

20/1/83

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS



Evaluación de posibles interferencias inducidas
por Estreptomicina, Gentamicina y Kanamicina
en parámetros plasmáticos clínicos en Bos taurus

T E S I S P R O F E S I O N A L

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

CARLOS EUGENIO ZILLERUELO BAEZA

MEXICO, D. F.

1983



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.

El presente trabajo fué realizado en el Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del M.V.Z. y M.Sc. Luis Ocampo Camberos, a quien reitero mi más sincero agradecimiento.

Al Q.F.B. y M. en C. Carlos Aramburo de la Hoz por la asesoría brindada durante el desarrollo de este trabajo. Igualmente a la Química María Angélica Alucema Molina.

A la M.V.Z. Ana María Auró de Ocampo por la colaboración prestada en el diseño y procesamiento estadístico de los resultados.

Al M.V.Z. Emilio Suberbie por la colaboración proporcionada para el manejo de los animales en el Departamento de Producción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

A la M. en C. María Luisa Alba Lois y a la M. en C. Yolanda Berdeja García por la revisión y lectura de este estudio.

Al Laboratorio Merck - México S.A. agradezco la donación de los reactivos Merckotest usados para la determinación de Colesterol Total y Transaminasa Glutámica Oxalacética.

Al Laboratorio Scheramex S.A. de C.V. agradezco la donación de su producto Garamicina G.U.

CONTENIDO

	Pag.
1.- RESUMEN	1
2.- INTRODUCCION	3
3.- MATERIALES Y METODOS	19
4.- RESULTADOS	29
5.- DISCUSION	49
6.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53
7.- BIBLIOGRAFIA	59

RESUMEN.

En el presente trabajo se evaluó la interferencia inducida por tres antibióticos de la familia de los aminoglucósidos: 1) Kanamicina, 2) Estreptomycin y 3) Gentamicina sobre algunos componentes del suero de bovino, de uso frecuente en pruebas de laboratorio clínico, a saber:

- I) Concentración de colesterol total (C.T.)
- II) Transaminasa glutámica oxalacética sérica (TGOS)
- III) Proteínas plasmáticas (P.P.)

Para lo cual se utilizaron 12 bovinos hembras, adultos de diferentes edades y pesos. (Clase vertebrados, orden mamíferos, familia Bovidae, género Bos, Especie Bos taurus, raza Holstein), divididos en tres grupos de cuatro animales cada grupo.

Al grupo 1 se le administró una dosis única de sulfato de Kanamicina (*) a razón de 10 mg por Kg de peso, por vía intramuscular. Se tomaron muestras de cada animal a las 0, 1, 24 y 48 horas mediante punción en la vena coccígea.

Se encontró que la Kanamicina modificó significativamente ($p < 0.05$) los valores de C.T. en forma positiva, a las 1, 24 y 48 hrs. después de la administración del fármaco.

Los niveles séricos de TGOS mostraron un descenso estadísticamente significativo ($p < 0.05$), una hora después de administrado el agente terapéutico:

Las P.P. descendieron significativamente ($p < 0.05$) a las 48 horas de la aplicación de la droga.

Al grupo 2 se le administró una dosis única del sulfato de Es-

(*) Kantrex. Laboratorios Bristol de México S.A. de C.V.

estreptomocina (**) a razón de 12 mg por Kg de peso por vía intramuscular, tomándose las muestras a las 0, 1, 24 y 48 horas, mediante punción en la vena coccígea.

La estreptomocina modificó significativamente ($p < 0.05$) los valores de C.T. a las 48 horas, en forma negativa.

Los niveles de TGOS no mostraron alteración y las P.P. mostraron un descenso significativo ($p < 0.05$) a las 48 horas después de aplicado el antibiótico.

Al grupo 3 se le administró una dosis única de sulfato de gentamicina (***) a dosis de 4 mg por Kg de peso siguiendo el mismo esquema de los dos grupos anteriores.

Se encontró que la gentamicina modificó significativamente ($p < 0.05$) los valores de colesterol a las 24 y 48 horas en forma negativa. Los valores de transaminasa y de proteínas plasmáticas no mostraron alteración alguna.

Se discute la posibilidad de estos cambios y se insiste sobre la importancia de que tanto médicos como investigadores, tengan presente que habiendo un antecedente terapéutico este influye o puede influir en pruebas de laboratorio clínico de bovinos en especial sobre variables de transaminasa glutámica oxalacética, colesterol total y concentración de proteínas plasmáticas.

(**) Estreptomocina "s", Farmacéutico Lakeside S.A.

(***)Garamicina G.U., Scheramex S.A. de C.V.

INTRODUCCION.

En la actualidad con el creciente número, complejidad y potencia de los agentes terapéuticos disponibles en el mercado y con el aumento y mayor complejidad de las pruebas de laboratorio clínico, se ha detectado cada vez con mayor frecuencia interferencias inducidas por medicamentos sobre los resultados de las pruebas de laboratorio clínico.

En general se pueden dividir en dos categorías las alteraciones inducidas por fármacos en las pruebas clínicas:

1) Efectos derivados de las propiedades farmacológicas o tóxicas de las drogas. Cuando se produce un cambio fisiológico en el organismo éste se detecta por un aumento o disminución de la variable que está siendo medida.

2) Efectos debidos a interferencias con el procedimiento de prueba. Este efecto consiste en que, el agente terapéutico o su metabolito llega a ser un contaminante, el que puede alterar el valor obtenido o interferir con la variable que está siendo medida (29).

Tanto el médico como el investigador experimental se enfrentan a diferentes y delicadas situaciones, tales como: elección del medicamento, efectos del fármaco, (tanto los deseados como los no deseados), diseño y optimización de los regimenes de dosificación, duración de la administración, condición del paciente, entre otros problemas que se han venido planteando en la búsqueda de una terapéutica más integrada y eficaz, fundamentada en un real estudio farmacológico y no solamente en criterios subjetivos y de uso común, que han dado como resultado un manejo indiscriminado de los fármacos existentes, combinaciones múltiples y empleo masivo de los mismos.

Esto es particularmente grave en el caso de los antibióticos, ya que debido a estas prácticas se ha llegado a inducir resistencia bacteriana, agentes invasores que inhiben la acción del medicamento, o bien, lesiones o interferencias en el organismo del paciente afectado por la enfermedad, efectos que muchas veces ni siquiera son valorados.

Actualmente la medicina cuenta con eficientes herramientas de laboratorio para diagnóstico clínico, que nos permiten hacer una evaluación correcta de una enfermedad o del curso de la misma. Sin embargo, hay que considerar que en muchas ocasiones los fármacos modifican los valores de las pruebas de laboratorio clínico gracias a su misma acción farmacológica o tóxica.

Entonces, si hubiera cambios en el valor de determinadas variables de laboratorio clínico por efecto de un medicamento, esto nos llevaría a dos diferentes problemas:

1) El fármaco afecta el procedimiento de prueba empleado, por lo tanto los resultados de dicha prueba, si los hubiera no son confiables.

2) El fármaco produce un cambio fisiológico en el organismo (efecto farmacológico o tóxico), por lo tanto, el valor alterado de dicho parámetro plasmático puede ser un indicador indirecto de problemas ó efectos no deseados, producidos por la droga en el organismo al que se le suministró. Es en este segundo aspecto donde centraremos nuestro interés, utilizando algunas variables de laboratorio clínico, parámetros séricos o plasmáticos de uso común, como indicadores de efectos colaterales o secundarios de un fármaco dado (6, 15, 16)

De estos parámetros se eligieron tres:

- 1) Niveles de colesterol en suero (C.T.)
- 2) Niveles de transaminasa glutámica oxalacética (TGOS)
- 3) Niveles de proteína plasmática (P.P.)

Por otra parte, la interacción de los medicamentos sobre los métodos y pruebas de laboratorio se caracteriza por su complejidad y se hace necesaria la elaboración de un marco de referencia para la comprensión de las modalidades de interferencia de los fármacos, en especial de los más potentes o de amplio uso para conocer o tratar de explicar los resultados extraños o inesperados de las pruebas.

Un medicamento puede por ejemplo, interferir con una prueba de laboratorio y no producir acción alguna sobre otra, o bien a través de la interferencia a nivel bioquímico un fármaco puede cambiar el valor de un resultado de laboratorio e incluso impedir su determinación (25).

Los productos finales o intermedios del metabolismo de los fármacos aumentan la complejidad del problema, por ejemplo, los metabolitos de la penicilina dan un resultado falso positivo en la determinación de la proteína de orina, utilizando métodos turbidimétricos y espectrofotométricos (3, 5, 6).

La morfina induce un aumento en el nivel de catecolaminas. El ácido 3-hidroxindolacético (5-HIAA), producto de degradación de la serotonina, aparece elevado en la orina de pacientes con argentofinomas (tumores carcinoides de tracto intestinal, árbol biliar, apéndice y páncreas), pero también se eleva después de la administración de guayacolato de glicerol y de fenotiacinas (18).

La codeína produce falsos positivos en las amilasas del suero y puede producir elevación de las transaminasas en ciertos pacientes.

Los inhibidores de la monoamino oxidasa (MAO), producen un descenso en los niveles de 5-HIAA.

La colchicina tiene un efecto no predecible antitiroideo y suele disminuir los niveles de colesterol sérico (29).

La imipramina produce disminución en los niveles de colesterol y aumento en los de fosfatasa alcalina y la indometacina provoca aumento en transaminasas y fosfatasa alcalina.

Los anticonceptivos orales se ha reportado que elevan el colesterol en suero, igualmente los niveles de glucosa y fosfatasa alcalina.

La eritromicina puede causar falsos positivos en las transaminasas determinadas por métodos colorimétricos.

El estolato de eritromicina puede provocar incrementos verdaderos en el nivel de transaminasas, derivados de toxicidad hepática. El estolato (sal), puede producir hepatitis (Coolestasis) acompañada de altos niveles de bilirrubina. También se han detectado elevaciones falsas en niveles de catecolaminas urinarias a través de determinaciones espectrofluorométricas (29,38).

En ciertos casos se pueden producir depresiones falsas en los valores séricos de TGOS en la desnutrición; un factor endógeno del metabolismo del desnutrido inhibe el fosfato de piridoxal, que es un coenzima que actúa en las transaminasas como un transportador de grupos amino (5):

A partir del hallazgo de Warburg en 1943, que detectó enzimas del metabolismo celular y tisular en el plasma, se ha profundizado en el análisis de la enzimología como herramienta de diagnóstico clínico (27).

Todas las enzimas pertenecen por su naturaleza química al grupo de las proteínas, por lo mismo poseen las propiedades y características de las proteínas, diferenciándose entre ellas por su actividad -

y capacidad catalítica y como las proteínas, las enzimas fácilmente pueden alterarse, presentándose dos fenómenos principalmente: La inactivación y la desnaturalización (27). Las enzimas son muy sensibles a los efectos de la temperatura y a otros agentes desnaturalizantes, a la inhibición por drogas u otras sustancias extrañas y, en algunos casos, inhibidores naturales, endógenos. Hay que ser por tanto sumamente cuidadoso al estimar un valor de actividad enzimática, de manera que la actividad observada no sea alterada por efectos como los mencionados anteriormente (24, 37).

Las enzimas del plasma se originan básicamente en el hígado y son liberadas al torrente circulatorio, donde llevan a efecto su acción catalítica.

En el sentido amplio puede decirse que el significado diagnóstico de las enzimas del suero depende de varios factores: su localización en un órgano determinado, localización intracelular, vida media en el suero, presencia de isoenzimas o de coenzimas entre otros factores (27, 36, 37).

Se considera que las enzimas celulares o enzimas específicas de algún órgano son eliminadas de su lugar de origen en una proporción distinta a la normal cuando se presenta un daño celular (18, 21).

El tiempo de vida media se considera un parámetro importante en el diagnóstico, siendo para la transaminasa glutámica oxalacética sérica (TGOS), de 50 a 60 horas.

El origen tisular de la TGOS, en orden decreciente, de producción es: corazón, hígado, músculo estriado, riñón y páncreas (15, 21, 22).

El significado clínico de los cambios en los valores de TGOS es atribuible entre otros, a hepatitis aguda, ictericia obstructiva, ci

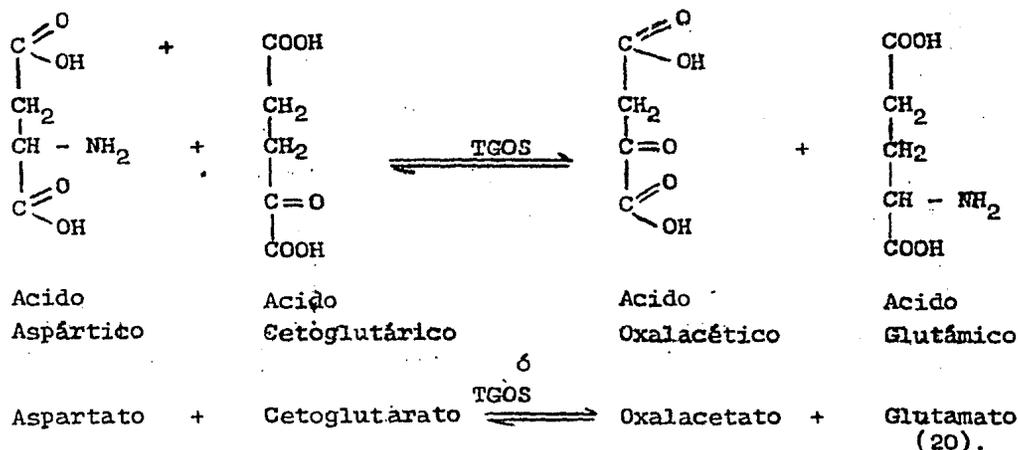
rrosis hepática, neoplasias del hígado, infarto del meocardio, distrofia muscular (4, 18, 23).

Otra transaminasa, la transaminasa glutámica pirúvica (TGPS) -- tiene determinación para enfermedades en humanos, perro y gato, pero no se puede determinar en caballos y bovinos (9, 15).

Desde el punto de vista bioquímico las transaminasa son enzimas que catalizan la transferencia de grupos amino y por eso son denominadas también aminotransferasas y en el caso específico de la transaminasa glutámico-oxalacética se ha propuesto el nombre de aspartato-oxoglutarato aminotransferasa (11).

Estas enzimas catalizan la transferencia de los grupos amino -- (NH₂) de un aminoácido hasta un cetoácido, formándose un nuevo aminoácido y un nuevo cetoácido.

La reacción que cataliza la transaminasa glutámica oxalacética -- es la siguiente.



Otro de los parámetros plasmáticos que pueden verse influenciada-

dos por la administración de los fármacos ya señalados es el colesterol total (C.T.), el cuál se encuentra presente en todas las células y aparentemente tiene algún tipo de función en el mantenimiento de la estructura y permeabilidad celular (18). La molécula de colesterol está estructurada por un núcleo de cuatro anillos, conocido como el núcleo de ciclopentano perhidrofenantreno. Este núcleo se encuentra no solamente en el colesterol y sus derivados inmediatos, si no también en el ácido cólico y en las hormonas producidas por el ovario, testículo y corteza suprarrenal. Se encuentra en esteroles de plantas, glucósidos cardíacos, tales como digitoxina o estrofantina y en una cantidad de sustancias carcinogénicas.

El aparentemente complicado núcleo del colesterol es fácilmente sintetizado (a partir del ácido acético) en los tejidos animales especialmente en el hígado y mucosa intestinal. El núcleo está formado por tres anillos de seis carbonos, que son ciclohexanos saturados (similares al anillo de benceno) y un anillo de pentano. Solamente en hormonas estrogénicas hay tres dobles ligaduras en uno de los anillos comparable a un anillo de benceno. Hay que tener presente que las estructuras en anillo son difíciles de sintetizar por los organismos animales y que en lo particular el simple anillo de benceno no es sintetizado completamente por el animal y cualquier compuesto corporal que contenga el anillo de benceno deberá ser provisto en su mayor parte de manera preformada (18).

Además de sintetizar colesterol, el hígado también lo esterifica transformándolo en ácido cólico, que es excretado por la bilis (1 g/día).

Cuantitativamente, después de los fosfolípidos el colesterol es el lípido más importante del plasma y aproximadamente el 70% del C.T. se encuentra esterificado, más del 50% con ácido linoleido y casi to-

do el resto con ácido oleico; el 30% restante del total se presenta como colesterol libre.

En términos generales, la relación entre los fosfolípidos y colesterol en el plasma es bastante constante salvo en las enfermedades graves del hepatocito, que se acompañan con una disminución notable de los ésteres del colesterol.

Cuando se produce una lesión difusa de las células hepáticas, se produce una disminución rápida y marcada de los ésteres del colesterol.

En sentido amplio, se podría decir que mientras más grave sea la hepatitis o daño hepático, más descienden los ésteres de colesterol (2, 23, 24).

En caso de ictericia obstructiva el colesterol total aumenta rápidamente y cuando la obstrucción es persistente y hay lesión hepato celular, el colesterol esterificado disminuye.

Cuando hay síndrome nefrótico y xantomatosis los niveles de colesterol esterificado y del colesterol total se relaciona con lesión o daño en el hepatocito, de origen tóxico o viral (23, 24).

En resumen, el colesterol se encuentra aumentado en enfermedades como hepatitis, obstrucción posthepática, nefrosis avanzada, xantomatosis primaria, e hipercolesteremia idiopática. También en el embarazo y después de administrar cortisona.

Por otra parte, el colesterol se encuentra disminuido en caso de hipertiroidismo, cirrosis preterminal, caquexia, anemia, en inanición (tardía), en infecciones agudas, con administración de ACTH y con dietas deficientes en contenido de grasas (1, 2, 4, 18).

El último factor a considerar en el presente trabajo es el de las proteínas plasmáticas (F.P.); las cuales representan un grupo heterogéneo de compuestos constituidos por albúmina, globulinas, fibrí

nógeno, glucoproteínas y lipoproteínas; esencialmente toda la albúmina y el fibrinógeno, así como el 50% o más de las globulinas, son formadas por el hígado (7, 18).

Aunque las modificaciones en los valores de proteína plasmática normalmente no son específicos de una enfermedad en particular, ciertas alteraciones en la concentración total de los componentes (la concentración de proteína plasmática), pueden ser de significancia tanto diagnóstica como pronóstica (17). Cualquier observación que muestra anormalidad en la proteína plasmática indica que algún factor patológico o inducido es el responsable de esa condición.

De especial importancia en relación al metabolismo interno de las proteínas, es el estado funcional de hígado y riñones. Alteraciones drásticas en los valores de proteína plasmática son observados frecuentemente en asociación con enfermedades renales o hepáticas (18).

Las sustancias que provocan daño hepático en los animales así como en el hombre, son de diferente tipo y origen. Diferentes agentes químicos o medicamentos utilizados en medicina clínica pueden inducir daño hepático, incluidos anestésicos volátiles, insecticidas y antihelmínticos. Como ejemplo de lo anterior se pueden citar el tetracloruro de carbono con el cual de una a cinco horas después de su acción, hay fragmentación del retículo endoplásmico, depresión de la actividad enzimática ribosomal, inhibición de la síntesis proteínica, acumulación de calcio y grasa en los hepatocitos, así como daño estructural y funcional de las mitocondrias (1, 10).

En la actualidad la deficiencia proteínica es reconocida como una complicación frecuente derivada de factores tales como anorexia, dieta restringida, desnutrición, enfermedades del hígado y de los riñones, enteritis, (enteropatía exudativa), fiebre, necrosis, leuce-

nia, otros cánceres, traumas severos, enfermedad de Cushing.

También se presenta disminución en los niveles proteínicos con la administración de esteroides suprarrenales y en el embarazo e hipertiroidismo (18).

Ahora bien, en el presente estudio se eligieron tres de los antibióticos aminoglucósidos más comúnmente utilizados (Kanamicina, Estreptomycina y Gentamicina) para probar su efecto sobre los valores plasmáticos de Colesterol total, Transaminasa Glutámica Oxalacética sérica y Proteínas Plasmáticas.

A continuación se describen las principales características farmacológicas de cada uno de los agentes antes mencionados.

Los antibióticos de la familia de los aminoglucósidos tienen similar espectro antibacteriano y efectos tóxicos y se consideran miembros de este grupo a la estreptomycina y dihidroestreptomycina junto con gentamicina, neomicina, kanamicina, tobramicina y amikacina (30). Como implica el nombre del grupo, todas estas drogas contienen aminoazúcares en unión glucosídica. Consisten en dos o más aminoazúcares unidos por enlaces glucosídicos a un núcleo de hexosa generalmente central (en el caso de la estreptomycina éste núcleo se encuentra ubicado de manera lateral) (19, 17).

Esta hexosa o aminociclitol, es estreptidina (que se encuentra en la estreptomycina) o 2-desoxiestreptamina (característica de todos los demás aminoglucósidos). Estos compuestos son pues aminociclitoles aminoglucosídicos aunque el término común sea aminoglucósidos.

La familia de los aminoglucósidos se distinguen por los aminoazúcares unidos al aminociclitol (17, 22, 29). Ver Figuras 1, 2, y 3.

Son policationes y su polaridad es en parte responsable de las propiedades farmacocinéticas comunes a todos los miembros de este -

grupo] (13):

Por ejemplo ninguno se absorbe bien después de su administración por vía oral, ninguno penetra fácilmente en el líquido cefalorraquídeo (L.C.R.) y todos se excretan con relativa rapidez por el riñón normal (13, 17).

Los aminoglucósidos se usan casi exclusivamente para tratar infecciones por bacterias gram negativas.

Estos antibióticos actúan interfiriendo en la síntesis de proteínas en microorganismos susceptibles; el mecanismo de acción se conoce mejor para la estreptomina, pero los otros aminoglucósidos - comparten probablemente una acción similar (17).

Es sabido que la información genética necesaria para dicha síntesis reside en el ADN; esta información es transcripta al ARN, que se encuentra actuando en tres formas:

ácido ribonucleico de transferencia (ARnt), ácido ribonucleico mensajero (ARNm) y ácido ribonucleico ribosomal (ARNr). Este último junto con la proteína forma los ribosomas, pequeñas partículas ultra microscópicas donde se realiza la síntesis proteínica. El ARNm transcribe la información del ADN en forma de código que rige el orden de los aminoácidos para estructurar la proteína.

La síntesis proteínica se va realizando en una secuencia de eventos que empieza por una activación de los aminoácidos (aa), seguida de la formación de complejos aminoácidos-ARnt, los que son transportados a los ribosomas.

Posteriormente se efectúa la unión de los aminoácidos para la formación de la proteína, de acuerdo al orden indicado por el ARNm - en la subunidad 30s del ribosoma bacteriano. (los ribosomas 70s de las bacterias se pueden disociar en subunidades 50s y 30s, cada una de las cuales contiene ARN y proteínas).

Precisamente en la subunidad ribosomal 30s (lugar de unión del ARNm), se inserta la estreptomycinina, uniéndose a una proteína receptora especial (P10).

Al adherirse la estreptomycinina a dicha proteína el mensaje del ARNm, es leído mal sobre la "región de reconocimiento" del ribosoma y como resultado se inserta el aminoácido equivocado, en el interior del péptido, produciéndose una proteína mutada.

En síntesis, se puede decir que la estreptomycinina actúa sobre el ribosoma de la bacteria impidiendo la lectura correcta del ARNm, lo que bloquea y trastorna la síntesis proteínica; este evento va produciendo como resultado global la destrucción de la célula bacteriana (20, 22).

Otro aspecto que se puede destacar en esta sección es el referente a la resistencia bacteriana que llegan a presentar las bacterias atacadas con antibióticos de distinto tipo. Puede haber dos tipos de resistencia: Una conferida por el cromosoma y otra conferida por un plásmido. En el caso de los aminoglucósidos la resistencia cromosómica de los organismos contra estos antibióticos depende principalmente de la falta de proteína receptora específica en la subunidad 30s del ribosoma.

La resistencia dependiente del plásmido contra los aminoglucósidos depende de la producción, por parte de la bacteria de enzimas a denilantes, fosforilantes, o acetilantes que inactivan el fármaco (17, 19).

Las bacterias que adquieren resistencia a un aminoglucósido pueden presentar resistencia a los demás.

La seria toxicidad es una limitación importante para el uso de los aminoglucósidos, y el mismo espectro de toxicidad es común a todos los miembros del grupo.

La más notable es la neurotoxicidad, en especial la ototoxicidad, que puede comprometer las funciones auditivas y vestibulares del octavo par craneal. La nefrotoxicidad es también un problema importante (17, 19, 28).

Los aminoglucósidos se excretan casi totalmente por filtración glomerular y se encuentran concentraciones altas únicamente en corteza renal.

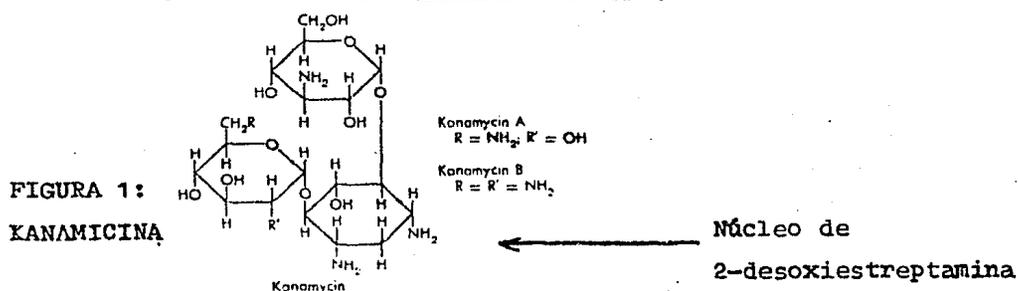
Kanamicina es un antibiótico producido por Streptomyces kanamycetus. Se caracteriza por dos aminoazúcares unidos al núcleo central de 2-desoxiestreptamina y se le encuentra preparada como sulfato de Kanamicina (Kantrex). Se le presenta como inyección en frasco ampula de 3 ml con 1 g.

La dosis parenteral es de 10 a 15 mg por Kg por día.

La absorción del fármaco por vía intramuscular es excelente. La concentración plasmática máxima es de 20 a 35 mcg/ml aproximadamente 1 hora después de inyectar 1 g de kanamicina y descendiendo a 0.5 mcg/ml a las 12 horas.

La vida media del medicamento es de 2.1 + 0.2 horas y la cantidad total del tratamiento no debe exceder los 15 g.

La Kanamicina se usa especialmente cuando existen infecciones por Klebsiella, Enterobacter, Proteus y Escherichia coli (28, 29, 17). (Ver figura 1).



Estreptomycin: Es producida a partir de una cepa de Streptomyces griseus y se estructura en la forma de un núcleo lateral de estreptidina (hexosa) unido a dos aminoazúcares, y su forma comercial es sulfato de estreptomycin (Estreptomycin) y su presentación es en frasco ampola con polvo y ampolleta con diluyente (equivalente a una solución inyectable de 2 ml y 1g de estreptomycin).

La inyección intramuscular profunda intermitente es el método más usado para la administración por vía parenteral (también por vía intravenosa, intratecal o intraperitoneal).

La dosis diaria total es de 15 a 25 mg/Kg de peso.

La vida media de la droga es de 2 horas aproximadamente y se alcanza una concentración plasmática máxima de 25 a 30 mcg/ml después de 60 minutos y con la administración de 1 g por vía intramuscular.

Los usos terapéuticos de la estreptomycin son: en casos de endocarditis bacteriana, brucelosis, tularemia, peste e infecciones diversas, Pasteurella, Klebsiella, Shigella y Micobacterium (19, 28 - 29) (Ver figura 2).

Núcleo de
Estreptidina

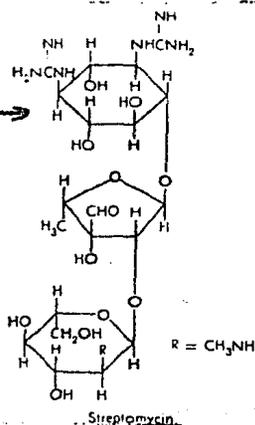


FIGURA 2:
ESTREPTOMICINA

Gentamicina: La gentamicina es un agente importante para el tratamiento de muchas infecciones serias por bacilos gram negativos.

Este antibiótico de amplio espectro es derivado del actinomiceto Micromonospora purpurea; actualmente es muy usado para el tratamiento de infecciones severas debidas a bacterias gram negativas. Su estructura química es muy similar a la de la Kanamicina, teniendo un aminoazúcar diferente (la gerosemina) de las dos que van unidas al núcleo central de 2-desoxiestreptamina. La presentación comercial es en forma de sulfato de gentamicina (garamicina), que se vende como frasco ampula que contiene 80 a 160 mg.

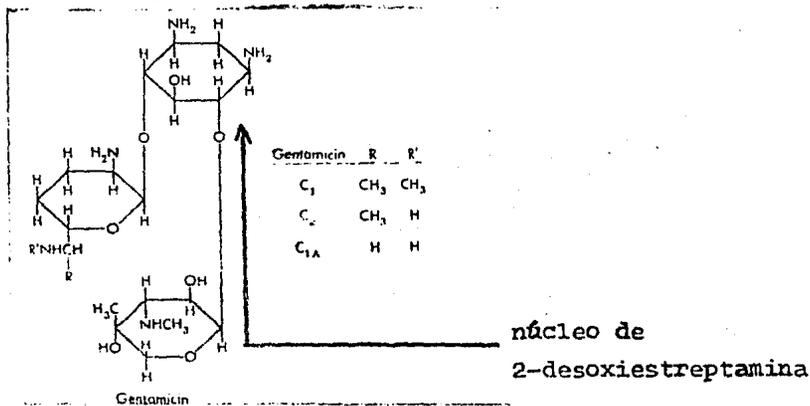
La dosis recomendada por vía intramuscular es de 3 a 5 mg por Kg de peso.

La vida media de gentamicina es de 2 a 3 horas y se han encontrado concentraciones plasmáticas máximas de 4 mcg/ml, después de la administración por vía intramuscular de 1 mg/Kg aproximadamente 1 hora después de la administración.

Estudios efectuados han destacado que las dosis recomendadas, no dan concentraciones reproducibles y hay un grado considerable de variación individual.

Gentamicina es activa contra Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus spp, Pseudomonas aeruginosa, algunas especies de Serratia, Salmonella y Shigella (17, 19, 28, 29). Ver figura 3).

FIGURA 3:
GENTAMICINA



OBJETIVO E HIPOTESIS:

En base a las consideraciones anteriores, el principal objetivo del presente trabajo es el de evaluar si tres de los antibióticos de la familia de los aminoglucósidos (kanamicina, Estreptomycin y Gentamicina), administrados a dosis terapéuticas, pueden modificar los valores plasmáticos de Colesterol total (C.T.), Transaminasa glutámic oxalacética sérica (TGOs), y proteínas plasmáticas (P.P.).

Siendo nuestra hipótesis de trabajo que los tres antibióticos mencionados afectan los niveles plasmáticos de dichos parámetros de laboratorio, de amplio uso en la clínica de bovinos.

MATERIALES Y METODOS.

En el presente trabajo se utilizaron 12 bovinos hembras, de — edad adulta, especie Bos taurus, raza Holstein y de pesos que oscilaron, entre 320 y 480 Kg, con igual manejo, alimentación e higiene. Los animales fueron proporcionados por el Departamento de producción animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Es de destacar que esta especie es ampliamente utilizada para estudios de metabolismo y tuberculosis, entre otros (31).

Los animales se dividieron al azar en tres grupos de cuatro animales cada uno denominados como:

Grupo I: Kanamicina. En este grupo se trabajó administrando a cada animal una sola dosis, a nivel terapéutico de Sulfato de Kanamicina (Kantrex), a razón de 10 mg/Kg de peso corporal, por vía intramuscular.

Grupo II : Estreptomicina. En este grupo se administró a cada animal una dosis única de Sulfato de estreptomicina (Estreptomicina "s"), a razón de 12 mg/Kg de peso corporal, por vía intramuscular.

Grupo III: Gentamicina. En este grupo se administró a cada animal una sola dosis a nivel terapéutico de sulfato de Gentamicina — (Garamicina G.U.) a razón de 4 mg/Kg de peso corporal, por vía intramuscular.

La dosis única aplicada en cada grupo se basó en los regímenes de dosificación comunmente empleados en la práctica médica veterinaria descritos en la introducción de este trabajo.

Creemos conveniente hacer una referencia al tipo de dosis administrada a cada grupo; aunque los tres antibióticos empleados: Kanamicina, Estreptomicina y Gentamicina pertenecen a una misma familia y se supone que actúan al mismo nivel, inhibiendo la síntesis protef-

nica de la célula bacteriana, las dosis en cada uno de los grupos - fueron marcadamente diferentes, en especial respecto de Gentamicina. Estas dosis fueron ajustadas en cada caso de acuerdo a los niveles - reportados para cada antibiótico y son los recomendados en la terapia veterinaria de bovinos y se estiman para cada medicamento de acuerdo al rango terapéutico del fármaco. Dicho rango es el intervalo en el que la droga es capaz de ejercer acción farmacológica efectiva, o dicho de otra forma, se define como el intervalo comprendido entre dos límites: La máxima concentración terapéutica de la droga - (límite superior) y la mínima concentración eficaz (límite inferior). (Ver cuadro 1).

A los 12 animales se les estimó individualmente el peso, midiendo el diámetro torácico a la altura de la axila con una cinta especialmente diseñada para tales efectos y que relaciona dicho diámetro con el peso corporal del animal. La cinta fué proporcionada por el Departamento de producción animal ya mencionado.

En todos los grupos cada animal fue su propio control y las muestras testigo o control (basales) fueron obtenidas en todos los casos antes de la administración del fármaco; a las muestras tomadas en este momento se les denominó tiempo 0 (muestras tomadas a las 0 horas). Posteriormente y también en todos los casos se tomaron muestras 1 hora después de administrado el medicamento, (tiempo 1), 24 horas después de aplicada la droga (tiempo 24) y finalmente 48 horas después de administrado el antibiótico (tiempo 48).

En cada grupo y en todos los casos se siguió el mismo esquema - y los tiempos de muestreo se eligieron en función de la vida media plasmática y de la concentración plasmática máxima que alcanzan los agentes terapéuticos administrados de acuerdo a lo señalado en la introducción del presente estudio.

CUADRO 1

Tipo de dosis y vía de administración para tratamientos en base a Kanamicina, Estreptomicina y Gentamicina.

Tratamiento	Dosis(a nivel terapéutico).	Vía de administración
Kanamicina	10 mg/kg de peso	Intramuscular
Estreptomicina	12 mg/Kg de peso	Intramuscular
Gentamicina	4 mg/Kg de peso	Intramuscular

Todas las muestras se tomaron mediante punción en la vena cocci-
gea practicada con agujas hipodérmicas calibre 16 x 1.5 pulgadas de
largo, colectándose 10 ml de sangre en tubos de vidrio vacutainer no
heparinizados. Posteriormente los tubos se transportaron cuidadosa-
mente hasta el Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facul-
tad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, donde se deja-
ron reposar a temperatura ambiente a la sombra con una inclinación
de 45° hasta lograr la separación del coágulo y del suero. Una vez -
obtenido éste, se procedió a centrifugarlo a razón de 2,500 r.p.m. -
durante 30 minutos.

Todas las muestras se trabajaron antes de 24 horas, después de
su obtención y se determinó la concentración de:

- 1) Colesterol total (C.T.)
- 2) Transaminasa glutámica oxalacética (TGOS) y
- 3) Proteína plasmática (P.P.)

1) Colesterol total (C.T.): Las determinaciones de C.T. se hi-
cieron mediante reactivos Merckotest (Merckotest. marca reg. Merck--
México, S.A.).

Se utilizó un juego de reactivos para unas 60 determinaciones -
espectrofotométricas de la concentración de colesterol total en sue-
ro.

El fundamento de la técnica, según Lieberman Burchard se basa -
en que el colesterol del plasma forma compuestos de color verde par-
duzco intenso con el anhídrido acético y el ácido sulfúrico concen-
trado a temperatura ambiente (26).

Reactivos:

Los reactivos utilizados fueron:

- a) Reactivos del colesterol (anhídrido acético 6.33 M en ac. a-
cético, 99 - 100 %).

b) Solución patrón de colesterol (300 mg/100 ml).

c) Acido sulfúrico (95 - 97%).

Para cada serie de análisis se preparó un blanco y un patrón y se trabajó pipeteando cuidadosamente en tubos de ensayo perfectamente secos:

a) Problema: 0.02 ml suero

1.00 ml reactivo de colesterol

0.20 ml de ácido sulfúrico

b) Patrón : 0.02 ml de la solución patrón de colesterol

1.00 ml de reactivo de colesterol

0.20 ml de ácido sulfúrico

c) Blanco : 0.20 ml de agua bidestilada

1.00 ml de reactivo de colesterol

0.20 ml de ácido sulfúrico.

Se procedió a medir la densidades ópticas (extinción o absorción) de cada tubo (problemas) y del patrón contra el blanco. Las mediciones se hicieron en el espectrofotómetro de luz PM2DL Zeiss del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Las lecturas se hicieron a 578 nm (8,33).

Posteriormente se hizo la conversión de los valores de densidad óptica obtenidos de acuerdo a la siguiente formula:

$$\text{Concentración de colesterol} = \frac{\text{D.O. problema}}{\text{D.O. Patrón}} \times 300 \text{ mg/100 ml}$$

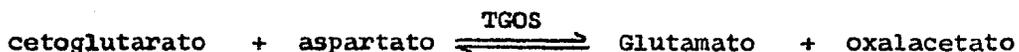
Y de esta manera se calcularon los valores que se presentan en los cuadros 2, 5, 8 y que estan expresados en mg/100 ml (concentración de colesterol).

2) Transaminasa glutámica oxalacética (TGOS):

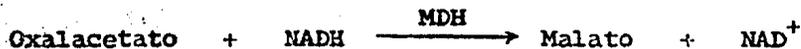
Las determinaciones de TGOS se hicieron mediante equipo Merck - test para determinación espectrofotométrica de TGOS, (en base a pruebas ultravioleta optimizadas según recomendaciones de la sociedad alemana para la química clínica) (12, 32).

En cuanto al procedimiento de la prueba UV optimizada se fundamenta en lo siguiente:

La transaminasa glutámica oxalacética (TGOS) cataliza el transporte de nitrógeno desde el glutamato al oxalacetato según la siguiente reacción:



Para la determinación cuantitativa de TGOS se deja actuar el suero problema en solución amortiguada sobre cetoglutarato y aspartato. El oxalacetato producido se transforma enzimáticamente en malato por medio de malato deshidrogenasa (MDH) en presencia de NADH (nicotinamido-adenin dinucleótido).



La velocidad de consumo de NADH puede medirse fotométricamente por la disminución de la extinción en la región del ultravioleta cercano (entre 365 nm y 334 nm, por ejem.: 340 nm). Sus valores son directamente proporcionales a la actividad de la TGOS (26, 33).

Todas las mediciones se efectuaron en el espectrofotómetro de Luz PM2DL Zeiss del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad anteriormente mencionada. Las lecturas se hicieron a 340 nm (8).

Reactivos:

Los reactivos utilizados fueron:

- 1) Solución de sustrato (disolvente) 1 x 35 ml.

2) Mezcla de enzima (Liofilizada) y amortiguador: 60 frascos.

Concentración en la prueba:

Amortiguador de fosfatos 80 mmol/l (pH = 7.4)

Aspartato 200 mmol/l

Cetoglutarato 12 mmol/l

NADH 0.18 mmol/l

MDH 0.6 U/ml

Los reactivos fueron incubados a 37°C.

Y se procedió a añadir con pipeta al contenido de cada frasco:

2.0 ml de solución de sustrato

0.5 ml de suero

Inmediatamente después de mezclar se pasó a la cubeta fotométrica, midiendo la densidad óptica al cabo de un minuto aproximadamente y se repitieron las lecturas de minuto en minuto durante 3 minutos. Posteriormente, se calculó el promedio de las diferencias de densidad óptica por minuto (D.O./min) y se aplicó la fórmula siguiente:

$$\text{Actividad por volumen} = \text{D.O./min} \times 794 \text{ U/L (factor de conversión)}.$$

De esta manera se obtuvieron los valores correspondientes a TGOS que aparecen en los cuadros 3, 6, 9 expresados en U/L para cada grupo de antibiótico.

3) Proteínas plasmáticas (P.P.) La concentración de P.P. se determinó depositando 0.02 ml de suero en un refractómetro de Goldberg, obteniéndose las lecturas de inmediato en la escala del aparato.

El refractómetro es un instrumento óptico que sirve para efectuar mediciones de índices de refracción. El índice de refracción (n) de una sustancia es igual a la velocidad de la luz (Vm) sobre la sustancia dividido por la velocidad de la luz en un medio estándar (Vs)

$$n = \frac{V_m}{V_s}$$

En el refractómetro de Goldberg las escalas han sido calibradas en base a composición de sólidos totales para el plasma o suero, expresándose en gm/100 ml la escala de medida.

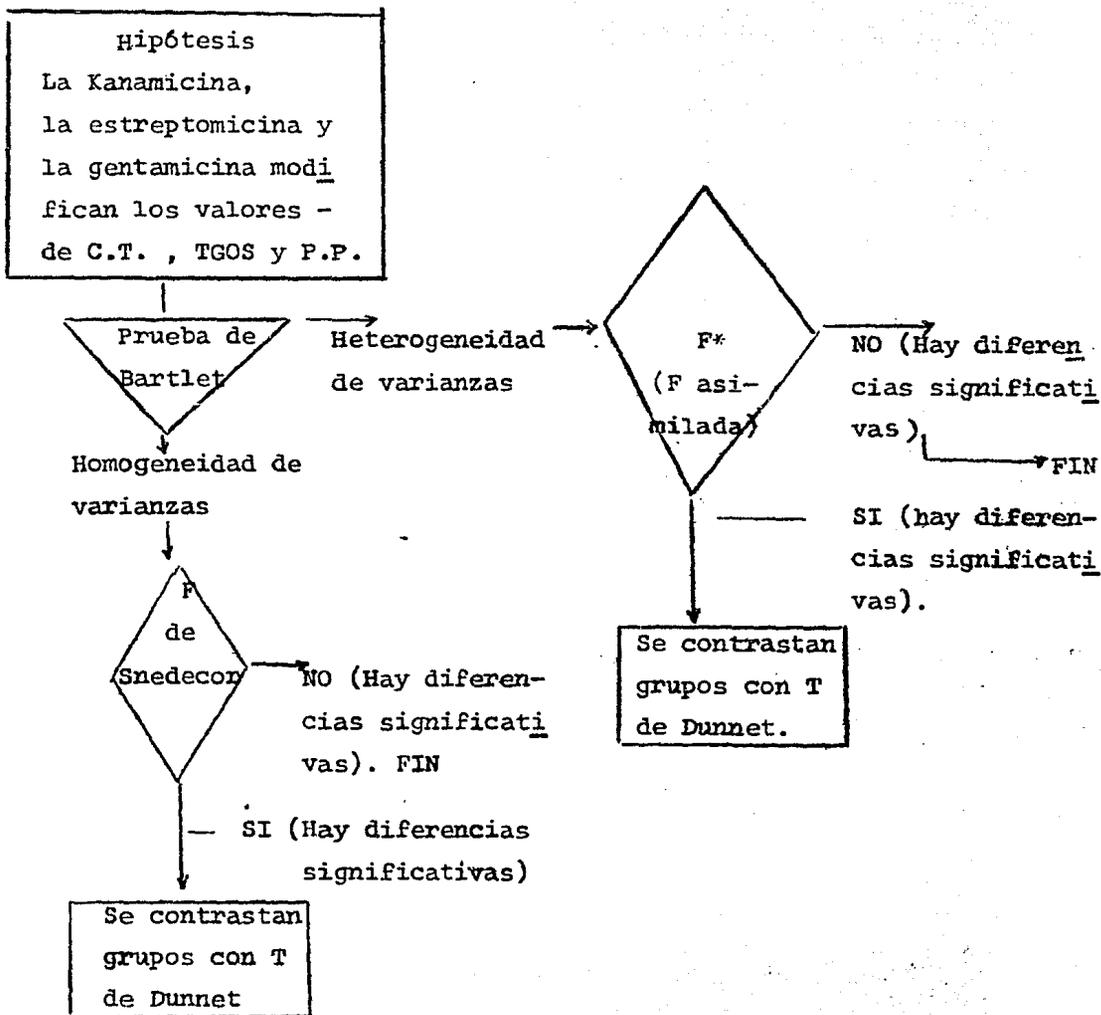
Dado que los sólidos no proteínicos son relativamente constantes (1.6 gm/100 ml en suero normal), ésta medición refractométrica de las proteínas deriva esencialmente de la diferencia entre sólidos totales y sólidos no proteínicos.

La exactitud de éste método es generalmente satisfactoria y las mediciones dependen de la alta correlación entre refracción y sólidos totales (35).

METODO ESTADISTICO:

Los resultados obtenidos se trataron con las pruebas estadísticas de Bartlett, de F de Snedecor (homogeneidad de varianzas), de F* asimilada (heterogeneidad de varianzas), y de T de Dunnett de acuerdo al siguiente diagrama de flujo:

DIAGRAMA DE FLUJO.



Manejo estadístico de los resultados.

1) Primeramente se hizo un análisis de varianza (S^2) de doble entrada con las variables tratamiento y tiempo, utilizando como datos g/100 ml para proteína plasmáticas, mg/100 ml para colesterol y U/L para TGOS con objeto de ver si había diferencias significativas entre los tres antibióticos utilizados y los valores obtenidos de C.T., TGOS y P.P.

2) Se consideró a cada antibiótico por separado, considerando la medición a las 0 horas como grupo control y las mediciones subsecuentes de 1, 24 y 48 horas como tratamientos diferentes de tal forma de poder hacer un análisis de varianza de un solo camino entre cuatro grupos para ver si había diferencias significativas debidas al tiempo en el que se tomó la muestra y así determinan si el antibiótico modificaba significativamente los valores de C.T., TGOS y P.P.

Para ello, primero se hicieron pruebas de Bartlett para ver si había homogeneidad de varianza y se hacía F y si había heterogeneidad de varianza se hacía F^* .

3) Cuando se hicieron las pruebas F y F^* según el caso, si había diferencias significativas a una p 0.05 (límite de confianza de un 5% para la prueba estadística) se procedió a hacer una prueba T de Dunnett para demostrar a que hora se producía la diferencia significativa en los valores de colesterol, TGOS y proteínas plasmáticas y si esta diferencia era positiva (el valor era mayor al del control) o negativo (el valor era menor al del control). En el caso que hubiera diferencias estadísticamente significativas entre el control y los tres tiempos de muestreo después de administrado el fármaco se dió por terminada la prueba y no se contrastó valores con la T de Dunnett. Lo mismo para el caso que no hubiera diferencia alguna.

RESULTADOS.

1.- Kanamicina. Los resultados obtenidos con la administración de Kanamicina a dosis de 10 mg/Kg de peso por vía intramuscular se muestran en los cuadros 2, 3, 4, en donde se observa que la variable C.T. presentó un valor basal promedio de 53.25 mg/100 ml, aumentando a la hora a 99.5 mg/100 ml y a 168. mg/100 ml a las 24 horas. A las 48 horas se mostró un descenso a 117.75 mg/100 ml.

En la TGOS se obtuvo un valor basal promedio de 74.25 U/L con un descenso a 58.5 U/L, una hora después de la administración, para ascender sobre la basal a las 24 horas (84.25 U/L) y continuar su ascenso a las 48 horas (89 U/L).

En cuanto a la variable P.P. ésta tuvo un basal de 12.175 g/100 ml, mostrando un ascenso a 13.4 gr/100 ml a la hora y posteriormente una caída a 11.475 g/100 ml a las 24 horas y a 9.775 gr/100 ml a las 48 horas.

2.- Estreptomycin. En relación a los resultados con Estreptomycin, administrada a una dosis de 12 mg/kg de peso por vía parenteral, estos se muestran en los cuadros 5, 6, 7.

El C.T. tuvo un valor basal promedio de 163.25 mg/100 ml, el que descendió a 153.25 mg/100 ml a la hora, para subir respecto al basal a 170.25 mg/100 ml a las 24 horas y descender nuevamente a 110.25 mg/100 ml a las 48 horas de administrado el fármaco.

Los niveles de TGOS mostraron un basal promedio de 53.00 U/L, que se incrementaron con respecto del mismo 59.75 U/L a la hora.

A las 24 horas el valor observado fué de 54.25 U/L y a las 48 horas fué de 62.25 U/L.

En cuanto a la variable P.P. se observó un valor de 12 g/100 ml a la hora 0, con descensos a 9.85 g/100 ml a la hora y a 9.6 g/100 ml

a las 24 horas.

A las 48 horas también se mostró un descenso a 9.15 g/100 ml.

3.- Gentamicina. Los resultados obtenidos con gentamicina, a una dosis terapéutica de 4 mg/Kg de peso administrada por vía intramuscular se observan en los cuadros No. 8, 9, 10.

Los niveles de C.T. mostraron una basal de 128.50 mg/100 ml con un descenso a la hora a 123.00 mg/100 ml. A las 24 horas se observa también un descenso respecto del basal a 101.75 mg/100 ml y a 100.25 mg/100 ml a las 48 horas.

En cuanto a TGOS se observó un valor basal promedio de 43.50 U/L, en comparación a un valor de 54.25 U/L a la hora de administrar el agente terapéutico y un descenso a 37.75 U/L a las 24 horas y un ascenso posterior a 56.5 U/L a las 48 horas.

Las P.P. presentaron un valor 10.1 g/100 ml a las 0 horas y una disminución a la hora a 8.925 g/100 ml; que fué seguido por un aumento (aunque no respecto del basal) a 9.325 g/100 ml a las 24 horas. A las 48 horas se observó otra disminución a 9.1 g/100 ml.

CUADRO 2

Kanamicina C.T.: Niveles de colesterol total de suero de bovinos a las 0 horas (antes del tratamiento), 1, 24 y 48 horas después de haber sido administrada Kanamicina por vía intramuscular a dosis de 10 mg/Kg.

C.T. (mg/100 ml)

Bovino No.	Tiempo (hrs)			
	0	1	24	48
1	66	111	181	190
2	37	124	267	121
3	30	89	102	72
4	80	74	122	88
X	53.25	99.5	168.0	117.75

CUADRO 3

Kanamicina - TGOS: Valores de Transaminasa glutámica oxalacética sérica de bovinos a las 0 horas (antes del tratamiento) y a las 1, 24 y 48 horas después de haber sido administrada Kanamicina por vía intramuscular a dosis de 10 mg/Kg.

Bovino No.	TGOS (U/L)			
	Tiempo (horas)			
	0	1	24	48
1	85	58	73	96
2	94	66	90	97
3	78	81	79	94
4	40	29	95	79
X	74.25	58.50	84.25	89.00

CUADRO 4

Kanamicina - P.P.: Concentración de proteínas plasmáticas de suero de bovinos a las 0 horas (antes del tratamiento) y a las 1, 24, 48 horas después de haber sido administrada Kanamicina por vía intramuscular a dosis de 10 mg/Kg.

Bovinos No.	P.P. (g/100 ml)			
	Tiempo (horas)			
	0	1	24	48
1	11.8	13.8	10.4	9.3
2	6.9	10.7	9.4	9.7
3	15.0	14.1	15.0	10.3
4	15.0	15.0	11.1	9.8
\bar{X}	12.175	13.400	11.475	9.775

CUADRO 5

Estreptomicina - C.T.: Niveles de colesterol total de suero de bovinos a las 0 horas (antes del tratamiento) y a las 1, 24 y 48 horas después de haber sido administrada Estreptomicina pro vía intramuscular a dosis de 12 mg/Kg.

C.T. (mg/100 ml)

Bovino No.	Tiempo (horas)			
	0 (Control)	1	24	48
5	164	140	102	91
6	162	146	153	143
7	175	154	196	119
8	152	173	230	88
\bar{X}	163.25	153.25	170.25	110.25

CUADRO 6

Estreptomicina - TGOS: Valores de transaminasa glutámica oxalacética sérica de bovinos a las 0 horas (antes del tratamiento) y a las 1, 24 y 48 horas después de haber sido administrada Estreptomicina -- por vía intramuscular a dosis de 12 mg/Kg.

TGOS (U/L)

Bovino No.	Tiempo (horas)			
	0 (Control)	1	24	48
5	92	79	38	62
6	29	57	28	75
7	35	38	52	54
8	56	65	99	58
\bar{x}	53	59.75	54.25	62.25

CUADRO 7

Estreptomicina - P.P.: Concentración de proteínas plasmáticas de suero de bovino a las 0 horas (antes del tratamiento) y a las 1, 24 y 48 horas después de haber sido administrada Estreptomicina por vía intramuscular, a dosis de 12 mg/Kg.

Bovino No.	P.P. (g/100 ml)			
	Tiempo (horas)			
	0	1	24	48
5	15.0	9.2	10.6	11.6
6	10.3	9.9	7.5	8.2
7	13.4	11.7	11.7	9.1
8	9.3	8.6	8.6	7.7
\bar{X}	12.00	9.85	9.60	9.15

CUADRO 8

Gentamicina - C.T.: Niveles de colesterol total de suero de -
bovinos a las: 0 horas (antes del tratamiento) y a las 1, 24 y 48 ho-
ras después de haber sido administrada gentamicina por vía intramus-
cular a dosis de 4 mg/Kg.

Bovino No.	C.T. (mg/100 ml)			
	Tiempo (horas)			
	0	1	24	48
9	116	144	118	99
10	174	159	127	132
11	105	126	97	95
12	119	66	65	75
\bar{X}	128.50	123.00	101.75	100.25

CUADRO 9

Gentamicina - TGOS: Valores de transaminasa glutámica Oxalacética sérica de bovinos a las 0 horas (antes del tratamiento) y a las 1, 24 y 48 horas después de haber sido administrada Gentamicina por vía intramuscular a dosis de 4 mg/Kg.

TGOS (U/L)

Bovino No.	Tiempo (horas)			
	0	1	24	48
9	37	50	30	42
10	44	40	21	54
11	30	44	46	61
12	63	83	54	69
\bar{X}	43.50	54.25	37.75	56.50

CUADRO 10

Gentamicina - P.P.: Concentración de proteínas plasmáticas de suero de bovinos a las 0 horas (antes del tratamiento) y a las 1, 24 y 48 horas después de haber sido administrada Gentamicina por vía in tramuscular a dosis de 4 mg/Kg.

P.P. (g/100 ml)

Bovino No.	Tiempo (horas)			
	0	1	24	48
9	10.8	8.7	9.4	8.9
10	8.1	8.5	8.3	8.3
11	8.0	9.1	9.0	8.6
12	13.5	9.4	10.6	10.6
\bar{X}	10.100	8.925	9.325	9.100

ANALISIS DE VARIANZA

Creemos conveniente hacer un breve comentario acerca de las — pruebas estadísticas comúnmente utilizadas en el análisis de varianza. En dicho análisis se deben satisfacer algunas hipótesis:

a) Los elementos de los diversos sub-grupos se suponen elegidos por muestreo aleatorio de poblaciones de distribución normal.

b) La varianza (S^2) de los sub-grupos ha de ser homogénea — (Ho = $S_1^2 = S_2^2 = \dots S_n^2$).

Esta hipótesis de homogeneidad de varianza del sub-grupo se debe comprobar mediante el contraste de Bartlet, o cualquier otro apropiado (Bartlet o Edwards). La prueba de Bartlet es como se indica, una prueba de contraste o de comparación, al igual que todas las — pruebas empleadas en el presente estudio. El contraste de Bartlet se distribuye como la χ^2 de Pearson y tal como se mencionaba sirve para comprobar homogeneidad de varianzas o heterogeneidad de varianzas.

c) Las muestras que constituyen los sub-grupos han de ser independientes. En estas condiciones, las estimaciones son independientes de la varianza y la razón de las varianzas "entre" y "dentro" de los grupos tiene una distribución F de Snedcor en el caso de homogeneidad de varianzas y de F^* asimilada en el caso de heterogeneidad de varianzas.

Cuando a través de las pruebas F o F^* se ha determinado que existen diferencias significativas de \bar{X} (Ho : $\bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \bar{X}_3 = \dots \bar{X}_n$), el paso siguiente consiste en investigar donde se encuentra la diferencia o diferencias.

Winer resumió en 1962 media docena de métodos diferentes para — conseguirlo (14) ; nosotros utilizaremos aquí la prueba de contras

te T de Dunnet, porque se está tratando con datos en escala de intervalo. Solamente se entrará con algún detalle en la operatoria de los cálculos del primer análisis de varianza para el modelo de doble entrada con las variables de tratamiento y tiempo y exclusivamente a título de ejemplo o ilustrativo por no constituir un objetivo del presente trabajo (en todas las pruebas aplicadas se entregará el resultado neto de las mismas: ¿hay o no hay diferencias significativas?, ¿a qué hora se produce dicha diferencia cuando la hay?, de acuerdo a lo planteado en materiales y métodos (ver método estadístico)).

Al efectuar el procesamiento estadístico de los resultados se trabajó en primer lugar con un análisis de varianza, trabajando todos los datos obtenidos como un modelo de doble entrada (matriz de correlación) para tratar de ver como influía por un lado el tratamiento y por el otro el tiempo sobre las mediciones promedio de C.T. TGOS y P.P.

Para la utilización de este modelo experimental se hizo de la siguiente manera:

a) Se tomaron los promedios aritméticos de los valores de cada uno de los parámetros para 0, 1, 24 y 48 horas, de tal forma de lograr un solo valor en lugar de 4.

b) Los valores obtenidos se tabularon en un modelo de 2 entradas donde la variable $r =$ hileras es tratamiento dado: Kanamicina, Estreptomycin y Gentamicina y la variable X que es igual a columnas es 0 horas (control), 1 hora, 24 horas y 48 horas.

c) Trataremos de comprobar si hay diferencias significativas de los promedios de los parámetros medidos: C.T., TGOS y P.P. y si estas diferencias son debidas al tratamiento o al tiempo en que se muestreó.

Los valores de F se interpretan mediante la tabla de distribución F para el nivel de confiabilidad elegido que fue de 0.05. En dicha tabla se entra con el número de grados de libertad correspondiente al cuadrado medio mayor por la fila superior y con el número de grados de libertad del cuadrado medio menor por la columna de la izquierda.

Si el valor calculado es superior a la F tabular (F obtenida en tablas para el nivel de confianza de 0.05), entonces se rechaza la hipótesis nula, esto es, existe una diferencia significativa de las medias al nivel de 0.05, o se acepta dicha hipótesis. La hipótesis nula consiste en afirmar la igualdad de las medias de los muestreos - ($H_0: \bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \bar{X}_3 = \dots = \bar{X}_n$). Ver apéndice: Cuadro 1, 2, 3.

Un tratamiento similar, con las particularidades de cada caso se hace para cualquiera de las pruebas estadísticas de contraste empleadas (14).

Siguiendo la secuencia indicada en el diagrama de flujo presentado en la sección de materiales y métodos del presente trabajo, se hizo el análisis de varianza planteado para cada tratamiento por separado para ver si había diferencias significativas entre el grupo basal (hora 0) y las mediciones consecutivas efectuadas a las 1, 24 y 48 horas para Kanamicina, Estreptomycin y Gentamicina en los respectivos valores de C.T., TGOS y P.P. (Estas diferencias son realmente las que interesan para efectos de este trabajo).

1) Kanamicina.

1.1) Colesterol total (C.T.): En el cuadro 2 se presentan los valores de C.T., obtenidos antes y después de administrar Kanamicina a razón de 10 mg/Kg de peso corporal. Al efectuar el análisis de varianza indicado en el diagrama se aplicó primero la prueba de Bartlett ($p < 0.05$), llegándose a la conclusión que hay heterogeneidad de varianzas, con lo que se procedió a efectuar la prueba de F^* asimilada, con su límite de confiabilidad de 0.05. El resultado de la prueba nos dió que sí había diferencias significativas, de manera positiva, para los valores de C.T. a la hora, 24 y 48 horas debido al tratamiento (seguir el esquema de flujo). Al haber diferencias estadísticamente significativas en los tres tiempos de muestreo no fué necesario contrastar los valores con la prueba de T de Dunnett - que se aplicó para ver a qué hora (s) se produce dicha diferencia.

1.2) TGOS: Los resultados obtenidos sobre TGOS con la administración de Kanamicina a razón de 10 mg/kg de peso corporal se muestran en el cuadro No 3.

De acuerdo al diagrama de flujo indicado se efectuó primero la prueba de Bartlett ($p < 0.05$), encontrándose que hay heterogeneidad de varianzas.

Se hizo, entonces, la prueba de F^* asimilada ($p < 0.05$); habiendo

diferencias significativas se contrastaron los valores con la prueba T Dunnet para ver a qué horas se produjeron dichas diferencias - (estadísticamente significativas con un límite de confiabilidad del 0.05). La prueba de Dunnet mostró que las diferencias se deben al contraste entre los valores basales y aquellos obtenidos a la hora después de administrado el fármaco, por lo que se concluye que el -- tratamiento con dosis de 10 mg/Kg de peso de Kanamicina afecta a los niveles plasmáticos de TGOS a la hora después de su administración - por vía intramuscular con un límite de confianza de 0.05.

1.3) P.P.: En el cuadro No. 4 se presentan los valores de concentración de proteínas plasmáticas antes y después de administrar - Kanamicina. Al hacer la prueba de Bartlett ($p < 0.05$) se encontró - que hay heterogeneidad de varianzas y siguiendo los pasos del esquema planteado se pasó a efectuar el análisis de varianza de un sólo camino con la prueba F* asimilada ($p < 0.05$); habiendo diferencias - significativas se contrastó con la prueba T de Dunnet encontrándose que hay diferencias significativas solamente a las 48 horas después de la administración del fármaco a razón de 10 mg/Kg de peso por vía intramuscular ($p < 0.05$).

2) Estreptomycin.

2.1) C.T.: los resultados obtenidos en colesterol total con la administración de estreptomycin a razón de 12 mg/Kg de peso se muestran en el cuadro No. 5. Se procedió a aplicar las pruebas estadísticas señaladas en la sección de materiales y método y siguiendo el orden esquematizado en el diagrama de flujo correspondiente. La prueba de Bartlett ($p < 0.05$) indicó que hay heterogeneidad de varianzas.

Siguiendo el diagrama de flujo se hizo la prueba de F^* asimilada; habiendo diferencias significativas se contrastó con la Prueba T de Dunnett, la cual mostró que las diferencias se deben únicamente al contraste entre los valores de la hora 0 y las 48 horas y en forma negativa (con un límite de confianza igual a 0.05), por lo que se concluye que la estreptomycin afecta los valores de C.T. a las 48 horas después de administrada.

2.2) TGOS: Los valores de la variable TGOS, antes y después de administrar Estreptomycin con una dosis de 12 mg/Kg de peso se presentan en el cuadro No. 6.

Siguiendo el diagrama de flujo se aplicó en primer lugar la prueba de Bartlett ($p < 0.05$), lo que nos indicó que hay heterogeneidad de varianzas, motivo por el cual y siguiendo el esquema de análisis se hizo la prueba de F^* asimilada, que nos mostró que no hay diferencias estadísticamente significativas a ninguna hora después de aplicado el fármaco, es decir que esta variable no fue modificada a ninguno de los tiempos de muestreo por efecto del antibiótico (con un límite de confianza = 0.05).

2.3) P.P.: Respecto a los niveles de P.P., antes y después de administrar la estreptomycin a razón de 12 mg/kg de peso se mues—

tran en el cuadro No. 7.

De acuerdo al esquema de análisis de varianza se procedió a efectuar la prueba de Bartlet ($p < 0.05$) la cual nos mostró que hay homogeneidad de varianzas. Por lo tanto y siguiendo el orden planteado en el diagrama de flujo, se pasó a efectuar la prueba F de Snedecor, que nos mostró que hay diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), de manera negativa, a la hora, 24 y 48 horas después de aplicado el fármaco. Esto significa que la estreptomycin modifica significativamente los valores de proteína plasmática a la hora, 24 y 48 horas, en forma negativa en los tres casos (con un límite de confianza = 0.05).

Al encontrarse diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en los tres tiempos de muestreo no fue necesario contrastar los valores con la prueba T de Dunnet.

3) Gentamicina.

3.1) C.T.: Los resultados obtenidos sobre colesterol total con administración de Gentamicina en dosis de 4 mg/Kg de peso (Cuadro No. 8), fueron tratados siguiendo el mismo esquema de análisis de varianza.

En primer lugar fueron sometidos a la prueba de Bartlett (p < 0.05) la que nos indicó que hay homogeneidad de varianza. Por este motivo se procedió a efectuar la prueba de F de Snedecor, y habiendo diferencias estadísticamente significativas se pasó a efectuar la prueba T de Dunnet de acuerdo al esquema de análisis de varianza planteado. La prueba T de Dunnet indicó que la diferencia es significativa a las 24 y 48 horas en forma negativa con un nivel de confianza de 0.05, lo que quiere decir que la administración de Gentamicina a razón de 4mg/Kg de peso afecta los niveles de colesterol total en forma negativa y esta modificación es estadísticamente significativa (p < 0.05).

3.2) TGOS: En relación a la variable TGOS (cuadro No. 9) al hacer el análisis de varianza correspondiente, sobre los valores encontrados antes y después de la administración de Gentamicina a razón de 4 mg/Kg de peso, se aplicó en primer lugar la prueba de Bartlett (p < 0.05), encontrándose que hay heterogeneidad de varianza.

Por este motivo se pasó a efectuar la prueba de F* asimilada, la que nos indicó que no hay diferencias significativas a ninguna hora, con un nivel de confianza = 0.05. Por lo tanto que se puede concluir que la Gentamicina administrada a la dosis anteriormente dicha no influyó significativamente sobre la variable TGOS a ninguna hora, después de su aplicación.

No se prosiguió con la prueba T Dunnet, después de la prueba -

F* asimilada ya que esta mostró que no hay diferencias significativas a ninguno de los tres tiempos de muestreo.

3.3) P.P.: En cuanto a las proteínas plasmáticas se siguió el mismo esquema de análisis aplicando primero la prueba de Bartlett -- ($p < 0.05$), la que nos indicó que hay heterogeneidad de varianzas. - Por este motivo se paso a efectuar la prueba correspondiente de F* - asimilada, la cual nos mostró que no hay diferencias estadísticamente significativas en un límite de confiabilidad igual a 0.05 a ninguna de las horas en que se tomaron las muestras (1, 24 y 48 horas). - Por lo que se concluyó que la administración de Gentamicina a una dosis única de 4 mg/Kg de peso corporal no afecta los valores plasmáticos de proteína (no hay diferencias significativas debidas al tratamiento en ninguno de los tiempos en que se muestreó).

DISCUSION

Los resultados obtenidos por la acción de la Kanamicina muestran que los niveles de C.T. en suero bovino se elevaron a la hora, 24 y 48 horas después de aplicado el fármaco sin regresar a su nivel basal lo cual no concuerda con lo reportado por algunos autores como Meyer y Jawetz, que indican que el sulfato de Kanamicina es capaz de hacer descender transitoriamente los niveles de colesterol (29). Sin embargo, cabe señalar que dichos autores no especifican las dosis empleadas, ni la frecuencia y duración en la administración del agente terapéutico, además de que los informes se refieren a humanos y no a bovinos, pudiendo estribar en esto la diferencia antes mencionada o en el método de determinación empleado. De cualquier forma, tanto si hay ascensos o descensos de nivel, estamos ante un efecto farmacológico o potencialmente tóxico de la droga y llama la atención el hecho de que se ha considerado que el efecto de la Kanamicina en la función hepática sea probablemente mínimo, ya que normalmente muy pequeñas cantidades de Kanamicina son excretadas por la bilis y no se conoce intoxicación de Kanamicina en hígado de acuerdo a Finegold (6). Animales tratados con 400 mg/Kg de peso de Kanamicina durante varios días no mostraron evidencia de daño en células hepáticas, según Koide et al (17, 29 y 38).

En general la Kanamicina, al igual que el resto de los aminoglucósidos son considerados agentes nefrotóxicos, neurotóxicos y ototóxicos particularmente con la administración de grandes dosis totales de la droga y en tratamiento prolongado.

En relación a los niveles séricos de TGOS experimentaron un descenso estadísticamente significativo una hora después de aplicado el fármaco. Este patrón no pudo ser comparado con otros trabajos de in

terferencia, dada la falta de datos y se puede considerar como uno de los primeros informes al respecto. Hay que tener presente que las enzimas celulares del suero entre las que se encuentra la TGOS, pueden presentar descensos por diversos factores, tales como inactivación de las enzimas por desnaturalización, proteólisis, efecto de inhibidores de la enzima, o bien ser removidas por acción del riñón, hígado y células reticuloendoteliales (9,18).

En cuanto a las P.P., también presentaron un descenso de nivel a las 48 horas después de administrado el sulfato de Kanamicina. Las diferencias obtenidas fueron estadísticamente significativas (p 0.05) para esa hora. Se considera que hay una pérdida continua de proteínas en enfermedades del riñón y un decremento en la formación de proteínas en enfermedades hepáticas. En este caso solo se observó un cambio negativo de nivel en un tiempo (48 horas) de los tres considerados en el experimento (1, 24 y 48 horas) en un posible efecto farmacológico o potencialmente tóxico sobre el riñón o hígado.

En el caso del sulfato de Estreptomicina los niveles de C.T. presentaron un descenso significativo solamente a las 48 horas después de la administración del agente (p 0.05).

Al no haber informes de la acción del sulfato de estreptomicina sobre esta variable no se pudo establecer comparación. Además, hay que tener presente que durante todo el desarrollo del experimento en todos los casos, se trabajó con una sola dosis y a nivel terapéutico. Hay que considerar que dosis muy elevadas y de administración múltiple pueden provocar lesiones degenerativas hepáticas y renales o caídas de la presión arterial, coma y muerte por parálisis respiratoria (22).

Al procesarse estadísticamente los resultados obtenidos sobre -

los valores de TGO sérico con la aplicación de Estreptomina se observó que no hubo variaciones significativas a ninguna hora ($p < 0.05$).

Los niveles de concentración de P.P. descendieron a partir de la primera hora después de administrado el antibiótico, hasta llegar a las 48 horas cuya diferencia fué estimada estadísticamente significativa para ese tiempo ($p < 0.05$) lo cual nos da además una relación de causa-efecto de estreptomina como de Kanamicina sobre la variable P.P. después de 48 horas de administrado el agente en una sola dosis terapéutica (relación entre agentes terapéuticos).

Los resultados obtenidos sobre niveles séricos de C.T. con la aplicación de gentamicina mostraron un descenso estadísticamente significativo a las 24 y 48 horas después de iniciado el tratamiento. Aunque se carece de otros trabajos publicados al respecto se pudo establecer comparación con los resultados similares obtenidos con la administración de estreptomina después de 48 horas en este mismo trabajo y se puede pensar en una probable acción tóxica o farmacológica.

En relación a los valores de TGOS de bovino no se detectó variación significativa en ningún tiempo ($p < 0.05$) por efecto de la gentamicina. Nuestro resultado difiere de los reportado por Rosenstein y Martín del Campo (34), quienes indican una elevación de los niveles de transaminasas (TGOS, TGPS), entre otras anormalidades de laboratorio posiblemente relacionadas con la gentamicina, aún cuando no indican con que régimen de dosificación se trabajó, o si se aplicó dosis única o múltiple. Estos autores señalaron además el hecho de que las elevaciones o descensos moderados de TGOS son de difícil evaluación.

Nuevamente estas diferencias pueden deberse al hecho de que el estudio fue realizado en humanos y no en bovinos o bien al método de

determinación, que no es señalado por dichos autores, lo cual limita las comparaciones.

En trabajos previos efectuados por Butrón y Col. en el departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia con antihelmínticos administrados a bovinos se obtuvieron resultados contradictorios de TGOS en comparación con otros autores como Young, Meyers, Martin y Bevan (6,38).

Los valores de P.P. mostraron un descenso a partir de la primera hora y hasta las 48 horas, considerándose no significativos en ninguno de los casos.

En virtud de los resultados obtenidos y debido a la poca o nula literatura que existe sobre el tema, es factible suponer que nuestros resultados representan uno de los primeros esfuerzos por identificar los cambios inducidos por estos antibióticos en la práctica veterinaria.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1) La Kanamicina provocó aumentos estadísticamente significativos sobre los niveles de colesterol total a las 1, 24 y 48 horas.

2) La Kanamicina modificó significativamente los valores de TGOS a la hora de administrada, en forma negativa.

3) La Kanamicina alteró significativamente los valores de proteínas plasmáticas a las 48 horas después de administrada, en forma negativa.

4) La Estreptomicina modificó significativamente los niveles de colesterol total a las 48 horas, de manera negativa.

5) La Estreptomicina no produjo efecto alguno sobre los niveles de TGOS, a ninguna hora.

6) La Estreptomicina modificó significativamente, los valores de proteínas plasmáticas a las 48 horas después de aplicada, en forma negativa.

7) La Gentamicina modificó significativamente los niveles de colesterol total a las 24 y 48 horas después de administrada, en forma negativa.

8) La Gentamicina no modificó significativamente los valores de TGOS a ninguna hora.

9) La Gentamicina no modificó significativamente los valores de proteínas plasmáticas a ninguna hora.

RECOMENDACIONES.

La evidencia aquí acumulada parece indicar la inconveniencia de extrapolar los resultados obtenidos en humanos a los animales de producción, tal es el caso de los bovinos y por añadidura creemos - pertinente insistir en el hecho de que los animales enfermos tratados con aminoglucósidos deberían estar bajo observación clínica estrecha debido a la posible toxicidad asociada con su uso y además basándonos en los resultados obtenidos en este trabajo, que muestran como una sola dosis a nivel terapéutico de los tres antibióticos estudiados es capaz de provocar alteraciones en los niveles plasmáticos de C.T., TGOS y P.P., podemos volver a destacar el error a que se ven sujetas las pruebas clínicas en un animal previamente tratado con fármacos como los utilizados en este estudio.

APENDICE.

CUADRO No. 1.

Prueba de F para probar la hipótesis alterna de que no existen diferencias significativas en los promedios de los valores de C.T., "entre" los tratamientos a base de Kanamicina, Estreptomycin y Gentamicina ($s_1^2 = s_2^2 = s_3^2$).

F.V.	SSQ	G.L.	C.M.	Prueba F
Hileras: r (debido al tratamiento)	-137,612.99	r-1 = 2	-68,806.49	$\frac{CM_r}{CMe} = 1.537$
Columnas : k (debido al tiempo)	-135,589.40	k-1 = 3	-45,196.63	$\frac{CM_k}{CMe} = 1.522$
- e - (Debido al error)	286,587.80	(r-1) (k-1) = 6	47,764.63	
Total	13,385.42	(r.k)-1=11	125,947.27	

F.V. = Fuente de la variación (origen de la variación).

SSQ = Suma de Cuadrados.

G.L. = Grados de Libertad.

CM = Cuadrados medios = $\frac{SSQ}{GL}$

CM_r = Cuadrados medios de r

CM_k = Cuadrados medios de k

CMe = Cuadrados medios del error

Al aplicar la prueba F y comparar el valor calculado que la F - tabular se observó que no hay diferencias en los promedios de los valores de C.T. "entre" el uso de Kanamicina, Estreptomicina y Genta micina y que tampoco el tiempo en que se tomaron las muestras influ- yó significativamente en los valores, con un nivel de confiabilidad de 0.05 ($p < 0.05$).

CUADRO No. 2.

Prueba de F para probar la hipótesis alterna de que no existen diferencias significativas en los promedios de los valores de TGOS "entre" los tratamientos a base de Kanamicina, Estreptomicina y Gentamicina.

$$(s_1^2 = s_2^2 = s_3^2)$$

F.V.	SSQ	GL	C.M.	Prueba F
Hileras: -r- (debido al - tratamiento)	7,768.11	r-1=2	3,384.05	$\frac{CMr}{CMe} = 0.969$
Columnas: -K (Debido al tiempo)	11,121.97	K-1=3	3,707.32	$\frac{CMk}{CMe} = 0.925$
-e- (Debido al error)	24,041.24	(r-1)(k-1)=6	4,006.87	
Total	42,931.32	(r K)-1=11	3,902.84	

Al aplicar la prueba de F de Snedecor y comparar los valores calculados con la F tabular se observó que no hay diferencias significativas en los promedios de los valores de TGOS "entre" el uso de Kanamicina, Estreptomicina y Gentamicina y que tampoco el tiempo en que se tomaron las muestras influyó significativamente en los valores, - con un nivel de confianza de 0.05 ($p < 0.05$).

BIBLIOGRAFIA

- 1) Adam, S.E.: "A review of hepatotoxicity in animals". Vet. Bulletin, 42; 11, : 683 - 689 (1972).
- 2) Ahrens, E.H.: "The economy of cholesterol in man: "Drug effects". Adv. Exp. Med. Biol 26 : 135, 137 - 145, 152 - 154 (1972).
- 3) Alabanese, J.; Bond, Th.: "Drug interactions". Mc. Graw Hill - Book N Y. U.S.A. pp. 27 - 36 (1978).
- 4) Benjamin M.M.: "Outline of veterinary clinical pathology". 4 th ed., Iowa Sate University Press. pp. 131 - 134 Iowa U.S.A. (1976)
- 5) Berkow R., Talbott Y.: "The merck manual of diagnosis and therapeutics"; 6 Th ed. Merck, Sharp and Dohme Research Laboratories - pp. 917, 2208, 2192 - 2225 N. Yersey U.S.A. (1978).
- 6) Butrón, A., Ocampo, L., Auró de O., A., Sumano, H. BASurto, H.: - "Evaluación de la interferencia provocada por el levamisol, el Tia vendazol y el Rafoxanide en los resultados de pruebas de laboratorio clínico en bovinos". Veterinaria Mex., 12: 223 - 228 (1981).
- 7) Coles, E.H.: "Veterinary clinical pathology" 1 Th. ed W.B. Saunders Co. pp. 124 - 129. Philadelphia U.S.A. (1967).
- 8) Connors, K: "Curso de análisis farmacéutico: ensayo del medicamento". Ed. Reverté. pp. 195 - 270. Barcelona. España (1980).
- 9) Cornelius, C.E.; Bishop H.J.: "Serum and tissue transaminase activities in domestic animals". Conell Vet. 49 : 6 116 - 125 - (1959).
- 10) Davidsohn I.: "Clinical diagnosis" 14 th. ed. W.B. Saunders Co - pp. 737 - 740 Philadelphia U.S.A. (1969).
- 11) Decker L.A.: "Worthington enzyme manual" Worthington Biochemical Corporation pp. 85 - 89 N. Yersey U.S.A. (1977).
- 12) Deustche gesellschaft fur klinische chemie, Z. Klin. Chem u Klin Biochem. 10, 182 (1972).

- 13) Di Palma J.R.: "Farmacología básica y terapéutica médica" 1a. ed. Ed. La prensa Médica pp. 507 - 531. México.
- 14) Downie N., Heat, R.: "Métodos estadísticos aplicados" Harper y Row Pub. pp 196 - 199, 232 - 244. México.
- 15) Duncan R, Prasse K.,: "Veterinary laboratory medicine clinical pathology" 3th ed. The Iowa Atate University Press. pp. 81 - 84 y 96 - 97. Iowa U.S.A. (1979).
- 16) El King M.P., Kabat H.P.: "Drug induced modification of laboratorie test values". Amer. J. Hosp. Pharm. 25; 485 - 510 (1978).
- 17) Goodman A., Gilman, L: "Las bases farmacológicas de la terapéutica" 6a. ed. Ed. Med. Panamericana pp. 1140 - 1157, 1627 - - 1659 Buenos Aires Argentina (1981).
- 18) Hoffman, W.: "The Biochemistry of clinical medicine" 3th ed. - Year Book Med. Pub. Inc. pp. 17 - 23, 37 - 48, 54 - 56, 111 - 127 134, 142 - 143. Chicago U.S.A. (1964).
- 19) Jawetz. E., Melinck J.: "Microbiología médica" 8a. ed. Ed. El Manual moderno pp. 120, 131 - 146. México (1979).
- 20) Lehninger A.: "Curso breve de bioquímica" 1a. ed. Ed. Omega pp. 259 - 261, 436. Barcelona, España (1976).
- 21) Levinson M.F.,: "Clinical laboratory diagnosis ", 7 th Ed. Lea Fabiger pp. 220 - 226, 525 - 528. London (1977).
- 22) Litter M.: Farmacología experimental y clínica 5a. ed. Ed. El a teneo pp. 1964 - 1579. Buenos Aires Arg. (1977).
- 23) Lynch, M.J. Stanley S.R.: "Métodos de Laboratorio" 2a. ed. E. Interamericana pp. 343 - 345, 384 - 393, 406, 612. México — (1972).
- 24) Martin, E.W.: "Hazards of error in clinical laboratory testing". Ed. Lippincott. pp. 156 - 207. Philadelphia U.S.A. (1971).
- 25) Mendoza, L: Ocampo, L; Auró de O.A, Sumano H.,: "Efecto de tres antihelmínticos sobre las transaminasas y colesterol sérico en -

- caninos" Veterinaria Mex: 12: 25 - 31 (1981).
- 26) Merck - México S.A. "Clinical laboratory" 11 th ed. of medical chemical investigation methods. E. Merck Darinstodt. Fed. Rep of Germany pp. 224 - 227 Germany (1979).
 - 27) Merck - México S.A.: "Fundamentos del diagnóstico enzimático" - Boletín informativo. Abril 28 México (1978).
 - 28) Meyer J.L., Booth N.H.: "Veterinary pharmacology and therapeutics" 4 thed. Amer. Iowa State University Press. pp 940 - 954. Iowa U.S.A. (1977).
 - 29) Meyers F., Jawetz E., "Review of medical pharmacology" 4th ed. Lange Medical Pub. pp 534 - 540; 675 - 694. Los altos California U.S.A. (1974).
 - 30) Mayler L., Herxheimer A.: "Side effects of drugs", 2th ed. Excerpta medica foundation pp 291 - 300. Amsterdam Holland, (1969)
 - 31) Mitrucka B.M.: "Animal models for biomedical research" J. Wiley, pp. 14 - 17 N. York U.S.A. (1976).
 - 32) Reitman, S; Frankel.: "A colorimetric method for the determination of the serum glutamic oxalacetic and glumatic piruvic tran saminase". Amer. J. Clin. Pathol. 28, 56 (1957).
 - 33) Richterich R.: "Clinica chemistry" 2th ed. D. Karger pp 265 - - 266, 1317 - 319. Bazel Switzerland (1959).
 - 34) Rosenstein E. Martin del Campo, A.: "Diccionario de especialidades farmacéuticas" 28a. Ed. Ediciones P.L.M. pp. 442 - 447 Mé xico (1982).
 - 35) Schalm O.W.: "The Goldberg refractometer of T.S. meter" Calif. Vet. 19: 3 (1965).
 - 36) Schalm O.W. : "Veterinary Hematology 3th ed. Lea Fabiger pp. - 279 - 284 Philadelphia U.S.A. (1975).
 - 37) Wilkinson J.H. : "Introducción al diagnóstico enzimatico" Ed. - Toray S.A. pp. 34 - 43, 134 - 151. Barcelona España (1965).

38) Young D., Thomas D.W., Friedman R., Pestaner L.: "Effects of -
drugs on clinical laboratory tests" Clin Chem.; 18: 1041 - -
1158 (1972).