANISMOS DEL RUMEN

Los microorganismos del rumen probablemente son los responsables de la absorción del Selenio en rumiantes cuando es administrado por vía oral. Donde el Selenio es reducido por los microorganismos ruminales durante el proceso de fermentación, muchos reportes mencionan que los microorganismos ruminales tienen la capacidad de incorporar Selenio dentro de sus células durante el crecimiento, así como convertir el Selenio a formas no disponibles como parte de un mecanismo de detoxificación. En un experimento in vitro, Serra y colaboradores en 1997 encontraron que más del 40 % de Selenio es convertido a Selenio insoluble cuando los microorganismos ruminales se incuban con selenito.

Aunque los microorganismos convierten una porción de Selenio a formas insolubles, también lo incorporan dentro de las proteínas.

5.2 INFLUENCIA DEL AZUFRE

Los análogos azufrados de los compuestos de Selenio tienen una gran influencia sobre el metabolismo del Selenio. Paulson en 1966 encontró que hay poca diferencia en la captación de Selenio en los tejidos cuando las ovejas lactantes son alimentadas con dietas que contienen entre 0.28 y 0.62 % de azufre, cuando era dosificado intraruminalmente con selenato-Se⁷⁵.

5.3 INFLUENCIA DEL ARSÉNICO

Diversas formas químicas de arsénico incluyendo determinados arsenicales orgánicos, son efectivos contra la intoxicación por Selenio. En la situación contraria, también se ha demostrado que el Selenio incrementa la excreción biliar de arsénico. Sin embargo, el arsénico no puede llevar a cabo las funciones metabólicas del Selenio.

5.4 INGESTIÓN PREVIA DE SELENIO

La ingestión previa de Selenio es importante tomarla en cuenta antes de suplementar al animal, ya que puede influir de manera importante en la salud de los animales.

Las concentraciones de Selenio en plasma o suero reflejan más exactamente los niveles reales de suplementación y son más sensibles a los cambios en la suplementación a diferencia de la concentración de Selenio en la sangre completa. Ya que esta última refleja la suplementación previa o histórica debido a que el Selenio en GSH-Px es incorporado dentro de los eritrocitos durante su formación.

5.5 INFLUENCIA DE LA VITAMINA E

Diversas investigaciones demostraron que los suplementos de vitamina E están asociados con aumentos, sobre la retención de Selenio en ovejas. Y de manera contraria, ovejas tratadas con Selenio pueden descender los niveles de vitamina E en el suero. Esto indica que el Selenio tiene un efecto sobre el reparto de la vitamina E tisular, ya que los descensos de vitamina E en el plasma al aumentar el Selenio de la dieta están acompañados de una mayor deposición de vitamina E, en tejidos tales como músculos esqueléticos, páncreas y riñón. Sin embargo, otros informes indican que es muy escaso el efecto del Selenio sobre el metabolismo del tocoferol. No obstante, las cantidades relativas de Selenio y vitamina E que han sido administradas, así como la vía de administración, las dietas y la edad de los animales pueden haber contribuido a estas diferencias.

El Selenio como componente de GSH-Px, desempeña en unión con la vitamina E un papel importante en la protección de las membranas biológicas de la alteración peroxidativa. Tanto la vitamina E como GSH-Px protegen contra la acumulación excesiva de hidroperóxidos orgánicos aunque mediante mecanismos diferentes; la vitamina E evita la formación de estos productos altamente tóxicos y GSH-Px los convierte en alcoholes menos nocivos.

Aunque se ha establecido que existe relación metabólica entre el Selenio y la vitamina E (Hoekstra, 1975), niveles moderados de vitamina E aparentemente disminuyen la volatilización de Selenio en ratas e incrementa la retención de Selenio en el hígado. Además, supuestamente el estado de la vitamina E del animal afecta el estado de oxidación del Selenio en los tejidos (Diplock, 1973).



6. PROBLEMAS ASOCIADOS A LA DEFICIENCIA DE SELENIO EN RUMIANTES

La deficiencia de Selenio en pequeños rumiantes, provoca una disminución en la actividad sanguínea de la enzima antioxidante GSH-Px, la cual está relacionada con el normal funcionamiento del sistema inmunológico y del tracto reproductivo tanto en machos como en hembras.

La deficiencia de Selenio se ha reportado en forrajes de Veracruz (Barradas, 1980), Hidalgo (Spross, 1982; Strouth, 1985), Texcoco e Hidalgo (Escobosa et al., 1978), Toluca (Díaz et al., 1994) y Tlaxcala (Ramírez, 1995). Estos problemas están asociados a carencias de Selenio en el suelo (Ramírez, 1995; Díaz et al., 1994). La deficiencia afecta en Tlaxcala a caprinos (Ramírez, 1995), ovinos (Díaz et al., 1994) y bovinos (Rosiles et al., 1993; De Aluja, 1981). Se ha documentado que la deficiencia de Selenio conlleva a una gran variedad de problemas médicos como los que se mencionan en la siguiente tabla.

Tabla 7. Enfermedades más comunes relacionadas con la deficiencia de Selenio

ENFERMEDAD O CONDICIÓN	PRINCIPALES SIGNOS CLÍNICOS
Enfermedad del músculo blanco	Rigidez, músculos esqueléticos y/o cardiacos afectados. Los signos varían de muerte súbita a debilidad crónica
Retención placentaria	Placenta retenida
Abortos, mortinatos	Abortos, muerte del neonato
Debilidad neonatal	Los becerros y los corderos nacen débiles
Diarrea	La diarrea es profusa y hay pérdida de peso en el ganado
Desmedro	Disminución en la eficiencia, en el peso y pobre apariencia corporal
Sistema inmune comprometido	Respuesta inmune suprimida a vacunas y microorganismos ambientales
Infertilidad	Disminución en la tasa de concepción, ciclos estrales irregulares y muerte embrionaria temprana

La mayoría de veces, los signos de deficiencias de Selenio son más notables en las hembras y sus crías. Debido a las altas demandas para el crecimiento y la dependencia de una única fuente de alimento (leche), la cría probablemente sea la más susceptible a la deficiencia de Selenio. Dado que, depende del contenido de Selenio en la leche de la madre de mismo modo que durante el desarrollo fetal (Serra et al., 1996).

Algunos de los signos de una deficiencia marcada de Selenio en los rumiantes incluyen: El crecimiento reducido y la distrofia muscular de carácter nutricional que frecuentemente es denominada enfermedad del músculo blanco en corderos y terneros. En los animales adultos, el principal signo es la baja tasa de reproducción.

6.1 DISTROFIA MUSCULAR NUTRITIVA

La distrofia muscular nutritiva es una enfermedad degenerativa, conocida también como enfermedad del músculo blanco o enfermedad de los corderos rígidos, es una consecuencia de la deficiencia de Selenio en la dieta. Aparece en muchas zonas del mundo, originando pérdidas graves en animales jóvenes, y se presenta en dos formas:

- La primera es congénita; en la cual los terneros y corderos nacen muertos o mueren pocos días después de nacidos
- La segunda es retardada; se desarrolla después del nacimiento

La enfermedad del músculo blanco aparece principalmente en corderos de 3 - 6 semanas de edad y en terneros de 1 - 4 meses de edad, aunque pueden ser susceptibles ovejas más viejas, corderos destetados y carneros con varios meses de edad. De forma ocasional se presenta en ovejas gestantes o lactantes.

La enfermedad del músculo blanco se caracteriza por una degeneración de los músculos esqueléticos estriados y cardíacos, por la degeneración bilateral simétrica de la musculatura estriada. En casos muy graves el músculo aparece decolorado hasta ser casi blanco, presentando áreas de necrosis no inflamatoria. La parte más afectada del corazón suele ser el ventrículo derecho (Raya, 2004)



Figura 3. Músculo del corazón de un cordero mostrando las lesiones de la enfermedad del músculo blanco (I.F.A.S.)



La degeneración muscular provoca debilidad, rigidez y deterioro de los músculos, originando principalmente una dificultad en la locomoción. Los animales tienden a mantener sus extremidades posteriores remetidas hacia delante y las anteriores más hacia atrás de lo normal. En general, la alteración de los músculos esqueléticos es más grave en los corderos y la lesión cardíaca predomina en los terneros.

En los terneros, los músculos de la lengua pueden ser afectados, de tal manera que los animales no pueden mamar. En algunos casos, los animales pueden morir repentinamente debido a un paro cardíaco a consecuencia del daño a la musculatura del corazón. En casos no muy severos, en los cuales los terneros están rígidos y tienen dificultad para mantenerse de pie, la administración de inyecciones de selenio y vitamina E mejora de manera rápida la condición de los animales. Esta respuesta también es observada en los corderos y cabritos.

Figura 4.



Músculos pélvicos de una oveja parida padeciendo la enfermedad del músculo blanco

Figura 5.



Cordero mostrando claros signos de dificultad locomotora (FDA).

6.2 BAJA PRODUCTIVIDAD

Otro síntoma de la deficiencia de Selenio es la baja productividad, la cual se observa principalmente en los corderos y cabritos bajo condiciones de pastoreo, esta deficiencia de Selenio se acompaña algunas veces de fertilidad reducida en ovejas y vacas. La alteración de la fertilidad en la deficiencia de Selenio se ve asociada con pérdidas embrionarias.

En zonas deficientes de Selenio la administración oral de Selenio a las ovejas antes del parto ha mejorado la tasa de concepción, ha reducido la mortalidad embrionaria y ha aumentado el porcentaje de nacimientos como la tasa de partos gemelares. Incluso si la inyección de Selenio y vitamina E a las ovejas antes del parto no aumenta el número de corderos, puede mejorar la supervivencia de los corderos previa al destete. La infertilidad dependiente del Selenio es más frecuente en ovejas que en otros rumiantes domésticos.

6.3 RETENCIÓN PLACENTARIA

El efecto negativo de la deficiencia de Selenio en la reproducción incluye la retención de placenta, así en rebaños lecheros que han padecido la enfermedad del músculo blanco, se ha observado una elevada incidencia de retenciones de placenta, por lo que se ha considerado la posibilidad de que se trate de una deficiencia de Selenio únicamente o combinada con una deficiencia de vitamina E.

En algunas investigaciones aunque no en todas se demostró que en zonas de consumo de Selenio marginal y/o deficiente, la inyección conjunta de Selenio y vitamina E de 3 - 4 semanas antes de la fecha prevista para el parto redujeron apreciablemente o evitaron la retención de placenta. Donde también ha resultado un tratamiento eficaz la aplicación de una inyección única de Selenio en combinación con vitamina E diariamente.

La reducida actividad de la enzima GSH-Px como consecuencia de una deficiencia de Selenio combinada con un consumo inadecuado de vitamina E permitirá la acumulación excesiva de radicales de oxígeno reactivo. Los aumentos resultantes en las células y las lesiones tisulares pueden contribuir a que sea mayor la incidencia de la retención de placenta. Por tales razones, deben ser adecuados los consumos de Selenio durante el periodo crítico previo al parto, para que las hembras no tengan ningún tipo de problema a la hora del nacimiento de sus neonatos.

Así como existen problemas asociados a una deficiencia de Selenio, de igual manera también se pueden llegar a problemas médicos, en caso de consumir cantidades suficientes de plantas seleníferas, produciendo niveles tóxicos de Selenio en los animales.



7. TOXICIDAD DE SELENIO

Las manifestaciones tóxicas no se presentan a dosis inferiores de 5 mg/Kg de dieta. Algunas plantas nativas de monte, gramíneas y plantas cultivadas como cebada, trigo y alfalfa, acumulan generalmente menos de 30 ppm de Selenio. Sin embargo, las plantas que contienen 5 ppm de Selenio o más son potencialmente tóxicas. Las plantas acumuladoras pueden almacenar hasta el 1 % (10,000 ppm), mientras que las acumuladoras secundarias son más apropiadas para contener hasta unos pocos centenares de ppm de Selenio.

La ingestión de una cantidad suficiente de Selenio, provocará síntomas graves como; descontrol en el movimiento y postura del animal, aumento de la temperatura corporal, diarrea, pulso rápido y débil, respiración difícil generalmente con espuma, postración, y finalmente muerte que se dice es debido a fallo respiratorio.

Los descubrimientos post-mortem incluyen; congestión, hemorragia y degeneración de muchos órganos y tejidos. Puede ser fatal el consumo por ovejas adultas dosis de 400-800 ppm de Selenio.

De forma general, se admiten tres formas de intoxicación por Selenio: aguda, subaguda o “vértigo ciego” y crónica o “enfermedad del álcali”.

7.1 INTOXICACIÓN AGUDA

En el caso de la intoxicación aguda, ésta se produce principalmente en ovinos y bovinos por ingestión de una cantidad suficiente de plantas seleníferas, generalmente en una sola vez, para que se produzcan síntomas tóxicos muy graves. La muerte puede ocurrir desde pocas horas a días después de su ingestión.

Los síntomas incluyen ataxia, fiebre, pulso rápido y débil, meteorismo, cólico, poliuria, dificultad respiratoria, espuma con sangre en nariz y boca, diarrea oscura, postración, letargo y falla respiratoria.

Los hallazgos post-mortem característicos son; hemorragias, ascitis (exceso de líquido en la cavidad peritoneal causado por una enfermedad hepática) y debilidad en los músculos lisos (Humphreys, 1988; Shimada, 1983).

7.2 INTOXICACIÓN SUBAGUDA

La intoxicación subaguda o vértigo ciego, es provocada por la ingestión de plantas seleníferas y puede desarrollarse después de un periodo relativamente corto.

Los principales síntomas en el animal son; pérdida de peso y pelaje, aislamiento del rebaño, manifestando marcha vacilante y trastornos en la visión. Después el animal se mueve en círculos y presenta una ceguera creciente. También demuestra lagrimeo, dolor abdominal intenso, incapacidad para deglutir y, finalmente, parálisis completa, colapso y muerte por insuficiencia respiratoria. Los animales pueden no parecer enfermos durante semanas o meses, ocurriendo la muerte a los pocos días de la aparición de los síntomas.

Las lesiones se identifican por degeneraciones crónicas en todos los órganos, principalmente bazo e hígado. La ascitis es casi constante y se ha descrito también congestión, hemorragia, edema y reblandecimiento cerebral (Humphreys, 1988).

7.3 INTOXICACIÓN CRÓNICA

La intoxicación crónica o enfermedad del álcali, es causada a dosis de 5-50 ppm de selenio en una ingestión diaria de cereales, hierbas y forrajes que contienen selenio.

Este síndrome se caracteriza por la pérdida de pelo, malformación y desprendimiento de las pezuñas y cuernos. Los síntomas generalmente son; anemia, descenso de la fertilidad, rigidez articular, cojera, pérdida de pelo particularmente de la cola, y lesiones en las pezuñas. Cuando ovejas gestantes consumen un exceso de selenio pueden nacer corderos con malformaciones en las extremidades. Las lesiones son parecidas a las del vértigo ciego, siendo los hallazgos más importantes la atrofia del corazón, del hígado y cirrosis (Humphreys, 1988). El Selenio es uno de los minerales necesarios que resulta tóxico y existe un riesgo potencial de intoxicación por compuestos de Selenio administrados oral o parenteralmente si la dosis no es controlada cuidadosamente. La ingestión prolongada de 2 - 5 ppm de Selenio en la dieta puede reducir el rendimiento, dosis únicas de Selenio por vía oral o parenteral de 0.5 – 2 mg/kg de peso vivo (p. v.) han provocado intoxicación aguda en ovejas con mortalidad superior al 35 %. La diferencia entre 0.1 a 0.3 ppm como necesidades de Selenio y un nivel potencialmente peligroso de 2 a 5 ppm parece bastante estrecho. Sin embargo, debe considerarse que los niveles tóxicos son de 10 a 50 veces mayores que las necesidades de Selenio.



8. REGULACIÓN, REQUERIMIENTOS Y VALORES DE REFERENCIA DEL SELENIO

8.1 REGULACIÓN DEL SELENIO

En el año de 1974 la Food and Drug Administration en EE.UU. prohibía la adición de suplementos de Selenio a los forrajes y alimentos para el ganado. Sin embargo, en 1979 aprobó el empleo del Selenio en ovejas y ganado vacuno a concentraciones de 0.1 mg/kg de dieta (0.1 ppm), este nivel a la vez adecuado e inocuo (Ullrey, 1974).

Actualmente, la FDA está permitiendo la suplementación de Selenio hasta un límite superior de 0.3 ppm en las dietas del ganado.

La regulación para la suplementación mineral a libre acceso es de 120 ppm (sin exceder 3 mg de Se/cabeza/día) para el ganado vacuno y de 120 ppm (sin exceder 0.7 mg de Se/cabeza/día) para el ganado ovino (McDowell et al, 2002).

8.2 REQUERIMIENTOS DE SELENIO

El nivel dietético de Selenio de 0.1 ppm recomendado para los animales rumiantes domésticos resulta adecuado para la mayoría de las circunstancias aunque no para todas. Según las recomendaciones del NRC acerca del nivel mínimo requerido de selenio varía entre 0.1 y 0.3 ppm (Araya, 2004).

Las necesidades de Selenio para rumiantes salvajes como el ciervo no son superiores a 0.404 ppm. En cambio las necesidades de Selenio en las ovejas pueden ser mayores cuando son alimentadas con leguminosas forrajeras que cuando reciben forrajes que no son leguminosas. Datos procedentes de Winconsin (Church, 1992), indican que las ovejas reproductoras y sus corderos tienen unas necesidades de Selenio que se aproximan a 0.12 ppm, por tanto las necesidades de Selenio son influenciadas notablemente por la dieta.

En general, las dietas que contienen 0.1 mg de Se/kg de peso son suficientes para prevenir las deficiencias de Selenio.

Algunos experimentos con animales han indicado que el Selenio provisto en una dosis mayor a lo adecuado ha causado algunos efectos benéficos. Stowe en 1988 sugirió que el consumo de altos niveles de Selenio (0.3 ppm) (NRC, 1989) en el ganado lechero, comparado con 0.1 ppm garantiza el estado de este mineral en el recién nacido y puede que mejore su supervivencia, así como el sistema inmunológico (Araya, 2004).

Los requerimientos recomendados entre 0.05 y 0.3 ppm dependen de la forma química del Selenio, ya sea orgánica o inorgánica, la concentración previa de minerales en el animal y la cantidad de factores que dificultan o mejoran la acción de los minerales, tales como vitamina E, S, lípidos, proteínas, aminoácidos, Cu, Hg, As y Cd (NRC, 1983; Araya, 2004).

Tabla 8. Requerimientos de selenio para ganado vacuno, lechero y ovejas, de acuerdo al NRC-USA (www.fertilizer.org/ifa/publicat/PDF/2004)

ANIMAL	REQUERIMIENTO DE SELENIO (mg/kg dieta)
Ganado vacuno	0.10
Ganado lechero	0.30
Ovejas	0.10 – 0.20

En 1984 el NRC para el ganado vacuno sugiere 0.2 ppm de Selenio y no menciona un requerimiento de vitamina E, sin embargo, se puede encontrar en el NRC algunas variaciones en su recomendación. Ya para el año de 1989 el NRC recomienda 0.3 ppm de Selenio en las dietas para todo el ganado y 7 UI de vitamina E para el ganado adulto; 11-18 UI/LB para ganado en crecimiento.

Un informe del NRC en 1985, en los Requisitos nutricionales de ovejas, recomendaron un nivel de 0.1 a 0.2 ppm de Selenio en las dietas de las ovejas, que es más alta que el nivel de 0.1 ppm actual aprobado por la FDA. El Comité Nacional de Investigación en la Nutrición de Selenio ha propuesto un nivel tolerable máximo de Selenio de 2 ppm en la dieta, este es un nivel seguro que no debe causar efectos perjudiciales. Así mismo un nivel de 2 ppm permitiría un factor razonable de la seguridad entre el requisito nutricional para el Selenio y el máximo nivel permitido y tolerable en la dieta.

Así mismo, las fuentes de suplementación de Selenio inorgánico resultan ser una mejor alternativa.

8.3 VALORES DE REFERENCIA DE SELENIO

En la tabla 9, se muestran algunos rangos de referencia para el Selenio en suero sanguíneo de bovinos y ovinos, a partir del nacimiento hasta la edad adulta. Estos datos fueron obtenidos de la base de datos del Laboratorio de diagnóstico de salud animal de la Universidad de Michigan, en Estados Unidos (Stowe, 1992).



Tabla 9. Rangos de concentración de Selenio en suero, de acuerdo a la edad del animal

EDAD (días)	CONCENTRACIÓN (µg/L)	
	BOVINOS	OVINOS
< 1	50 – 70	50 – 80
1 – 9	50 – 70	60 – 90
10 – 29	55 – 75	70 – 100
30 – 70	60 – 80	80 – 110
71 – 180	60 – 80	80 – 110
181 – 300	60 – 80	80 – 110
301 – 700	65 – 90	90 – 120
> 700	70 – 100	120 – 160

Varios investigadores han sugerido que una concentración de Selenio de al menos 100µg/L en sangre completa está asociada con una óptima respuesta inmune y fertilidad.

En la actualidad la NRC indica un parámetro para los niveles adecuados, marginales y deficientes del Selenio en sangre y la vitamina E en plasma.

Parámetros utilizados de Selenio en sangre:

- Nivel adecuado > 100 µg/L
- Nivel marginal 50 -100 µg/L
- Nivel deficiente < 50 µg/L

Parámetros utilizados de vitamina E en plasma:

- Nivel adecuado > 4.0 µg/mL
- Nivel marginal 2 - 4 µg/mL
- Nivel deficiente < 2.0 µg/mL

En las áreas deficientes de Selenio en las que las cosechas y pastos pueden tener cantidades bajas de Selenio es necesaria la suplementación de Selenio en el ganado para prevenir las enfermedades provocadas por la carencia de este elemento y evitar un problema de salud pública.

9. IMPORTANCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO

La suplementación de Selenio es importante en los animales para la prevención de enfermedades. Esta suplementación puede ser por medio de una administración de formas farmacéuticas que contengan Selenio y pueden efectuarse mediante la dosificación individual del animal, para controlar mejor la terapia. La forma de dosificación consiste en una forma farmacéutica con un vehículo que contiene el activo, desarrollado de acuerdo a las necesidades y el tipo de animal al cual va dirigido (Blodinger, 1983).

En la suplementación, las fuentes de Selenio inorgánico resultan ser una buena alternativa por su bajo costo como materia prima y por su accesibilidad, además de que se pueden formular en distintas presentaciones, para administrarlas por diferentes vías como son:

- Parenteral: subcutánea o intramuscular
- Oral directa: sales, pellets y cápsulas
- Oral indirecta: fertilización de forrajes con Selenio

9.1 FORMAS DE SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO

Existen diversas formas para la suplementación del Selenio y los principales métodos para incrementar la ingesta de selenio por el ganado incluyen:

Tabla 10. Métodos de suplementación de Selenio que existen en la actualidad

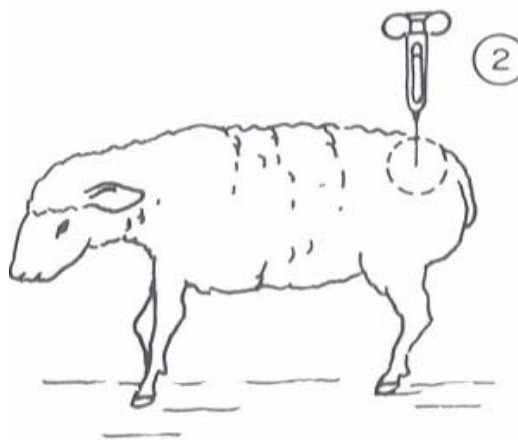
VÍA DE ADMINISTRACIÓN	MÉTODO DE SUPLEMENTACIÓN
Oral directa	Sales
	Pellets
	Cápsulas
	Selenio en solución oral
	Bolos de liberación lenta
Parenteral	Subcutánea
	Intramuscular
Oral indirecta	Selenio inorgánico en el alimento
	Selenio en el suelo
	Selenio en el agua de beber

En base a los métodos de suplementación de Selenio, en la figura 6 se presentan las formas de aplicación de los inyectables y soluciones, para la administración de Selenio, en los borregos y las cabras.

(1) Vía intravenosa



(2) Vía intramuscular



(3) Vía subcutánea



(4) Vía oral (en pociones)



Figura 6. Sitios de aplicación para la administración de formas farmacéuticas con Selenio

Dado que, es importante la prevención y curación de las posibles enfermedades debido a deficiencias de Selenio. Es necesario suministrar medicamentos por medio de inyecciones, bolos o pociones. En donde las diferentes formas de suplementación mencionadas presentan ventajas e inconvenientes.

9.2 SELENIO ORGÁNICO

9.2.1 VENTAJAS DE SELENIO ORGÁNICO

El Selenio orgánico de levaduras es una mejor fuente de suplementación de Selenio para todas las especies animales debido a su elevada biodisponibilidad y es retenido más efectivamente en el músculo, leche y tejidos fetales, que el Selenio inorgánico (McDowell, 1997). Numerosas investigaciones han mostrado clara y efectivamente un incremento en la retención de Selenio cuando es administrado como selenio-levaduras.

9.2.2 INCONVENIENTES DE SELENIO ORGÁNICO

En el caso de la suplementación de Selenio, con compuestos orgánicos como selenometionina y selenocisteína resulta ser costoso e inadecuado. Estudios comparativos entre Selenito de sodio, selenocisteína y selenometionina han mostrado resultados en donde los selenoaminoácidos muestran un mayor rango de toxicidad, aun cuando la selenocisteína provocó efectos adversos en el sistema succinoxidasa del hígado (Selenio orgánico, 2001).

9.3 APLICACIÓN DE SELENIO EN FERTILIZANTES

9.3.1 VENTAJAS DE APLICACIÓN DE SELENIO EN FERTILIZANTES

El Selenio proporcionado como fertilizantes es recibido de manera uniforme por el ganado en pastoreo a través del consumo en forraje. Este método ha sido probado efectivamente en la prevención de la deficiencia de Selenio (Watkinson, 1983).

Se emplea tanto el selenito como el selenato de sodio pero éste último es el más utilizado, debido a su facilidad de consumo por parte de la planta. El proporcionar Selenio a través de la fertilización de la pastura tiene muchas ventajas. Permite disminuir los costos de manejo de los animales con tratamientos individuales y es más fácil tratar a los animales grandes como los bovinos (Watkinson, 1992).

9.3.2 INCONVENIENTES DE APLICACIÓN DE SELENIO EN FERTILIZANTES

Este método resulta ser ineficiente por los problemas asociados con la aplicación de los tipos variables de suelo que limitan la disponibilidad de Selenio a las plantas. Y por lo tanto, el manejo de la pastura afecta la disponibilidad del Selenio para los animales que la consumen (McDowell, 2002).



9.4 SALES DE SELENIO

9.4.1 VENTAJAS DE LAS SALES DE SELENIO

El uso de mezclas de sales fortificadas parece ser un método prometedor para la prevención de la deficiencia de selenio (McDowell, 1997). Las mezclas minerales a libre demanda para el ganado en pastoreo deben ser formuladas de tal manera que proporcionen de 0.1 a 0.3 mg de Se/kg de materia seca.

Para esta práctica, el selenio es adicionado al alimento como selenito y selenato de sodio que son igualmente efectivos, pero el selenato es preferido por ser de más baja toxicidad y menos irritante. Las soluciones de selenato de sodio (1 mg de Se/mL) son más disponibles para el uso inmediato.

9.4.2 INCONVENIENTES DE LAS SALES DE SELENIO

El uso de mezclas de sales fortificadas puede presentar un inconveniente al no tener un control en la suplementación individual de los animales.

9.5 BOLOS DE SELENIO

9.5.1 VENTAJAS DE LOS BOLOS

Los bolos son una tableta en forma de cápsula, son una forma de dosificación útil para el ganado bovino, ovino y caprino, ampliamente utilizada en Estados Unidos y otros países. Estas formas farmacéuticas se administran por vía oral y son retenidos en el retículo-rumen (Kuchel y Buckley, 1969). Los primeros prototipos fueron muy demandados por ser más efectivos en el mantenimiento y elevación de Selenio en sangre hasta por cuatro años (Judson et al., 1991). La principal ventaja es la dosificación exacta que se administra a cada animal y minimiza el riesgo de toxicidad.

9.5.2 INCONVENIENTES DE LOS BOLOS

El inconveniente de los bolos, es su administración dado que es más trabajosa, requiriéndose de una persona que lo proporcione todos los días con una pistola especial de bolos, la cual sirve para sostener el bolo y posteriormente dejarlo caer en la boca del animal. En Nueva Zelanda, Inglaterra y Australia no fueron tan efectivos los nuevos bolos como el original y la protección raramente se extendía hasta 12 meses y en algunos casos la liberación de Selenio fue por solo 18 semanas.

9.6 BOLOS DE LIBERACIÓN PROLONGADA DE SELENIO

9.6.1 VENTAJAS DE LOS BOLOS LIBERACIÓN PROLONGADA

Los bolos intrarruminales tienen la ventaja de proporcionar cantidades de Selenio por periodos más prolongados de tiempo que cuando se suplementa en forma parenteral, por lo que se puede llegar a proporcionar mayor seguridad en la prevención de deficiencia de selenio (Vandame y Ellis, 2004). La suplementación de un bolo proporciona Selenio aproximadamente 120 días. La liberación prolongada se puede lograr controlando la densidad de la formulación o el tamaño del dispositivo.

Varios bolos de acción prolongada, comercialmente exitosos, han demostrado las ventajas prácticas de éstos como un producto (Kendall et al., 2001).

9.6.2 INCONVENIENTES DE LOS BOLOS DE LIBERACIÓN PROLONGADA

El manejar la densidad del bolo es un factor crítico determinante de la retención del sólido en el saco. Por lo tanto en este caso es importante considerar un rango de densidades de 1.5 a 8.0, dependiendo del tipo de animal al cual va dirigido el bolo (Blodinger, 1983).

9.7 DISPOSITIVOS DE RETENCIÓN EN RUMEN

9.7.1 VENTAJAS DE DISPOSITIVOS DE RETENCIÓN EN RUMEN

Un dispositivo de retención en rumen (RDD's) asegura la liberación controlada del fármaco, así como su mantenimiento en el rumen por días, semanas, meses o años, dependiendo del tiempo de liberación requerido del fármaco. Los RDD's se agrupan en dos categorías básicas, aquellos que liberan activo de manera constante a lo largo de todo su tiempo de vida en el rumen, dispositivos de liberación sostenida, y los que liberan dosis discretas de una forma pulsátil, dispositivos de liberación intermitente (Gyurik, 1983).

9.7.2 INCONVENIENTES DE DISPOSITIVOS DE RETENCIÓN EN RUMEN

Las características anatómicas y fisiológicas de los animales rumiantes necesitan características de diseño especiales para los RDD's. Los mayores inconvenientes que se presentan son la regurgitación y las condiciones extremas en el rumen como el pH y la actividad enzimática microbiana (Gyurik, 1983).



9.8 INYECTABLES DE SELENIO

9.8.1 VENTAJAS DE LOS INYECTABLES

La utilización de la vía parenteral para la administración de medicamentos en los pequeños rumiantes, presenta una serie de ventajas como son; la elevada biodisponibilidad, la ausencia del efecto de primer paso, el acceso del principio activo a la circulación sistémica sin necesidad de salvar barreras fisiológicas y la posibilidad de controlar la liberación de moléculas durante largos periodos de tiempo (Vila, 2001).

En el caso de la administración parenteral de Selenio resulta ser el mejor método para restaurar las concentraciones del Selenio cuando es necesario corregir deficiencias severas o agudas, por ejemplo durante la gestación donde la demanda de microelementos es mayor (Clarck, 1992).

Se han empleado exitosamente soluciones acuosas de selenio administradas por vía subcutánea o intramuscular (NRC, 1983). Y se ha determinado que las inyecciones subcutáneas de selenito de sodio, son un medio para la prevención de enfermedades por la deficiencia de Selenio del ganado en pastoreo (Underwood y Suttle, 1999).

Las ventajas más importantes de los inyectables con Selenio vía intramuscular o subcutánea son: la posibilidad de asegurar completamente su consumo, asegurar que el Selenio llegue al sitio deseado y específicamente en caso de la vía subcutánea, lograr la formación de un depósito en éste tejido, obteniendo una liberación más lenta del elemento y por lo tanto una dosificación controlada, con un menor número de inyecciones en el animal.

9.8.2 INCONVENIENTES DE LOS INYECTABLES

La inyección parenteral de Selenio en forma de un preparado de Se-vitamina E se emplea profusamente como técnica profiláctica y terapéutica en las áreas endémicas de deficiencia de Selenio. Tiene la ventaja de una respuesta rápida y el control eficaz de la dosis, aunque las inyecciones intramusculares y subcutáneas de dosis terapéuticas de Selenio pueden causar irritación y necrosis local, estos efectos no son de gran influencia por el beneficio que aportan estas formulaciones (Herigstad y Whitehair, 1974).

De acuerdo a las ventajas que presentan los inyectables de Selenio frente a las demás métodos de suplementación, se realizó una investigación de los inyectables de Selenio que se encuentran actualmente en el mercado farmacéutico dirigido al área veterinaria.

10. INYECTABLES DE SELENIO EN EL MERCADO ACTUAL

En México actualmente existen distintos inyectables de Selenio, para el ganado ovino y caprino en casos de deficiencia de Selenio. Según el Prontuario de Especialidades Veterinarias Farmacéuticas, Biológicas y Nutricionales, edición 23, del año 2003-2004, se encontraron las siguientes.

Tabla 11. Presentaciones de diferentes inyectables de Selenio (PEV FBN, 2003-2004)

PRESENTACIÓN FARMACÉUTICA	NOMBRE COMERCIAL	INGREDIENTES	DOSIS	APLICACIÓN	REFERENCIA (http://www.)
	Duphafra E-Se® FORT DODGE	Selenito de sodio 1 mg Vitamina E 25 mg Vitamina B ₁ 12.5 UI Sorbitol 100 mg	*2-5 mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	guiaveterinaria.net/producto/2088.asp
	Se-Ve® LAPISA	Selenito de sodio 10.95 mg Vitamina E 50 mg Vehículo c.b.p. 1 mL	*1 mL / 45 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	lapisa.com/farmaceuticos.html
	FOSEL E-D® LAPISA	Selenito de sodio 0.108 g Vit. D2 (ergo calciferol) 600000 UI Vit. E (D-tocoferol acetato) 2500 UI Glicerofosfato de sodio 7.500 g Vehículo c.b.p. 100 mL	*2 mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea	lapisa.com/tfarma.html - 50k
Vétoquinol de México S.A. de C.V.	Selepherol®	Selenito de sodio 0.050 g Vitamina E 3.82 g Excipiente c.b.p. 100 mL	*1 mL / 10 Kg p.v.	Intramuscular profunda	guiaveterinaria.net/producto/1279.asp
INVESTIGACIÓN APLICADA, S.A. de C.V.	VITASEL®	Selenio (Selenito de potasio) 1.5 mg Vitamina E 68 mg Alcohol bencílico 20 mg Vehículo c.b.p. 50 mL	*1-2 mL / 45 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	guiaveterinaria.net/producto/3698.asp
SYVA LABORATORIOS, S.A. de C.V.	Selevit®	Selenito de sodio 75 mg Vitamina E 7.5 g Excipiente c.b.p. 100 mL	*1 mL / 30 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	guiaveterinaria.net/producto/3225.asp
Vétoquinol de México S.A. de C.V.	KYNOSELEN®	Selenio (Selenito de sodio) 0.022 mg L-B ₁ -aspartato de magnesio 1.5 g D ₁ -aspartato de potasio 1.0 g Parahidroxibenzoato de metilo 0.1 g Parahidroxibenzoato de propilo 0.02 g Excipiente c.b.p. 100 mL	*2-10 mL / 45 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	PEV 2003-2004
ANGLO CORP., S.A. de C.V.	VITAMINA E + SELPLUS INY®	Selenito de sodio 11 mg Vitamina E 50 mg Vehículo c.b.p. 1 mL	*0.5 mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscula	guiaveterinaria.net/producto/8241.asp
Bremer Pharma GMBH PREVITEP	VITAMIN E + SELENIUM®	Selenito de sodio, 5 H ₂ O 3.0 mg Vitamina E 100 mg Vehículo c.b.p. 1 mL	*2-4 mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	PEV 2003-2004
ANIMAL CARE Products	SELEJECT B12®	Selenio 4 mg Hidroxicianocobalamina 2000 mcg Vehículo c.b.p. 1 mL	*1-1.5 mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	PEV 2003-2004



En la tabla 11, es posible observar que todos los inyectables, contienen como principio activo al Selenio en su forma inorgánica, usando como materia prima al selenito de sodio, sin embargo, no lo contienen en la misma cantidad, por tal razón es que en su marbete o etiqueta varia la dosis de cada uno.

Otro factor importante que se percibe es, que en la mayoría de los inyectables exceptuando el KYNOSEL® y el SELEJECT®, incluyen dentro de su formulación a la vitamina E como un ingrediente más en su forma de dl- α -tocoferol acetato, y de igual forma que el selenito de sodio, la vitamina E se encuentra en distintos porcentajes dentro de la formulación.

Aunque no se mencionan dentro del Prontuario de Especialidades Veterinarias Farmacéuticas, Biológicas y Nutricionales, edición 23, del año 2003-2004, en México es posible encontrar a la venta en farmacias veterinarias dos inyectables más de selenio, los cuales se indican en la siguiente tabla.

Tabla 12. Dos de los inyectables más usados en México, pero que no se mencionan en el PEV FBN

PRESENTACIÓN FARMACÉUTICA	NOMBRE COMERCIAL	INGREDIENTES	DOSIS	APLICACIÓN	REFERENCIA (http://www.)
 Schering- Plough	MU-SE®	Selenito de sodio 10.95 mg Vitamina E 50 mg Excipiente c.b.p. 1 mL	*1 mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	feedlot.com.ar/tecnicos/ingreso.htm
ANIMAL CARE Products	VERSEL-L®	Selenio (Selenato de potasio) 1.5 mg Vitamina E 68 mg Excipiente c.b.p. 1 mL	*1-2mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	feedlot.com.ar/tecnicos/ingreso.htm

De los inyectables de Selenio existentes en México y mencionados en las tablas 11 y 12, el inyectable MU-SE es el de mayor uso según algunos Médicos Veterinarios de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo-4. El cual es posible encontrar a un costo de \$480.00 pesos moneda nacional, en la Farmacia veterinaria de esta misma Facultad.

En el caso del inyectable VERSEL-L, que de igual forma no se encuentra mencionado en el prontuario, también es posible encontrarlo en México.

En otros países en los cuales hay suelos deficientes de Selenio, encontramos otras presentaciones de inyectables de selenio los cuales se nombran en la tabla 13.

Tabla 13. Presentaciones de inyectables de Selenio encontradas en internet

PRESENTACIÓN FARMACÉUTICA	NOMBRE COMERCIAL	INGREDIENTES	DOSIS	APLICACIÓN	REFERENCIA (http://www.)
	SelenMax®	Selenito de sodio (anhidro) 0.450 g Vitamina E (acetato) 4.000UI Glicerofosfato de sodio 20.0 g Agua para inyectable c.s.p 100mL	*2mL /50 Kg p.v.	Intramuscular	pharmavet.com.ar/otrospro.htm
	DYSTOSEL®	Selenio (selenato de postasio)1.5mg dl-α-tocopherol acetate 68.0mg Benzyl alcohol 20.0mg Vehículo c.b.p. 1.0 mL	*1-2 mL/45Kg p.v.	Intramuscular	pharmavet.com.ar
	Sel + E NRV®	Selenito de sodio 10.95 mg Vitamina E 50 UI Vehículo c.b.p. 1 mL	*1 mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	pharmavet.com.ar
	Mioselenium®	Selenito de sodio 50 mg Vitamina E 8 g Vitamina B ₁₂ 5 mg Gluconato de cobalto 25 mg Gluconato de hierro 25 mg Excipiente c.s.p. 100 mL	*2 mL, dosis única	Intramuscular	nutrimix.com.mx /b_engorda.htm
	MEGA-SEL®	Selenito de sodio 2.25 mg Vitamina E 50 UI Excipiente c.s.p. 1 oz	*1 oz / 500 lb p.v.	Intramuscular	mega-sel.com/info.html
	Prosel selenio + vit A y E + fósforo®	Selenio 0.32 mg Fósforo 6.48 mg Vitamina E 14.85 mg Vitamina A 5100 UI Vehículo c.b.p. 100 mL	*2 mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea	engormix.com /s_companies_showcase_products
	BO-SE®	Selenio 1.0 mg Vitamina E 68 UI Excipiente c.s.p. 1 mL	*2.5-3.75 mL / 25 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	sp-animal health.com/usa/products
ESTEVE VETERINARIA	ZOSELEN L. A. ®	Selenio (Selenato de bario) 50 mg Excipiente c.s.p. 1 mL	*1-2 mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea	norvet.es/vademecum.asp?id=155
Fort Dodge Laboratories	Velenium™	Selenio 5.0 mg Vitamina E 50 mg Vehículo c.b.p. 1.0 mL	*1 mL / 50 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	pharmavet.com.ar
laboratorios KARIZOO s.a.	KARIZOO SELENIO	Selenio (Selenito de sodio) 0.08 g Vitamina E 8 g Excipiente c.s.p. 100 mL	*1.5 mL / 20 Kg p.v.	Subcutánea o Intramuscular	karizoo.com/pharma7.htm



En las presentaciones de la tabla 13, el Selenio está incluido dentro de todas las formulaciones de los inyectables como principio activo, y se presenta en su forma inorgánica, en la mayoría de los inyectables encontramos como materia prima al selenito de sodio, excepto en dos presentaciones que son el DYSTOSEL* que usa como materia prima al selenato de potasio y el ZOSELEN L. A. que usa el selenato de bario.

También en la mayoría de las formulaciones excepto el inyectable ZOSELEN L. A., incluyen dentro de los ingredientes de la formulación a la vitamina E en su forma de dl- α -tocoferol acetato. Aunque de igual forma, se observa que cada inyectable la contiene en diferentes porcentajes dentro de su formulación.

Dentro del mercado internacional de inyectables de Selenio y en dos artículos se encontró solo un inyectable de liberación lenta de Selenio, y se encontró con el nombre de DEPOSEL MULTIDOSE 200 mL, del laboratorio NOVARTIS Grampian Pharmaceuticals Ltd Leyland, U. K., y permanecía en trámite la patente. A continuación en la tabla 14, se indican las características de este inyectable.

Tabla 14. Características generales del inyectable de Selenio marca DEPOSEL

PRESENTACIÓN FARMACÉUTICA	NOMBRE COMERCIAL	INGREDIENTES	DOSIS	APLICACIÓN
NOVARTIS Grampian Pharmaceuticals Ltd, Leyland, U.K.	DEPOSEL MULTIDOSE 200ML NZ\$325.80	Selenio 50 mg Como selenato de bario Excipiente c.s.p. 1 mL	*1 mL / 50 Kg p.v	Subcutánea

Este inyectable fue utilizado para la investigación del efecto del selenato de bario inyectable sobre la actividad de la glutatión peroxidasa en caballos. Y donde se determinó que el selenato de bario aplicado a caballos Selenio deficientes, vía IM en dosis única de 0.5 mg/kg, incrementó y mantuvo la actividad de GSH-Px eritrocítica dentro del rango de referencia, al menos por 180 días posteriores a la suplementación. Y la aplicación del producto por vía IM en caballos no produjo reacciones tisulares adversas clínicamente detectables en el punto de inyección (Araya et al., 2004).

Sin embargo su patente no está registrada aún y actualmente ya no se encuentra información acerca de este inyectable. En la página de internet del laboratorio que lo desarrolló y lo había comercializado, ya lo dió de baja y no se encuentra en venta.

10.1 RAZONES POR LAS QUE SE HAN DESARROLLADO INYECTABLES DE SELENIO

Dentro de los principales métodos de suplementación de Selenio, como ya se mencionó, se incluyen (1) suplementación libre de Selenio en mezcla de minerales, (2) fertilización de Selenio, (3) inyecciones de Selenio, (4) Selenio en bolos, (5) Selenio en agua, y (6) Selenio en dispositivos de retención en el rumen (Ruminant conference, 2002).

Las soluciones de Selenio en agua han sido comúnmente usadas para una administración oral, intramuscular o subcutánea (NRC, 1983). Los inyectables subcutáneos usualmente contienen selenito de sodio en dosis de 10 a 30 mg para ganado vacuno y de 1 a 5 mg para ovejas, como medidas para la prevención de desórdenes causados por la deficiencia de Selenio (Underwood y Suttle, 1999). En el caso de los inyectables de selenato de bario, éstos han mostrado mantener un largo efecto en los rumiantes (Judson et al., 1991). Dado que, el selenato de bario como un pellet o una inyección subcutánea mantiene niveles de Selenio en sangre hasta 200 semanas en ovejas y sus corderos (Judson et al., 1991). La efectividad de los inyectables de Selenio se ha reportado en algunos trabajos donde se logró disminuir la incidencia de abortos a término y las muertes perinatales desde el 20 % al 5 %, con inyecciones de selenato de bario en el periodo de 30 a 60 días preparto.

Actualmente las líneas de trabajo están orientadas no solo hacia la biodisponibilidad sino a lo que algunos ya denominan biopotencia y que sería la eficiencia de utilización del mineral que se absorbe, lo cual depende de la presentación de la forma farmacéutica y de la vía de administración.

En esta línea de trabajos se ha podido observar que las levaduras conjugadas con selenio han duplicado la actividad de la GSH-Px en los eritrocitos de los bovinos, en comparación con un inyectable de selenito de sodio. Esta absorción y utilización diferencial sería la causa por la cual en los estudios sobre la fertilidad hallaron mejores resultados al utilizar la fuente orgánica en los parámetros de fertilidad.

En otras investigaciones donde se realizó una evaluación a inyectables de Selenio de marca comercial, se encuentran actualmente reportados sus resultados, para tener una clara idea de los efectos que provoca este tipo de suplementación.



En uno de estos trabajos se evaluó la disponibilidad del Selenio y los métodos de suplementación de Selenio para ganado de pastoreo (Vale, Lee McDowell, 2003). Esta investigación se llevo a cabo durante 2 años de experimentación, con 75 vacas las cuales recibieron una suplementación de Selenio con diferentes tratamientos, dos grupos fueron tratados con inyectables de Selenio inorgánico de marca; MU-Se® y DEPOSEL® y otro grupo tuvo un tratamiento de una mezcla de selenio orgánico de marca Sel-Plex™.

En los resultados de este trabajo se determinó que los niveles plasmáticos de Selenio en vacas disminuyeron con el tiempo en los grupos control y de tratamiento con Mu-Se®, pero fue mantenido o aumentado con los tratamientos de Deposel® y Sel-Plex™. Con el tiempo declinaron los niveles del grupo control ($0.03 \mu\text{g/mL}$), mientras el grupo MU-Se® estuvo debajo del rango adecuado ($0.03 \mu\text{g/mL}$) después de los 18 meses postratamiento.

Al final de 2 años, los grupos con Sel-Plex™ tuvieron niveles altos de Selenio en plasma seguido por DEPOSEL® y MU-Se®, pero incrementaron los tratamientos de DEPOSEL® y Sel-Plex™.

Por lo tanto, es posible sugerir en base a esta investigación, que el inyectable de selenato de bario es efectivo de 1 - 3 años. Y determinando que el inyectable de liberación prolongada de Selenio de marca DEPOSEL® y el uso de productos de una mezcla de levaduras con Selenio orgánico, son métodos seguros para la suplementación en ganado de pastoreo, además de resultar efectivos (Vale, Lee McDowell, 2003).

En otro proyecto que realizó una investigación referente a inyectables de Selenio fue realizada por Davis en el 2000. Se evaluó la concentración de Selenio en calostro y leche de vacas que recibieron formas diferentes para la suplementación de Selenio.

Este proyecto se llevó a cabo con 43 vacas para la experimentación, durante un año. Donde se dividieron en grupos y cada grupo recibió un tratamiento diferente: dos grupos fueron tratados con inyectables de Selenio inorgánico pero de diferente marca Mu-Se® y DEPOSEL®, otro grupo fue tratado con selenito de sodio, otro con sal-base de mezcla de minerales y uno más con Selenio orgánico Sel-Plex™. Los resultados demostraron que, la concentración de Selenio en el calostro no difiere mucho del grupo control como son: DEPOSEL®, Mu-Se® y los tratamientos con Sel-Plex™, en cambio, los grupos tratados con sal-base de mezcla de minerales y selenito de sodio estuvieron por debajo de los niveles críticos. Así mismo, el grupo tratado con Sel-Plex™ tuvo niveles más altos que el control y todos los demás tratamientos. Durante el estudio las concentraciones de Selenio en leche

del producto MU-Se® y DEPOSEL® tuvieron niveles más altos que el control, pero sin estar encima del nivel crítico. En términos generales, las concentraciones de Selenio en leche de vacas que reciben Sel-Plex™ eran más altas que todos los otros tratamientos.

En un trabajo de Swecker en el 2002 sobre la suplementación de Selenio y vitamina E, menciona que tanto la vitamina E como el Selenio pueden suplementarse por medio de la comida o por una inyección. Un método comúnmente usado es el inyectable MU-Se® de 10 mL, el Selenio inyectable en esta forma tiende a ser efectivo por días o semanas; el MU-Se® contiene 50 IU de vitamina E/mL. Respecto a esto el autor opina, que las formas inyectables se pueden utilizar cuando se sospecha de una deficiencia de Selenio o cuando la suplementación en la comida es imposible. Ya que las recomendaciones generales de suplementación de este elemento en la comida es de 0.3 ppm y 10 - 100 IU de vitamina E/kg.

Cuando se emplean dispositivos de liberación lenta se tiene la posibilidad de proveer de Selenio al animal de una manera constante, y por lo tanto las concentraciones de Selenio plasmático pueden llegar a ser un reflejo inmediato del efecto del dispositivo.

La suplementación de Selenio a través de sistemas de liberación lenta, como es el caso de los bolos intrarruminales, ha sido empleada desde finales de los años setenta (Kuchel y Buckley, 1969). En la actualidad, el uso de este tipo de dispositivos es una práctica que se ha ido haciendo común, pero en la gran mayoría de los casos empleando fuentes inorgánicas de Selenio (McDowell, 2002).

En el caso de los inyectables de liberación lenta de Selenio no se tienen datos aún, pero se presume que tendrían la ventaja de proporcionar cantidades de Selenio por periodos más prolongados de tiempo que cuando se suplementa en forma parenteral normal, por lo que se puede llegar a proporcionar mayor seguridad en la prevención de deficiencia de Selenio. A través de los sistemas de liberación lenta se tiene la oportunidad de proporcionar varios nutrientes, antibióticos y antihelmínticos (Vandame y Ellis, 2004).

El inyectable a desarrollar es una mezcla de vitamina E, Triacetina, Myvacet, Propilparabeno, Metilparabeno, BHT, Cutina y el Selenito de sodio. En el caso de la Cutina, esta debe envolver todos los ingredientes a través de la fusión por calor, si ésta no logra integrar a todos los componentes, el inyectable no podría ser elaborado con las características físicas requeridas para un dispositivo subcutáneo de liberación lenta.

11. ASPECTOS IMPORTANTES PARA EL DESARROLLO DE UN INYECTABLE VÍA SUBCUTÁNEA

La disponibilidad actual de muchas macromoléculas de indudable interés terapéutico, pero con una semivida muy corta, ha contribuido a incrementar el interés de la vía parenteral para la administración de medicamentos.

Existen muchos factores que se deben tomar en consideración para el diseño y desarrollo de sistemas de liberación lenta por vía parenteral y la duración del efecto es uno de ellos, para conseguir una adecuada duración del efecto se debe tener en cuenta:

- La potencia del principio activo
- Las limitaciones físicas y químicas del sistema de liberación seleccionado
- Los requisitos clínicos
- La aceptación del paciente

Algunas características que se deben de tomar en cuenta en la administración subcutánea para obtener una liberación lenta del principio activo son: la cantidad de principio activo requerido que está relacionada con la actividad y la eficacia del sistema de liberación, así como la cantidad de excipientes requerido, ya que estos determinan la máxima duración del proceso de liberación de tal forma que cuanto más potente sea un principio activo y menor la cantidad de excipientes, se podrá hacer más lento el proceso de liberación.

Para la administración de un sistema microparticular por vía subcutánea, se aconseja un volumen máximo de 1.5 mL con un contenido máximo de sólidos de un 20 – 30 %, lo que representa unos 300 – 500 mg de micropartículas; si éstas contienen un 10 % de principio activo, se tendría de éste unos 30 – 50 mg, lo que permitiría diseñar un sistema que libere entre 1 – 17 mg/día de principio activo durante 1 mes (Vila, 2001).

Todo este conjunto de aspectos determinan la posibilidad de diseñar sistemas para liberar un principio activo durante un tiempo de 6 o 12 meses, aunque en la práctica se utilizan fundamentalmente los que requieren una administración de 1 a 3 meses.

Los principales factores que influyen en el funcionamiento de inyectables de liberación lenta vía subcutánea son:

- Propiedades del principio activo (Selenito de sodio)
- Vía de administración del principio activo (subcutánea)
- Sitio blanco
- Terapia aguda o crónica
- La enfermedad
- El paciente (ovinos y caprinos)

Existen otros factores de tipo biológico que influyen en el diseño y desarrollo de los inyectables de liberación lenta como son:

- Absorción
- Distribución
- Biotransformación
- Duración de la acción
- Efectos adversos
- Margen de seguridad (Suñé, 2004)

11.1 ASPECTOS A CONSIDERAR PARA LA SELECCIÓN DE EXCIPIENTES

Los aspectos de mayor importancia que debemos de considerar para la selección de los excipientes en la formulación del inyectable de liberación lenta son principalmente aquellos que están aceptados para:

- Su utilización por vía parenteral
- Que den lugar a partículas de tamaño y forma adecuados
- Que sean biocompatibles con el principio activo y biodegradables
- Que originen un sistema de matriz para la liberación controlada del fármaco
- Facilidad para su producción a gran escala y en condiciones de esterilidad
- Que originen sistemas estables desde el punto de vista físico y químico (Vila, 2001; Suñé, 2004)



11.2 VENTAJAS DE LA ADMINISTRACIÓN POR VÍA SUBCUTÁNEA

La biodisponibilidad de un fármaco administrado vía parenteral depende de sus características fisicoquímicas, de la forma farmacéutica y de las características anatómicas fisiológicas de la zona de inyección. En el caso de la vía subcutánea es una zona menos vascularizada que la intramuscular, la velocidad de absorción es mucho menor. Sin embargo, dicha velocidad puede ser incrementada por distintos medios (p. e. añadiendo hialuronidasa o dando un masaje).

La administración subcutánea es en una zona en la que la absorción y distribución posterior del principio activo es lenta. Forma un tejido homogéneo sin puntos diferenciados por lo que se habla de zona y no de punto de administración. En este tejido se administra el medicamento mediante inyección de soluciones o suspensiones medicamentosas de pequeño volumen. Se suele perseguir esta vía cuando se quiere una absorción lenta y duradera, por lo tanto es efectiva para una liberación lenta. Los factores que intervienen en la absorción subcutánea son:

- La solubilidad del fármaco
- Características farmacocinéticas dependientes de la formulación
- La temperatura corporal
- El ejercicio físico, lo que hace que aumente el flujo de sangre (Suñé, 2004)

Por ser la piel el sitio de inyección de la vía subcutánea es necesario ubicarnos y comprender en que capa de la piel se va a formar el depósito que contiene el principio activo, por lo tanto el tejido subcutáneo se puede definir como una capa de grasa que contiene tejido el cual se une a la dermis y está debajo de ésta, y que se encuentra altamente irrigada por estar en contacto con vasos sanguíneos.

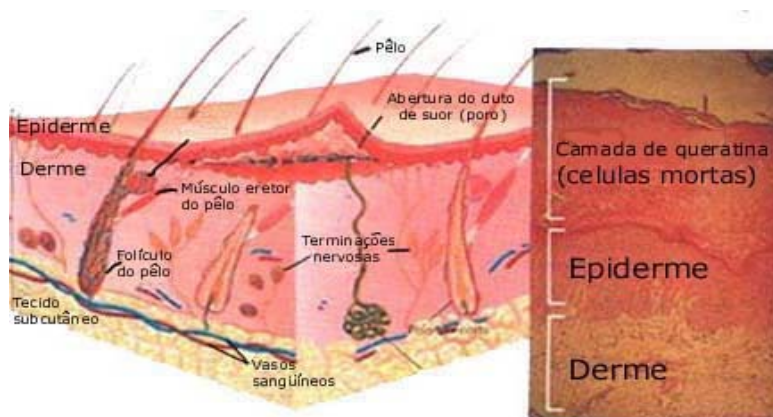


Figura 7. Capas de la piel



La administración por la vía subcutánea es una técnica que consiste en llevar la aguja a una profundidad mayor que en la vía intradérmica, es decir al tejido subcutáneo, que es un tejido ampliamente irrigado y laxo, lo que facilita la expansión del proceso inflamatorio local; esta característica motivó a que se prefiriera reemplazarla por la vía intramuscular.

La aguja se introduce en un ángulo de 90° con la piel, en el tejido conjuntivo laxo situado debajo de la piel, luego se succiona con el émbolo para cerciorarse de que no se ha punzado ningún vaso sanguíneo. Comprobado esto último, se descarga el biológico, la cantidad oscila entre 0.5 y 2 mL (Chien, 2002; Fepafem.org, 2004).



Figura 8. Técnica para la aplicación de una inyección vía subcutánea

La inyección subcutánea además de llevar al medicamento a la capa de tejido graso que se encuentra inmediatamente por debajo de la piel y formar un depósito, su finalidad es que el principio activo se absorba mas lentamente retardando la liberación del fármaco hasta 24hrs.

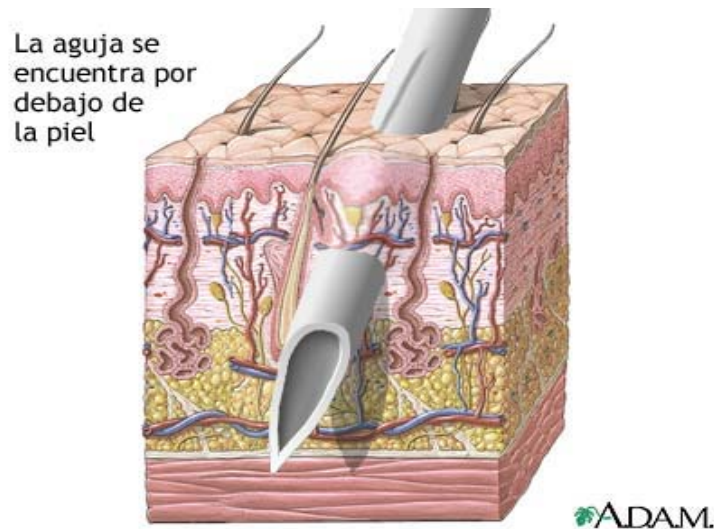


Figura 9. Tejido subcutáneo hasta donde debe de llegar la aguja, para depositar el inyectable y formar el depósito



La vía subcutánea es una administración parenteral utilizada para la dosificación de medicamentos y presenta una serie de ventajas, como son: (Vila, 2001)

- Elevada biodisponibilidad
- Ausencia del primer paso
- Acceso del principio activo a la circulación sistémica sin necesidad de salvar barreras fisiológicas
- Controlar la liberación de moléculas durante largos periodos de tiempo (varios meses)

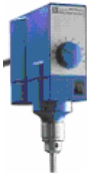
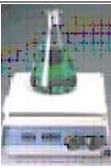
III. MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS



DESARROLLO DEL INYECTABLE

EQUIPO

Tabla 15. Especificaciones del equipo utilizado durante el desarrollo del inyectable

PRESENTACIÓN	EQUIPO	ESPECIFICACIONES
	Balanza analítica	Modelo P1210 AB204-S METTLER TOLEDO
	Dispersador elemental	T25 Basic, ULTRA-TURRAX®
	Homogenizador	RW 16 Basic KIKA LABORTECHNIK
	Parilla de calentamiento y agitación	502C N° de serie: 970970481672 BARNSTEAD/THERMOLYNE PMC
	pH metro	Model 7 Marca CORNING
	Propela Stirrer	4-bladed KIKA LABORTECHNIK
	Rotor estator	No. 1024200 KIKA LABORTECHNIK
	Viscosímetro	DV-E VISCOMETER Model LVDVE115 BROOKFIELD

**DESARROLLO DEL INYECTABLE****MATERIAL**

Tabla 16. Especificaciones del material utilizado durante el desarrollo del inyectable

MATERIAL	ESPECIFICACIONES	MARCA
Agitador	Chico de vidrio	
Embudo de separación	Chico de vidrio	PYREX USA
Espátula	Chica de metal	STAINLESS STEEL
Espátula	Chica de plástico	--
Mortero con pistilo	Chico de porcelana	--
Picnómetro	de vidrio	PYREX USA
Probeta	100 mL vidrio borosilicato	Kimax México
Termómetro	-15 a 400°C	Brannan MADE IN UK.
Vasos	Metálicos capacidad 500mL	Productos metálicos inoxidables HERNÁNDEZ
Vasos de precipitados	Vidrio capacidad 30, 50, 100 y 150 mL	PYREX USA

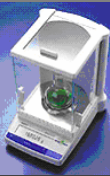
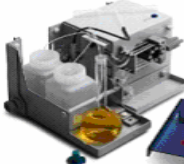
INGREDIENTES DE LA FORMULACIÓN DEL INYECTABLE DE SELENITO DE SODIO

Tabla 17. Especificaciones de los ingredientes de la formulación empleados en el inyectable

REACTIVOS	ESPECIFICACIONES	MARCA
SELENITO DE SODIO	45% de Se con respecto al peso molecular del Na_2SeO_3	VALHO, S.A. de C.V.
VITAMIN-E-acetate (dl α - Tocopheryl Acetate)	USP / EP / FCC	BASF Corporation
CUTINA (aceite de castor hidrogenado)	Rilanit Special HDV075	Conjunto Lar de México, S.A. de C.V.
BHT	Antioxidante, sólido blanco cristalino	COMERCIAL QUIMICA SANDAN, S.A. de C.V.
METILPARABENO	Sódico Lote proveedor: 200201015MS	ASTROQUIM
PROPIPARABENO	Sódico Lote proveedor: 010896	ASTROQUIM
TRIACETINA	Concentración, mínima 99% peso	INDUSTRIAS MONFEL, S.A. de C.V.
MYVACET 9-45K	9-45 Kholer 5210613	QUEST INTERNATIONAL DISTRIBUIDOR: GRUPO ALIMENTA

**ANALISIS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS****EQUIPO**

Tabla 18. Especificaciones del equipo utilizado durante el análisis de muestras biológicas

PRESENTACIÓN	EQUIPO	ESPECIFICACIONES
	Balanza analítica	Modelo P1210 AB204-S METTLER TOLEDO
	Espectrofotómetro de Absorción Atómica	Spectral AA 800 Varian Australia
	Generador de Hidruros	VGA 77 Varian Australia
	Horno de microondas	Mars 5 CEM corporation Falcon USA

ANALISIS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS**REACTIVOS**

Tabla 19. Tabla de especificaciones de los reactivos utilizados durante el análisis de muestras biológicas

REACTIVOS	ESPECIFICACIONES	MARCA
Ácido nítrico	R. A. 65.4% de pureza	Baker México
Ácido clorhídrico	R. A. 36.5 - 38% de pureza	Baker México
Peróxido de hidrógeno	En solución al 30%	Baker México
Estándar de Selenio	$1000 \pm 3 \mu\text{g/mL}$ en 2% de ácido nítrico con 99.999% de pureza	High - Purity
Hidróxido de sodio	Perlas 98.4% de pureza bajo en carbonatos	Baker México
Borohidruro de sodio	98% de pureza	SIGMA
Agua	Desionizada	MilliQ

**ANALISIS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS****MATERIAL**

Tabla 20. Especificaciones del material utilizado durante el análisis de muestras biológicas

MATERIAL	ESPECIFICACIONES	MARCA
Vasos de teflón para horno de microondas	HP-500 plus Presión máxima 350psi Temperatura máxima 210 °C	Falcon USA
Membranas para los vasos	HP-500 safety Membranas CEM 140 piezas	Use part #431300 Falcon USA
Sensor de temperatura de fibra óptica	Modelo FOT-L-CEM-1 Rango – 50 °C a 250 °C	CEM
Lámpara de Selenio	HC Lamp-Se N° parte 56-101270-00 N° de serie 01k0308	Varian Australia
Celda	Cuarzo	Varian Australia
Micropipeta	Capacidad 100-1000 µL	Finnpipette Labsystems
Micropipeta	Capacidad 5-50 µL	Finnpipette Labsystems
Micropipeta	Capacidad 1-5 mL	Finnpipette Labsystems
Pipeta volumétrica	1 mL	Kimax México
Matraz volumétrico	25 mL Tipo A	Kimax México
Matraz volumétrico	50 mL Tipo A	Kimax México
Matraz volumétrico	1000 mL vidrio borosilicato	IVA Argentina
Probeta	1000 mL vidrio borosilicato	IVA Argentina
Probeta	10 mL ± 0.10 mL PE 20 °C	Kimax México

ANALISIS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS**GASES**

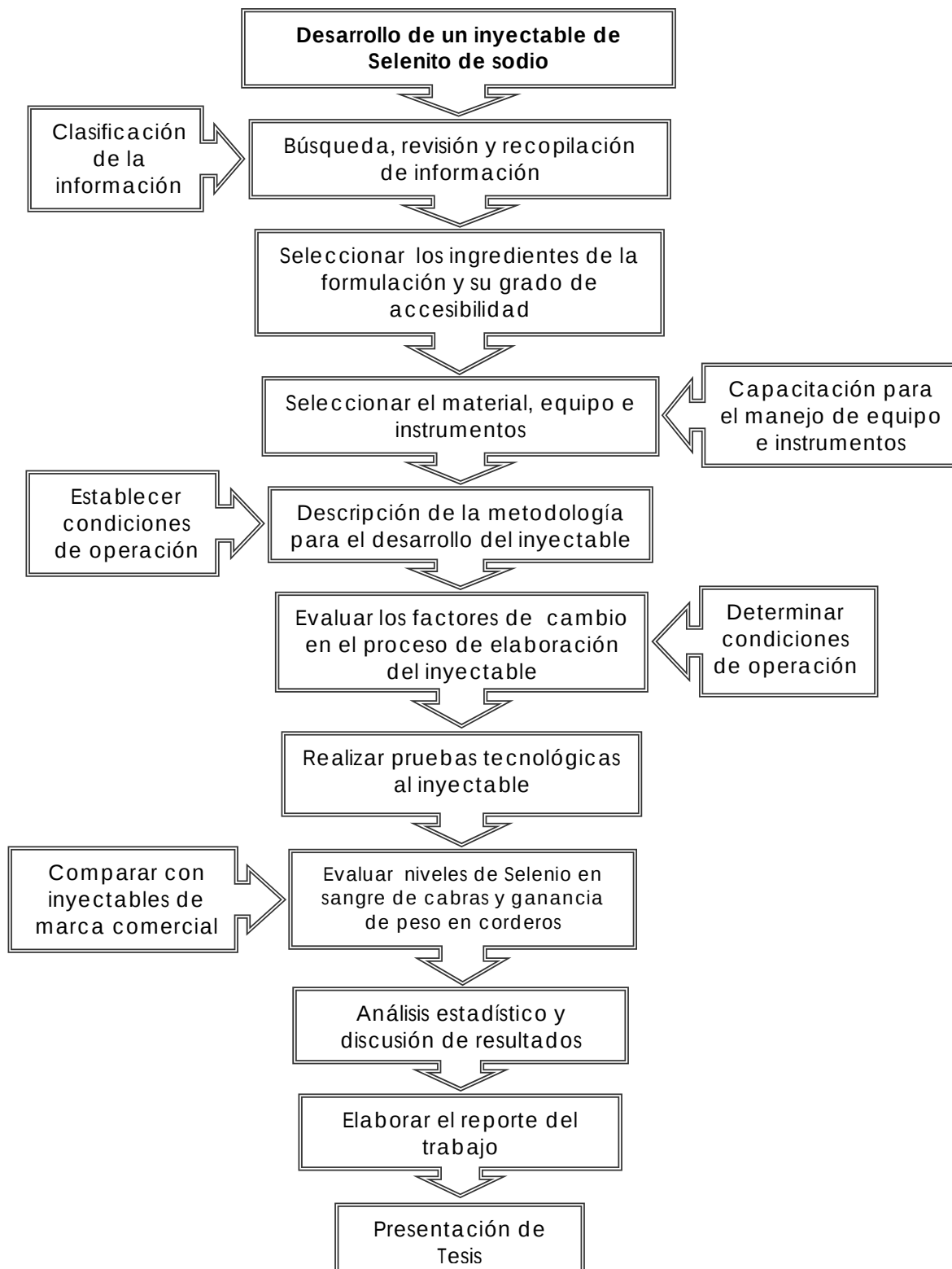
Tabla 21. Especificaciones de los gases usados durante el análisis de muestras biológicas

GASES	MARCA
Acetileno	AGA de México
Nitrógeno 99.9% de pureza	AGA de México
Aire Comprimido	-----

IV. METODOLOGÍA



1. PLAN DE TRABAJO





2. PLANTEAMIENTO DE LA FORMULACIÓN

Para el planteamiento del desarrollo de la formulación inyectable de selenito de sodio de lenta liberación vía subcutánea, fue necesario fijar de forma adecuada los ingredientes de la formulación, basándonos en la función de cada uno, para obtener la forma farmacéutica deseada. En las tablas 22 y 23, se muestran las cantidades adecuadas de cada uno de los ingredientes de la formulación del inyectable, dependiendo de la dosis que se desea manejar y del lote que se quiere producir.

Tabla 22. Datos generales del producto: Inyectable de Selenio

FORMA FARMACÉUTICA: Suspensión Inyectable	DOSIS: 5 mg de Se/mL	PRINCIPIO ACTIVO: Selenio
---	--------------------------------	-------------------------------------

Tabla 23. Ingredientes de la formulación, así como su función y cantidad en porcentaje (%)

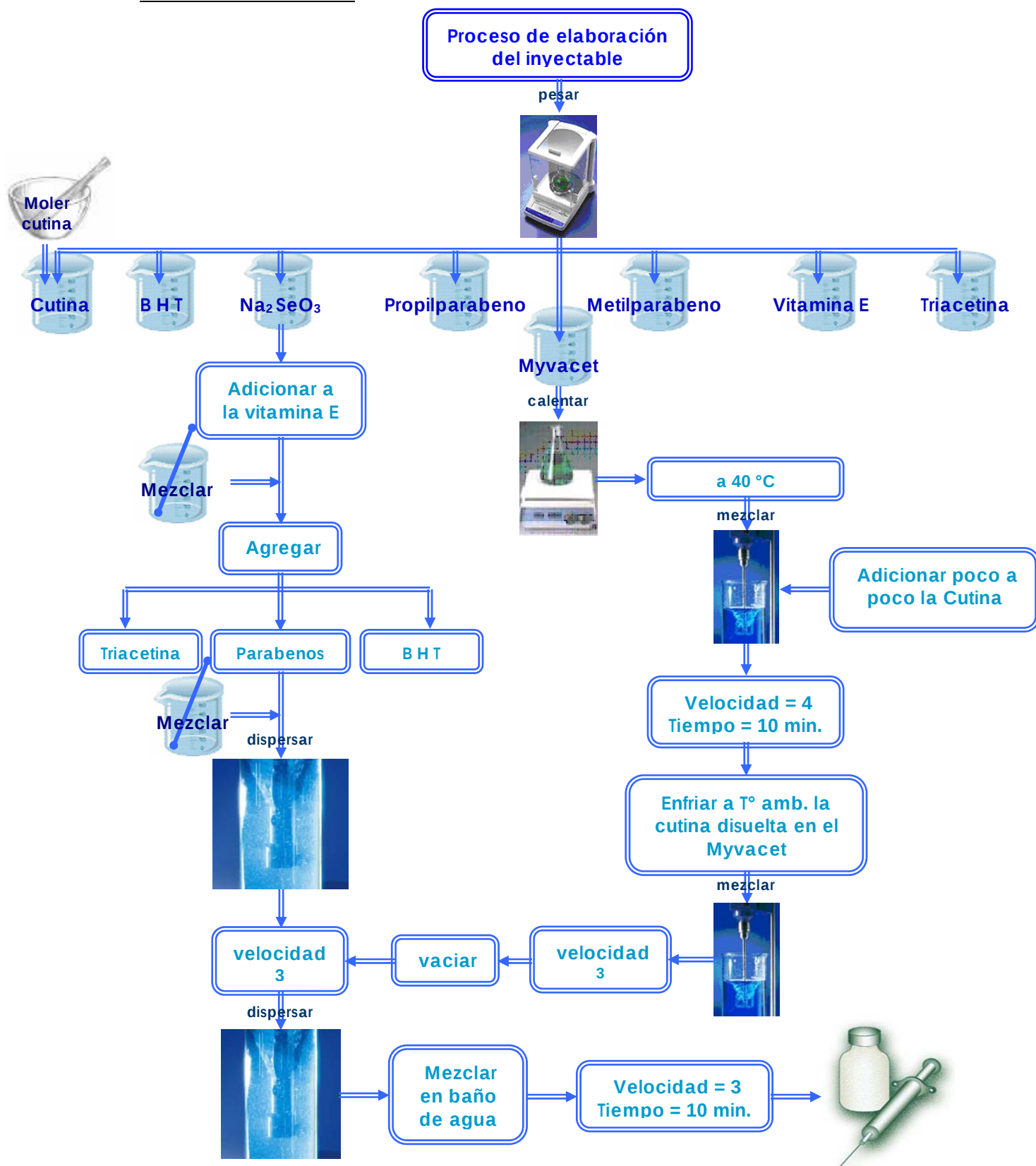
INGREDIENTE	FUNCIÓN	CANTIDAD %	CANTIDAD (g)
Selenito de Sodio	Principio activo	1.11112	1.11112
Vitamina E	Cosolvente	13.6	13.6
Triacetina	Solvente	40	40.0
Cutina	Matriz	1.5	1.5
B H T	Antioxidante	0.02	0.02
Metilparabeno	Conservador	0.18	0.18
Propilparabeno	Conservador	0.02	0.02
Myvacet	Vehículo	c.b.p. 100	42.945

Posterior a la determinación de los ingredientes de la formulación y la cantidad de cada uno, se procedió a establecer el equipo, material e instrumentos necesarios para el proceso de elaboración del inyectable, para plantear metodologías experimentadamente rápidas y sencillas, en las cuales se indiquen los pasos a seguir durante el proceso de elaboración del inyectable. En los procesos hubo variables de cambio como; orden de adición de los ingredientes, velocidad de agitación y tiempo de agitación. Tomándose en cuenta cada una de las variables de cambio en las diversas formulaciones, y realizando evaluaciones y un análisis estadístico a cada propuesta de formulación, se eligió una metodología adecuada que cumplía con un buen desempeño tecnológico, la cual se muestra a continuación.

3. METODOLOGÍA PARA EL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL INYECTABLE DE SELENIO

1. Etiquetar vasos de precipitado en los que se van a pesar cada uno de los ingredientes de la formulación.
2. Moler la Cutina en un mortero de porcelana, hasta obtener un polvo fino.
3. Pesar en los vasos de precipitado cada uno de los ingredientes de la formulación de acuerdo a la tabla 23, en una balanza analítica y anotar en la bitácora los pesos reales.
4. Calentar el Myvacet® en una parrilla, hasta llegar a una temperatura de 40°C, verificar con un termómetro la temperatura.
5. Adicionar poco a poco la Cutina al Myvacet® a 40°C, y al mismo tiempo mezclar con un homogenizador RW 16 Basic de una propela stirrer durante 10 minutos a una velocidad de 4.
6. Adicionar el selenito de sodio al vaso que contiene la vitamina E y mezclar ambos ingredientes con un agitador de vidrio.
7. Retirar el Myvacet® de la parrilla, cuando la cutina esté completamente disuelta para enfriar a temperatura ambiente y continuar la agitación a una velocidad de 3.
8. Agregar los parabenos, el BHT y la Triacetina al vaso que contiene al selenito de sodio y la vitamina E, y mezclar con un agitador de vidrio.
9. Mezclar con un dispersador T25 Basic y un rotor estator, los ingredientes de la formulación del paso (8), a una velocidad de 3, evitando la formación de aire.
10. Verter el Myvacet® con la cutina, a los demás ingredientes de la formulación, limpiando muy bien con una espátula de plástico las paredes del vaso de precipitados.
11. Colocar en un baño de agua a temperatura ambiente el vaso de precipitados que contiene la mezcla final donde se incorporaron todos los ingredientes.
12. Mezclar con el dispersador T25 Basic y un rotor estator, todos los ingredientes de la formulación, a una velocidad de 3 durante 10 min. evitando la formación de aire (burbujas) en la formulación.
13. Verter la formulación en un frasco de vidrio color ámbar y cerrar con una tapa, dejar reposar 24 horas, para posteriormente realizar evaluaciones al inyectable.

3.1 DIAGRAMA DE FLUJO



4. ESTUDIOS PREELIMINARES

Los estudios preliminares realizados a las formulaciones de los inyectables consistieron en realizar pruebas tecnológicas a cada producto como son:

1. Aspecto
2. pH
3. Densidad Relativa
4. Viscosidad
5. Contenido químico

La toma de muestras para el análisis del inyectable se realizó al producto terminado manteniéndolo en agitación constante. En base a los resultados obtenidos de las evaluaciones y al tratamiento estadístico de los datos, fue posible elegir:

- La cantidad adecuada de Cutina en la formulación
- El orden de adición de los ingredientes durante el proceso de elaboración
- Las condiciones óptimas del proceso de elaboración del inyectable, como; temperatura, velocidad de agitación y tiempo de agitación.

Tomando en cuenta que el inyectable desarrollado es una suspensión también se hicieron las siguientes pruebas; de volumen de sedimentación y de redispersabilidad. Para poder demostrar que el inyectable final es una suspensión de fácil redispersión por agitación y que después de ello el contenido es uniforme, además de tener propiedades de flujo deseables. Así mismo, estas pruebas manifestarán si tenemos una suspensión defloculada o floculada, en donde la primera impide la rápida sedimentación de las partículas, pero puede llegar a formar un sedimento difícil de resuspender y la segunda tiende a sedimentar más rápido pero su redispersión es mucho mas fácil, en el caso del inyectable lo que tenemos es una suspensión defloculada según la tabla 24:

Tabla 24. Características generales de las suspensiones defloculadas

Características de las Suspensiones defloculadas
Las partículas existen en suspensión como entidades separadas.
La velocidad de sedimentación es baja porque cada partícula sedimenta por separado.
El sedimento se forma lentamente.
El sedimento finalmente se hace muy compacto debido al peso de las capas superiores de material sedimentado. Las fuerzas de repulsión entre partículas son vencidas y se forma una pasta dura difícil o imposible de volver a dispersar.
La suspensión tiene aspecto agradable por que el material suspendido sigue estándolo durante un tiempo relativamente largo. El sobrenadante también sigue turbio incluso cuando hay un sedimento visible.

5. PRUEBAS A REALIZAR AL INYECTABLE

5.1 ASPECTO

El aspecto es una de las pruebas de inicio que se le realizaron a las formulaciones inyectables. Esta prueba principalmente consiste en observar al producto final y verificar principalmente como se encuentra en cuanto a sus propiedades organolépticas como:

- Color
- Turbidez
- Claridad
- Olor
- Estado de agregación (líquido, sólido, gel, etc.)

5.2 pH

La prueba de pH se desarrollo de acuerdo a lo especificado en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, la cual consiste en calibrar el equipo con dos soluciones reguladoras, patrón de referencia certificadas para calibración, cuya diferencia en pH no exceda de 4 unidades.

La determinación del pH se efectúa con 50mL del inyectable de selenio en agitación constante a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un potenciómetro, esta medición al producto se realiza por triplicado, para obtener al final un promedio del valor de pH del producto (FEUM, 2000).



Figura 10. Potenciómetro pH meter modelo 7, CORNING

5.3 DENSIDAD RELATIVA

La prueba de densidad relativa se realiza en base a la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, según la prueba MGA 0251:

1. Pesar en la balanza analítica el picnómetro vacío y registrar su peso en g, como A
2. Adicionar agua al picnómetro hasta la marca y pesar para registrar su peso en g como B
3. Adicionar al picnómetro el producto hasta la marca y pesar, registrando su peso en g como B'
4. La toma de muestra del inyectable para el análisis se toma durante agitación constante y se realiza por triplicado para obtener una media del valor final de gravedad específica.
5. Calcular la gravedad específica mediante la siguiente fórmula.

$$C = B - A$$

$$D = B' - A$$

$$DR = D / C$$

- DR: Densidad relativa
- C: peso en g del agua
- D: peso en g del producto



Figura 11. Picnómetro de vidrio para la determinación de la densidad relativa

5.4 VISCOSIDAD

La viscosidad es una expresión de la resistencia de los líquidos a fluir y esta propiedad de flujo es posible evaluarla de manera cuantitativa mediante la ecuación de Newton:

$$F/A = \eta \, dv / dr$$

- F/A = fuerza por unidad de área requerida para producir el flujo o “fuerza de corte”
- η = coeficiente de viscosidad
- dv/dr = velocidad de corte

La unidad de la viscosidad es el poise (p), que a su vez es la unidad de la viscosidad dinámica y se define como la fuerza en dinas necesaria para producir una velocidad de 1cm/s entre dos planos paralelos de líquido. En donde un poise = g/cm s.

La viscosidad generalmente se determina en instrumentos capilares o rotacionales. El viscosímetro rotacional permite medir la velocidad de flujo de un líquido en situaciones variables de fuerza.

Es importante medir la viscosidad del inyectable desarrollado, ya que es uno de los parámetros que nos dan información acerca del comportamiento del producto. Puesto que una suspensión con un alto grado de viscosidad presenta mayores problemas tecnológicos que una con viscosidad menor.

Este parámetro se realiza de la siguiente manera, en un viscosímetro:

1. Colocar en vaso de precipitados de 100 mL el producto.
2. Colocar una aguja del número 4 en el instrumento.
3. Programar en el instrumento una velocidad de 30 rpm y después de 50 rpm.
4. Anotar la viscosidad indicada en el instrumento, para cada velocidad.



Figura 12. Viscosímetro BROOKFIELD

5.5 CONTENIDO QUÍMICO

La prueba de contenido químico de selenio en el producto es importante, ya que nos indica si el inyectable contiene lo especificado en la etiqueta, para producir el efecto deseado. En esta prueba al inyectable se le da un tratamiento que consiste en una digestión ácida, para posteriormente leer en el EAA por flama.

Tratamiento de los inyectables (Digestión ácida).

Inyectable en agitación: tomar una alícuota de 500 µL del inyectable y colocar en un vaso de precipitado de 100 mL, adicionar 25 mL de HCl 7, inmediatamente calentar durante 20 minutos y después se deja reposar 30 minutos para que se enfríe. Posteriormente el contenido del vaso de precipitado se vierte en matraces volumétricos de 50 mL, enjuagándose 3 veces cada vaso con HCl 7M y llevar a la marca de aforo con HCl 7M. Finalmente transferir las muestras a recipientes de polietileno previamente etiquetados, para su posterior análisis.

Método de cuantificación (Absorción Atómica sistema de Flama).

Para la cuantificación de Selenio en los inyectables, se realizaron curvas de calibración con cinco niveles de concentración diferentes, a partir de una solución stock. Las cuales se leyeron por Espectrometría de Absorción Atómica mediante el sistema de flama con una lámpara de cátodo hueco de selenio.

5.6 VOLUMEN DE SEDIMENTACIÓN

El volumen de sedimentación V_s ha sido definido como:

$$V_s = (V/V_o) * 100$$

- V = volumen final
- V_o = volumen inicial de la suspensión antes de la sedimentación.

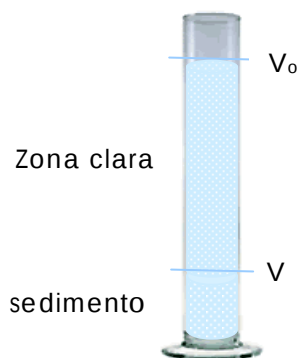


Figura 13. Representación para medir el volumen de sedimentación

La medición del volumen de sedimentación se realiza como lo muestra la figura 13, colocando 100 mL del producto en una probeta graduada, midiendo el volumen inicial y después de cierto tiempo se verifica el volumen de sedimento. Se considera un volumen de sedimentación adecuado cuando este sea muy cercano al 100.



5.7 FACILIDAD DE RESUSPENDIBILIDAD

En el caso de que una suspensión farmacéutica produzca un sedimento en almacenaje, es esencial que este sea fácilmente dispersable para que la unidad de la dosis sea uniforme.

Se requiere que la agitación para redispersar sea mínima. Para evaluar la facilidad de resuspendibilidad, la suspensión se coloca en una probeta graduada de 100 mL la cual después de almacenada sedimenta, posteriormente es sometida a agitación. El punto final es tomado cuando la base de la probeta esta libre de sedimento.

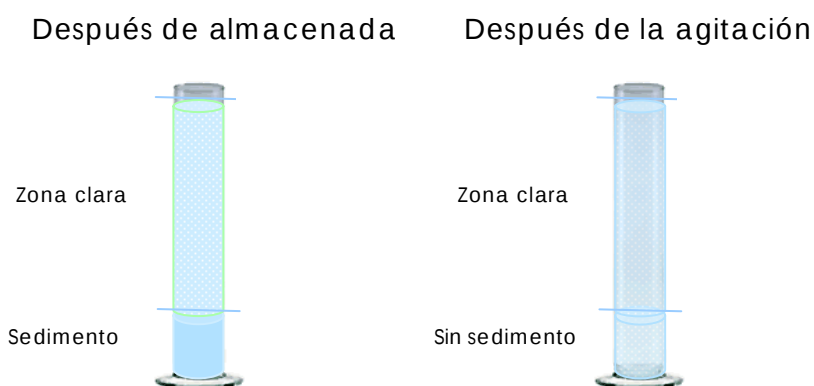


Figura 14. Representación para evaluar la facilidad de resuspendibilidad

5.8 VELOCIDAD DE FLUJO

La determinación de la velocidad de flujo es importante evaluarla en el inyectable, para testificar que fluye de manera apropiada y facilite su manejo en la jeringa, y para evitar que la administración sea dolorosa a la hora de la aplicación en los animales.

Esta prueba se realiza de acuerdo a los siguientes pasos:

1. Pesar una probeta de 50 mL vacía, en una balanza análítica.
2. Pesar la probeta con 50 mL de agua.
3. Verter los 50 mL del agua, en un embudo adaptado para esta prueba y medir con un cronómetro el tiempo que tarda en salir el agua del embudo.
4. Realizar por triplicado esta prueba para determinar el promedio de la velocidad de flujo de los 50 mL de agua.

5. Pesar la probeta con 50 mL del inyectable.
6. Verter los 50 mL del inyectable, en el mismo embudo adaptado para esta prueba y medir con un cronómetro el tiempo que tarda en salir el inyectable del embudo.
7. Realizar por triplicado esta prueba para determinar el promedio de la velocidad de flujo de los 50 mL del inyectable.
8. Realizar cálculos según la siguiente fórmula para determinar la fluidez del inyectable y comparar con la fluidez del agua.

$$\text{Velocidad de flujo} = \text{peso de la muestra (g)} / \text{tiempo (s)}$$



Figura 15. Representación para determinar la velocidad de flujo

Dimensiones

D1 = 50.0mm

D2 = 4.0mm

L1 = 40.0mm

L 2 = 8.0mm

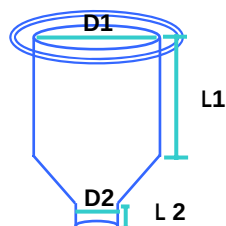


Figura 16. Dimensiones del material para la evaluación de la velocidad de flujo

6. PRUEBAS A REALIZAR EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se realizaron distintas pruebas *in vivo*, a diferentes grupos de animales, para la optimización del inyectable de selenio desarrollado. Los animales en los que se evaluó y administró el inyectable de selenio desarrollado fueron:

- Cabras:

Evaluar la concentración de selenio en sangre total

- Corderos:

Evaluar la influencia que tiene una administración de selenio en la ganancia del peso de los animales.

Cada grupo de animales, administrados con el inyectable de selenio desarrollado se comparó con un inyectable de selenio de marca comercial.

6.1 CABRAS

En las Cabras se evaluó la concentración de selenio en sangre total. En esta prueba se utilizaron cabras del estado de Tlaxcala, lugar en el cual el suelo es deficiente de Selenio, por tal motivo la importancia de suplementar a las cabras con el inyectable de Selenio y así determinar la efectividad del producto, comparándolo con un inyectable de selenio de marca (MU-SE®) de igual dosis (5 mgSe/mL).

Las cabras estuvieron controladas bajo las mismas condiciones de vida y alimentación donde su dieta fue baja o casi nula en sales minerales para no alterar ningún resultado en la cuantificación de Selenio en sangre.

Se trataron 30 cabras hembras de aproximadamente de 2 a 3 meses de edad, las cuales se dividieron de forma aleatoria en 3 grupos de 10 cabras cada uno:

Grupo 1: administradas con Inyectable de Selenito de sodio FES-C

Grupo 2: administradas con el Inyectable de Selenito de sodio marca Mu-Se®

Grupo 3: sin administración de Selenito de sodio (grupo CONTROL)

Los inyectables de selenio fueron administrados a las cabras mediante la siguiente fórmula:

0.15 mg de Se inyectable / Kg de peso vivo

6.1.1 CUANTIFICACIÓN DE LOS NIVELES DE SELENIO EN SANGRE TOTAL

Las cabras fueron administradas por debajo de la pata y la toma de muestras de sangre se realizó directamente en la yugular de las cabras con un vacutainer, tomando aproximadamente 4 mL de sangre en cada toma y fueron recolectadas de la siguiente forma: 1^{er} día, 16 días, 29 días y 50 días, obteniendo así, muestras en 4 diferentes fechas:

- Antes de la administración, muestras basales
22/08/2004 – (1 día)
- Después de la administración
07/09/2004 – (16 días)
20/09/2004 – (29 días)
11/10/2004 – (50 días)

Posterior a la toma de muestras de sangre, éstas se congelaron en un refrigerador a –25 °C , después se descongelaron y trataron mediante una digestión ácida y sometiéndolas a altas temperaturas en horno de microondas, posteriormente las muestras en solución se cuantificaron en un espectrofotómetro de absorción atómica por generación de hidruros, técnicas desarrolladas, reportadas y validadas por QFB's (Nonato N., 1994; Gleason H. 2004; Eliveth, 2005).

6.2 CORDEROS

Se utilizaron ovejas gestantes pertenecientes al rancho de la FES-Cuautitlán en Campo 4, las cuales tuvieron sus respectivos corderos y en los que se evaluó la ganancia su peso en función de una administración de Selenio.

Se trataron 15 ovejas hembras gestantes las cuales se dividieron en 3 grupos de manera aleatoria y agrupándolas de la siguiente forma:

- 15 ovejas gestantes
 - **Grupo 1:** 3 ovejas sin administración de Selenio
 - **Grupo 2:** 6 ovejas administradas con el Inyectable de Se FES-C
 - **Grupo 3:** 6 ovejas administradas con el inyectable Seleject

Los corderos nacidos de cada oveja también, se agruparon en subgrupos recibiendo después de su nacimiento, el mismo tratamiento al que fueron sometidas sus madres, como a continuación se muestra:



- 15 corderos
 - **Subgrupo 1.1:** 3 corderos sin administración de selenio
 - **Subgrupo 2.1:** 6 corderos administrados con el Inyectable de Se FES-C
 - **Subgrupo 3.1:** 6 corderos administrados con el inyectable Seleject

Los inyectables de Selenio Seleject y FES-C de igual dosis: 5 mg de Se/mL, fueron administrados antes del parto a las ovejas por vía subcutánea según su peso:

Menos de 60 Kg de peso vivo-----1 mL de inyectable

Más de 61 kg de peso vivo-----2 mL de inyectable

Los inyectables de selenio Seleject y FES-C de igual dosis: 2.5 mg de Se/mL, fueron administrados a los corderos por vía subcutánea según su masa:

Menos de 60 Kg de peso vivo-----1 mL de inyectable

6.2.1 INFLUENCIA DEL SELENIO EN LA GANANCIA DE PESO EN LOS CORDEROS

Las ovejas y los corderos fueron administrados debajo de la pata vía subcutánea, y la toma de los pesos en los corderos fué: el día de su nacimiento y posteriormente en diferentes periodos de tiempo hasta los 80 días de vida aproximadamente, las fechas de evaluación del peso en los corderos fue variando dependiendo del día en que nacieron.

6.3 DIAGRAMAS DE FLUJO

En los siguientes diagramas de flujo, se mencionan de manera general los pasos que se llevaron a cabo para la evaluación del inyectable de Selenio desarrollado (FES-C), en los diferentes animales de experimentación, así como, los pasos para el análisis de muestras biológicas, tanto su tratamiento previo en el horno de microondas y su cuantificación en el espectrómetro de absorción atómica por generador de hidruros.

Cuantificación de Se en sangre

6.3.1 CABRAS



30

Controladas con las mismas condiciones de vida y dieta

Se establecieron 3 grupos

Grupo 1: 10



Se les dosificó 0.15 mg Se/kg p.v. Se FES-C

Grupo 2: 10



Se les dosificó 0.15 mg Se/kg p.v. Mu-Se

Grupo 3: 10



Sin administración de Selenio

Se obtuvieron muestras de sangre post tratamiento:

Basal

17 días

30 días

51 días

Se congelaron las muestras hasta su tratamiento

Tratamiento: Digestión ácida



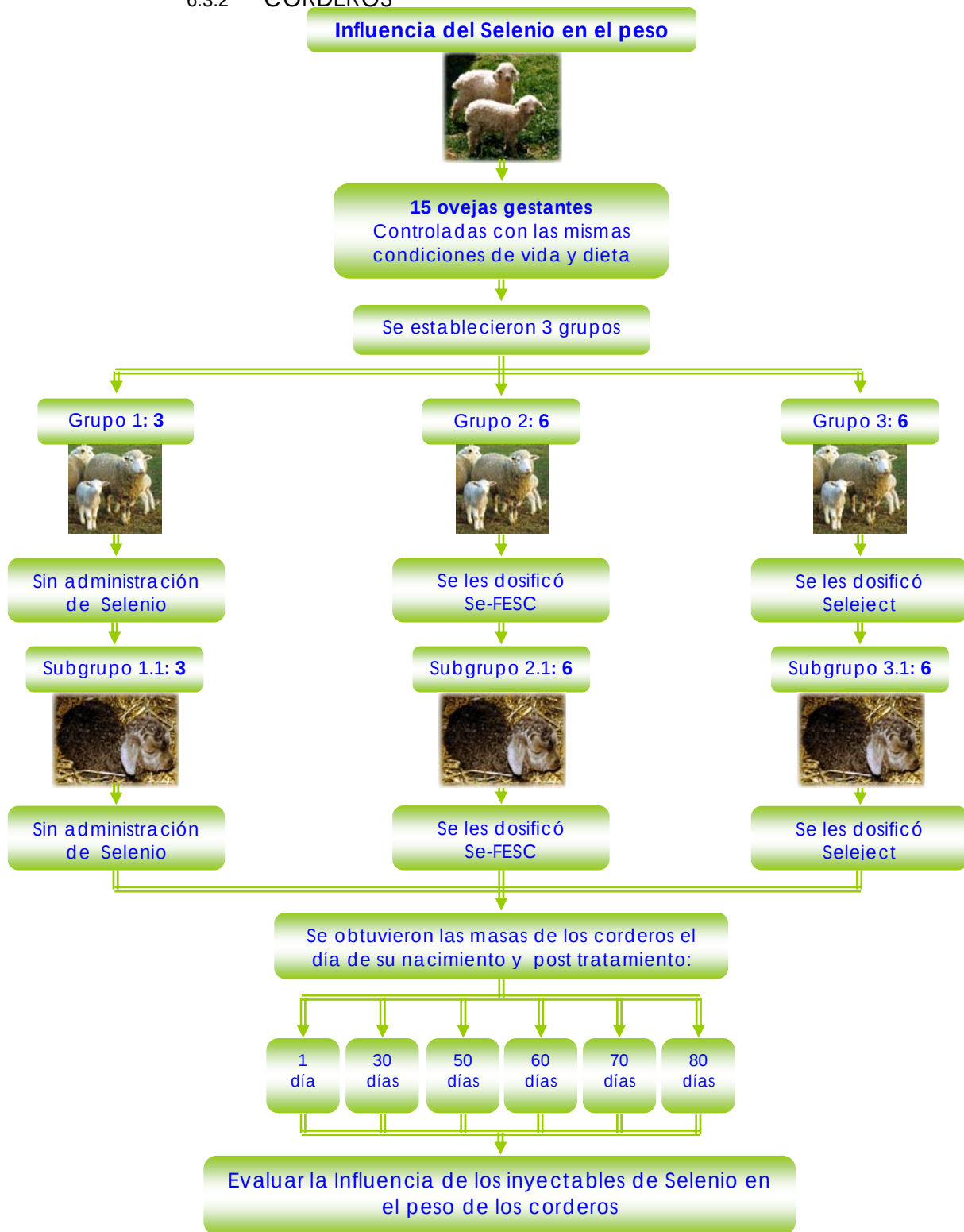
Cuantificación: EAA-GH



Evaluación: niveles de Se en sangre

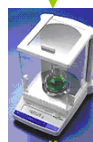


6.3.2 CORDEROS



6.3.3 DIGESTIÓN ÁCIDA

DIGESTIÓN ÁCIDA



1g
muestra



10 mL H₂O

5 mL H₂NO₃

2 mL H₂O₂

Reposar 30 min.



1. Colocar chaquetas
2. Tapar vasos
3. Montar en base de plástico



Montar
en el
carrusel



Introducir
al horno



Someter a digestión
método: Plasma 2-HP500

Condiciones para la digestión de las muestras, Método Plasma 2 –HP500

Etapa	Potencia		Tiempo de alcanse	Presión psi	Temperatura °C	Tiempo de Mantenimiento
	máxima	%				
1	1200w	100	5 min	350	120	2 min
2	1200w	100	5 min	350	170	5 min



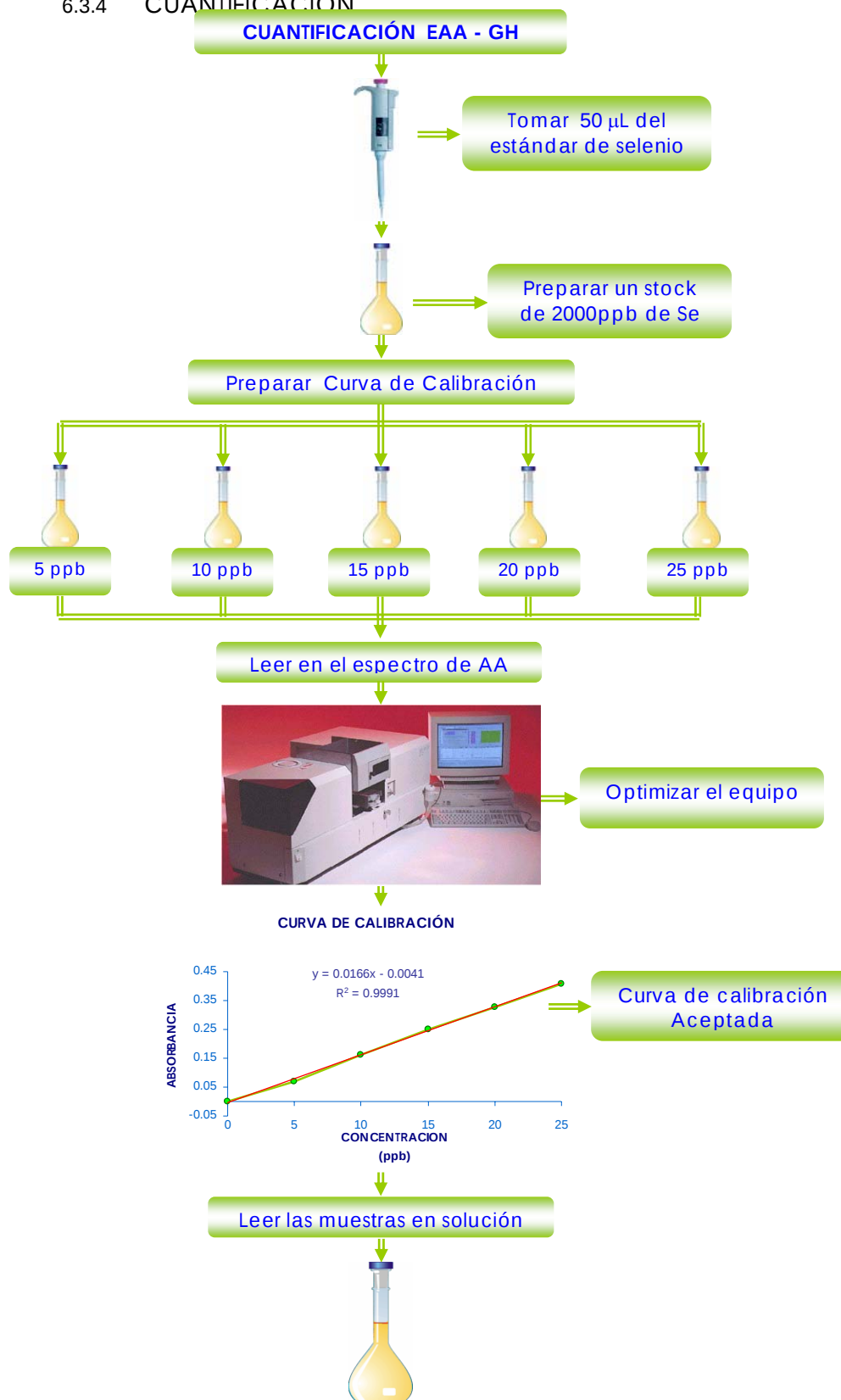
Sacar y enfriar
durante 1hr



Vaciar muestras a matraces
vol. de 50 mL y llevar a la
marca de aforo con HCl 7M



6.3.4 CUANTIFICACIÓN



V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



1. PLANTEAMIENTO DE LA FORMULACIÓN

En esta etapa, se formularon 7 inyectables, los cuales fueron analizados para elegir la formulación de mejor desempeño tecnológico, para una adecuada administración en los animales.

FORMULACIONES

Tabla 25. Datos generales de la formulación 1

FORMA FARMACÉUTICA: Suspensión Inyectable	DOSIS: 5mg de Se/mL	PRINCIPIO ACTIVO: Selenito de sodio
---	-------------------------------	---

INGREDIENTE	CANTIDAD %	CANTIDAD (g)	CANTIDAD PESADA (g)
Selenito de Sodio	1.11112	1.11112	1.1142
Vitamina E	13.6	13.6	13.6300
Triacetina	40.0	40.0	40.2261
Cutina	1.7	1.7	1.7006
B H T	0.02	0.02	0.0210
Metilparabeno	0.18	0.18	0.1800
Propilparabeno	0.02	0.02	0.0211
Myvacet	c.b.p. 100	43.369	43.3848

Tabla 26. Datos generales de la formulación 2

FORMA FARMACÉUTICA: Suspensión Inyectable	DOSIS: 10mg de Se/mL	PRINCIPIO ACTIVO: Selenio
---	--------------------------------	-------------------------------------

INGREDIENTE	CANTIDAD %	CANTIDAD (g)	CANTIDAD PESADA (g)
Selenito de Sodio	2.222	2.222	2.2228
Vitamina E	13.6	13.6	13.6537
Triacetina	40.0	40.0	40.0222
Cutina	1.6	1.6	1.6003
B H T	0.02	0.02	0.0207
Metilparabeno	0.18	0.18	0.1834
Propilparabeno	0.02	0.02	0.0264
Myvacet	c.b.p. 100	42.358	42.6097



INYECTABLE SELENIO

Tabla 27. Datos generales de la formulación 3

FORMA FARMACÉUTICA: Suspensión Inyectable	DOSIS: 5mg de Se/mL	PRINCIPIO ACTIVO: Selenio
---	-------------------------------	-------------------------------------

INGREDIENTE	CANTIDAD %	CANTIDAD (g)	CANTIDAD PESADA (g)
Selenito de Sodio	1.1111	1.1111	1.1116
Vitamina E	13.6	13.6	13.8824
Triacetina	40.0	40.0	42.882
Cutina	1.5	1.5	1.5018
B H T	0.02	0.02	0.0230
Metilparabeno	0.18	0.18	0.1812
Propilparabeno	0.02	0.02	0.0210
Myvacet	c.b.p. 100	43.569	44.278

Tabla 28. Datos generales de la formulación 4

FORMA FARMACÉUTICA: Suspensión Inyectable	DOSIS: 2.5mg de Se/mL	PRINCIPIO ACTIVO: Selenio
---	---------------------------------	-------------------------------------

INGREDIENTE	CANTIDAD %	CANTIDAD (g)	CANTIDAD PESADA (g)
Selenito de Sodio	0.5554	0.5554	0.5560
Vitamina E	13.6	13.6	13.607
Triacetina	40.0	40.0	40.8562
Cutina	1.5	1.5	1.5010
B H T	0.02	0.02	0.0216
Metilparabeno	0.18	0.18	0.1840
Propilparabeno	0.02	0.02	0.216
Myvacet	c.b.p. 100	42.358	45.1724



Tabla 29. Datos generales de la formulación 5

FORMA FARMACÉUTICA: Suspensión Inyectable	DOSIS: 2.5mg de Se/mL	PRINCIPIO ACTIVO: Selenio
---	---------------------------------	-------------------------------------

INGREDIENTE	CANTIDAD %	CANTIDAD (g)	CANTIDAD PESADA (g)
Selenito de Sodio	0.5554	0.5554	0.5553
Vitamina E	13.6	13.6	13.6006
Triacetina	40.0	40.0	40.1557
Cutina	1.5	1.5	1.5001
B H T	0.02	0.02	0.0209
Metilparabeno	0.18	0.18	0.1800
Propilparabeno	0.02	0.02	0.0205
Myvacet	c.b.p. 100	44.1246	44.1447

Tabla 30. Datos generales de la formulación 6

FORMA FARMACÉUTICA: Suspensión Inyectable	DOSIS: 1.5mg de Se/mL	PRINCIPIO ACTIVO: Selenio
---	---------------------------------	-------------------------------------

INGREDIENTE	CANTIDAD %	CANTIDAD (g)	CANTIDAD PESADA (g)
Selenito de Sodio	0.33324	0.33324	0.3342
Vitamina E	13.6	13.6	13.6645
Triacetina	40.0	40.0	41.5505
Cutina	1.5	1.5	1.5015
B H T	0.02	0.02	0.0205
Metilparabeno	0.18	0.18	0.1806
Propilparabeno	0.02	0.02	0.0206
Myvacet	c.b.p. 100	44.3468	44.3448



Tabla 31. Datos generales de la formulación 7

FORMA FARMACÉUTICA: Suspensión Inyectable	DOSIS: 5mg de Se/mL	PRINCIPIO ACTIVO: Selenio
---	-------------------------------	-------------------------------------

INGREDIENTE	CANTIDAD %	CANTIDAD (g)	CANTIDAD PESADA (g)
Selenito de Sodio	1.1112	1.1112	1.1197
Vitamina E	13.6	13.6	13.6868
Triacetina	40.0	40.0	40.3113
Cutina	1.5	1.5	1.5003
B H T	0.02	0.02	0.0233
Metilparabeno	0.18	0.18	0.1833
Propilparabeno	0.02	0.02	0.0226
Myvacet	c.b.p. 100	42.945	43.8154

El contenido de los excipientes y los porcentajes en cada formulación, se fijaron de acuerdo a lo referido en las especificaciones de la FDA y el Handbook of Pharmaceuticals Excipients, para el caso de inyectables subcutáneos e intramusculares, las cuales se describen en la tabla 32.

Tabla 32. Especificaciones de los excipientes usados en la formulación, según la FDA y el Handbook of Pharmaceutical Excipients

EXCIPIENTE	FUNCIÓN	ESPECIFICACIÓN PARA INYECTABLES Subcutáneos ó Intramusculares		% USADO EN LA FORMULACIÓN
		FDA máxima potencia	HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS	
Triacetina	Solvente	22.1 mg	10 – 40 %	40.0
Cutina	Matriz	1.6 mg	5 – 10 %	1.5
B H T	Antioxidante	0.03 %	Hasta 0.03 %	0.02
Metilparabeno	Conservador	0.18 - 0.44 %	0.065 – 0.25 %	0.18
Propilparabeno	Conservador	0.02 %	0.005 – 0.2 %	0.02
Myvacet	Solvente	No especificado	Hasta 96 %	42.945

Como se refiere en las tablas de la 25 a la 31, las cantidades de los excipientes usados en cada formulación, se cumple con las especificaciones indicadas en la tabla 32. Sin embargo, es posible distinguir que, la cantidad de Cutina en las tres primeras formulaciones



desarrolladas se fue variando dado que, las formulaciones con un porcentaje mayor al 1.5% de Cutina, mostraron bajas propiedades de flujo; con una viscosidad muy alta y una mala resuspendibilidad del inyectable, lo cual afecta de manera importante el manejo del inyectable a la hora de su administración. Así mismo, basándonos en las propiedades de flujo del inyectable y en las evaluaciones realizadas, fue posible fijar el porcentaje de Cutina que nos favoreciera en este tipo de propiedades y asimismo, asegurar la formación de la matriz en el tejido subcutáneo, para liberar de forma lenta el selenio.

Conjuntamente, el orden de adición de los constituyentes de la formulación influyo de manera determinante en el desarrollo y características finales del inyectable; como se resume en la tabla 33.

Tabla 33. Factores de cambio en el proceso de elaboración de los inyectables (F ; formulación)

F	Contenido de selenio (mgSe/mL)	Cutina (%)	Orden de adición de los ingredientes	Velocidad de mezclado (rpm)	Tiempo de mezclado (min)	Aspecto de la suspensión inyectable
1	5	1.7	1ª Selenito de sodio 2º Triacetina 3ª Vitamina E 4ª Demás ingredientes	4	5	Gel oleoso, blanco de difícil resuspendibilidad ya que forma un cake, con volumen de sedimentación de 7 mL y viscosidad muy alta
2	10	1.6	1ª Selenito de sodio 2º Triacetina 3ª Vitamina E 4ª Demás ingredientes	4	5	Gel oleoso, blanco de difícil resuspendibilidad ya que forma un cake, con un volumen de sedimentación de 7 mL y viscosidad muy alta
3	5	1.5	1ª Selenito de sodio 2º Triacetina 3ª Vitamina E 4ª Demás ingredientes	4	5	Líquido oleoso, turbio, blanco con moderada resuspendibilidad, con un bajo volumen de sedimentación de 5 mL y baja viscosidad
4	2.5	1.5	1ª Triacetina 2ª Vitamina E 3ª Selenito de sodio 4ª Demás ingredientes	3	10	Gel oleoso, blanco, turbio con mala resuspendibilidad ya que forma un cake, con un volumen de sedimentación de 6 mL y alta viscosidad
5	2.5	1.5	1ª Vitamina E 2ª Selenito de sodio 3ª Triacetina 4ª Demás ingredientes	3	10	Líquido oleoso, turbio, blanco con buena resuspendibilidad, sin volumen de sedimentación y de muy baja viscosidad
6	1.5	1.5	1ª Vitamina E 2ª Selenito de sodio 3ª Triacetina 4ª Demás ingredientes	3	10	Líquido oleoso, turbio, blanco con buena resuspendibilidad, sin volumen de sedimentación y de baja viscosidad
7	5	1.5	1ª Vitamina E 2ª Selenito de sodio 3ª Triacetina 4ª Demás ingredientes	3	10	Líquido oleoso, turbio, blanco con buena resuspendibilidad, sin volumen de sedimentación y de baja viscosidad



Dado que, actualmente no existe una suspensión inyectable de selenio de lenta liberación en el mercado farmacéutico, no se tienen parámetros establecidos para comparar los resultados obtenidos de las evaluaciones realizadas a cada formulación desarrollada.

El efecto del cambio del contenido de los excipientes dentro de cada formulación sobre las características del producto terminado se evaluó con el módulo de One-Way ANOVA del programa de Statgraphics Plus versión 5.

En base al análisis estadístico y al mejor desempeño tecnológico de las formulaciones, fue posible establecer las condiciones de operación durante el proceso de elaboración del inyectable de selenito de sodio.

Las suspensiones inyectables que presentaron las características de calidad deseadas para facilitar su aplicación fueron las pertenecientes a las formulaciones 5, 6 y 7, que corresponden a la metodología que se indicó de manera detallada en la página 57, en la cual se mencionan cada uno de los puntos a seguir y las condiciones que se deben de tomar en cuenta durante el proceso de elaboración del inyectable.

De igual forma, las condiciones de operación están referidas de forma más general en un diagrama de flujo en la página 58 de esta tesis.

Los análisis que se muestran a continuación fueron realizados a los productos terminados, donde es importante señalar que la toma de muestra para cada análisis se realizó cuando el inyectable se mantenía en agitación constante y muestreando de cuatro diferentes partes del producto, para ser más homogéneo el muestreo.



2. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS AL INYECTABLE

2.1 VOLUMEN DE SEDIMENTACIÓN Y RESUSPENDIBILIDAD

La tabla 34 muestra los resultados obtenidos durante estos análisis.

Tabla 34. Resultados de las pruebas de volumen de sedimentación y resuspendibilidad

FORMULACIÓN	VOLUMEN DE SEDIMENTACIÓN	RESUSPENDIBILIDAD
1	volumen de sedimentación de 7 mL	difícil resuspendibilidad forma un cake
2	volumen de sedimentación de 7 mL	difícil resuspendibilidad forma un cake
3	volumen de sedimentación de 5 mL	moderada resuspendibilidad
4	volumen de sedimentación de 6 mL	mala resuspendibilidad forma un cake
5	sin volumen de sedimentación	buena resuspendibilidad
6	sin volumen de sedimentación	buena resuspendibilidad
7	sin volumen de sedimentación	buena resuspendibilidad

Las formulaciones 5, 6 y 7 presentaron buenas propiedades de flujo y una fácil redispersión al agitarlas, características necesarias para su adecuada administración.

Así mismo, estas tres formulaciones son suspensiones defloculadas, presentando un aspecto agradable, a causa del material suspendido que se mantienen durante un tiempo relativamente largo, lo que impide la rápida sedimentación de las partículas y favorece la administración del inyectable.

Sin embargo, es necesario apoyarnos en los resultados obtenidos de las demás evaluaciones para determinar si las suspensiones inyectables correspondientes a las formulaciones 5, 6 y 7, poseen un buen desempeño tecnológico, donde la única fuente de variación entre estas formulaciones es el contenido de selenito de sodio que se le adicionó a cada una, porque la metodología que se siguió para la elaboración de cada inyectable fue la misma.



2.2 pH

Al evaluar el pH fue posible distinguir la formulación con un pH más cercano al fisiológico que es de 7.4, la tabla 35 muestra los datos obtenidos en esta prueba.

Tabla 35. Resultados de la prueba de pH

FORMULACIÓN	DOSIS DE SELENIO (mg/mL)	pH	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	C. V. (%)
5	2.5	7.4	7.4	0.0577	0.78
		7.5			
		7.4			
6	1.5	8.4	8.4	0.0577	0.68
		8.4			
		8.5			
7	5.0	7.5	7.6	0.0577	0.76
		7.6			
		7.6			

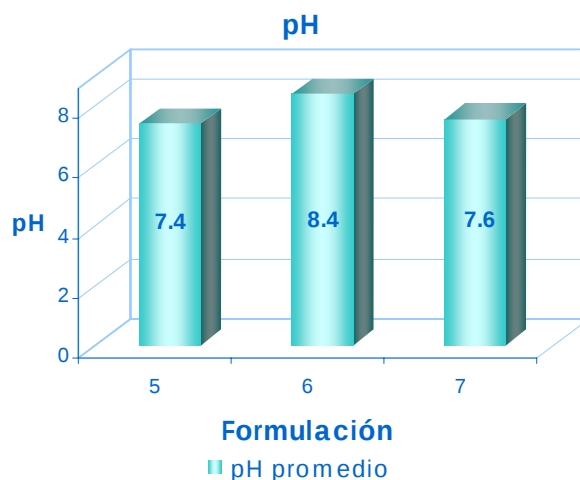


Figura 17. Gráfico de barras del pH promedio de las formulaciones 5, 6 y 7

La figura 17, muestra gráficamente el valor del pH promedio de cada inyectable, y se puede observar que las formulaciones 5 y 7 poseen un pH cercano al pH fisiológico, en cambio la formulación 6 presenta un pH mayor debido a que la cantidad de Myvacet es mayor en esta formulación y es el ingrediente que determina el pH, pero que no afecta de manera importante la estabilidad del inyectable, ni su administración en el animal, dado que al momento de la aplicación del inyectable y post administración, no existió evidencia de traumas en la zona de aplicación, ni molestias en el animal.



Para el Análisis de variancia del pH en función del contenido de Selenio (mg/mL), las hipótesis implicadas son:

Ho: pH formulación 5 (2.5mgSe/mL) = pH formulación 6 (1.5mgSe/mL) = pH formulación 7 (5mgSe/mL)

Ha: al menos un par de formulaciones es diferente

Tabla 36. ANOVA para el pH en función del contenido de Selenio (mg/mL)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F -cociente	p-valor
Entre grupos (cont. De Se)	1.6467	2	0.8233	67.36	0.0001
Intra grupos (error)	0.0733	6	0.0122		
Total (corr.)	1.72	8			

De acuerdo a la tabla 36, se acepta Ha ya que, el P-valor de la prueba F es menor de 0.05, lo cual implica que estadísticamente hay una diferencia significativa entre los valores de pH de los lotes analizados.

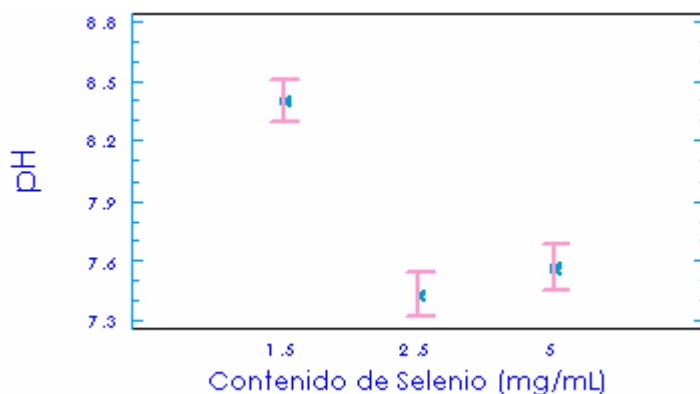


Figura 18. Medias de pH trazadas a un nivel de confianza del 95.0%

Tabla 37. Comparación Múltiple del pH en función del contenido de Selenio (mg/mL)

Comparación de múltiple de medias: Método LSD Intervalos de confianza al 95%		
Contrastes	Diferencia	Límites +/-
1.5 – 2.5	*0.9667	0.2209
1.5 – 5	*0.8333	0.2209
2.5 - 5	-0.1333	0.2209

* denota una diferencia significativa estadísticamente



En la comparación múltiple de medias, se presentan los contrastes entre las medias a un nivel de confianza del 95.0%. Así mismo, se determinó que la formulación 6 con un contenido de selenio de 1.5 mg/mL es el que presenta diferencia significativa con respecto las formulaciones 5 y 7, en las cuales no hay diferencia significativa en su pH.

2.3 DENSIDAD RELATIVA

Debido a las propiedades de flujo de las formulaciones 5, 6 y 7, fue posible obtener los resultados de la prueba de densidad relativa a una temperatura de 25° C (tabla 38).

Tabla 38. Resultados de la prueba de densidad relativa

FORMULACIÓN	DOSIS DE SELENIO (mg/mL)	DENSIDAD RELATIVA	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	C. V. (%)
5	2.5	1.04048	1.0407	0.00001	0.00058
		1.04047			
		1.04047			
6	1.5	1.03749	1.0374	0.00005	0.00515
		1.03739			
		1.03742			
7	5.0	1.03783	1.0378	0.00001	0.00082
		1.03782			
		1.03781			

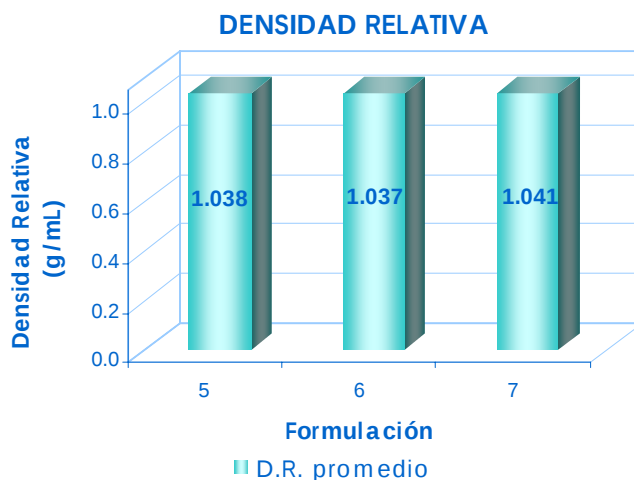


Figura 19. Gráfico de barras de la densidad relativa promedio de las formulaciones 5, 6 y 7



En la figura 19 se puede distinguir que a una temperatura de 25° C, a la cual se realizó este análisis, la densidad relativa de los inyectables es muy semejante entre ellos con valores de 1.04 g/mL aproximadamente y muy cercanos a 1.0 que es la densidad relativa del agua a esta misma temperatura. Por tal motivo es posible mencionar que los lotes 5, 6 y 7 poseen una adecuada densidad relativa por ser muy semejante a la del agua.

Conforme al Análisis de variancia de Densidad relativa (g/ml) en función del contenido de Selenio (mg/mL), las hipótesis implicadas son:

Ho: Densidad relativa formulación 5 (2.5mgSe/mL) = Densidad relativa formulación 6 (1.5mgSe/mL) =
Densidad relativa formulación 7 (5mgSe/mL)

Ha: al menos un par de formulaciones es diferente

Tabla 39. ANOVA para la densidad relativa (g/mL) en función del contenido de Selenio (mg/mL)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F -cociente	p-valor
Entre grupos (cont. de Se)	1.683 E-5	2	8.414 E-6	7573.00	0.0000
Intra grupos (error)	6.667 E-9	6	1.111 E-9		
Total (corr.)	1.684 E-5	8			

De acuerdo a la tabla 39, se acepta Ha ya que, el P-valor de la prueba F es menor de 0.05, lo cual implica que estadísticamente hay una diferencia significativa entre los valores de densidad relativa de las formulaciones analizadas.

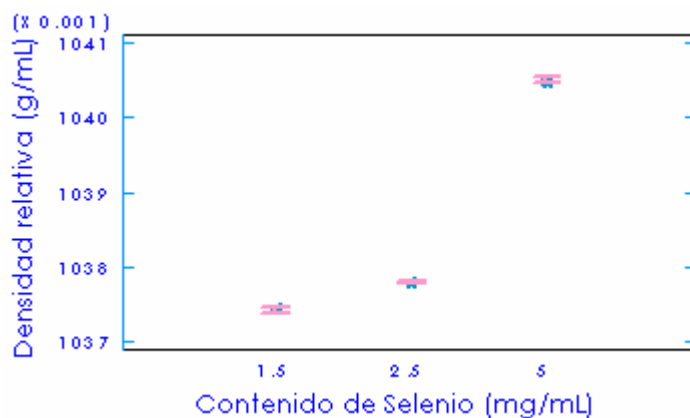


Figura 20. Medias de Densidad relativa trazadas a un nivel de confianza del 95.0%



Tabla 40. Comparación múltiple de la densidad relativa (g/mL) en función del contenido de Selenio (mg/mL)

Comparación de múltiple de medias: Método LSD Intervalos de confianza al 95%		
Contrastes	Diferencia	Límites +/-
1.5 – 2.5	*-0.000367	0.000067
1.5 – 5	*-0.003067	0.000067
2.5 - 5	*-0.0027	0.000067

* denota una diferencia significativa estadísticamente

Para la comparación múltiple de medias de la figura 20, la tabla 40 presenta los contrastes entre las medias a un nivel de confianza del 95.0%. Así mismo, se manifiesta que las tres formulaciones evaluadas presentan diferencias significativas en su densidad relativa.

2.4 VISCOSIDAD

Por ser la viscosidad es una expresión de la resistencia de los líquidos a fluir, y se expresa en centipoises (cp), es importante evaluarla en los inyectables desarrollados.

La prueba de viscosidad se realizó en un viscosímetro BROOKFIELD DV-E VISCOMETER, Modelo LVDVE115, con una aguja del número 4 a 30 rpm y 50 rpm.

Este parámetro evaluado nos dio la información referente al comportamiento del inyectable, para determinar su eficiencia en complemento con los demás resultados. Puesto que una suspensión inyectable con una viscosidad alta, presenta mayores problemas al momento de su administración, que una con viscosidad menor.

Tabla 41. Resultados de la prueba de viscosidad a 30 rpm

FORMULACIÓN	DOSIS DE SELENIO (mg/mL)	Nº AGUJA	VELOCIDAD (rpm)	VISCOSIDAD (cp)	PROMEDIO	DESV. ESTÁD.	C.V. (%)
5	2.5	4	30	50.0	49.83	0.1527	0.31
				49.8			
				49.7			
6	1.5	4	30	96.9	96.77	0.1527	0.16
				96.6			
				96.8			
7	5.0	4	30	68.1	68.07	0.1527	0.22
				68.2			
				67.9			

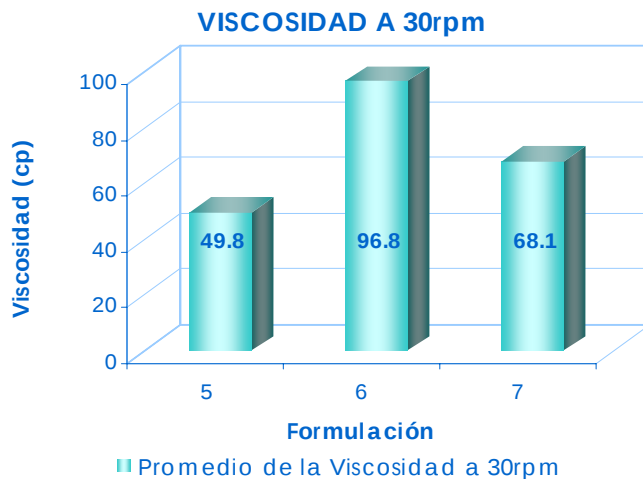


Figura 21. Gráfico de barras de la viscosidad a una velocidad de 30 rpm

Tabla 42. Resultados de la prueba de viscosidad a 50 rpm

FORMULACIÓN	DOSIS DE SELENIO (mg/mL)	Nº AGUJA	VELOCIDAD (rpm)	VISCOSIDAD (cp)	PROMEDIO	DESV. ESTÁD.	C.V. (%)
5	2.5	4	50	35.3	35.33	0.1527	0.43
				35.5			
				35.2			
6	1.5	4	50	69.8	69.70	0.1000	0.14
				69.6			
				69.7			
7	5.0	4	50	51.8	51.70	0.1000	0.19
				51.6			
				51.7			

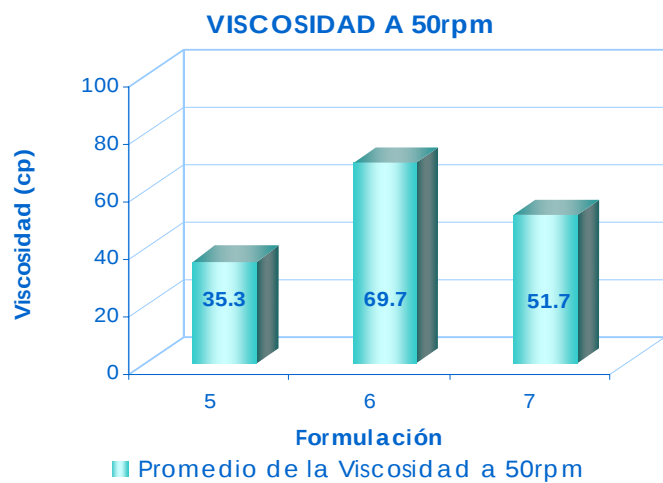


Figura 22. Gráfico de barras de la viscosidad a una velocidad de 50 rpm



De acuerdo, a los resultados de las tablas 41 y 42 y las figuras 21 y 22, se puede observar que se requiere una fuerza por unidad de área mayor para producir el flujo en el inyectable perteneciente a la formulación 6, con respecto a los demás, pero las tres formulaciones, presentan una fluidez adecuada, dado que, su viscosidad a las dos velocidades es menor de 100cp. Por lo tanto es posible sugerir que los inyectables desarrollados poseen buenas propiedades de flujo al no presentar problemas al momento de la administración del inyectable y no causar dolor en el animal.

En base al Análisis de variancia de la viscosidad a 30 rpm en función del Contenido de Selenio (mg/mL), las hipótesis implicadas son:

Ho: viscosidad a 30 rpm formulación 5 (2.5mgSe/mL) = viscosidad a 30 rpm formulación 6 (1.5mgSe/mL) = viscosidad a 30 rpm formulación 7 (5mgSe/mL)

Ha: al menos un par de formulaciones es diferente

Tabla 43. ANOVA para viscosidad a 30 rpm en función del contenido de Selenio en mg/mL

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F -cociente	p-valor
Entre grupos (cont. de Se)	3358.88	2	1679.44	71976.05	0.0000
Intra grupos (error)	0.14	6	0.02333		
Total (corr.)	3359.02	8			

De acuerdo a los datos de la tabla 43 de ANOVA, se acepta Ha ya que, el P-valor de la prueba F es menor de 0.05, lo cual implica que estadísticamente hay una diferencia significativa entre los valores de la viscosidad a 30rpm de las formulaciones analizadas.

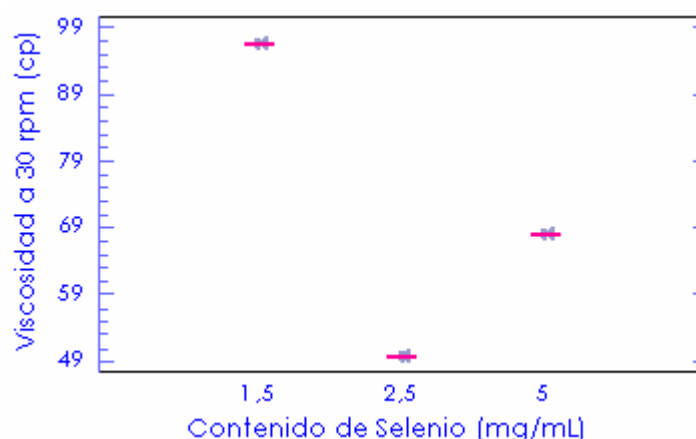


Figura 23. Medias de la viscosidad a 30 rpm trazadas a un nivel de confianza del 95.0%



Tabla 44. Comparación múltiple de la viscosidad a 30 rpm en función del contenido de Selenio (mg/mL)

Comparación de múltiple de medias: Método LSD Intervalos de confianza al 95%		
Contrastes	Diferencia	Límites +/-
1.5 – 2.5	*-46.9333	0.305184
2.5 – 5.0	*-18.2333	0.305184
1.5 – 5.0	*28.7	0.305184

* denota una diferencia significativa estadísticamente

Para la comparación múltiple de medias de la figura 23 y la tabla 44, se empleo un procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD), el cual presenta los contrastes entre las medias a un nivel de confianza del 95.0%. Así mismo, se determinó que las tres formulaciones presentan diferencias entre en su viscosidad a 30rpm.

Para el caso del Análisis de variancia de la viscosidad a 50 rpm en función del Contenido de Selenio (mg/mL), las hipótesis implicadas son:

Ho: viscosidad a 50 rpm formulación 5 (2.5mgSe/mL) = viscosidad a 50 rpm formulación 6 (1.5mgSe/mL) =
viscosidad a 50 rpm formulación 7 (5mgSe/mL)

Ha: al menos un par de formulaciones es diferente

Tabla 45. ANOVA para viscosidad a 50 rpm en función del contenido de Selenio en mg/mL

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F -cociente	p-valor
Entre grupos (cont. de Se)	17772.94	2	886.486	61370.85	0.0000
Intra grupos (error)	0.08667	6	0.01444		
Total (corr.)	1773.02	8			

Basándonos en los datos de la tabla 45, se acepta Ha ya que, el P-valor de la prueba F es menor de 0.05, lo cual implica que estadísticamente hay una diferencia significativa entre los valores de la viscosidad a 50rpm de las formulaciones evaluadas.

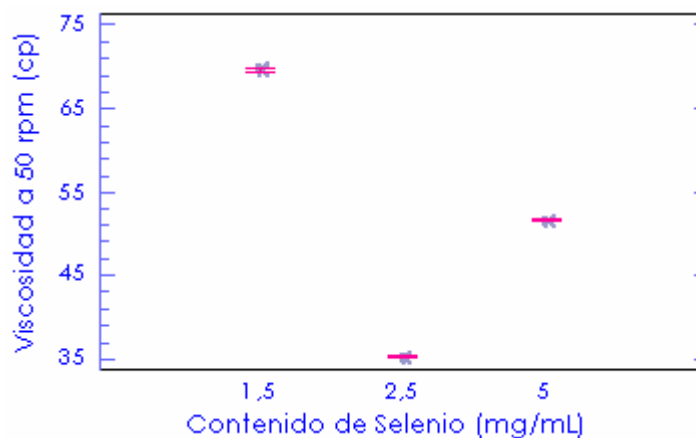


Figura 24. Medias de la viscosidad a 50 rpm trazadas a un nivel de confianza del 95.0%

Tabla 46. Comparación múltiple de la viscosidad a 50 rpm en función del contenido de Selenio (mg/mL)

Comparación de múltiple de medias: Método LSD Intervalos de confianza al 95%		
Contrastes	Diferencia	Límites +/-
1.5 – 2.5	*-34.3667	0.240118
1.5 – 5.0	*-16.3667	0.240118
2.5 – 5.0	*18.0	0.240118

La tabla 46, presenta los contrastes entre las medias a un nivel de confianza del 95.0 %. Lo cual determina que las tres formulaciones analizadas presentan diferencias entre en su viscosidad a 50 rpm.

2.5 CONTENIDO QUÍMICO DE SELENIO

Es importante determina el contenido químico de Selenio en cada formulación, para poder asegurar que se esta administrando la dosis indicada.

El contenido químico de Selenio en los inyectables desarrollados, se determino mediante una curva de calibración con 5 niveles de concentración de selenio, donde los sistemas se detectaron por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) por el método de flama, para obtener las absorbancias.

Las concentraciones que se trataron en la curva de calibración son las que muestra la tabla 47.



Tabla 47. Absorbancias de la curva de calibración

Sistema	Concentración (µg/mL)	Absorbancia
1	20	0.0862
2	40	0.1674
3	60	0.2459
4	80	0.3269
5	100	0.3957

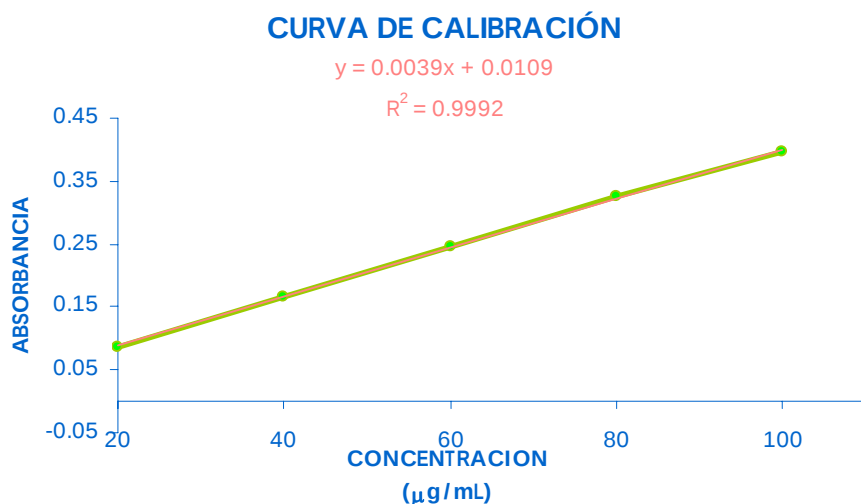


Figura 25. Gráfico correspondiente a los datos de la curva de calibración

La cuantificación del contenido químico de Selenio en los inyectables, se efectuó con la curva de calibración anterior interpolando las absorbancias de las lecturas de los inyectables, para determinar su concentración, como se observa en la tabla 48.

Tabla 48. Resultados de la concentración de Selenio en los inyectables.

FORMULACIÓN	ABSORBANCIA DETECTADA	CONC. DE SELENIO (µg/mL)	CONC. POR FD* (mg de Se/mL)	CONC. DE SELENIO promedio en los inyectables (mg/mL)	% Selenio en los inyectables
5	0.10372	23.8	1.19	2.38	95.2
6	0.06628	14.2	0.71	1.42	94.67
7	0.20434	49.6	2.48	4.96	99.2

*El factor de dilución (FD) es de 50, ya que el volumen de aforo al cual se llevaron las muestras fue de 50 mL.

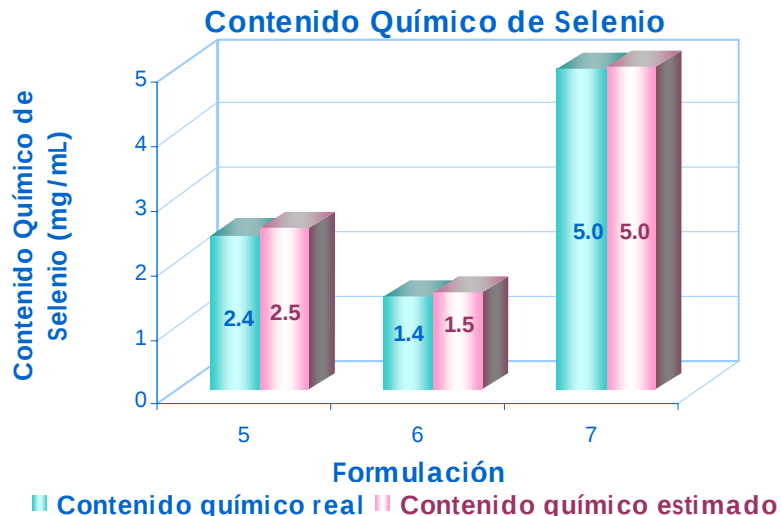


Figura 26. Gráfico de barras del contenido químico de Selenio en los inyectables 5, 6 Y 7

En la figura 26, se observa que la cantidad de selenio en los inyectables se encuentra en concentraciones muy cercanas a lo especificado en la etiqueta. Como se puede ver en el porcentaje de Selenio la formulación 7 presenta el porcentaje de selenio más cercano al 100, por ser muy cercano al contenido químico de selenio estimado, lo cual nos indica que hay homogeneidad en la formulación y que contiene la cantidad de selenio que se especifica la etiqueta. Mientras que, las formulaciones 5 y 6, presentan cerca del 95% de selenio con respecto al contenido químico estimado, esta diferencia puede ser debida a una pérdida de selenito de sodio, durante el proceso de elaboración del inyectable y a las dosis manejadas, ya que, son los inyectables de dosis más pequeñas, y durante el proceso de elaboración pudo haberse quedado una cantidad de selenito de sodio en las paredes de los vasos donde se elaboró el inyectable.

2.6 VELOCIDAD DE FLUJO

La prueba de velocidad de flujo es importante, ya que comprueba si los inyectables fluyen de forma apropiada, para asegurar una adecuada administración en los animales. Y de esta forma poder afirmar que la suspensión inyectable se va a depositar en el sitio deseado, para cumplir con el efecto requerido.



Tabla 49. Resultados de la prueba de velocidad de flujo

FORMULACIÓN	DOSIS DE SELENIO (mg/mL)	TIEMPO (min.)	PESO (g)	VELOCIDAD DE FLUJO (g/min)	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	C. V. (%)
5	2.5	0.180	10.32	58.99	58.24	0.70	1.20
		0.180	10.29	58.13			
		0.180	10.31	57.61			
6	1.5	0.180	11.43	63.50	59.82	3.18	5.32
		0.200	11.62	58.12			
		0.200	11.57	57.85			
7	5.0	0.262	10.53	40.21	39.37	0.74	1.87
		0.275	10.68	38.84			
		0.268	10.47	39.07			

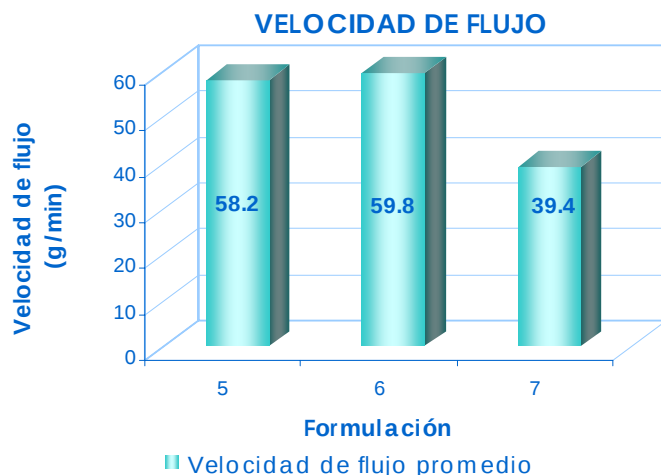


Figura 27. Gráfico de barras de la velocidad de flujo de los inyectables 5, 6 y 7

En la tabla 49 y el gráfico de la figura 27, se puede ver que los inyectables de las formulaciones 5 y 6, presentan una mejor fluidez que el perteneciente a la formulación 7, ya que se logran fluir cerca de 60 g/min, y en el del lote 7 tan solo fluyen cerca de 40 g/min.

Para el Análisis de variancia de la Velocidad de flujo en función del Contenido de Selenio (mg/mL), las hipótesis implicadas son:

Ho: velocidad de flujo formulación 5 (2.5mgSe/mL) = velocidad de flujo formulación 6 (1.5mgSe/mL) =
velocidad de flujo formulación 7 (5mgSe/mL)

Ha: al menos un par de formulaciones es diferente



Tabla 50. ANOVA para velocidad de flujo en función del contenido de Selenio en mg/mL

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F -cociente	p-valor
Entre grupos (cont. de Se)	776.91	2	388.455	104.41	0.0000
Intra grupos (error)	22.3223	6	3.72039		
Total (corr.)	799.232	8			

De acuerdo a la tabla 50 de ANOVA, se acepta H_0 ya que, el P-valor de la prueba F es menor de 0.05, lo cual implica que estadísticamente hay una diferencia significativa entre los valores de velocidad de flujo de las formulaciones analizadas.

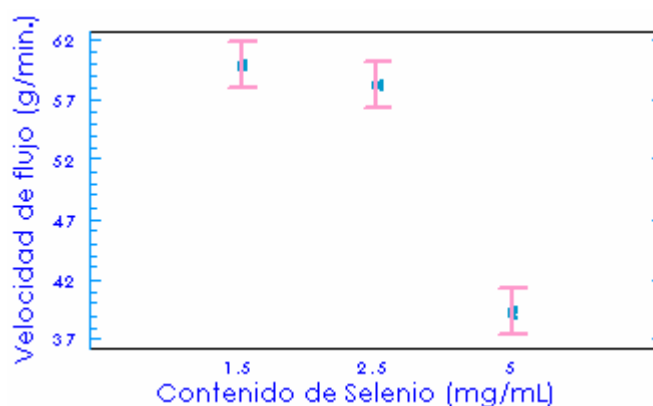


Figura 28. Medias de velocidad de flujo g/ minutos trazadas a un nivel de confianza del 95.0%

Tabla 51. Comparación múltiple de la velocidad de flujo en función del contenido de Selenio (mg/mL)

Comparación de múltiple de medias: Método LSD Intervalos de confianza al 95%		
Contrastes	Diferencia	Límites +/-
1.5 – 2.5	1.57977	3.85361
1.5 – 5	*20.4516	3.85361
2.5 - 5	*18.8718	3.85361

Para la comparación múltiple de medias de la figura 28 y la tabla 51, se empleó un procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD), el cual presenta los contrastes entre las medias a un nivel de confianza del 95.0%. Así mismo, se determinó que la formulación 7 con un contenido de selenio de 5.0 es el que presenta diferencia significativa con respecto a las formulaciones 5 y 6, en las cuales entre ellas no hay diferencia significativa en su velocidad de flujo.



3. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Las pruebas *in vivo* que se les realizó a los animales de experimentación fueron para evaluar el comportamiento del inyectable obtenidos sobre los niveles de selenio en sangre, en comparación con uno de marca comercial (MU-Se).

3.1 CABRAS

Como experimento exploratorio en animales al cual va dirigido el inyectable como son las cabras, se evaluaron los niveles de Selenio en sangre total post-administración, comparándola con un inyectable de marca comercial MU-Se de igual dosis: 5mg de Se/mL.

3.1.1 CUANTIFICACIÓN DE SELENIO EN SANGRE TOTAL

La cuantificación de Selenio se realizó con las muestras de sangre obtenidas de los 3 grupos de cabras, las cuales estuvieron en congelamiento hasta su tratamiento, para después leerlas en el EAA-GH. Durante esta etapa, se contó con un método de Espectrometría de Absorción Atómica mediante un sistema de atomización por Generador de Vapor de Hidruros, el cual se describe en la parte de anexos.

Como se analizaron un gran número de muestras, fue necesario para la cuantificación realizar 3 curvas de calibración con un estándar de selenio con cinco niveles de concentración diferentes. Y se analizaron por EAA-GH, empleando una lámpara de cátodo hueco de selenio. La tabla 52 muestra las absorbancias de las curvas de calibración empleadas para la cuantificación de Selenio en las muestras de sangre de cabras.

Tabla 52. Absorbancias de las curvas de calibración empleadas para el análisis de las muestras de sangre

Sistema	Concentración (µg/L)	Absorbancias		
		Curva 1 Día 1	Curva 2 Día 2	Curva 3 Día 3
1	5.00	0.071	0.0675	0.0688
2	10.00	0.1618	0.1569	0.1526
3	15.00	0.2501	0.2443	0.2507
4	20.00	0.3278	0.3336	0.3185
5	25.00	0.4093	0.4168	0.4112

Para que los datos de las muestras analizadas fueran confiables, se realizó un análisis estadístico a las curvas de calibración como se muestra en la tabla 53.



Tabla 53. Datos del análisis estadístico de las curvas de calibración empleadas.

CC día	Concentración (µg/L)	Absorbancia	Abs/[µg/L]	Promedio	Desviación estándar	C. V. (%)
1	5	0.071	0.0142	0.0138	0.0004	2.5603
2	5	0.0675	0.0135			
3	5	0.0688	0.0138			
1	10	0.1618	0.0162	0.0157	0.0005	2.9301
2	10	0.1569	0.0157			
3	10	0.1526	0.0153			
1	15	0.2501	0.0167	0.0166	0.0002	1.4231
2	15	0.2443	0.0163			
3	15	0.2507	0.0167			
1	20	0.3278	0.0164	0.0163	0.0004	2.3321
2	20	0.3336	0.0167			
3	20	0.3185	0.0159			
1	25	0.4093	0.0164	0.0165	0.0002	0.9454
2	25	0.4168	0.0167			
3	25	0.4112	0.0164			

En la tabla 53 se puede observar que el coeficiente de variación de las tres curvas de calibración empleadas para la cuantificación de muestras de selenio, tienen un coeficiente de variación menor al 3%.

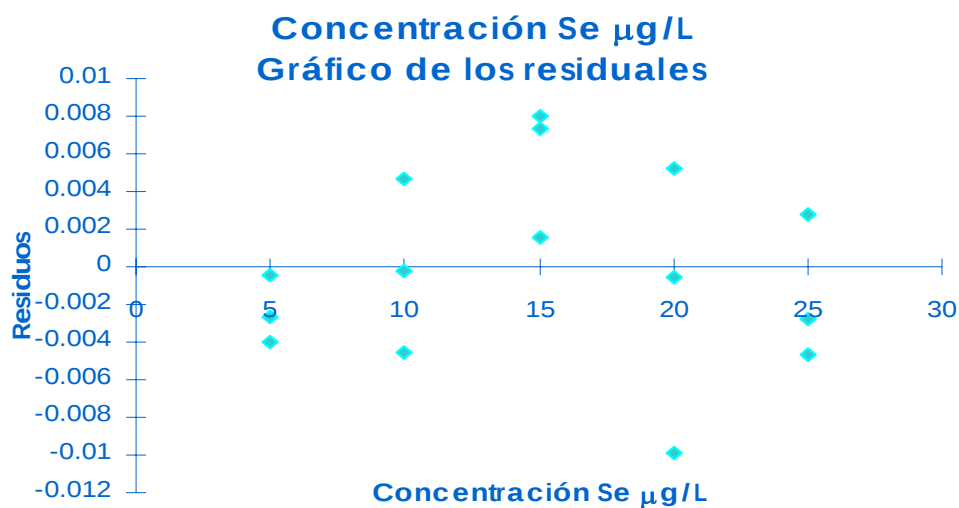


Figura 29. Gráfico de residuales de las tres curvas de calibración empleadas para el análisis de muestras

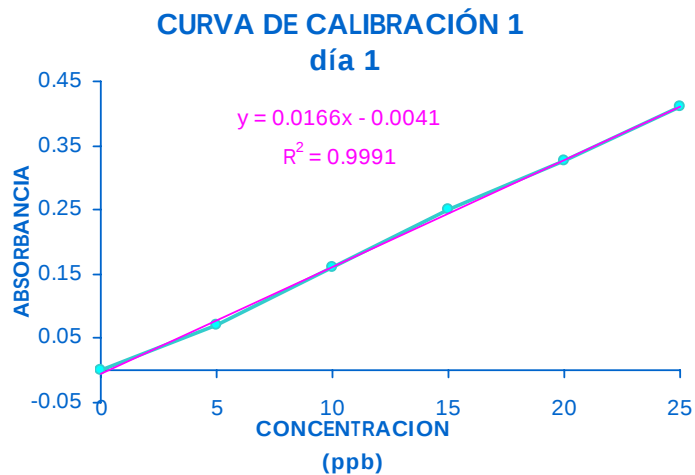


Figura 30. Gráfico perteneciente a la curva de calibración 1

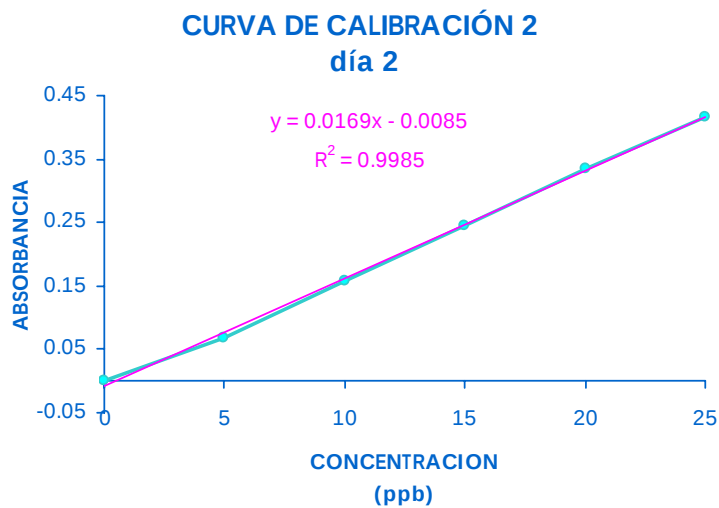


Figura 31. Gráfico perteneciente a la curva de calibración 2

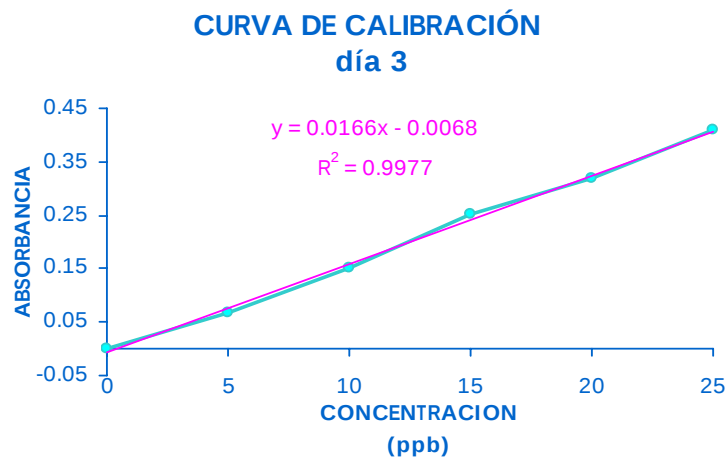


Figura 32. Gráfico perteneciente a la curva de calibración 3



En base al gráfico de residuales de la figura 29, se puede ver que los datos no siguen una tendencia, además se observa en las figuras 30, 31 y 32, que las curvas de calibración 1, 2 y 3 tienen una buena linealidad y un buen coeficiente de determinación de 0.99, lo cual permite minimizar el error de estimación de selenio en las muestras de sangre.

Los datos de concentración obtenidos por el equipo, se multiplicaron por 50, dado que, fue el volumen de aforo (50 mL) al que se llevaron las muestra de sangre en solución y posteriormente se dividieron entre el peso de la muestra que se tomo inicialmente de sangre, que fue de aproximadamente 1.0 g. De esta forma se obtuvieron los datos que a continuación se presentan en las tablas 54, 55 y 56.

Tabla 54. Grupo 1: Tratamiento Se-FESC

Número de cabra	Peso (kg)	Dosis administrada (mg)	Concentración de selenio en sangre total (µg/L)			
			Basal	17 días	30 días	51 días
1	10	1.5	163.000	168.494	203.190	148.000
2	19	3	160.000	160.361	45.964	101.000
3	17	2.5	106.500	176.988	93.253	92.000
4	23	3.45	85.000	189.880	77.515	Se perdió
5	16	2.4	103.500	203.795	115.542	Se perdió
6	16	2.4	70.500	112.530	82.249	Se perdió
7	18	2.7	102.000	133.916	256.505	134.000
8	17	2.5	172.840	117.651	169.527	89.000
9	14	2.1	108.284	191.386	80.904	128.500
10	14	2.1	187.337	215.241	130.178	122.000

Tabla 55. Grupo 2: Tratamiento MU-Se

Número de cabra	Peso (kg)	Dosis administrada (mg)	Concentración de selenio en sangre total (µg/L)			
			Basal	17 días	30 días	51 días
11	19	3	139.000	133.728	373.374	142.500
12	17	2.5	156.500	175.783	138.757	161.243
13	17	2.5	105.000	126.923	10.060	121.500
14	20	3	142.500	53.193	103.494	84.500
15	19	3	140.237	157.831	138.554	60.500
16	17	2.5	127.500	83.434	153.916	107.000
17	15	2.25	126.000	98.494	283.434	78.500
18	12	1.8	197.337	321.006	108.284	235.858
19	17	2.5	215.148	218.047	50.602	195.917
20	18	2.7	246.805	55.422	152.663	187.633



Tabla 56. Grupo 3: Control, Sin tratamiento

Número de cabra	Peso (kg)	Sin administración	Concentración de selenio en sangre total (µg/L)			
			Basal	17 días	30 días	51 días
21	22		233.787	116.272	69.880	192.367
22	17		238.521	148.614	61.446	122.249
23	17		98.855	61.538	55.422	92.899
24	19		130.181	150.904	94.970	88.614
25	16		150.964	117.771	56.627	60.602
26	23		77.169	56.928	127.711	126.867
27	15		103.254	71.084	54.819	151.867
28	20		106.687	82.831	85.843	25.663
29	19		67.456	103.254	78.698	69.337
30	20		106.805	161.243	194.970	22.711

Observaciones:

Las casillas que dicen se perdió en la tabla 55, fue por que a la hora de descongelar las muestras los tubos de ensaye se rompieron y la muestra de sangre se derramo.

Para una evaluación de los niveles de selenio en sangre en función de los días del tratamiento y el tipo de suplementación, se realizó un análisis de variancia multifactorial mediante el programa de STATGRAPHICS versión Plus 5.

Tabla 57. ANOVA para niveles de selenio en sangre (ppb) en función del tipo de suplementación

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F -cociente	p-valor
Media de efectos					
A: Tratamiento	161516.4	2	8258.21	2.50	0.0870
B: Días de tratamiento	13037.3	3	4345.77	1.32	0.2732
C: Peso de la unidad experimental	50804.3	10	5080.43	1.54	0.1364
Residual	333368.0	101	3300.67		
Total (corr.)	433194.0	116			

La tabla 57 de ANOVA descompone la variabilidad del Selenio en sangre en contribuciones en función de los factores. En base a este análisis, los p-valores son mayores de 0.05, indicando que los tres factores estadísticamente no influyen en los niveles de selenio, a un nivel de confianza del 95.0 %, sin embargo si hay una diferencia con un nivel de confianza del 90 % entre los tratamientos por tener un p-valor menor de 0.1.

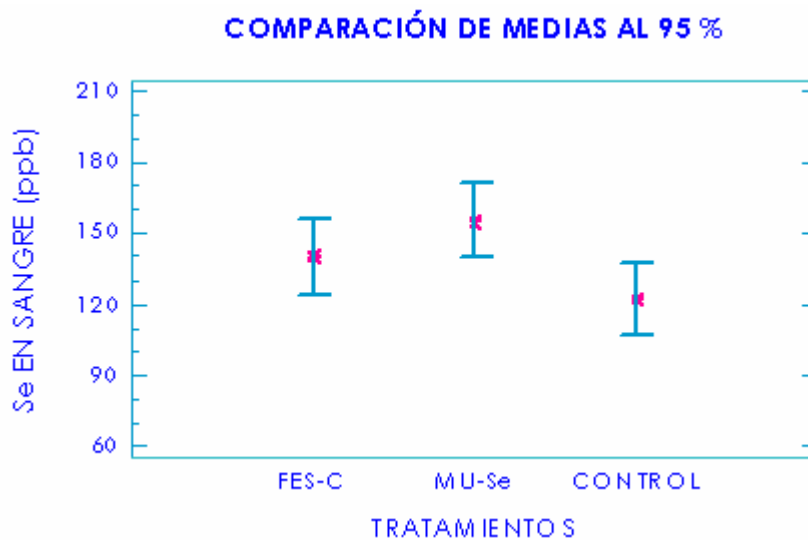


Figura 33. Medias de los niveles de Selenio en sangre (ppb) trazadas a un nivel de confianza del 95.0%

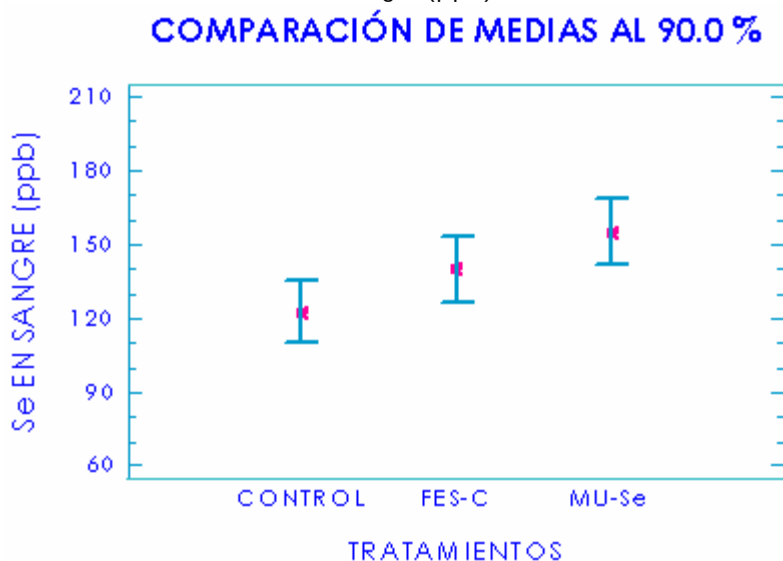


Figura 34. Medias de los niveles de selenio en sangre (ppb) trazadas a un nivel de confianza del 90.0%

Tabla 58. Comparación múltiple de los niveles de Selenio en sangre en función del tratamiento

Comparación de múltiple de medias: Método LSD		
Intervalos de confianza al 90%		
Contrastes	Diferencia	Límites +/-
FES-C – MU-Se	-15.0161	27.243
FES-C – CONTROL	-17.4128	27.1993
MU-Se – CONTROL	*-32.4289	24.0839

En la comparación múltiple de los niveles de selenio, expresadas en las figuras 33, 34 y la tabla 58, se empleo un procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD), el cual presenta contrastes entre las medias a un nivel de confianza del 90.0 %.



En esta comparación, se comprobó que el tratamiento MU-Se en contraste con el grupo CONTROL presenta diferencias significativas, mostrando niveles de selenio mayores las cabras suplementadas con MU-Se que las cabras sin suplementación de selenio. Comparando los tratamientos FES-C y MU-Se se probó que no hay diferencias significativas en las medias de los niveles de selenio (ppb) de los animales suplementados con estos tratamientos, a un nivel de confianza del 90 %.

De acuerdo a un análisis de variancia realizado a cada uno de los tratamientos por separado evaluando las medias de los niveles de selenio (ppb) en función de los días post-tratamiento y el peso de los animales, fue posible construir los siguientes gráficos y también determinar sus p-valores, como se enseña a continuación.

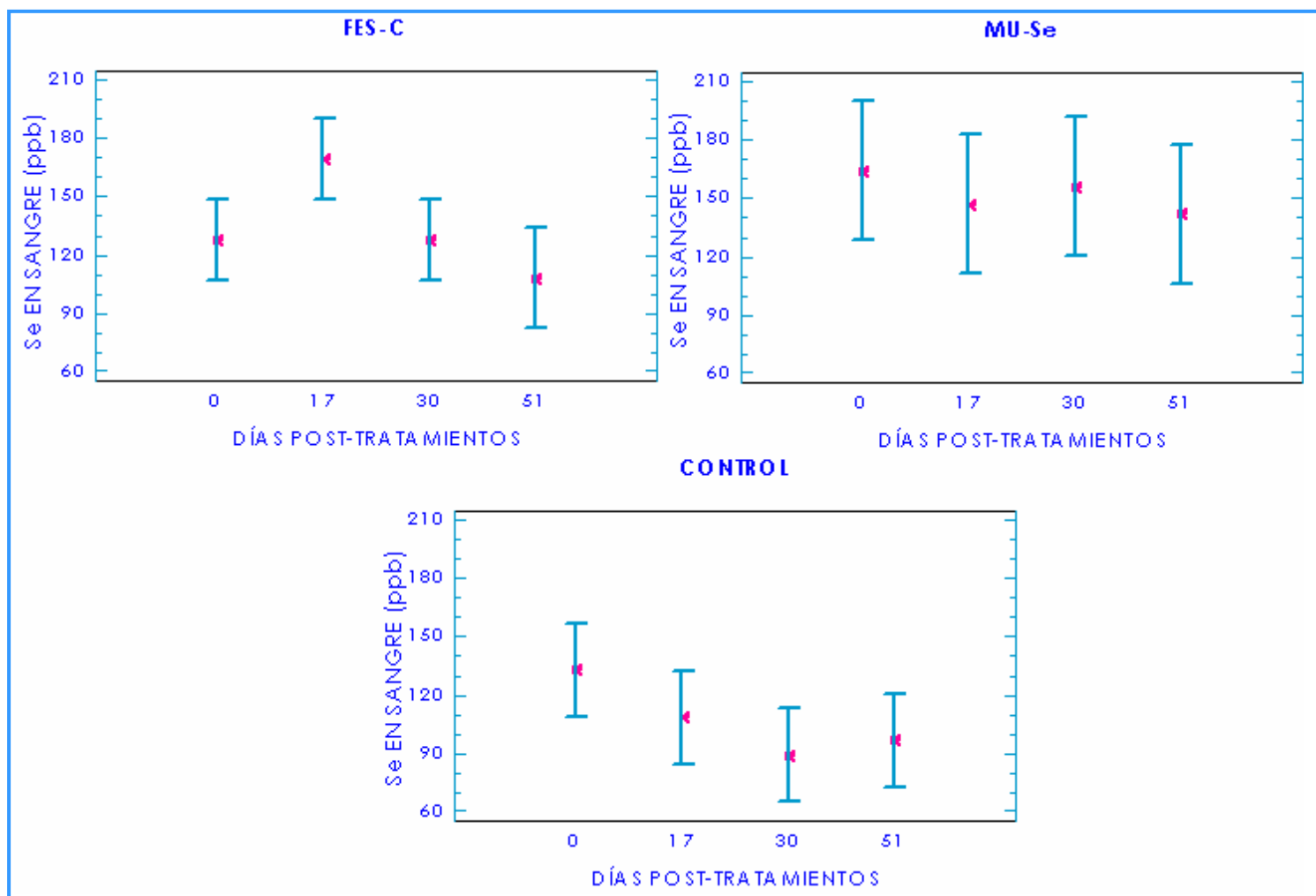


Figura 35. Medias de los niveles de selenio en sangre (ppb) trazadas a un nivel de confianza del 90.0 %



Los gráficos de la figura 35, es posible observar en el grupo de animales administrados con el inyectable de selenio desarrollado denominado FES-C, los niveles de selenio en las muestras basales (día 0) son menores que los niveles de selenio post-tratamiento ya que al día 17, los niveles de selenio aumentan hasta aproximadamente 190 ppb, sin embargo los niveles de selenio disminuyen a los 30 y 50 días, pero los niveles están dentro de las 80 y 160 ppb aproximadamente.

En el caso del grupo de cabras suplementado con el inyectable MU-Se, los niveles de selenio se mantienen más constantes aun antes de la suplementación, dado que sus niveles se encuentran alrededor de las 80 y 200 ppb.

Siendo que el grupo control que no recibió ningún tipo de suplementación de selenio, presento niveles de selenio más bajos que los grupos suplementados con los diferentes tratamientos cayendo hasta niveles de 60 ppb de selenio.

Tabla 59. Medias de los niveles de Selenio en sangre al 90 % de confianza para el tratamiento FES-C

Medias de Se en sangre a un Intervalo de confianza del 90%					
Días de tratamiento	Cantidad	Media	Error estándar	Limite inferior	Limite superior
0	10	127.925	14.185	103.764	152.087
17	10	169.353	14.185	145.192	193.515
30	10	127.512	14.185	103.351	151.673
51	7	108.12	17.6016	78.1391	138.101

Tabla 60. Medias de los niveles de Selenio en sangre al 90 % de confianza para el tratamiento MU-Se

Medias de Se en sangre a un Intervalo de confianza del 90%					
Días de tratamiento	Cantidad	Media	Error estándar	Limite inferior	Limite superior
0	10	164.182	24.7168	122.274	206.09
17	10	146.966	24.7168	105.058	188.874
30	10	155.893	24.7168	113.986	197.801
51	10	142.095	24.7168	100.187	184.003

Tabla 61. Medias de los niveles de Selenio en sangre al 90 % de confianza para el Grupo CONTROL

Medias de Se en sangre a un Intervalo de confianza del 90%					
Días de tratamiento	Cantidad	Media	Error estándar	Limite inferior	Limite superior
0	10	132.812	16.4044	104.97	160.655
17	10	108.488	16.4044	80.6459	136.331
30	10	89.4832	16.4044	61.6406	117.326
51	10	96.7622	16.4044	68.9196	124.605



Con respecto a las tablas 59, 60 y 61, es posible utilizar los datos de las medias de los niveles de selenio, para determinar las áreas bajo la curva de cada perfil de selenio en sangre de los tres diferentes grupos evaluados, mediante la siguiente fórmula:

$$A B C = [(C_{p1} + C_{p2}) / 2] * (t_2 - t_1)$$

Tabla 62. Áreas bajo la curva de los niveles de Selenio para el tratamiento FES-C

ABC de Se en sangre		FES-C	
Días de tratamiento	Media de Se en sangre (ppb)	ABC = [(C _{p1} + C _{p2}) / 2] * (t ₂ - t ₁)	ABC
0	127.925	[(127.925 + 169.353) / 2] * (17 - 0)	2526.863
17	169.353		
17	169.353	[(169.353 + 127.512) / 2] * (30 - 17)	1929.623
30	127.512		
30	127.512	[(127.512 + 108.12) / 2] * (51 - 30)	2474.136
51	108.12		

Tabla 63. Áreas bajo la curva de los niveles de Selenio para el tratamiento MU-Se

ABC de Se en sangre		MU-Se	
Días de tratamiento	Media de Se en sangre (ppb)	ABC = [(C _{p1} + C _{p2}) / 2] * (t ₂ - t ₁)	ABC
0	164.182	[(164.182 + 146.966) / 2] * (17 - 0)	2644.758
17	146.966		
17	146.966	[(146.966 + 155.893) / 2] * (30 - 17)	1968.584
30	155.893		
30	155.893	[(155.893 + 142.095) / 2] * (51 - 30)	3128.874
51	142.095		

Tabla 64. Áreas bajo la curva de los niveles de Selenio para el Grupo CONTROL

ABC de Se en sangre		CONTROL	
Días de tratamiento	Media de Se en sangre (ppb)	ABC = [(C _{p1} + C _{p2}) / 2] * (t ₂ - t ₁)	ABC
0	132.812	[(132.812 + 108.488) / 2] * (17 - 0)	2051.050
17	108.488		
17	108.488	[(108.488 + 89.4832) / 2] * (30 - 17)	1286.813
30	89.4832		
30	89.4832	[(89.4832 + 96.7622) / 2] * (51 - 30)	1955.577
51	96.7622		



Así mismo, con las concentraciones obtenidas de los tres grupos evaluados, se hizo otro análisis estadístico mediante Diagramas múltiples de caja y bigotes para observar la tendencia de los niveles de selenio en sangre y poder hacer una comparación de los dos tratamientos administrados con el grupo control.

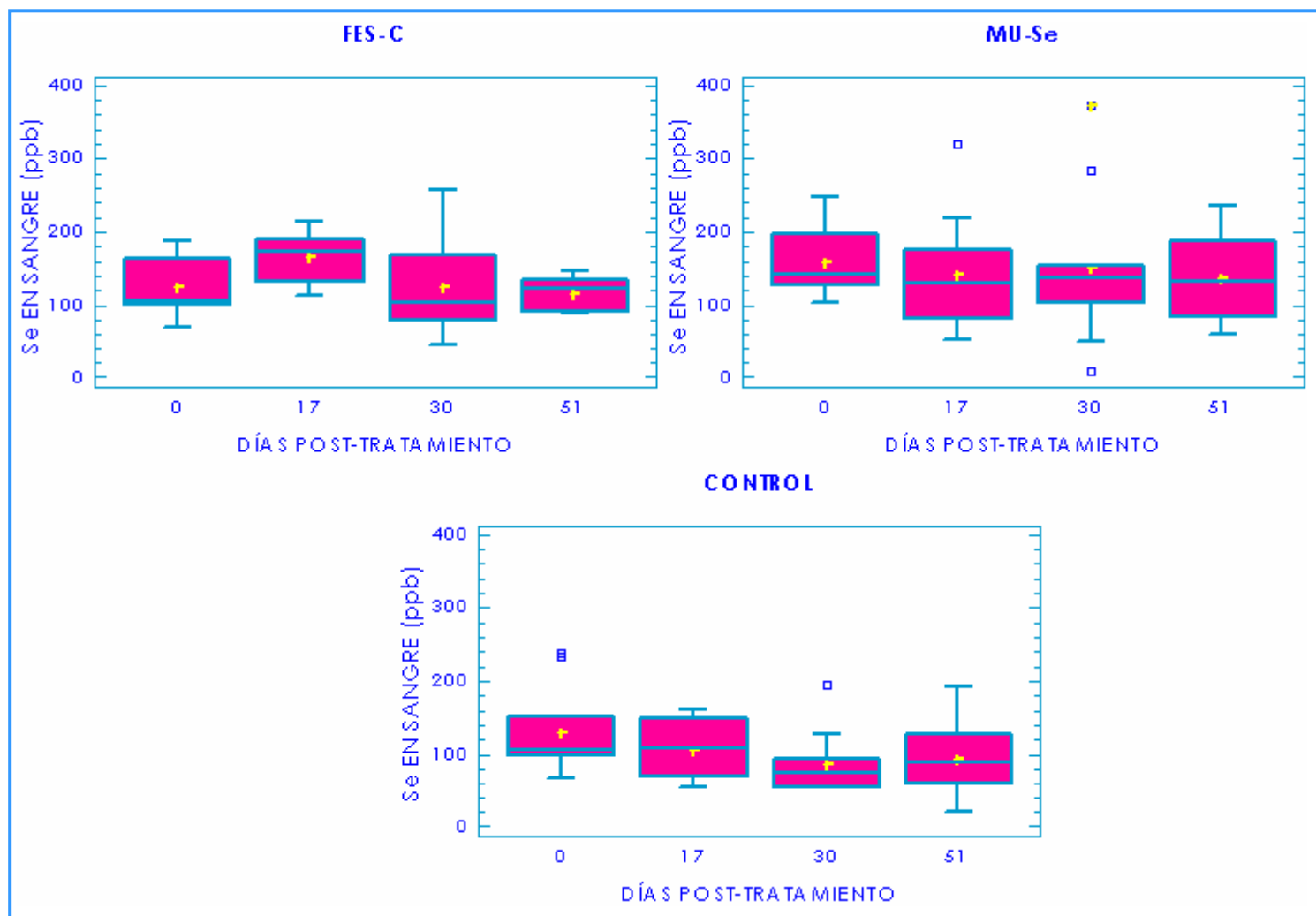


Figura 36. Diagramas de Caja y bigotes de los diferentes tratamientos en las cabras



3.2 CORDEROS

La última prueba que se realizó en animales, fue determinar la influencia de una suplementación de selenio en el peso y crecimiento de los corderos.

3.2.1 INFLUENCIA DEL SELENIO EN LA MASA DE LOS CORDEROS

En esta etapa del proyecto, se utilizaron dos grupos de ovejas gestantes de FES-Cuautitlán Campo-4, que fueron suplementadas antes del parto, para evitar la retención placentaria y el nacimiento de neonatos débiles, con 2 inyectables diferentes de selenio y otro grupo de ovejas gestantes que no recibieron suplementación de selenio, con el propósito de comparar la ganancia del peso de los corderos, en base al tipo de suplementación que recibió la madre.

Respecto a los tres grupos formados por las ovejas gestantes, e independientemente del tipo de suplementación de selenio, ninguna presentó retención placentaria. En cuanto al nacimiento de los corderos, ninguno nació débil, sin embargo en la evaluación del peso de los 3 grupos de corderos, si hubo diferencias en la ganancia del peso dependiendo del tratamiento con el cual fueron suplementados los corderos.

Tabla 65. Grupo 1.1: Control, Sin suplementación de selenio

Oveja N ^a arete	Cordero N ^a arete	Fecha de nacimiento	Masa (kg)					
			Nac.	19 May 2005	10 Jun 2005	24 Jun 2005	4 Jul 2005	8 Jul 2005
773	463	16-Abr-05	6.0	11.0	18.0	22.0	25.0	20.0
890	470	18-Abr-05	3.4	11.0	18.5	21.0		22.0
891	464	16-Abr-05	5.5	13.0	19.0	23.0	24.0	23.0

Tabla 66. Grupo 2.1: Tratamiento SELEJECT

Oveja N ^a arete	Cordero N ^a arete	Fecha de nacimiento	Masa (kg)								
			Nac.	19 May 2005	3 Jun 2005	10 Jun 2005	24 Jun 2005	4 Jul 2005	8 Jul 2005	18 Jul 2005	23 Jul 2005
390	494	30-Abr-05	5.8	8.2		17.0	19.0	22.5	20.0	23.0	
393	498	29-Abr-05	4.2	9.5		18.0	21.5	24.0	24.0	25.0	
768	768c	10-May-05	5.5		13.0	14.0	18.0	20.0	20.0	22.0	22.0
790	472	18-Abr-05	4.0	10.0		18.0	18.0	20.0	18.0		
800	473	22-Abr-05	4.1	9.0		15.0	18.5	20.0	18.0		
806	474	20-May-05	5.0	13.0		22.0		26.0	26.5		



Tabla 67. Grupo 3.1: Tratamiento FES-C

Oveja N ^a arete	Cordero N ^a arete	Fecha de nacimiento	Masa (kg)										
			Nac.	19 May 2005	3 Jun 2005	10 Jun 2005	24 Jun 2005	4 Jul 2005	8 Jul 2005	18 Jul 2005	23 Jul 2005	2 Ago 2005	8 Ago 2005
187	187c	10-May-05	5.0		12.0	14.0	17.0	19.0	19.0	19.5	20.0		
359	359c	19-May-05	5.0		9.0	10.5	14.0	16.0		17.0	18.0	20.0	22.5
726	478	21-Abr-05	3.0	7.5		14.0	17.0	20.0	22.0	24.0			
730	471	20-Abr-05	5.1	12.5		20.5	23.0	25.0	23.0				
734	486	24-Abr-05	5.5	10.0		19.0	21.0	22.0	20.0				
766	483	24-Abr-05	4.0	10.0		20.0	23.0	25.0	25.0				

Con los datos de los pesos obtenidos de los animales mostrados en la tabla 67, se realizó en Excel una regresión lineal de cada animal donde la variable **x** es el tiempo (días) y la variable **y** el peso (kg) del cordero, para obtener la pendiente de cada regresión, y los límites inferior y superior a un nivel de confianza del 95 %. Datos que se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 68. Ganancia de masa en los corderos de acuerdo a los diferentes tratamientos

TRATAMIENTO	EVALUACION DEL PESO (DIAS)	CORDERO N ^a ARETE	PENDIENTE (kg/días)	MEDIA Pendiente	LIP 95 %	MEDIA LIP	LSP 95 %	MEDIA LSP
Sin tratamiento	81	470	0.2465	0.2298	0.1703	0.1571	0.3227	0.3024
Sin tratamiento	84	463	0.2147		0.1199		0.3094	
Sin tratamiento	84	464	0.2281		0.1810		0.2751	
SELEJECT	80	494	0.2326	0.2350	0.1712	0.1749	0.2939	0.2950
SELEJECT	82	498	0.2749		0.2257		0.3241	
SELEJECT	75	768c	0.2240		0.1858		0.2623	
SELEJECT	82	472	0.1936		0.1133		0.2738	
SELEJECT	78	473	0.2061		0.1484		0.2638	
SELEJECT	80	474	0.2785		0.2049		0.3522	
FES-C	82	359c	0.1970	0.2362	0.1722	0.1809	0.2218	0.2914
FES-C	75	187c	0.2008		0.1502		0.2513	
FES-C	89	478	0.2466		0.2152		0.2780	
FES-C	80	471	0.2500		0.1788		0.3211	
FES-C	76	486	0.2242		0.1328		0.3155	
FES-C	76	483	0.2984		0.2360		0.3609	



Las pendientes indican la ganancia del peso de los corderos en función del tiempo. Asimismo se obtuvieron los promedios de las pendientes, los LIP y LSP, de cada tratamiento.

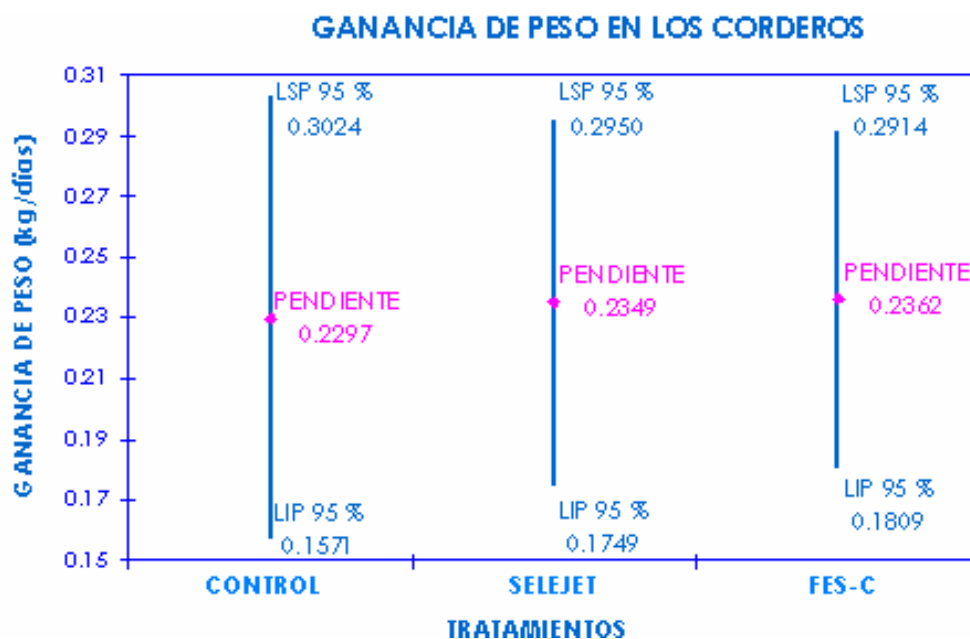


Figura 37. Gráfico de la ganancia de peso de los tres grupos de corderos

En el grafico 37 se observa que no hay diferencia entre los diferentes tratamientos administrados de selenio, así como tampoco para el grupo control que no tuvo una suplementación de Selenio.

VI. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En la búsqueda de información, se encontraron diferentes presentaciones de inyectables de selenio para pequeños rumiantes, así como, estudios realizados en algunos de estos productos en animales, información con la cual fue posible definir las condiciones de elaboración del inyectable de lenta liberación de selenito de sodio, desarrollando una metodología rápida y sencilla para la elaboración del inyectable, en el cual se especifican el tipo y la cantidad adecuada de los excipientes que se seleccionaron para la formulación.

Durante la elaboración del inyectable y en función de análisis tecnológicas como viscosidad y velocidad de flujo en el producto terminado, fue posible definir las condiciones de operación del proceso de elaboración del inyectable, que permitieron una adecuada administración del inyectable vía subcutánea y la liberación del Selenio en los pequeños rumiantes. En esta etapa del proceso se identificaron algunos factores que afectaban la calidad y funcionalidad del inyectable, como fueron el tiempo de agitación, la velocidad de agitación y el porcentaje de Cutina en la formulación, factores que fueron optimizados en base a evaluaciones tecnológicas y de aspecto.

Con la metodología desarrollada y optimizada para el proceso de elaboración del inyectable, se fabricaron 3 suspensiones de selenito de sodio de diferentes dosis, las cuales presentaron buenas características tecnológicas y resultaron adecuadas para su administración (vía subcutánea), dado que al aplicarlas en cabras, ovejas y corderos, no se presentaron lesiones en la zona de aplicación.

Al realizar un experimento exploratorio del comportamiento del inyectable desarrollado de selenito de sodio denominado Se-FESC en la respuesta de los animales, fue posible hacer una comparación con inyectables de marca comercial y de uso común, para los padecimientos por deficiencias de Selenio.

En donde se observó que en los niveles de Selenio en sangre de cabras la suspensión inyectable desarrollada SE-FESC no presentó diferencias significativas con el tratamiento del inyectable de selenio MU-Se en los días de muestreo, pero ambos tratamientos si presentaron diferencias con el grupo control que no recibió ningún tratamiento de selenio,



dado que los niveles de Selenio en sangre eran más bajos, que los pequeños rumiantes que si fueron suplementados.

En el caso del peso de los corderos suplementados con el inyectable Se-FESC y el inyectable de marca Seleject, estadísticamente no existió una diferencia significativa, incluso con el grupo de corderos que no recibió una suplementación de selenio.

Dado que el peso de los corderos fue aumentando en función de la edad del animal y de manera similar en cada grupo de animales evaluados, sin embargo gráficamente se observa que el grupo control de corderos sin suplementados de Selenio están por debajo los valores de su peso en comparación con los grupos que si recibieron una suplementación de Selenio.

Finalmente en base a los análisis realizados, es posible mencionar que el inyectable desarrollado de selenito de sodio Se-FESC para una aplicación por vía subcutánea en los pequeños rumiantes, es adecuado, ya que no causa trauma en el animal, la formulación logra liberar el Selenio para mantener niveles adecuados de este elemento en las cabras, ayuda a un buen crecimiento en los corderos y se comporta de manera similar a los inyectables de marca comercial utilizados, sin presentar efectos tóxicos.

Por consiguiente el producto desarrollado resulta ser una opción alternativa para la suplementación de Selenio en los pequeños rumiantes destinados al consumo humano.

VI. REFERENCIAS

REFERENCIAS

1. Allan C. B., Lacourciere G. M. y Stadkman T. C. 1999. Responsiveness of Selenoproteins to Dietary Selenium. *Annu Rev Nutr.* **19**: 1-16
2. Aluja A. S. De., Rocha A. M., Ochoa P. 1985. Determinación de Niveles de Selenio Sérico en Becerros y Vacas de dos Establos Localizados en el Estado de México. *Vet. México.* **12** (2):85-88
3. Araya M. A., Swearingen Jr. J. W., Plishker M. F., Saavedra C. P., Chasteen T. G., Vasquez C. C. 2004. *J. Biol. Inorg. Chem.* **9**, 609-615.
4. Barradas H. V. 1980. Interrelationships among the Mineral Content of the Soils. Forages and Cattle in the Central and Northern Region of Veracruz. (Tesis Maestría). México. Michigan USA: Michigan State University.
5. Biblioteca de Consulta Microsoft® Encarta® 2005. © 1993-2004 Microsoft Corporation. Reservados todos los derechos.
6. Blodinger J. 1983. Formulation of Veterinary Dosage Forms. In: *Formulation of Drug Dosage Forms for Animals*. New York. Marcel Decker: 135-173
7. Bratakos MS y Ioannou P. 1989. The Regional Distribution of Selenium in Greek Cereals. *Science of the Total Environment.* **84**: 237-247
8. Chien, Yie W. 2002. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Marcel Dekker. Drug Delivery – Controlled Release. Kaohsiung Medical University. Kaohsiung. Taiwan. págs: 811-833
9. Church D. C., Pond W. G. 1992. *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales*. México: LIMUSA
10. Clarck L. J., Falminton A. B., Wright A. B., Isherwood P., Baas E. 1992. Selenium Field Trials in Dairy Cattle. *Proc. Of the 22nd. Seminar Sheep and Beef Cattle Society*. New Zeland veterinary Association Incorporating the NZVA Conference. Publication N°. **154** Pp. 27-31
11. Combs G. F., Combs S. B. 1986. *Absorption and Transfer in: the Role of Selenium in Nutrition*. New York. Academic Press.
12. Combs JGF, Combs SB. 1987. Selenium Effect on Drug and Foreign Compound Toxicity. *Pharmacol. Ther.* **33**: 303-315.



13. Davis et al. 2002. Selenium Concentrations of Calostrum and Milk from Beef Cows Receiving Different Forms of Selenium Supplementation. University of Florida.
14. De Blas C., González M., Argamenteria A. 1986. Nutrición y Alimentación del Ganado. España: ediciones Mundi-Prensa
15. Desmond B. J. 2002. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Veterinary Dosage Forms. Monash University. Parkville Victoria. Australia. Marcel Dekker; págs: 2932-2969
16. Díaz S. R., Montes de Oca V., Velásquez y Wilsmore. 1994. Actividad de Glutación Peroxidasa (GSH-Px) y Niveles de Selenio en Sangre de Ovinos y Niveles de Selenio en Suelo y Pasto de Áreas Ovinas. Memorias de XIV Congreso Panamericano de Ciencias veterinarias. Acapulco (Guerrero) México.
17. Díaz T. R. 1994. Desarrollo de una Formulación de Astemizol en Suspensión (Tesis de Licenciatura). Cuautitlán Izcalli (México) México: UNAM
18. Diplock A. T., Caygill C. P., Jeffrey E. H. Thomas C. 1973. The Nature of the Acid-volatile Selenium in the Liver of the male Rat. Biochem J. **134**: 283
19. Edens F. W. 2002. Aplicaciones Prácticas de la Seleniometionina en Aves Reproductoras. En: navegando de mercado de nicho a mercados globales. 12ª Ronda Latinoamericana de Alltech. Del 23 de Septiembre al 4 de octubre del 2002. Alltech, Inc. Págs: 20-22
20. Ermakov V V. 1992. Biogeochemical Regioning Problems and the Biochemical Selenium Provinces of the Former USSR. Biological Trace Element Research. 33:171-185
21. Escobosa A., González M. O., Rocha A. M., et al. 1978. Determinación de Selenio, Calcio, Fósforo y Manganeso en Forrajes y pH de Suelos en Algunas Regiones de la República Mexicana. Memorias X Congreso Nacional de Buiatría; México.
22. EVM: Exper Group on Vitamins and Minerals. 2003. Safe Upper Limits for Vitamins and Minerals Secretariat. Págs: 360
23. Falcón. 2000. Últimos avances en digestión de muestras por microondas y análisis elemental por absorción atómica, ICP- ICP-Masas. México D.F. 11 octubre del 2000. Falcón Instrumentos y Equipo Falcón S.A. de C.V.
24. FAO. Extraído de "Mejorando la nutrición a través de huertos y granjas familiares". Manual de capacitación para trabajadores de campo en América Latina y el Caribe. Hoja de Información 13 - Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

25. Gartenberg P. K., Mc Dowell L. R., Rodríguez D., Wilkinson N., Conrad J. H. and Martin G. 1990. Evaluation of Trace Mineral Status in Ruminants in Northeast Mexico. *Livestock Research for Rural Development*.
26. Gleason H. M. 2004. Desarrollo y Optimización de los Métodos de Digestión Ácida en horno de Microondas para la Cuantificación de Selenio en Plasma y Leche de Ganado Vacuno (Tesis de Licenciatura). Cuautitlán Izcalli (México) México: UNAM
27. Gyurik R. J. 1983. Rumen Retention Devices in Drug Delivery devices. *Fundamentals and Applications*. Editado por Paveen Tyle. New York. Marcel Decker: 549-561
28. Hansard S. M. 1983. Microminerals for ruminant animals. *Nutr Abs Rev Series B*. **53**: 1-24
29. Harrison J. H., Conrad H. R. 1984a. 1984b. Effect of Calcium on Selenium Absorption by the Nonlactating dairy cow. *J. dairy Sci.* **67**: 1860-1864
30. Herigstad R. R. & Whitehair. 1974. K. C. *Vet. Med. Anim. Clin.* **69**, 1035
31. Hill K. E., Bork R. F., Lane J. M. 1987. Effect of selenium Depletion and repletion on Plasma Glutathione and Glutathione-Dependent Enzymes in the Rat. *J. Nutr.* **117**: 99-104
32. Hintze K J et al., 2001. Areas With High Concentrations of Selenium in the Soil and Forage Produce Beef with Enhanced Concentrations of Selenium. *J. Agriculture Food Chem.* **49**: 1062-1067
33. Hoeckstra W. G. 1975. Biochemical Function of selenium and its Relation to vitamin E. *Fed Proc.* **34**: 2083
34. Humphreys D. J. 1988. *Veterinary Toxicology*. Baiee Tindal. London. Págs: 74-77, 69-71
35. IFAS. University of Florida, Institute of Food and Agriculture Sciences. *Minerales para Rumiantes de Pastoreo en Regiones Tropicales*, Mc. Feed Ingredients, 3ª edición.
36. Johan H. Koeslag, Zoot A. Fernán. 1982. *Manual para Educación Agropecuaria*. CABRAS. Editado por Trillas. México. pp: 182
37. Johan H. Koeslag, Zoot A. Fernán. 1985. *Manual para Educación Agropecuaria*. OVINOS. Editado por Trillas. México. pp:94
38. Judson G. H., Ellis N. F., Kempe B. R. 1991. Shallow M. Long-acting Selenium Treatments for Sheep. *Aust Vet J*; **68** (8): 263-265
39. Kendall N. R., Mcackenzie A. M. 2001. Telfer S. B. Effect of a Koper, Cobalt and Selenium Soluble Glass Bolus given to Grazing Sheep. *Livestock Production Science*; **68**: 31-39



40. Kibbe, Arthur H. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 3a Edición. American Pharmaceutical Association. Washington E. U. 665pp
41. Köhrle J. 1999. The Trace Element Selenium and the Thyroid Gland. *Biochimie*. **81**: 527-533
42. Korening K. M., Buckley W. T., Shelford A. 1991. Measurement of Endogenous Fecal Excretion and True Absorption of Selenium in Dairy Cows. *Can J Anim Sci*. **71**: 167-174
43. Kuchel R. E. y Buckley R. A. 1969. The Provision of Selenium to Sheep by Means of Heavy Pellets. *Aust J Agric Res*. 2001: 1009-1107
44. Lag J. 1998. Germedical Aspects of Selenium: Norwegian Investigations. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*. **17**: 229-232
45. Langlands J. P., Bowles G. E., Donald G. E., Smith A. J. 1986. Selenium Excretion in Sheep. *Aust J. Agric Res*. **37**: 20-209
46. Maksimović Z J, Djujić I, Jović V, Rsumovie M. 1992. Selenium Deficiency in Yugoslavia and Possible Effects on Health. *Environmental Geochemistry and Health*. **14**: 107-111
47. Mc Dowell L. R. 1997. Trace Elements Suplementation in Latin America and the Potential for Organic Selenium. *Abs. Proc. Alltech 13th Annual Biotechnology in the Feed Industry*: 45
48. Mc Dowell L. R., Cristaldi L., Davis P. A., Rosendo O., Wikinson N. S. 2002. Selenium Availability and methods of Selenium Supplementation for Grazing Ruminants. *Proc. 13th Ann. Florida Ruminant Nutr. Symp*. 86-102
49. Mc Dowell L. R., Vale G., Cristaldi C., Davis P., Rosendo O., Wilkinson N. 2003. Department of Animal Sciences. University of Florida. Frank Martin. Florida Beef Report. págs: 39-41
50. National Research Council NRC. 1983. Selenium in Nutrition (Rev. Ed.) Subcommittee on Selenium. Committee on Animal Nutrition. National Academy Press. Washington.
51. National Research Council NRC. 1980. Mineral Tolerance of Domestic Animals. Subcommittee on Mineral Toxicity in Animals. National Academy of Sciences. Washington. D.C.
52. Nonato-Nonato F. 1994. Sistemas de atomización utilizados en Espectrofotometría de Absorción Atómica: Flama, Horno de grafito, Generador de Hidruros y Generador de vapor, para el análisis de muestras complejas (Tesis de Licenciatura). Cuautitlán Izcalli (México) México: UNAM

53. Paulson G. D., Baumann C. A., Pope A. L. 1966. Metabolism of ⁷⁵Se-selenite, ⁷⁵Se-selenate, ⁷⁵Se-selenomethionine and ³⁵S-sulfate by Rumen Microorganism in Vitro. J Anim Sci. **27**:497
54. Ramírez – Bribiesca J. E., Tórtora J. L., Huerta M., Aguirre A., Hernández L. M. 2001b. Diagnosis of Selenium Status in Grazing dairy Goats on the Mexican Plateau. Small Ruminant Research. **41**: 81-85
55. Ramírez B. J. 1995. La Carencia de Selenio, su Diagnóstico y su Suplementación en un Sistema de Producción Caprina en el Sureste del Estado de Tlaxcala (Tesis Maestría). Cuautitlán Izcalli (México) México: UNAM
56. Ramírez-Bribiesca, J. E., J. L. Tórtora, et al., 2001 a. Main Causes of mortalities in Dairy Goat Kids from the Mexican Plateau. Small Rumin. Res. **41**: 77-80
57. Raya O., M. V., Ph D.; Urzua M. V., 2004. Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias. Efecto del selenato de bario inyectable sobre la actividad de glutathion peroxidasa en caballos. Universidad Austral de Chile. Casilla 567. Valdivia. Chile. publicado en Portal Veterinario. 6 pp
58. Raya O., Urzua M. V. e Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias. 2004. Efecto del Selenato de Bario Inyectable sobre la Actividad de Glutathion Peroxidasa en Caballos. Universidad Austral de Chile. Casilla 567 Valdivia, Chile. publicado en Portal Veterinario. 30 septiembre 2004. pp: 6
59. Rosentein E. 2003-2004. Prontuario de Especialidades Veterinarias Farmacéuticas, Biológicas y Nutricionales. Edición 23. THOMSON PLM, México. págs: 949-1135
60. Rosiles M. R., González R. R., et al. 1993. Niveles Comparativos de Selenio en Pelo de Bovinos Sanos a Nivel del Mar, con los de Insuficiencia Cardíaca en el Valle de México. Vet. México; **24** (3): 135-137
61. Rotruck J T, et al. 1973. Selenium: Biochemical role as a Component of Glutathione Peroxidase. Science. **179**: 588-590
62. Sarabia M. 2004. Desarrollo de un Bolo Intrarruminal de Liberación Prolongada con selenio Orgánico de Levaduras para Bovinos Productores de Leche (Tesis Maestría). Cuautitlán Izcalli (México) México: UNAM
63. Serra A. B., Serra S. D., T. Fujihara T. 1996. Influence of Dietary Protein on the Fractionation of Selenium in the Rumen of Sheep. Aust J Am Stud. **9** (5): 557-562



64. Serra A. B., Serra S. D., T. Fujihara T. 1997. Bio availability of Rumen Bacterial Selenium in Mice using Tissue Uptake Technique. *Biol Trace Elem Res.* **58**: 255-261
65. Shimada M., Murakami T. H., et al., 1983. Effects of sea bloom, *Chattonella antiqua*, on the gill primary lamellae of the young yellowtail, *Sertola quinqueredata*. *Acta Histochemica et Cytochemica.* **16**: 232-244
66. Small Ruminant conference. 2002, In cooperation with the Developing Animal Agriculture Interest Group of the South African Society for Animal Science (SASAS-DAAIG), at Jan Kempdorp near Kimberley in the Northern Cape Province.
67. Spross S. A. 1982. Evaluación del Contenido Mineral en Suelo, Planta y Animal, de Cinco Ranchos del Estado de México y Estado de Hidalgo. (Tesis Maestría) Cuautitlán Izcalli (México) México: UNAM
68. Stowe H. D., Herdt T. M. 1988. Clinical Assessment of Selenium Status of Livestock. *J Anim Sci*; **70**: 3928-3933
69. Stowe H. D., Herdt T. M. 1992. Clinical Assessment of Selenium Status of Livestock. *J Anim Sci*; **70**: 3982-3933
70. Strouth M. K. 1985. Niveles de Selenio en Alfalfa y Sangre de Vacas Holstein y Correlación entre Niveles de Selenio y Glutación Peroxidasa (Tesis de Maestría) México (D. F.) México: UNAM
71. Sunde R. A. 1997. Selenium in: Handbook of nutritionally Essential Mineral Elements. USA: Marcel Dekker
72. Suñé Negré, José M^a. 2004. Nuevas Aportaciones Galénicas a las Formas de Administración. Capítulo 3.2. Formación Continuada para Farmacéuticos de Hospital. Barcelona. págs: 28-65.
73. Swecker William S., Jr. DVM, Ph.D, Dip ACVN. 2002. Va-Md Regional College of Veterinary Medicine Virginia Tech Blacksburg, VA 24061-0442
74. The Merck Index. Monographs. 13th Edition of *The Merck Index* (a U.S. publication, Whitehouse Station, N.J., USA), an internationally recognized, one-volume encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Each monograph in the encyclopedia.
75. Tinggi U. 2003. Essentiality and Toxicity of Selenium and its Statud in Australia. Review. *Toxicology Letters.* **137**: 103-110

76. Ullrey D. E. 1974. Biochemical and Physiological Indicators of Selenium Status in Animals. J Anim Sci; **65**: 1712-1726
77. Ullrey D. E. 1992. Basis for Regulation of Selenium Supplements in Animal Diets. J Anim Sci; **70**: 3922-3927
78. Underwood E. J. and Suttle N. F. 1999. The Mineral Nutrition of Livestock. 3rd Midlothian. U.K.
79. Valadez J. C. 2005. Comparación de la Forma Orgánica e Inorgánica de Suplementación de Selenio sobre la Toxicidad en Ovinos (Tesis Maestría). Cuautitlán Izcalli (México) México: UNAM
80. Vandame T. F. y Ellis K. J. 2004. Issues in Developing Ruminal Drug Delivery Systems. Advanced Drug Delivery Reviews. **56**: 1415-1436
81. Vila J. J. 2001. Tecnología Farmacéutica. Volumen II. Formas Farmacéuticas. Editorial Síntesis, S.A. España. Págs: 379 - 383, 422 -434
82. Voudouri A., et al. 2003. Selenium and Iodine Deficiencies in Sheep. Biological Trace Element Research. **95**: 1-12
83. Wang M. C., et al. 2003. Forms and Distribution of Selenium at Different Depths and Among Particle size Fractions of Three Taiwan Soils. Chemosphere. **52**: 585-593
84. Watkinson J. H. 1983. Prevention of Selenium Deficiency of Grazing Animals by annual Top-Dressing of Pasture with Sodium Selenate. N Z Vet J; **31**: 75-78
85. Watkinson J. H. 1992. Application of Selenium to Pasture. Trace Elements in Ruminants. Proceeding of the 22nd. Seminar Sheep and Beef Seminar Cattle Society. N Z Vet Association Incorporating the NZVA Conference; **154**: 125-131
86. Werner G. 1988. Los Suelos en el Estado de Tlaxcala. Gobierno del Estado de Tlaxcala. Universidad Autónoma de Tlaxcala. 198 p.
87. Wyatt C. J., Meléndez J. M. 1996. Selenium in Foods in Northern Mexico their Contribution to the Daily Selenium Intake and the Relationship of Selenium Plasma and Glutathione Peroxidase Activity. Nutr Res; **16**: 949-960



PÁGINAS ELECTRÓNICAS

- http://64.233.179.104/translate_c?hl=es&u=http://www.ktf-split.hr/periodni/en/se.html
- <http://www.guiaveterinaria.net/producto/2088.asp>
- <http://www.lapisa.com/farmaceuticos.html>
- <http://www.lapisa.com/tfarma.html> - 50k
- <http://www.guiaveterinaria.net/producto/1279.asp>
- <http://www.guiaveterinaria.net/producto/3698.asp>
- <http://www.guiaveterinaria.net/producto/3225.asp>
- <http://www.guiaveterinaria.net/producto/8241.asp>
- <http://www.feedlot.com.ar/tecnicos/ingreso.htm>
- <http://www.pharmavet.com.ar/otrospro.htm>
- <http://www.pharmavet.com.ar>
- http://www.nutrimix.com.mx/b_engorda.htm
- <http://www.mega-sel.com/info.html>
- http://www.engormix.com/s_companies_showcase_products
- <http://www.sp-animalhealth.com/usa/products>
- <http://www.norvet.es/vademecum.asp?id=155>
- <http://www.pharmavet.com.ar>
- <http://www.karizoo.com/pharma7.htm>
- http://www.geocities.com/raydelpino_2000/enfermedadmusculoblancoovejas.html
- <http://www.fepafem.org>
- http://www.fertilizer.org/ifa/publicat/PDF/2004_ag_new_delhi_nielsen_slides.pdf
- <http://www.encolombia.com/acovez24284.organico.Html>
- <http://administracion-parental-y-rectal.html>
- <http://www.tuotromedico.com/temas/mastitis.html>
- http://www.fepafem.org.ve/Guias_de_Urgencias/Enfermeria/Administracion_de_medicamentos_parenterales.pdf
- <http://agronomia.uchile.cl/webcursos/cmd/Gabriela%20Maldonado/Ovinos/Ovinos>
- http://216.239.39.104/translate_c?hl=es&u=http://www.ktf-split.hr/periodni/en/abc/
- http://www.geocities.com/raydelpino_2000/enfermedadmusculoblancoovejas.html
- <http://www.fda.gov/cvm/index/updates/seleniumhorse.htm>
- <http://www.fda.gov/cvm/index/updates/selenium.html>



- <http://www.pharmacosm.it/pdf/farmacéutico.pdf>

VIII. ANEXOS

1. PROPIEDADES GENERALES DE LOS INGREDIENTES DE LA FORMULACIÓN

1.1 SELENITO DE SODIO

1.1.1 NOMBRES EQUIVALENTES

▪ *SINÓNIMOS*

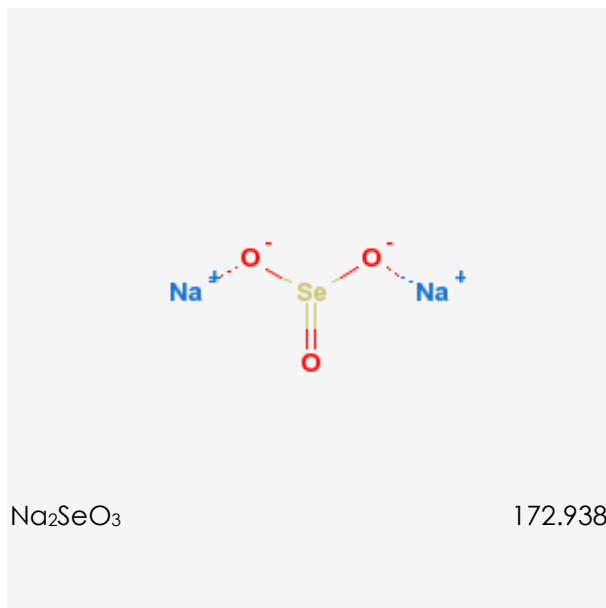
- Selenito disódico
- Disodium selenite
- Disodium selenium trioxide
- EINECS 233-267-9
- HSDB 768
- Natriumselenit [German]

1.1.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS

▪ *NOMBRE QUÍMICO Y NUMERO DE REGISTRO CAS*

- Selenito de sodio
- [10102-18-8]

▪ *FORMULA ESTRUCTURAL*



▪ *CATEGORÍA FUNCIONAL*

- Antioxidante



1.2 VITAMINA E

▪ *NOMBRES NO PATENTADOS*

- USP: DL-alpha-Tocopheryl acetate (Vitamina E)

1.2.1 NOMBRES EQUIVALENTES

▪ *SINÓNIMOS*

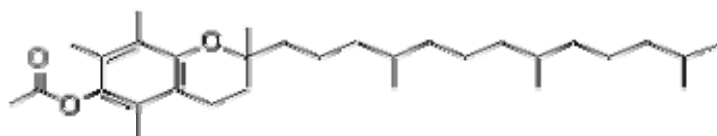
- Advastab-401
- Vitamine E Acetate
- Vitamin E acetate, 98%
- dl-α-tocopherol acetate for biochemistry
- DL-alpha-Tocopherol Acetate (1.08284)
- DL-Vitamin E Acetate
- DL-alpha-Tocopherol Acetate
- dl-vitamin e acetate

1.2.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS

▪ *NOMBRE QUÍMICO Y NUMERO DE REGISTRO CAS*

- DL-alpha-Tocopheryl acetate
- [7695-91-2]
- 58-95-7

▪ *FORMULA ESTRUCTURAL*



$C_{31}H_{52}O_3$

472.75

▪ *CATEGORÍA FUNCIONAL*

- Antioxidante y cosolvente.

1.2.3 USO FARMACÉUTICO

▪ *APLICACIONES EN FORMULACIONES FARMACÉUTICAS O TECNOLÓGICAS*

- La Vitamina E se utiliza en formulaciones farmacéuticas como antioxidante de las células principalmente, se usa en inyectables, tabletas y cápsulas.

- **DESCRIPCIÓN**

- La Vitamina E se encuentra como un cristal sólido o polvo blanco o amarillo, con un olor muy característico, y también, como un líquido viscoso y oleoso, de color amarillo claro.

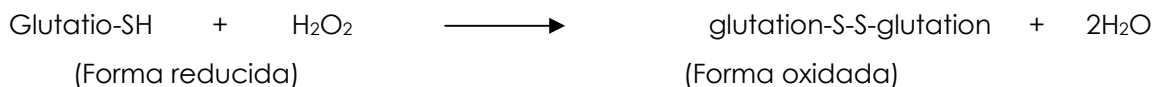
1.2.4 FARMACOLOGÍA DE LA VITAMINA E

Existen varias formas en la naturaleza que poseen actividad vitamínica E, siendo la más potente el α -tocoferol (5,7,8-trimetiltocol) mientras que los tocoferoles β , γ y δ poseen una bioactividad que es del 50, 20 y 10% de la correspondiente a la forma α . El nombre de Vitamina E denomina a un grupo de tocoferoles biológicamente activos, donde el compuesto natural principal es el *d*- α -tocoferol y su papel predominante es como antioxidante, ya que funciona previniendo la oxidación de los lípidos y prolongando la vida biológica de los ácidos grasos poliinsaturados. Se piensa que, la vitamina E posee otras acciones farmacológicas dado que la actividad antioxidante no explica todos los cambios que ocurren en los animales deficientes. También, se ha señalado que los niveles farmacológicos de vitamina E potencian los mecanismos inmunitarios corporales y aumentan la resistencia a los ataques bacterianos y víricos.²³

1.2.5 FARMACODINAMIA DE LA VITAMINA E

MECANISMO DE ACCIÓN

Específicamente, la vitamina E previene la formación de radicales libres e hiperperóxidos a partir de los ácidos grasos poliinsaturados. La vitamina E mantiene el glutatión en forma reducida previniendo la formación de hidroperóxidos; es un antioxidante y reduce por consiguiente, la cantidad de GSH-PX necesaria. La cisteína (N-acetilcisteína) se precisa para reducir el radical sulfhidrilo del glutatión y se encuentra generalmente presente en cantidades adecuadas.



La función metabólica predominante de la Vitamina E es servir como antioxidante, evitando la degradación peroxidativa de las grasas en las células de los animales y la posterior formación de radicales peróxidos libres que inhiben la acción de ciertos enzimas y lesionan las membranas celulares (Hoeckstra, 1975). Actualmente, se ha clarificado la relación que existe entre la función del Se y la Vitamina E. Aún cuando el Se retrasa la muerte de ovejas afectadas por deficiencias graves de Vitamina E, solamente la vitamina podrá evitar su muerte, indicando la necesidad de Vitamina E en presencia de una cantidad adecuada de selenio en la dieta. Julien y col. Descubrieron que la

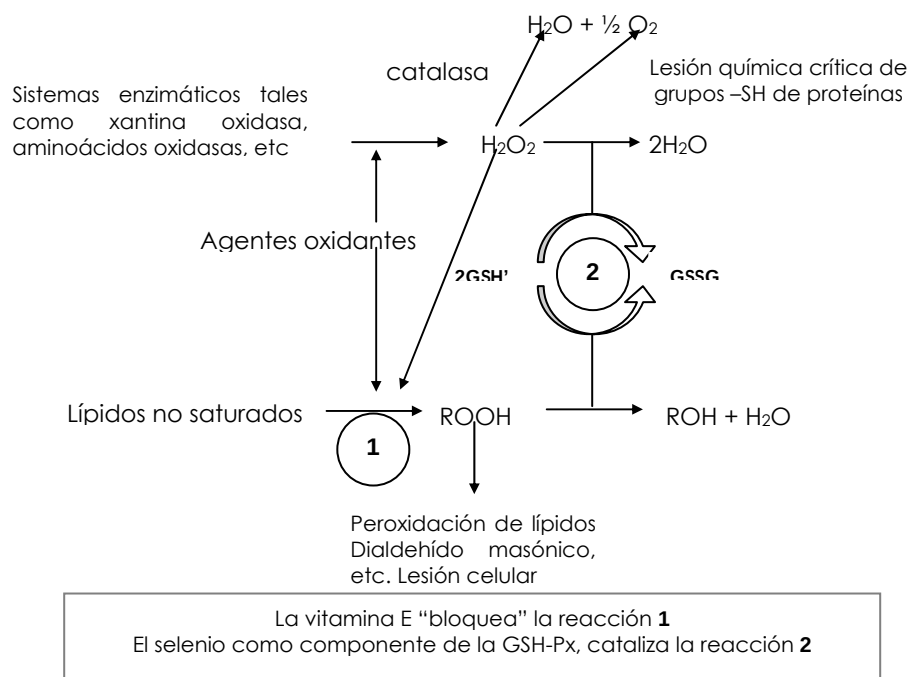


inyección de Vitamina E (680 mg/día) y de Na_2SeO_3 (50 mg/día) durante 20 días antes del parto disminuye la retención de placenta en las vacas lecheras.

1.2.6 INTERACCIONES DE LA VITAMINA E

El selenio y la vitamina E se potencian y en conjunto protegen las células, especialmente los hepatocitos, contra una acumulación peligrosa de peróxidos. Ambos nutrientes intervienen en la prevención de la retención placentaria. Hokestra (1974) postuló un mecanismo que puede explicar la mayoría de las interacciones entre selenio y vitamina E, ya que ambos nutrientes actúan protegiendo los lípidos de la membrana pero de modo diferente. El selenio actúa a través del glutatión y el sistema GSH-Px aumentando la destrucción de peróxidos. En tanto que la vitamina E se cree que previene la oxidación de los lípidos no saturados (Hoeckstra, 1975).

Figura 38. Mecanismo postulado por Hokestra en 1974 que explica las interacciones del Se y la Vitamina E



1.2.7 APLICACIONES CLÍNICAS

1.2.7.1 PROFILAXIS Y TERAPÉUTICA

La mayoría de las alteraciones que responden a la vitamina E también lo hacen al selenio, de tal manera que resulta beneficiosa una terapéutica combinada, la siguiente tabla resume respuestas profilácticas beneficiosas para las principales enfermedades clínicas (Hoeckstra, 1975).

Tabla 69. Niveles recomendados de vitamina E para dietas de animales jóvenes

Niveles recomendados de vitamina E, para dieta de animales jóvenes	
ANIMAL	PIENSO* (mg/Kg)
Ternero	15-60
Starter para terneros	300
* el contenido de algunas relaciones se indica en Unidades Internacionales(UI) 1 UI = 1 mg de acetato de <i>dl</i> - α - tocoferol	

En las áreas deficientes en selenio se deberá administrar una combinación de selenio y vitamina E por vía oral o parenteral a la vaca y la oveja. Otro método consiste en tratar la descendencia inmediatamente después del nacimiento con combinaciones de selenio y vitamina E. en la tabla se indican las dosis recomendadas por vía parenteral de vitamina E para animales jóvenes (Hoeckstra, 1975).

Tabla 70. Dosis de vitamina E para animales jóvenes (Harrison, 1984a)

Tratamiento de las deficiencias de vitamina E de animales jóvenes	
ANIMAL	DOSIS parenteral (mg/Kg)
Ternero	25
Cordero	25
Visón	10-20
Cerdo	25
* el contenido de algunas relaciones se indica en Unidades Internacionales(UI) 1 UI = 1 mg de acetato de <i>dl</i> - α - tocoferol	

1.2.7.2 REQUERIMIENTO DE VITAMINA E

No parece disponerse de datos suficientes para establecer unas necesidades definitivas de vitamina E para rumiantes. Para vacuno productor de carne o Ternero se han estimado entre 15 - 60 mg/kg de sustancia seca o pienso (Makdami et al., 1970).

Este margen cubriría también las necesidades de vacuno lechero, ovejas y cabras. Debido a los diversos factores dietéticos que inciden sobre las necesidades de Vitamina E en los rumiantes tales como: Selenio, Antioxidantes, Grasas insaturadas, etc.



SUPLEMENTACIÓN DE VITAMINA E EN LA DIETA

La mayoría de los alimentos naturales para rumiantes (cereales y forrajes) contiene cantidades adecuadas de Vitamina E, por lo que la suplementación no es precisa generalmente no ha influido e forma positiva sobre el rendimiento de los animales en diversos experimentos. Sin embargo, la vitamina E es termolábil así ensilados o heno que han experimentado un calentamiento excesivo o un dilatado periodo de almacenamiento pueden hallarse parcial o totalmente privados de actividad. Es aconsejable la suplementación de vitamina E a los animales que consumen alimentos sospechosos de presentar una actividad vitamínica E baja.

1.2.7.3 DEFICIENCIA DE VITAMINA E

Los síntomas de la deficiencia de Vitamina E en los rumiantes se caracteriza por lesiones distróficas en los músculos denominadas como enfermedad del músculo blanco. Un síntoma precoz de la deficiencia de Vitamina E en los terneros es la hipercelularidad y la necrosis difusa en las fibras musculares.

En corderos con deficiencias de Vitamina E se ha descubierto una mayor excreción de creatinina urinaria (5-10 veces). Los síntomas manifiestos de la deficiencia se inician con una debilidad de los músculos de las extremidades que determinan que el ternero camine con las extremidades posteriores cruzadas. También se ha observado una relajación de las cuartillas, extensión de los dedos y alteración de la capacidad del ternero para mamar (lesión en los músculos de la lengua). Las etapas posteriores incluyen incapacidad del animal para mantenerse en pie o controlar los movimientos de la cabeza (Korening, 1991).

1.2.7.4 TOXICIDAD DE VITAMINA E

Los autores de un texto llegaron a la conclusión de que un exceso de vitamina E parece interferir sobre la utilización de la vitamina D. Considerando el coste relativamente alto de la vitamina E suplementaria y las grandes cantidades que son precisas probablemente para producir la intoxicación, es improbable que esto llegue a suponer un problema en las dietas de los rumiantes (Korening, 1991).

1.2.7.5 DOSIFICACIÓN

El método para administrar vitamina E en muchas experiencias de investigación y en el campo es la inyección intramuscular de 5mg de Selenio y 68 Unidades de vitamina E/45.4kg de peso corporal de 20-40 días antes del parto suele ser eficaz. Los terneros lactantes demostraron que una dosis de vitamina E de 92mg/día para mantener normales los niveles de α -tocoferol en suero sanguíneo.

1.3 BUTILHIDROXITOLUENO (BHT)

▪ **NOMBRES NO PATENTADOS**

- BP: Butylated hydroxytoluene
- Ph Eur: Butylhydroxytoluenum
- USP: Butylated hydroxytoluene

1.3.1 NOMBRES EQUIVALENTES

▪ **SINÓNIMOS**

- | | |
|--------------------------------------|---|
| ▫ Advastab-401 | ▫ Agidol |
| ▫ Antrancine 8 | ▫ Antioxidante 30 |
| ▫ Annulex BHT | ▫ BHT |
| ▫ butyl-hydroxytoluene | ▫ Dalpac |
| ▫ Dibutylated hydroxytoluene | ▫ E 321 |
| ▫ Embanox BHT | ▫ Impruvol |
| ▫ Ionol CP | ▫ Nipanax BHT |
| ▫ OHS28890 | ▫ Sustane |
| ▫ Tenox BHT | ▫ Topanol |
| ▫ 2,6-di-tert-butyl-p-cresol | ▫ Vianol |
| ▫ 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene | ▫ 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylphenol |

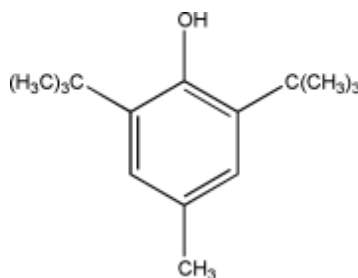
1.3.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS

▪ **NOMBRE QUÍMICO Y NUMERO DE REGISTRO CAS**

- 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol
- [128-37-0]

▪ **FORMULA ESTRUCTURAL**

$C_{15}H_{24}O$



220.35

▪ **CATEGORÍA FUNCIONAL**

- Antioxidante



1.3.3 USO FARMACÉUTICO

■ APLICACIONES EN FORMULACIONES FARMACÉUTICAS O TECNOLÓGICAS

- Butil hidroxitolueno es usado como un antioxidante en cosméticos, alimentos y medicamentos. Es principalmente usado para retrasar o prevenir una reacción de oxidación de grasas o aceites y para prevenir una mala actividad de vitaminas liposolubles.
- El Butil hidroxitolueno es usado en concentraciones de 0.5 a 1% en colorantes naturales o sintéticos, para procurar una estabilidad del color. El Butil hidroxitolueno también es usado como antiviral y también ha sido usado terapéuticamente para tratar herpes labial simple.

Tabla 71. Concentraciones recomendadas según el Handbook of excipients pharmaceuticals para el BHT

USO ANTIOXIDANTE	CONCENTRACIÓN (%)
β - caroteno	0.01
Aceites vegetales comestibles	0.01
Aceites esenciales y agentes saborizantes	0.02-0.5
Grasas y aceites	0.02
Aceites de pescado	0.01-0.1
Soluciones nasales	0.01
Inyecciones IM	0.03
Inyecciones IV	0.0009-0.002
Formulaciones tópicas	0.0075-0.1
Vitamina A	10 mg/U million

■ DESCRIPCIÓN

- El Butil hidroxitolueno se encuentra como un cristal sólido o polvo blanco o amarillo, con un olor muy característico.

■ ESPECIFICACIONES FARMACOPÉICAS

Tabla 72. Especificaciones farmacopéicas del BHT

PRUEBA	Ph Eur	USP
Identificación	+	+
Características	+	-
Apariencia de solución	+	-
Temperatura de congelamiento	-	≥ 69.2 °C
Punto de congelación	69-70°C	-
Residuos de ignición	-	≤ 0.002%
Cenizas de sulfatos	≤ 0.1%	-
Metales pesados	-	≤ 0.001 %
Impurezas orgánicas volátiles	-	+
Ensayo	-	≥ 99.0%

▪ **PROPIEDADES GENERALES**

- Punto de calentamiento: 265°C
- Densidad : 0.48-0.60 g/cm³
- Densidad (verdadera): 1.031 g/cm³
- Punto de radiación: 127°C
- Calentamiento latente de fusión: 23.4 J/g (16.5 cal/g)
- Punto de fusión: 70°C
- Coeficiente de partición: Octanol : Agua = 4.17 – 5.8
- Índice de refracción: $n_D^{75} = 1.4859$
- Solubilidad: prácticamente insoluble en agua, glicerina, propilenglicol, soluciones alcalinas de hidróxido y diluciones acuosas de ácidos minerales. Fácilmente soluble en acetona, benceno, etanol, eter, metanol, tolueno, mezcla de aceites y aceites minerales. Es más soluble en aceites de alimentos y grasas de butil hidroxianisole.
- Gravedad específica: 1.006 a 20°C; 0.890 a 80°C; 0.883 a 90°C; 0.800 a 100°C
- Calor específico:
 - 1.63J/g/°C (0.39 cal/g/°C) para sólidos.
 - 2.05J/g/°C (0.49 cal/g/°C) para líquidos.
- Densidad del vapor (relativa): 7.6 (aire)

1.4 ACEITE DE CASTOR HIDROGENADO (CUTINA HR)

▪ **NOMBRE NO PATENTADO**

- USP: Aceite de castor hidrogenado

1.4.1 NOMBRES EQUIVALENTES

▪ **SINÓNIMOS**

- Castor wax
- Castorwax MP 70
- Castorwax MP 80
- Opalwax
- Simulsol
- Cutina HR
- Rilanit especial
- Ricinus oil

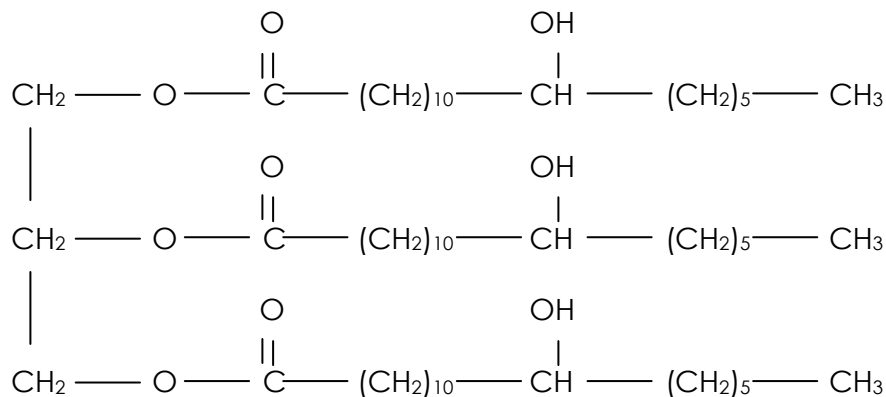


1.4.2 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

▪ **NOMBRE QUÍMICO Y NUMERO DE REGISTRO CAS**

- Glyceryl-tri-(12-hydroxystearate)
- [8001-78-3]

▪ **FORMULA ESTRUCTURAL**



C₅₇O₉H₁₁₀

939.50

▪ **CATEGORÍA FUNCIONAL**

- Agente que retarda la Liberación
- Lubricante en tabletas y cápsulas
- Agente espesante

1.4.3 USO FARMACÉUTICO

▪ **APLICACIONES EN FORMULACIONES FARMACÉUTICAS O TECNOLÓGICAS**

- El Aceite de castor hidrogenado es una cera sólida con un alto punto de fusión usado en formulaciones farmacéuticas orales y tópicas.
- En formulaciones tópicas, el aceite de castor hidrogenado es usado para dar consistencia a las cremas y emulsiones.
- En formulaciones orales, el aceite de castor hidrogenado es usado para obtener una liberación controlada en medicamentos como tabletas y cápsulas. En puede ser usado como recubrimiento o para formar una matriz sólida. El aceite de castor hidrogenado es adicionalmente usado para lubricar las paredes de los punzones de la tableteadora, este es similarmente usado como lubricante durante el procesamiento de alimentos y cosméticos.

Tabla 73. Concentraciones recomendadas según el Handbook of excipients pharmaceuticals para la Cutina

USO	CONCENTRACIÓN (%)
Agente de recubrimiento (controla la liberación)	5-20
Matriz de fármacos de liberación controlada	5-10
Lubricante en tabletas	0.1-2

▪ **DESCRIPCIÓN**

- El aceite de castor hidrogenado se encuentra como hojuelas o un polvo blanco.

▪ **ESPECIFICACIONES FARMACOPÉICAS**

Tabla 74. Especificaciones farmacopéicas de la Cutina

PRUEBA	USP
Rango de fusión	85-88 °C
Metales pesados	≤ 0.001%
Ácidos libres pesados	+
Índice de hidroxilo	154-162
Índice de yodo	≤ 5
Valor de saponificación	176-182

▪ **PROPIEDADES GENERALES**

- Valor de Acidez: ≤ 5
- Densidad: 0.98-1.1 g/cm³
- Punto de radiación: 316 °C
- Contenido de humedad: ≤ 0.1%
- Distribución del tamaño de partículas: 97.7% ≥ 1000 μm en tamaño por hojuelas.
- Solubilidad: Es miscible con cloroformo, acetona, etanol, éter, metanol; muy soluble con el etanol (95%) y éter de petróleo. Insoluble en aceites minerales mezclados con otros aceites vegetales, también es insoluble en agua.
- Temperatura de autoignición: 449 °C
- Punto de ebullición: 313 °C
- Punto de congelamiento: -10 a -18 °C
- Índice de refracción: $n_D^{25} = 1.473 - 1.477$
- Gravedad específica: 0.957 – 0.961
- Tensión superficial:
 - 39.0 mN/m (39.0 dinas/cm) a 20 °C
 - 35.2 mN/m (35.2 dinas/cm) a 80 °C



▪ **CONDICIONES DE ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO**

- El aceite de castor hidrogenado es estable a temperaturas de hasta 150°C.
- El aceite de castor hidrogenado puede ser disuelto a temperaturas por arriba de los 90°C en solventes polares y mezclas de solventes aromáticos y polares, pero el aceite de castor hidrogenado precipita en refrigeración o por debajo de los 90 °C.
- Se debe de conservar en contenedores perfectamente cerrados o sellados en un lugar fresco y seco.

1.5 METILPARABENO

▪ **NOMBRE NO PATENTADO**

- BP: Metil hidroxibenzoato
- JP: Metil parahidroxibenzoato
- PhEur: Metil parahidroxibenzoas
- USP: Metilparabeno

1.5.1 NOMBRES EQUIVALENTES

▪ **SINÓNIMOS**

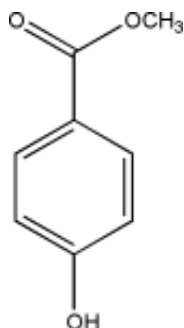
- E 218
- 4-hidroxibenzioco ácido metil éster
- Methyl Chemosept
- Metil p-hidroxibenzoato
- Methyl parasept
- Nipagin M
- Solbrol M
- Tegosept M

1.5.2 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

▪ **NOMBRE QUIMICO Y NUMERO DE REGISTRO CAS**

- Metil 4-hidroxibenzoato
- [99-76-3]

▪ **FORMULA ESTRUCTURAL**



$C_8 H_8 O_3$

152.15

▪ **CATEGORIA FUNCIONAL**

- Conservador
- Antimicrobiano

1.5.3 USO FARMACÉUTICO

▪ **APLICACIONES EN FORMULACIONES FARMACÉUTICAS O TECNOLÓGICAS**

- El metilparabeno es normalmente usado como un conservador antimicrobiano en cosméticos, alimentos y formulaciones farmacéuticas. Puede ser utilizado solo o combinado con otros parabenos, o con otros agentes antimicrobianos.
- En cosméticos el metilparabeno es el conservador de uso mas frecuentes y son efectivos dentro de un rango de pH y tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana.

Tabla 75. Concentraciones recomendadas según el Hanbook of excipients pharmaceutics para el Metilparabeno

USO	CONCENTRACIÓN (%)
Inyecciones IM, IV y SC	0.065-0.25
Soluciones de inhalación	0.025-0.07
Inyecciones intradérmicas	0.10
Soluciones nasales	0.033
Preparaciones oftálmicas	0.015-0.2
Soluciones y suspensiones orales	0.015-0.2
Preparaciones rectales	0.1-0.18
Preparaciones tópicas	0.02-0.3
Preparaciones vaginales	0.1-0.18

▪ **DESCRIPCIÓN**

- El metilparabeno se presenta como cristales incoloros o como polvo cristalino blanco, sin olor y con un ligero sabor a quemado.



▪ **ESPECIFICACIONES FARMACOPÉICAS**

Tabla 76. Especificaciones farmacopéicas del Metilparabeno

PRUEBA	JP	Ph Eur	USP
Identificación	+	+	+
Características	+	+	-
Rango de fusión	125-128 °C	125-128 °C	125-128 °C
Acidez	-	+	+
Pérdida por secado	≤ 0.5 %	-	≤ 0.5 %
Residuos de ignición	≤ 0.10 %	-	≤ 0.5 %
Cloruros	≤ 0.035 %	-	-
Sulfatos	≤ 0.024 %	-	-
Metales pesados	≤ 20 ppm	-	-
Sustancias carbonizables	+	-	-
Apariencia de la solución	-	+	+
Sustancias relacionadas	+	+	-
Ensayo	≥ 99.0 %	99.0-100.5 %	99.0-100.5 %

▪ **PROPIEDADES GENERALES**

- Actividad antimicrobiana: Es dentro un pH de 4-8. Su eficacia disminuye al incrementar el pH.

Tabla 77. Concentraciones Mínimas Inhibitorias (MICs) del metilparabeno en solución acuosa

MICROORGANISMO	MIC (µg/mL)
<i>Aerobacter aerogenes</i> ATCC 8308	2000
<i>Aspergillus oryzae</i>	600
<i>Aspergillus Niger</i> ATCC9642	1000
<i>Aspergillus Niger</i> ATCC 10254	1000
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>Mycoides</i> ATCC 6462	2000
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	2000
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	2000
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 23355	1000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 9637	1000
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 8308	1000
<i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 9480	500
<i>Penicillium digitatum</i> ATCC 10030	500
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	2000
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	1000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	4000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	4000
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	2000
<i>Rhizopus nigricans</i> ATCC 6227 ^a	500
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	1000
<i>Salmonella typhosa</i> ATCC 6539	1000
<i>Sarcina lutea</i>	4000
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	1000
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	2000
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	2000
<i>Trichoderma lignorum</i> ATCC 8678	250
<i>Trichoderma mentagrophytes</i>	250

- Densidad (verdadera): 1.352 g/cm³
- Constante de disociación: $pK_a = 8.4$ a 22°C
- Punto de fusión: 125-128 °C
- Coeficientes de partición del metilparabeno en aceites vegetales y agua:

Tabla 78. Coeficientes de partición del metilparabeno en aceites vegetales y agua

SOLVENTE	COEFICIENTE DE PARTICIÓN ACEITE : AGUA
Aceite de almendra	7.5
Aceite de ricino	6.0
Aceite de maíz	4.1
Lanolina	7.0
Aceite mineral	0.1
Aceite de cacahuete	4.2
Aceite de soya	6.1

- Solubilidad:

Tabla 79. Solubilidad del Metilparabeno

SOLVENTE	SOLUBILIDAD A 25 °C
Etanol	1 en 2
Etanol 95%	1 en 3
Etanol 50%	1 en 6
Eter	1 en 10
Glicerina	1 en 60
Aceite mineral	Prácticamente insoluble
Aceite de cacahuete	1 en 200
Propilen glicol	1 en 5
Agua	1 en 400 1 en 50 a 50 °C 1 en 30 a 80 °C

▪ CONDICIONES DE ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

- El metilparabeno tiene una buena actividad antimicrobiana dentro de un pH de 4 – 8. La eficacia de ser un buen conservador disminuye cuando incrementa el pH dando lugar a la formación del anión fenolato.
- Las soluciones acuosas de metilparabeno en un rango de pH de 3–6, pueden ser esterilizadas por autoclave a 120°C por 20 minutos, sin tener una descomposición. Estas soluciones acuosas de pH 3–6 son estables durante un tiempo aprox. de 4 años, en lugares frescos.
- El metilparabeno debe de ser conservado en contenedores bien cerrados y en lugares frescos y secos.



1.6 MYVACET 9-45K

■ NOMBRES NO PATENTADOS

- USP: Monoglicerido acetilado

1.6.1 NOMBRES EQUIVALENTES

■ SINÓNIMOS

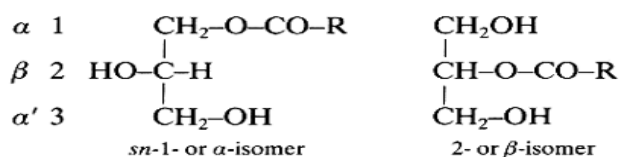
- Acetic Acid Esters of Monoglycerides
- Myvacet 9-45 kosher
- AMG
- Distilled Monoglycerides
- Partially hydrogenated soybean oil

1.6.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS

■ NOMBRE QUÍMICO Y NUMERO DE REGISTRO CAS

- ACETYLATED MONOGLYCERIDES
- [068990-54-5]

■ FORMULA ESTRUCTURAL GENERAL



■ CATEGORÍA FUNCIONAL

- Solvente, plastificante y lubricante

1.6.3 USO FARMACÉUTICO

■ APLICACIONES EN FORMULACIONES FARMACÉUTICAS O TECNOLÓGICAS

- El Myvacet 9-45K es comúnmente usado como un plastificante y lubricante en cosméticos, alimentos y medicamentos. Es principalmente usado para proporcionar características únicas en una variedad de fabricación de cosméticos, alimentos y medicamentos.
- El Myvacet esta hecho para complementarse o reaccionar con la glicerina y la triacetina, como un buen solvente lipofílico.

- El Myvacet además de su uso como plastificante también tiene propiedades para revestimiento en la compresión. Es compatible con polímeros entéricos de celulosa, ésteres de celulosa y polímeros para un recubrimiento de película en solventes orgánicos y acuosos (www.pharmacosm.it/pdf/farmacéutico.pdf, 2005).

Tabla 80. Concentraciones recomendadas según el Handbook of excipients pharmaceuticals para el Myvacet

USO PLASTIFICANTE	CONCENTRACIÓN (%)
Para compresión en tabletas	96

DESCRIPCIÓN

- El Myvacet 9-45K se encuentra como un líquido traslúcido de color amarillo muy claro y oleoso a temperatura ambiente.

ESPECIFICACIONES FARMACOPÉICAS

Tabla 81. Especificaciones farmacopéicas del Myvacet

PRUEBA	USP
Valor de hidroxilo	Máximo 35
Valor de yodo	43-53
Acetilación %	96 min.
Punto de ebullición	40-54°F
Valor de saponificación	420-455
Valor de acidez	Máximo 0.3
Agua	0.25%
Impurezas orgánicas volátiles	+

PROPIEDADES GENERALES

- Punto de ebullición: 40 - 54 °F

CONDICIONES DE ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

- El Myvacet 9-45K debe de ser conservado en contenedores cerrados y lugares secos.

1.7 PROPILPARABENO

NOMBRE NO PATENTADO

- BP: Propil hidroxibenzoato
- JP: Propil parahidroxibenzoato
- PhEur: Propil Metil parahidroxibenzoas
- USP: Propilparabeno



1.7.1 NOMBRES EQUIVALENTES

▪ SINÓNIMOS

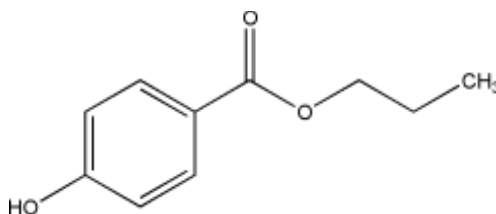
- Chemocide PK
- E216
- 4-hidroxibenzoico ácido propil éster
- Nipasol M
- Propagin
- Propil Chemosept
- Propil p-hidroxibenzoato
- Propil parasept
- Solbrol P
- Tegosept P

1.7.2 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

▪ NOMBRE QUÍMICO Y NUMERO DE REGISTRO CAS

- Propil 4-hidroxibenzoato
- [94-13-3]

▪ FORMULA ESTRUCTURAL



C₁₀ H₁₂ O₃

180.20

▪ CATEGORIA FUNCIONAL

- Conservador y antimicrobiano

1.7.3 USO FARMACÉUTICO

▪ APLICACIONES EN FORMULACIONES FARMACÉUTICAS O TECNOLÓGICAS

- El propilparabeno es normalmente usado como un conservador antimicrobiano en cosméticos, alimentos y formulaciones farmacéuticas.
- El propilparabeno puede ser utilizado solo o combinado con otros parabenos o con otros agentes antimicrobianos.

- En cosméticos el propilparabeno es el segundo conservador mas usado ya que, son efectivos dentro de un rango de pH y tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana.

Tabla 82. Concentraciones recomendadas según el Handbook of excipients pharmaceuticals para el Propilparabeno

USO	CONCENTRACIÓN (%)
Inyecciones IM, IV y SC	0.005-0.2
Soluciones de inhalación	0.015
Inyecciones intradérmicas	0.02-0.26
Soluciones nasales	0.017
Preparaciones oftálmicas	0.005-0.01
Soluciones y suspensiones orales	0.01-0.02
Preparaciones rectales	0.01-0.02
Preparaciones tópicas	0.01-0.6
Preparaciones vaginales	0.02-0.1

DESCRIPCIÓN

- El propilparabeno generalmente se presenta como un polvo cristalino, blanco, sin olor e insípido o sin sabor característico.

ESPECIFICACIONES FARMACOPÉICAS

Tabla 83. Especificaciones farmacopéicas del Propilparabeno

PRUEBA	JP	Ph Eur	USP
Identificación	+	+	+
Características	+	+	-
Rango de fusión	96-99 °C	96-99 °C	95-98 °C
Acidez	-	+	+
Pérdida por secado	≤ 0.5 %	-	≤ 0.5 %
Residuos de ignición	≤ 0.10 %	-	≤ 0.5 %
Cloruros	≤ 0.035 %	-	-
Sulfatos	≤ 0.024 %	-	-
Metales pesados	≤ 20 ppm	-	-
Sustancias relacionadas	±	+	-
Sustancias carbonizables	+	-	-
Impurezas orgánicas volátiles	-	-	+
Ensayo	≥ 99.0 %	99.0-100.5 %	99.0-100.5 %

PROPIEDADES GENERALES

- Actividad antimicrobiana: la actividad antimicrobiana se da dentro un pH de 4-8. La eficacia del conservador disminuye al incrementar el pH.



Tabla 84. Concentraciones Mínimas Inhibitorias (MICs) para el propilparabeno en solución acuosa

MICROORGANISMO	MIC ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Aerobacter aerogenes</i> ATCC 8308	1000
<i>Aspergillus niger</i> ATCC9642	500
<i>Aspergillus Niger</i> ATCC 10254	200
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i> ATCC 6462	125
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	500
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	250
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 23355	1000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	500
<i>Escherichia coli</i> ATCC 9637	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 8308	500
<i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 9480	125
<i>Penicillium digitatum</i> ATCC 10030	63
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	250
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	>1000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	>1000
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	500
<i>Rhizopus nigricans</i> ATCC 6227A	125
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	125
<i>Salmonella typhosa</i> ATCC 6539	500
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	500
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	500
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	500
<i>Trichoderma mentagrophytes</i>	65

- Punto de ebullición: 295 °C
- Densidad : 0.426 g/cm³
- Densidad utilizada: 0.706 g/cm³
- Densidad (verdadera): 1.288 g/cm³
- Constante de disociación: $\text{pK}_a = 8.4$ a 22°C
- Punto de refracción: 140 °C
- Índice de refracción: $n_D^{14} = 1.5049$
- Coeficientes de partición del propilparabeno en aceites vegetales y agua:

Tabla 85. Coeficientes de partición del propilparabeno en aceites vegetales y agua

SOLVENTE	COEFICIENTE DE PARTICIÓN ACEITE : AGUA
Aceite de maíz	58.0
Aceite mineral	0.5
Aceite de cacahuete	51.8
Aceite de soya	65.9

- Solubilidad:

Tabla 86. Solubilidad del Propilparabeno

SOLVENTE	SOLUBILIDAD A 25 °C
Acetona	Fácilmente soluble
Etanol	1 en 1.1
Etanol 50%	1 en 5.6
Eter	Fácilmente soluble
Glicerina	1 en 250
Aceite mineral	1 en 3330
Aceite de cacahuete	1 en 70
Propilen glicol	1 en 3.9
Propilen glicol 50%	1 en 110
Agua	1 en 4350 a 15 °C 1 en 2500 1 en 225 a 80 °C

▪ **CONDICIONES DE ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO**

- El propilparabeno tiene una buena actividad antimicrobiana dentro de un pH de 4–8. La eficacia de ser un buen conservador disminuye cuando incrementa el pH dando lugar a la formación del anión fenolato.
- Las soluciones acuosas de propilparabeno en un rango de pH de 3–6, pueden ser esterilizadas por autoclave a 120°C por 20 minutos, sin tener una descomposición. Estas soluciones acuosas son estables durante un tiempo aprox. De 4 años, en lugares frescos.
- El propilparabeno debe ser conservado en contenedores cerrados y lugares frescos y secos.

1.8 TRIACETINA

▪ **NOMBRE NO PATENTADO**

- USP: Triacetin
- BP: Triacetina
- PhEur: triaceta triacetate

1.8.1 NOMBRES EQUIVALENTES

▪ **SINÓNIMOS**

- Triacetil glicerina
- Triacetato de glicerol
- Triacetato de gliceril

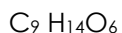
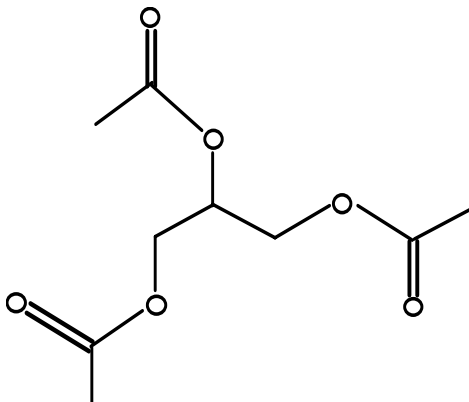


1.8.2 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

- **NOMBRE QUÍMICO Y NUMERO DE REGISTRO CAS**

- 1,2,3-Propanotriol triacetato
- [102-76-1]

- **FORMULA ESTRUCTURAL**



218.21

- **CATEGORÍA FUNCIONAL**

- Agente humectante
- Agente plastificante
- Solvente

1.8.3 USO FARMACÉUTICO

- **APLICACIONES EN FORMULACIONES FARMACÉUTICAS O TECNOLÓGICAS**

- La Triacetina es usada como un plastificante hidrofóbico en soluciones acuosas y como base-solvente polimérico en el recubrimiento de cápsulas, tabletas y granulados; se usa comúnmente en concentraciones de 10-35 % m/m. También, se usa en cosméticos, perfumes y alimentos, como solvente y fijador en formulaciones de perfumes y saborizantes.

- **DESCRIPCIÓN**

- La Triacetina es un líquido incoloro y viscoso, con un olor ligero a grasas.

▪ **ESPECIFICACIONES FARMACOPÉICAS**

Tabla 87. Especificaciones farmacopéicas de la Triacetina

PRUEBA	Ph Eur	USP
Características	+	-
Apariencia	+	-
Identificación	+	+
Gravedad específica	1.159-1.164	1.152-1.158
Índice de refracción	1.429-1.432	1.429-1.430
Acidez	+/-	+
Agua	≤ 0.2 %	≤ 0.2 %
Ensayo	97.0-100.5 %	97.0-100.5 %

▪ **PROPIEDADES GENERALES**

- Temperatura de auto ignición: 432 °C
- Punto de ebullición: 258 °C
- Densidad: 1.16 g/cm³ a 25 °C
- Límites explosivos:
 - 1.05 % a 189 °C bajo el límite
 - 7.73 % a 215 °C sobre el límite
- Punto de refracción: 153 °C
- Punto de congelamiento: 3.2 °C (acerca de -70 °C)
- Punto de fusión: 78 °C
- Índice de refracción: $n_D^{25} = 1.4296$
- Solubilidad:

Tabla 88. Solubilidad de la Triacetina

SOLVENTE	SOLUBILIDAD A 20 °C
Cloroformo	Miscible
Etanol 95%	Miscible
Éter	Miscible
agua	1 en 14

- Densidad de vapor (relativa): 7.52 (aire = 1)
- Presión de vapor: 133Pa (1mmHg) a 100 °C

▪ **CONDICIONES DE ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO**

- La Triacetina debe ser almacenada en contenedores no metálicos y bien cerrados, en un lugar frío y seco, para permanecer estable.



2. PROTOCOLO PARA EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE SANGRE

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN. INVESTIGACIÓN LEM-FARMACIA PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO EN SANGRE DE CABRAS	INVESTIGACIÓN  LEM-FARMACIA
---	---	--

OBJETIVO

- Realizar a muestras biológicas una Digestión ácida en el Horno de Microondas (MARS 5) y la cuantificación por Espectrofotometría de Absorción Atómica, para determinar la concentración de Selenio en sangre de cabras y plasma de conejos.

ALCANCE

- Este procedimiento esta dirigido para las personas implicadas en la cuantificación de Selenio en muestras biológicas de sangre cabras y plasma de conejos, en los laboratorios de analítica y la Nave 3000.

RESPONSABILIDADES

- Es responsabilidad del analista que realiza la cuantificación de Selenio en sangre de cabras seguir con los pasos indicados en la metodología descrita.
- Es responsabilidad de los coordinadores de los laboratorios mencionados verificar que se siga esta metodología.

REALIZÓ

SILVANA MASHENKA ROBLES MOLINA

VERIFICÓ

VERIFICÓ

DRA. ELIZABETH GARCÍA GARCÍA

DRA. RAQUEL LÓPEZ ARELLANO



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.
INVESTIGACIÓN LEM-FARMACIA

PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO
 EN SANGRE DE CABRAS



ESPECIFICACIONES DEL EQUIPO Y MATERIAL DEL LABORATORIO.

EQUIPO	ESPECIFICACIONES
Horno de microondas	Mars 5 CEM corporation Falcon USA
Espectrofotómetro de Absorción Atómica	Spectral AA 800 Varian Australia
Generador de Hidruros	VGA 77 Varian Australia
Balanza analítica	AB204-S METTLER TOLEDO

MATERIAL	ESPECIFICACIONES	MARCA
Vasos de teflón para horno de microondas	HP-500 plus Presión máxima 350psi Temperatura máxima 210 °C	Falcon USA
Membranas para los vasos	HP-500 safety Membranas CEM 140 piezas	Use part #431300 Falcon USA
Sensor de temperatura de fibra óptica	Modelo FOT-L-CEM-1 Rango – 50 °C a 250 °C	CEM
Lámpara de Selenio	HC Lamp-Se Nº parte 56-101270-00 Nº de serie 01k0308	Varian Australia
Celda	Cuarzo	Varian Australia
Micropipeta	Capacidad 100-1000 µL	Finnpipette Labsystems
Micropipeta	Capacidad 5-50 µL	Finnpipette Labsystems
Micropipeta	Capacidad 1-5 mL	Finnpipette Labsystems
Pipeta volumétrica	5 mL	Kimax México
Pipeta volumétrica	2 mL	Kimax México
Pipeta volumétrica	1 mL	Kimax México
Matraz volumétrico	25 mL Tipo A	Kimax México
Matraz volumétrico	50 mL Tipo A	Kimax México
Matraz volumétrico	1000 mL vidrio borosilicato	IVA Argentina
Probeta	1000 mL vidrio borosilicato	IVA Argentina
Probeta	10 mL ± 0.10 mL PE 20 °C	Kimax México



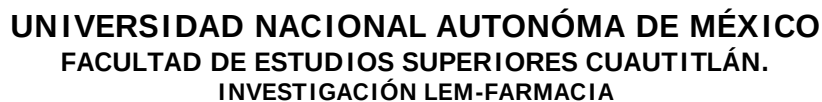
	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN. INVESTIGACIÓN LEM-FARMACIA PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO EN SANGRE DE CABRAS	INVESTIGACIÓN  IBM-FARMACIA
---	--	--

ESPECIFICACIONES DE LOS REACTIVOS, GASES Y MUESTRAS BIOLÓGICAS.

REACTIVOS	ESPECIFICACIONES	MARCA
Ácido nítrico	R. A. 65.4% de pureza	Baker México
Ácido clorhídrico	R. A. 36.5 - 38% de pureza	Baker México
Peróxido de hidrógeno	En solución al 30%	Baker México
Estándar de Selenio	1000 ± 3 µg/mL en 2% de ácido nítrico con 99.999% de pureza	High - Purity
Hidróxido de sodio	Perlas 98.4% de pureza bajo en carbonatos	Baker México
Borohidruro de sodio	98% de pureza	Baker USA
Agua	Desionizada	----

GASES	MARCA
Acetileno	AGA de México
Nitrógeno 99.9% de pureza	AGA de México
Aire Comprimido	-----

MUESTRAS BIOLÓGICAS	ESPECIFICACIONES
Sangre	de cabras
Plasma	de conejos



PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO EN SANGRE DE CARRAS



1. LIMPIEZA

Verificar que el área, material y equipo de trabajo se encuentre limpio y en buen estado.

REALIZO

FECHA

VERIFICO

HORA

2. SEGURIDAD

El personal involucrado en realizar la metodología y manejo de materias primas, equipo, material, gases, reactivos y muestras biológicas debe de portar; Bata blanca (limpia, manga larga, en buen estado y cerrada), cofia, zapatos especiales para el laboratorio, lentes de seguridad, guantes, cubre bocas y no debe portar con algún tipo de joyería y/o maquillaje.

CUMPLE

SI	NO
----	----

--	--

	1980	1985	1990	1995	2000	2005	2010	2015	2020
Population	76.0	80.0	83.0	86.0	89.0	92.0	95.0	98.0	100.0
GDP per capita	1,000	1,200	1,400	1,600	1,800	2,000	2,200	2,400	2,600
Life expectancy at birth	65	68	71	74	77	80	83	86	89
Urban population (%)	30	35	40	45	50	55	60	65	70
Employment rate (%)	55	58	61	64	67	70	73	76	79
Government expenditure as % of GDP	15	18	21	24	27	30	33	36	39
Public debt as % of GDP	10	12	14	16	18	20	22	24	26
Research and development as % of GDP	1.5	1.8	2.1	2.4	2.7	3.0	3.3	3.6	3.9
Healthcare expenditure as % of GDP	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0
Primary education enrollment ratio (%)	85	90	95	98	100	100	100	100	100
Secondary education enrollment ratio (%)	70	75	80	85	90	95	100	100	100
Tertiary education enrollment ratio (%)	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Unemployment rate (%)	10	8	7	6	5	4	3	2	1
Inflation rate (%)	5	4	3	2	1	0	-1	-2	-3
Fiscal deficit as % of GDP	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Current account balance as % of GDP	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9
Trade balance as % of GDP	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10
Foreign direct investment as % of GDP	0.5	0.8	1.1	1.4	1.7	2.0	2.3	2.6	2.9
Official Development Assistance as % of GDP	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
Net international reserves as % of GDP	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Central bank assets as % of GDP	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Monetary base as % of GDP	10	12	14	16	18	20	22	24	26
M2 money stock as % of GDP	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Real interest rate (%)	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Nominal interest rate (%)	12	11	10	9	8	7	6	5	4
Consumer price index (1980=100)	100	110	120	130	140	150	160	170	180
Producer price index (1980=100)	100	115	130	145	160	175	190	205	220
Wholesale price index (1980=100)	100	110	120	130	140	150	160	170	180
Retail price index (1980=100)	100	110	120	130	140	150	160	170	180
Industrial production index (1980=100)	100	110	120	130	140	150	160	170	180
Manufacturing production index (1980=100)	100	110	120	130	140	150	160	170	180
Construction production index (1980=100)	100	110	120	130	140	150	160	170	180
Agriculture production index (1980=100)	100	110	120	130	140	150	160	170	180
Services production index (1980=100)	100	110	120	130	140	150	160	170	180
Export growth rate (%)	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Import growth rate (%)	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Balance of trade growth rate (%)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
FDI inflows growth rate (%)	10	12	14	16	18	20	22	24	26
ODA inflows growth rate (%)	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Reserve accumulation growth rate (%)	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Money growth rate (%)	10	12	14	16	18	20	22	24	26
CPI inflation rate (%)	5	4	3	2	1	0	-1	-2	-3
PPI inflation rate (%)	6	5	4	3	2	1	0	-1	-2
WPI inflation rate (%)	5	4	3	2	1	0	-1	-2	-3
RPI inflation rate (%)	5	4	3	2	1	0	-1	-2	-3
IP growth rate (%)	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MP growth rate (%)	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CP growth rate (%)	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SG growth rate (%)	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ET growth rate (%)	5	6	7	8	9</				

HORA

3. IDENTIFICACIÓN

Identificar el área y equipo de trabajo que se va a utilizar. Siguiéndose las indicaciones para el manejo y seguridad del equipo.

CUMPLE

SI	NO
----	----

--	--

[illegible]

HORA

4. SURTIDO Y MEDICIÓN DE REACTIVOS Y MUESTRAS BIOLÓGICAS

- a) Verificar el orden y limpieza de las áreas de trabajo.
- b) Verificar cada uno de los contenedores que contienen a los gases, reactivos y muestras biológicas, que estén debidamente identificados.
- c) Pesar una muestra biológica a la vez, en una balanza analítica.
- d) Verificar que la pesada de cada una de las muestras biológicas sea correcta.
- e) Etiquetar debidamente cada una de las pesadas.
- f) Verificar el orden y limpieza de las áreas de trabajo una vez concluido el desarrollo del procedimiento descrito a continuación.

CUMPLE

SI	NO
----	----

--	--

--	--	--

[illegible][illegible][illegible]

--	--

|

[illegible]

--	--

[illegible][illegible]

	1980	1985	1990	1995	2000	2005	2010	2015	2020
Population	76.5	80.5	84.5	88.5	92.5	96.5	100.0	103.5	107.0
GDP	10.0	15.0	20.0	25.0	30.0	35.0	40.0	45.0	50.0
Government Expenditure	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
Private Investment	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
Household Consumption	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	11.0	12.0	13.0
Business Investment	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
Government Investment	0.5	0.8	1.2	1.5	1.8	2.2	2.5	2.8	3.2
Total Investment	3.5	5.3	7.2	9.0	10.8	12.7	14.5	16.3	18.2
Savings	2.5	3.5	4.5	5.5	6.5	7.5	8.5	9.5	10.5
Net Exports	-1.0	-0.5	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Fiscal Balance	-0.5	-0.2	0.0	0.2	0.5	0.8	1.0	1.2	1.5
Current Account Balance	-0.5	-0.2	0.0	0.2	0.5	0.8	1.0	1.2	1.5

	1980	1985	1990	1995	2000	2005	2010	2015	2020
Population	76.0	80.0	83.0	86.0	89.0	92.0	95.0	98.0	100.0
GDP per capita	1,000	1,200	1,400	1,600	1,800	2,000	2,200	2,400	2,600
Life expectancy at birth	65	68	71	74	77	80	83	86	89
Urban population (%)	30	35	40	45	50	55	60	65	70
Employment in agriculture (%)	40	35	30	25	20	15	10	5	0
Government expenditure as % of GDP	10	12	14	16	18	20	22	24	26
Foreign aid as % of GDP	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Healthcare expenditure as % of GDP	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Primary school enrollment rate (%)	50	60	70	80	90	95	98	99	100
Secondary school enrollment rate (%)	20	30	40	50	60	70	80	90	95
Tertiary education enrollment rate (%)	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Research and development expenditure as % of GDP	0.5	0.8	1.2	1.6	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
Patent applications per million people	10	20	30	40	50	60	70	80	90
Internet usage percentage	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Air travel per person	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mobile phone ownership per 100 people	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Electricity consumption per capita	100	200	300	400	500	600	700	800	900
Household refrigerator ownership (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Automobile ownership per 100 people	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Unemployment rate (%)	10	12	14	16	18	20	22	24	26
Inflation rate (%)	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Budget deficit as % of GDP	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Public debt as % of GDP	10	12	14	16	18	20	22	24	26
Corruption index	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Happiness index	50	55	60	65	70	75	80	85	90
Gender inequality index	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
Human Development Index	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3

[illegible]

--	--	--

HORA



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.
INVESTIGACIÓN LEM-FARMACIA

PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO
 EN SANGRE DE CARRAS



5. TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

DIGESTIÓN ACIDA EN HORNO DE MICROONDAS.

1. Sacar las muestras biológicas del refrigerador para Descongelarlas y tenerlas a temperatura ambiente.
2. En la balanza analítica, pesar 1g de cada muestra biológica en los vasos de teflón para horno de microondas (14 vasos), con ayuda de una micropipeta de capacidad de 1-5mL y Registrar los pesos.
3. A cada vaso se le adicionan los siguientes volúmenes de reactivos:

Vaso	Muestra		Agua mL	Ácido nítrico mL	Peróxido de H ⁺ mL
	Clave	Peso (g)			
1			10	5	2
2			10	5	2
3			10	5	2
4			10	5	2
5			10	5	2
6			10	5	2
7			10	5	2
8			10	5	2
9			10	5	2
10			10	5	2
11			10	5	2
12			10	5	2
13			10	5	2
14			10	5	2

REALIZO

FECHA

VERIFICO

HORA

4. Se dejan reposar los vasos durante 30 minutos en condiciones ambientales. Inicio:_____. Fin:_____.
5. Se coloca a cada tapón de los vasos una membrana HP-500 safety.
6. Cerrar los vasos con los tapones, colocarlos en las chaquetas y en las bases de plástico para montarlas en el carrusel.
7. Montar las bases que contienen a los vasos en el carrusel, colocando en el lugar del vaso control aquel que contenga la muestra de mayor concentración de Selenio.
8. Colocar al vaso control el sensor de Temperatura.

CUMPLE	
SI	NO

HORA

9. Conectar y encender el Horno de microondas.
10. Indicar menú, revisar métodos, select y elegir Plasma 2-HP500.
11. Abrir la puerta del Horno y colocar el carrusel hasta que embone en la base del horno.
12. Conectar el sensor de Temperatura en la pared superior del horno verificando que la pantalla nos indique una Temperatura.
13. Verificar que gire adecuadamente el carrusel oprimiendo
14. Cerrar la puerta del horno y oprimir el botón Start para someter a digestión las muestras biológicas.

CUMPLE	
SI	NO

HORA



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.
INVESTIGACIÓN LEM-FARMACIA

PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO
 EN SANGRE DE CARRAS

INVESTIGACIÓN



LEM-FARMACIA

Condiciones para la digestión de las muestras biológicas según el método Plasma 2 –HP500							REALIZO	FECHA												
Etapa	Potencia		Tiempo de alcance	Presión psi	Temperatura °C	Tiempo de Mantenimiento	VERIFICO	HORA												
	máxima	%																		
1	1200w	100	5 min	350	120	2 min														
2	1200w	100	5 min	350	170	5 min														
15. Apagar la luz del cuarto donde se encuentra el Horno y esperar a que finalice la digestión de las muestras biológicas. 16. Al término de la digestión, abrir la puerta del horno, desconectar el sensor de temperatura del horno y sacar el carrusel. 17. Apagar el Horno de microondas y desconectarlo.							<table><tr><th colspan="2">CUMPLE</th></tr><tr><td>SI</td><td>NO</td></tr><tr><td></td><td></td></tr></table>	CUMPLE		SI	NO			HORA						
CUMPLE																				
SI	NO																			
18. Quitar el sensor de temperatura del vaso control y desmontar del carrusel las bases de plástico que contienen los vasos. 19. Colocar las bases que contienen los vasos encaquetados en la campana de extracción de gases. 20. Dejarlos reposar durante 1 hora para que se enfríen. 21. Inicio: . Fin: .							<table><tr><th colspan="2">CUMPLE</th></tr><tr><td>SI</td><td>NO</td></tr><tr><td></td><td></td></tr></table>	CUMPLE		SI	NO			HORA						
CUMPLE																				
SI	NO																			
22. Desmontar las chaquetas de las bases de plástico y sacar los vasos de las chaquetas para evitar que estas se mojen. 23. El contenido de los vasos se coloca en matraces volumétricos de 50mL, enjuagándose 3 veces cada vaso y tapón con HCl 7M. 24. Llevar a la marca de aforo con HCl 7M, tapar el matraz y agitar. 25. Las muestras contenidas en los matraces volumétricos transferirlas a recipientes de polietileno previamente etiquetados, para su posterior análisis. 26. Lavar el material utilizado.								HORA												
27. Para realizar el análisis de las muestras se prepara una curva de calibración de 5 a 25 ppb de Selenio. <table><tr><th>SISTEMA</th><th>CONCENTRACIÓN (µg/L)</th></tr><tr><td>1</td><td>5</td></tr><tr><td>2</td><td>10</td></tr><tr><td>3</td><td>15</td></tr><tr><td>4</td><td>20</td></tr><tr><td>5</td><td>25</td></tr></table>							SISTEMA	CONCENTRACIÓN (µg/L)	1	5	2	10	3	15	4	20	5	25		HORA
SISTEMA	CONCENTRACIÓN (µg/L)																			
1	5																			
2	10																			
3	15																			
4	20																			
5	25																			



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.
INVESTIGACIÓN LEM-FARMACIA

PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO
 EN SANGRE DE CABRAS



6. PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

28. Del estándar de Selenio High – Purity, tomar 50 μL con una micropipeta.
29. Vaciar el volumen tomado con la micropipeta en un matraz volumétrico de 25 mL.
30. Con agua desionizada llevar a la marca de volumen de aforo.
31. Etiquetar el matraz aforado como solución stock.

REALIZO

FECHA

VERIFICO

HORA

32. De la solución stock tomar los siguientes volúmenes mostrados en la siguiente tabla con micropipetas y vaciar el contenido en matraces aforados de 50mL.

SISTEMA	CONCENTRACION $\mu\text{g/L}$	VOLUMEN μL
1	5	125
2	10	250
3	15	375
4	20	500
5	25	625

CUMPLE

SI	NO

HORA

33. Con HCl 7M llevar a la marca de volumen de aforo cada matraz volumétrico de 50 mL.
34. Etiquetar cada matraz como sistema 1, 2, 3, 4 y 5.
35. Las muestras contenidas en los matraces volumétricos transferirlas a recipientes de polietileno previamente etiquetados, para sus posteriores lecturas.
36. Lavar el material utilizado.

HORA

7. METODO DE CUANTIFICACIÓN

ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA, SISTEMA DE ATOMIZACION POR GENERADOR DE HIDRUROS.

37. Abrir los tanques de gas de nitrógeno y acetileno (para el caso de acetileno, la presión del tanque no debe ser menor a 100psi), verificando que la compresora esté encendida y que la presión de los gases sea la indicada para el equipo.

GAS	PRESION psi
Aire	50-60
Nitrógeno	40-50
Acetileno	10-15

CUMPLE

SI	NO

HORA

38. Abrir las llaves de gas de aire, acetileno y nitrógeno, que se encuentran en el laboratorio de analítica.

HORA



UNAM
CUAUTITLÁN

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.
INVESTIGACIÓN LEM-FARMACIA

PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO
EN SANGRE DE CARRAS

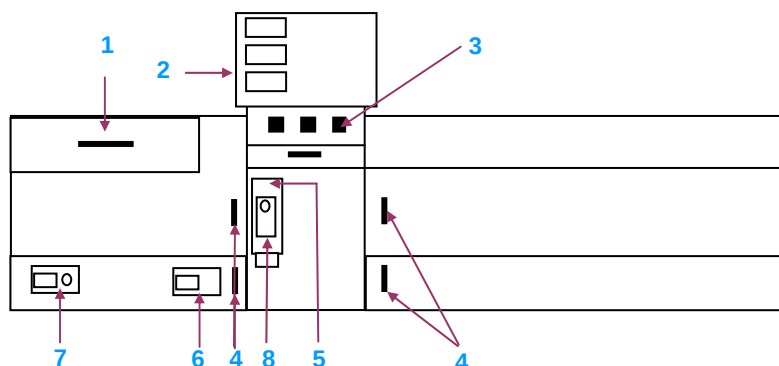
INVESTIGACIÓN



LEM-FARMACIA

39. Colocar la chimenea (2), el generador de hidruros módulo VGA-77, la celda de cuarzo y la ventana de la flama (3).	REALIZO	FECHA						
40. El módulo VGA-77 se monta en las ranuras del instrumento EAA (4).								
41. Conectar la manguera de drenaje de desechos en la parte inferior del módulo VGA-77 y se termina de conectar esta manguera en un frasco de desechos.								
42. Colocar los tubos capilares de A-ácido, R-reductor y M-muestra en el la bomba peristáltica del generador de Hidruros, para controlar el flujo.								
43. Los tubos capilares tienen una marca la cual indica que esa punta se conecta arriba y la otra punta hacia abajo, apoyándose en el soporte de retención.								
44. Ajustar los tubos capilares con el controlador de flujo y oprimiendo la barra de presión.	VERIFICO	HORA						
45. Este módulo trae un cable independiente y se debe conectar al módulo VGA-77 y a la corriente eléctrica.								
46. Alinear la ranura del quemador paralelamente con el haz de luz, utilizando una tarjeta marcada con una línea perpendicular a la ranura del quemador.								
47. En la ventana se muestra el controlador de la altura del quemador, un controlador manual se localiza a un lado de la cámara de atomizado y otro controlador es para mover el quemador adentro/afuera (8).								
48. El quemador cuenta con una palanca con la cual puede girar el mismo.								
49. Conectar la trampa en la celda de cuarzo.	<table><tr><th colspan="2">CUMPLE</th></tr><tr><td>SI</td><td>NO</td></tr><tr><td></td><td></td></tr></table>	CUMPLE		SI	NO			HORA
CUMPLE								
SI		NO						
50. Montar la celda de cuarzo en un soporte metálico especial.								
51. Colocar la ventana de flama (3).								
52. Encender el equipo del botón de encendido y apagado del instrumento (7).								

Espectrofotómetro de Absorción Atómica SpectrAA-800



1. Compartimiento de las lámparas
2. Chimenea
3. Ventana de flama
4. Ranuras para accesorios VGA-77
5. Base para la cámara de atomizado
6. Botones de ignición y apagado de flama
7. Botón de encendido y apagado del instrumento
8. Controles para ajustar el quemador



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.
INVESTIGACIÓN LEM-FARMACIA

PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO
 EN SANGRE DE CABRAS



53. Estabilizar el flujo en el Generador de Hidruros con agua desionizada y registrar el flujo real en la siguiente tabla.

LIQUIDO	FLUJO requerido mL/min	FLUJO real mL/min
M – muestra	7 – 8	
A – ácido	1	
R - reductor	1	

54. Encender el Generador VGA-77.

55. Al medir el flujo, colocar los capilares en las soluciones correspondientes, solo el de la muestra se coloca en agua hasta estabilizar el equipo.

REALIZO

FECHA

VERIFICO

HORA

CUMPLE

SI NO

--	--

56. Encender la computadora.

57. Acceso directo a SpectraAA

- ☐ Clíc en el Ícono Worksheet; para editar el método.
- ☐ Clíc en New; para crear un nuevo método.
 - Nombre del análisis: _____.
 - Nombre del analista: _____.
 - Número de muestras por analizar: _____ ok
- ☐ Ventana 2. Clíc en Develop
 - Add methods
 - Element: Se.
 - Matrix: HCl.
 - Method type: ☒ vapor ok
- ☐ Ventana 2. Clíc en Edit Methods
 - Type/Mode
 - Element: Se.
 - Matrix: HCl.
 - Units: µg / L.
 - Sampling Mode: * manual
 - Flame type: air/acetylene.
 - Air flow: 13.5.
 - Acetylene flow: 2.0.
 - Measurement
 - Measurement Mode: * Integration
 - Calibration Mode: * Concentration
 - Replicates: standard 3 y sample 3.
 - Optical
 - Lamp position: 4.
 - Standards
 - Concentration:
 - 5
 - 10
 - 15
 - 20
 - 25

ok

HORA

CUMPLE

SI NO

--	--



INVESTIGACIÓN



PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO EN SANGRE DE CARRAS

- 157 -



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.
INVESTIGACIÓN LEM-FARMACIA

PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO
 EN SANGRE DE CABRAS

INVESTIGACIÓN



71. Leer la curva de calibración, colocando el capilar de la muestra en los sistemas. 72. Anotar la curva de calibración aceptada por el equipo: <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">SISTEMA</th> <th style="width: 25%;">CONCENTRACIÓN (µg/L)</th> <th style="width: 15%;">RSD %</th> <th style="width: 45%;">ABSORBANCIA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0.00</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td>5.00</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td>10.00</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3</td><td>15.00</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>4</td><td>20.00</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>5</td><td>25.00</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>	SISTEMA	CONCENTRACIÓN (µg/L)	RSD %	ABSORBANCIA	0	0.00			1	5.00			2	10.00			3	15.00			4	20.00			5	25.00			REALIZO VERIFICO	FECHA HORA																																				
SISTEMA	CONCENTRACIÓN (µg/L)	RSD %	ABSORBANCIA																																																															
0	0.00																																																																	
1	5.00																																																																	
2	10.00																																																																	
3	15.00																																																																	
4	20.00																																																																	
5	25.00																																																																	
73. Una vez aceptada la curva de calibración, leer cada una de las muestras y anotar los resultados. <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">MUESTRA</th> <th style="width: 25%;">CONCENTRACIÓN (µg/L)</th> <th style="width: 15%;">RSD %</th> <th style="width: 45%;">ABSORBANCIA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>	MUESTRA	CONCENTRACIÓN (µg/L)	RSD %	ABSORBANCIA																																																														HORA
MUESTRA	CONCENTRACIÓN (µg/L)	RSD %	ABSORBANCIA																																																															
74. Terminadas las lecturas de las muestras de sangre. 75. Apagar la campana. ▪ Complete ▪ ok. 76. Colocar los tres capilares en HCl 5 minutos y posteriormente en agua otros 5 minutos. 77. Apagar y desmontar el equipo. 78. Guardar las lecturas obtenidas, Cerrar el programa SpectrAA y Apagar la computadora. 79. Cerrar las llaves de paso de las líneas de los gases y los tanques. OBSERVACIONES: Notas: Los textos en los cuales hay los siguientes símbolos, se les debe de dar clic con el mouse o llenar los espacios en la computadora: ☐ ☐ ☐	CUMPLE <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 50%;">SI</th> <th style="width: 50%;">NO</th> </tr> <tr><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td></tr> </table>	SI	NO									HORA																																																						
SI	NO																																																																	



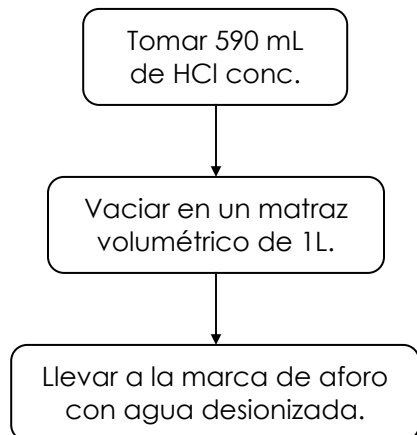
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.
INVESTIGACIÓN LEM-FARMACIA

PROTOCOLO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SELENIO
 EN SANGRE DE CABRAS



PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

1 L : ACIDO CLORHIDRICO 7 MOLAR
(HCl 7 M)



100 mL : BOROHI DRURO DE SODIO AL 1%

