

11674



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD Y DE LOS PARÁMETROS
FARMACOCINÉTICOS DE BOLOS DE SULFAMETAZINA SÓDICA EN
OVINOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE :

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A :

MARÍA DEL ROCÍO GONZÁLEZ CALVILLO

TUTOR: Dra. Raquel López Arellano

COMITÉ TUTORAL:

Dr. Maximino Huerta Bravo

Dr. Jorge Tórtora Pérez

CUAUTITLAN IZCALLI; ESTADO DE MÉXICO.

2005

m345166



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal

OFICIO/FES-C/CPMyDCPySA/ST/CGEP/003/II/2005

ASUNTO: Designación de Jurado.

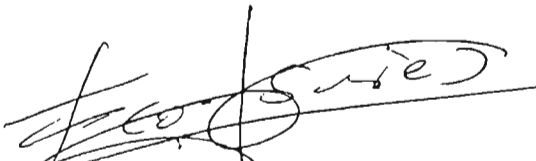
BIOL. FRANCISCO J. INCERA UGALDE
JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACION DE POSGRADO
DE LA DIRECCION GENERAL DE ADMINISTRACION ESCOLAR
Presente.

El Comité Académico del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal autoriza a la alumna **MARIA DEL ROCIO GONZALEZ CALVILLO**, registrada con el número de cuenta **9210131-9**, para presentar su examen de grado de **Maestra en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal**, con la tesis titulada "Estudio de biodisponibilidad y de los parámetros farmacocinéticos de bolos de sulfametazina sódica en ovinos" a quien se le ha designado el siguiente jurado:

Presidente:	DR. JORGE TORTORA PEREZ
Vocal:	DR. MAXIMINO HUERTA BRAVO
Secretario:	DRA. SARA CABALLERO CHACON
Primer Suplente:	DRA. HELGI JUNG COOK
Segundo Suplente:	DRA. RAQUEL LOPEZ ARELLANO

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 6 de enero del 2005.



DR. FRANCISCO SUAREZ GÜEMES
COORDINADOR DEL PROGRAMA

C.c.p. Exp. de alumno
C.c.p. Archivo
FSG/HRA/mrc

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Av. 1º de mayo S/N, Campo 1, Edificio de Estudios de Posgrado,
Apartado Postal 25, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, CP 54700
Tel.: 5623-2018, Fax: 5868 2489



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente al LEM-Farmacia de la FES-Cuautitlan por la formación.

A la Dra. Raquel López Arellano y al D.A.R. Juan José Díaz por el apoyo y la confianza.

A los Dr's Maximino Huerta y Jorge Tórtora por sus aportaciones para el mejoramiento de este trabajo.

A las Dra's Helgi Jung y Sara Caballero por el tiempo dedicado para la revisión de esta tesis y por sus aportaciones a la misma.

Al Dr. Alfredo Cuellar por su apoyo con los animales requeridos para el proyecto.

A Francisco Cruz por su aportación para el desarrollo de este trabajo.

Juan Carlos Valades por su apoyo y amistad, por ayudarnos a descubrir que el manejo de los animales no era la misión imposible que parecía.

A todas las Chicas del LEM, por su contribución a mejorar y hacer agradable mi estancia, de manera especial a Araceli, Adriana y Lupita.

A Enrique Amador por el apoyo, el tiempo, la confianza, las bromas, por tantas cosas, pero sobre todo por la amistad.

A Víctor Hugo Rocha Guzmán que de alguna manera forma parte de este trabajo, gracias por toda la ayuda, gracias por tu amistad.

Sandra Tecocuatzi y Karina Sandoval que aun desde lejos siempre serán un apoyo para mí, las quiero.

Griselda Gaytan, que te puedo decir, cuanto tiempo, cuantas cosas, gracias por todo lo compartido, TQM.

A Lupita, Julián, Mónica, Sergio, Juan y Lalo, quienes siempre han sido mi apoyo y mi fuerza, que aun con todos nuestros defectos para mí siempre serán la familia perfecta.

A Juan, con amor por se parte de mi vida.

De forma especial a Karla, eres mi aliciente, la alegría y lo mejor de mi vida.

Y sobretodo, gracias a DIOS.

INDICE

RESUMEN	1
I INTRODUCCIÓN	1
II ANTECEDENTES	3
2.1 Coccidiosis	3
2.1.1 Etiología	3
2.1.2. Signos y lesiones.	4
2.1.3. Tratamiento.	5
2.2. Sulfonamidas	6
2.2.1. Estructura química.	7
2.2.2. Mecanismo de acción.	7
2.2.3. Espectro de acción.	8
2.2.4. Clasificación.	8
2.2.5. Farmacocinética de las sulfonamidas	9
2.2.5.1. Absorción.	9
2.2.5.2. Distribución.	9
2.2.5.3 Biotransformación.	9
2.2.5.4. Eliminación.	10
2.2.6. Mecanismos de resistencia de sulfonamidas.	11
2.3. Biodisponibilidad	12
2.3.1 Parámetros farmacocinéticos	13
2.3.1.1. Área Bajo la Curva (ABC)	15
2.3.1.2. Concentración Plasmática (C_p máx).	15
2.3.1.3. Tiempo máximo ($T_{máx}$)	15
2.3.2. Estimación del ABC por el método de la regla trapezoidal	17
2.3.3. Factores que afectan la biodisponibilidad	18
2.3.3.1. Factores tecnológicos.	19
2.3.3.2. Factores biológicos	21
2.3.3.3. Factores clínicos y terapéuticos.	22
2.3.3.4. Rumiantes.	23
III OBJETIVOS	24
IV DESARROLLO EXPERIMENTAL	25
4.1 Localización.	25
4.2 Unidades experimentales.	25
4.3 Tratamientos.	25
4.4 Diseño experimental.	26

4.5 Tiempos de muestreo.	26
4.6 Criterio de inclusión.	28
4.7 Criterios de exclusión.	28
4.8 Dosificación.	28
4.9 Método de análisis para la determinación de sulfametazina en plasma.	29
4.9.1 Instrumentos y equipo:	29
4.9.2 Material:	29
4.9.3 Reactivos:	30
4.9.4 Método analítico:	30
4.9.4.1 Ensayo analítico para la extracción en fase sólida.	30
4.9.4.1.1 Preparación del plasma con estándar interno	30
4.9.4.1.2 Proceso de acondicionamiento.	31
4.9.4.1.3 Proceso de carga.	31
4.9.4.1.4 Proceso de limpieza.	31
4.9.4.1.5 Proceso de recuperación.	31
4.9.4.2 Cuantificación de la sulfametazina	32
4.9.4.3 Método de cuantificación.	32
4.10 Análisis farmacocinético	33
4.11 Análisis estadístico	35
V RESULTADOS	36
VI ANALISIS DE RESULTADOS	50
VII CONCLUSIONES	72
VIII REFERENCIAS	73
IX ANEXOS	78

INDICE DE FIGURAS

Figura	Titulo	Pag
1	Ciclo biológico de género Eimeria	5
2	Estructura química de la sulfanilamida	7
3	Formulas estructurales de la sulfametazina y sus metabolitos	10
4	Representación de los parámetros farmacocinéticos en el perfil plasmático concentración vs tiempo.	14
5	Regla de los trapezoides.	18
6	Modelo 1 (Modelo abierto de un compartimiento)	33
7	Modelo 7 (Modelo abierto de dos compartimientos)	33
8	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 661	36
9	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 683	36
10	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 685	37
11	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 674	37
12	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en UE-680	37
13	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 684	38
14	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 682	38
15	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 675	38
16	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 669	39
17	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en UE-673	39

18	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 339	39
19	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en UE-345	40
20	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 348	40
21	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en UE-849	40
22	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 349	41
23	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 340	41
24	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 673	42
25	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 669	42
26	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 675	43
27	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 682	43
28	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 684	44
29	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 683	44
30	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 680	45
31	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 674	45
32	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 661	46

33	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 849	46
34	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 345	47
35	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 348	47
36	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 339	48
37	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 340	48
38	Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental 349	49
39	Perfil plasmático de fármacos en medicamentos de liberación prolongada.	57
40	Perfil plasmático de bolos de SMZ de liberación prolongada	58
41	Eliminación promedio de ooquistes en ovinos tratados con bolos intrarruminales de sulfametazina sódica.	60
42	Medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre tratamientos ($P < 0.05$).	66
43	Medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre secuencias ($P < 0.05$).	66
44	Comparación de medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre V_d de ambas razas	68
45	Comparación de medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre la C_o de ambas razas.	69
46	Comparación de medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre la K_{el} de ambas razas.	70
47	Comparación de medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre el $t_{1/2}$ de ambas razas y sexos.	71

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Titulo	Pag
1	Clasificación de las sulfonamidas basada en su perfil de concentración plasmática - tiempo	8
2	Diseño experimental cruzado 2 tratamientos, 2 periodos.	27
3	Comparación de la variabilidad y del criterio de Akaike entre los modelos farmacocinéticos mono y bicompartimental, para los datos plasmáticos obtenidos de la administración intravenosa de Sulfametazina.	52
4	Parámetros farmacocinéticos de sulfametazina en ovinos reportados en la literatura.	53
5	Tiempos de muestreo utilizados en estudios farmacocinéticos de sulfametazina en borregos.	54
6	Parámetros farmacocinéticos obtenidos de la administración IV de Sulfametazina correspondientes a un modelo abierto de un compartimiento (MAUC).	55
7	Parámetros farmacocinéticos para una administración IV de SMZ correspondientes a un modelo abierto de dos compartimientos (MADC), obtenidos de los datos plasmáticos de la UE 675.	56
8	Máximos de concentración de los perfiles plasmáticos del bolo de sulfametazina.	59
9	Valores de Area Bajo la Curva (ABC) y cálculo de Biodisponibilidad (F) de bolos de sulfametazina sódica.	62
10	Biodisponibilidad absoluta de los bolos de sulfametazina sódica.	63

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
ABC	Area bajo la curva
AIC	Criterio estadístico de Akaike
C	Concentración del fármaco a un tiempo t
C _p	Concentración plasmática
C _{p0}	Concentración plasmática inicial
C _{pmax}	Concentración plasmática máxima
CV	Coefficiente de Variación
D _{i.v.}	Dosis administrada por vía intravenosa
D _{oral}	Dosis administrada por vía oral
EDTA	Ácido etilendiamintetracético
F	Biodisponibilidad absoluta
FDA	Food and Drug Administration
IV	Intravenosa
K _{el}	Constante de eliminación global
SMZ	Sulfametazina
t	Tiempo
t _{1/2}	Tiempo de vida media
t _{max}	Tiempo máximo (tiempo requerido para alcanzar la C _{pmax})
UE	Unidad Experimental
V _c	Volumen del compartimiento central
V _d	Volumen de distribución cuando el fármaco alcanza el equilibrio con los tejidos altamente irrigados

RESUMEN

ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD Y DE LOS PARAMETROS FARMACOCINETICOS DE BOLOS DE SULFAMETAZINA SODICA EN OVINOS.

Se determinó la biodisponibilidad de bolos orales de retención Intrarruminal con sulfametazina sódica, para lo que se utilizaron 16 ovinos de raza pelibuey (6) y columbia(10), ambos sexos, estos fueron mantenidos en corrales y recibieron dos tratamientos (bolos orales de retención intrarruminal de sulfametazina, así como una solución intravenosa de sulfametazina sódica al 33%), estos fueron aplicados de acuerdo a un diseño cruzado de dos periodos y dos tratamientos, con un periodo de lavado de ocho días. Se obtuvieron muestras de plasma de acuerdo a los tiempos establecidos en el protocolo de investigación, las muestras fueron procesadas por cromatografía de líquidos de alta resolución y se obtuvieron los valores de concentración plasmática. Los datos obtenidos de la administración vía intravenosa se sometieron a un análisis farmacocinético donde se encontró que para la mayoría de las unidades experimentales la sulfametazina siguió una cinética monocompartimental; se encontró que los parámetros farmacocinéticos obtenidos de la administración intravenosa tales como Volumen de distribución ($P < 0.05$), Concentración plasmática inicial ($P < 0.3$), Constante de eliminación ($P < 0.15$) y $t_{1/2}$ ($P < 0.3$) se ven afectados estadísticamente de manera principal por el factor raza (Pelibuey y Columbia), además en el caso del tiempo de vida media también existe un efecto significativo debido al sexo. Los parámetros farmacocinéticos determinados fueron: volumen de distribución promedio de 0.6518 ± 0.1374 y 0.8509 ± 0.1606 litros además un tiempo de vida media promedio de 4.2149 ± 1.1157 y 4.6141 ± 0.6892 h para la razas columbia y pelibuey respectivamente.

El bolo de sulfametazina presentó un perfil plasmático característico en el que se distinguen de forma general dos fases, la primera de liberación inmediata y una segunda fase de liberación prolongada, representadas por la presencia de dos máximos de concentración; las concentraciones plasmáticas del bolo de sulfametazina alcanzaron una concentración plasmática máxima de 13.051 ± 5.7962 $\mu\text{g/ml}$ a un tiempo máximo de 3.8 ± 0.8166 h y se detectaron por un periodo promedio de 520 horas, esta concentración es menor a la concentración mínima efectiva de 50 $\mu\text{g/ml}$, pero se obtuvo un efecto terapéutico adecuado para el tratamiento de la coccidiosis. La Biodisponibilidad de los bolos de sulfametazina sódica de liberación prolongada fue del 41.1054 ± 6.6092 %.

PALABRAS CLAVE: Sulfametazina, biodisponibilidad, farmacocinética, bolo, ovinos.

I INTRODUCCIÓN

En México la producción de ovinos se ha incrementado en un 37% en el periodo de 1991 al 2002, si bien la utilización del ovino puede ser integral como productora de lana, carne y leche, en México esta especie se utiliza casi exclusivamente para la producción de carne. La coccidiosis es una enfermedad parasitaria frecuente en ovinos capaz de producir pérdidas financieras considerables, especialmente en corderos. Estas pérdidas económicas están relacionadas por sus efectos en la producción animal, gastos en materiales para combatir la enfermedad (medicamentos, desinfectantes, corrales, recursos humanos, etc.) así como los efectos en los propios animales (diarrea, pérdida de peso, mermas en parámetros productivos, retraso en el crecimiento y muertes). Existen varios tratamientos disponibles para el tratamiento de la coccidiosis, la administración por vía intramuscular de sulfas solas o combinadas con trimetoprim es una de las alternativas más usadas, pero ocasiona graves lesiones en el tejido muscular con las consecuentes cojeras y formación de abscesos (Evrard, 1995; Amador, 1999; Fitzgerald, 1980; Chávez, 2000).

En respuesta a los problemas de salud animal se han desarrollado nuevos dispositivos de liberación controlada de fármacos, en el caso específico de rumiantes las características fisiológicas de su tracto digestivo proporcionan una oportunidad única para la tecnología de liberación prolongada, por su habilidad de retención en el retículo rumen, en la Sección de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, se desarrollaron unos Bolos orales de retención intrarruminal de sulfametazina sódica, para el tratamiento de coccidiosis en cabras y borregos (Evrard, 1995; Amador, 1999).

La Sulfametazina es un agente antimicrobiano ampliamente utilizado en el campo veterinario para el tratamiento de enfermedades respiratorias y coccidiosis, el tratamiento convencional implica la administración diaria de medicamento por cuatro días, en cambio la administración oral a través de un bolo de liberación prolongada permite disminuir la frecuencia de dosificación y en consecuencia reducir el manejo de los animales (Chávez, 2000; Murphy, 1986).

Para que un producto farmacéutico pueda ser lanzado al mercado, éste debe ser objeto de varios estudios que tienen como finalidad garantizar la seguridad de los productos alimenticios de consumo humano, la seguridad del animal y del medio ambiente; los alimentos procedentes de animales tratados con sulfonamidas pueden contener trazas de fármaco que se incorporan al organismo humano a través de la cadena alimenticia, fomentando la aparición de microorganismos resistentes en el hombre (Bevill, 1977).

Dentro de los estudios que deben realizarse se encuentran los de efectividad, biodisponibilidad, bioequivalencia, y toxicológicos. La biodisponibilidad es una de las características más importantes en la evaluación de cualquier producto farmacéutico que se administre por vía diferente a la intravascular. En el caso de fármacos que se administran prolongadamente es posible minimizar riesgos de acumulación si se conoce su biodisponibilidad y farmacocinética. Desde la perspectiva de la forma farmacéutica, la biodisponibilidad es un parámetro que define la calidad del producto, y se refiere a la eficiencia con que una forma farmacéutica o sistema terapéutico administrado al organismo, cumple con su función de hacer que el principio activo sea aprovechable en su máxima potencialidad y sea capaz de alcanzar intacta el torrente circulatorio quedando de esta manera disponible para el organismo (Atache, 1983; Cárdenas, 1996).

Este trabajo forma parte de extenso esfuerzo multidisciplinario que inicio con el desarrollo de los bolos (Amador, 1999), así como con el desarrollo y validación de los métodos de análisis empleados para la evaluación de mismo (Trujeque, 1998), también ya se ha evaluado de forma positiva su efectividad (Chávez, 2000) y biodisponibilidad (Morales, 2003), sin embargo en los estudios *in vivo* realizados hasta ahora, solo se ha empleado ganado caprino, es por esto y dado que es factible que el bolo pueda también ser administrado en ovinos que este estudio tiene como finalidad la evaluación del comportamiento farmacocinético de los bolos en esta especie y por lo tanto su biodisponibilidad.

II ANTECEDENTES

2.1 COCCIDIOSIS

La coccidiosis, produce disentería con enteritis hemorrágica, es una enfermedad parasitaria infecciosa producida por especies del género *Eimeria*. En 1993 se estimó un gasto mundial en agentes anticoccidianos de 350 millones de dólares. Esta enfermedad es particularmente importante en la industria avícola aunque también se presentan importantes pérdidas económicas debidas a esta enfermedad tanto en la producción de bovinos, ovinos, caprinos, cunicula y porcina (Adams, 1995).

2.1.1 Etiología

La coccidiosis es producida por especies del género *Eimeria*; son altamente específicas para el hospedador, de modo que una especie determinada solo aparece en una especie animal y no afecta a ninguna otra. Existen al menos once especies que parasitan a la oveja, *E. ahsata*, *E. ovina*, *E. crandallis*, *E. granulosa*, *E. parva*, *E. faurei*, *E. ovinoidalis*, *E. pallida*, *E. marsica*, *E. intricata*, *E. weybridgensis*; siendo las más patógenas *E. ahsata*, *E. ovina* y *E. ovinoidalis* (Adams, 1995; Kimberling, 1988).

Eimeria es un protozoo que se alimenta por ósmosis y tiene cierta predilección por las células epiteliales de la zona intestinal, es decir, este microorganismo es un parásito intracelular del epitelio intestinal, en el que experimenta multiplicación asexual (esquizogonia) y sexual (gametogonia). Fuera del animal y en el piso las coccidias se reproducen asexualmente (esporogonia), donde se forman los ooquistes esporulados que corresponden a la fase infestante (Chávez, 2000).

El ciclo de vida es complejo, comienza con la ingestión de ooquistes esporulados a través de alimentos o agua contaminada (**Figura 1**). Cada ooquiste presenta cuatro esporoblastos, cada uno con dos esporozoitos. Los esporozoitos ya liberados en el intestino del huésped penetran a las células epiteliales. La localización y tipo de célula hospedadora depende de la especie de coccidia. Dentro de las células epiteliales tiene lugar la primera generación de merontes, que crecen y se dividen para formar una primera generación de unos 900 merozoitos. Rompen su célula hospedadora, penetran una segunda célula y dan lugar a una segunda generación de merontes que se dividen a su vez en 200 a 350 merozoitos de segunda generación. Algunos darán lugar a una tercera generación de merozoitos, mientras que la mayoría comenzarán la fase sexual del ciclo. Los macrogamontes son uninucleados y producirán el gameto femenino, los microgamontes que inicialmente son multinucleados producen microgametos flagelados. Los microgametos fertilizan a las macrogametos y el resultante cigoto produce un oocisto, este es excretado en las heces de forma no esporulada. La esporulación ocurre en el medio ambiente (Levine, 1973; Lima, 1996; Adams, 1995).

2.1.2. Signos y lesiones

La enfermedad se caracteriza clínicamente por producir diarrea con moco o estrías de sangre, anemia, fiebre, disminución en el consumo de alimento, descenso en las tasas de crecimiento y producción, predisponiendo al animal a infecciones bacterianas secundarias (Lima, 1996; Taylor, 1995).

Al examen posmortem el intestino está inflamado, vacío, contraído, edematoso, en algunos casos la mucosa puede estar hemorrágica y engrosada con atrofia extensiva de las vellosidades (Lima, 1996).

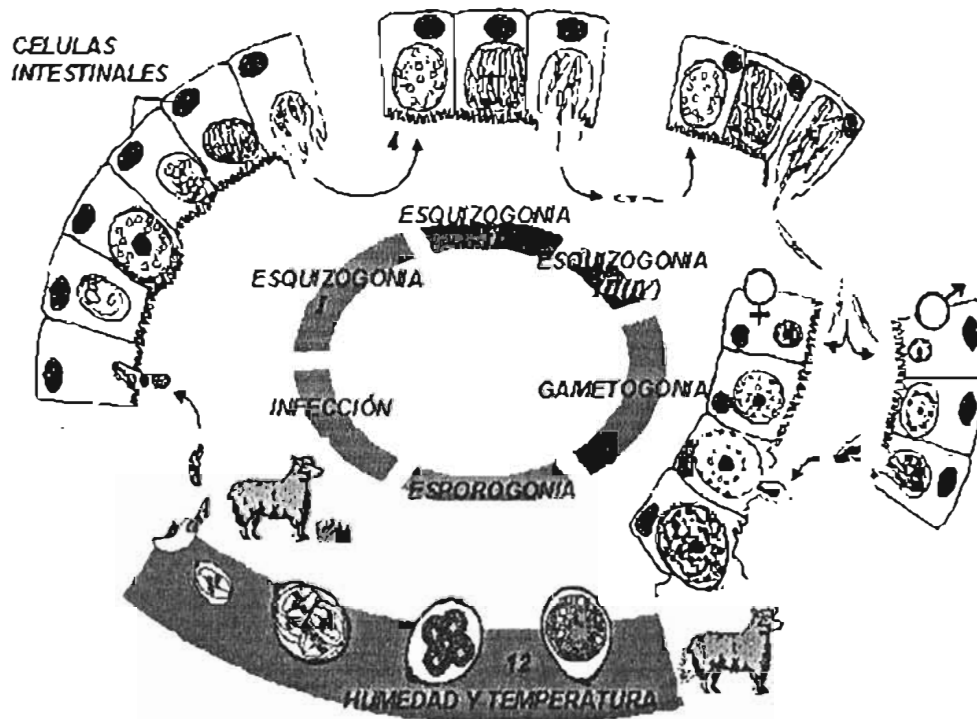


Figura 1. Ciclo biológico de género Eimeria (Chávez, 2000).

2.1.3. Tratamiento

Los fármacos anticoccidianos pueden actuar en etapas extracelulares (esporozoitos, merozoitos) para prevenir la penetración a las células epiteliales o en etapas intracelulares para detener o inhibir el desarrollo. Los anticoccidianos pueden actuar en alguna etapa específica del ciclo de vida o ejercer su efecto en varias fases. Los anticoccidianos son comúnmente clasificados como coccidiostatos o coccidicidas, aunque muchas veces esta distinción no es clara, ya que factores como el tiempo de medicación, dosis y especies de coccidia pueden causar que un compuesto actúe como coccidiostato en algunos casos o coccidicida en otras circunstancias (Adams, 1995; Chávez, 2000).

Los coccidiostatos tienen acción sobre las primeras fases evolutivas de las coccidias, detienen el desarrollo y reproducción del protozooario. Se emplean con fines preventivos y se administran en el alimento o agua durante periodos largos. Entre los principales coccidiostatos se consideran decoquinato, antibióticos poliéster ionóforos (monensina, lasalocid, salinomícina) y amprolium. Los coccidicidas tienen la posibilidad de atacar a cualquier fase evolutiva de las coccidias, estos fármacos se utilizan para contrarrestar un brote agudo de coccidiosis. Entre los más usados se encuentran los nitrofuranos, toltrazuril, las sulfonamidas solas y combinadas (trisulfas, con trimetoprim) (Adams, 1995).

2.2. SULFONAMIDAS

Las sulfas son polvos blancos, cristalinos, que se comportan como ácidos orgánicos débiles. Se clasifican como Antibacterianos, anticoccidiostatos. Las sulfonamidas utilizadas en medicina veterinaria para el tratamiento y prevención de coccidiosis incluyen sulfacloropiridacina, sulfadiazina, sulfadimetoxina sulfadoxina, sulfametazina, sulfametoxazol y sulfaquinoxalina. Las sulfonamidas son comúnmente empleadas para el tratamiento de infecciones sistémicas graves o infecciones locales, que incluyen actinobacilosis, coccidiosis, mastitis, metritis, colibacilosis, pododermatitis, poliartritis, infecciones respiratorias y toxoplasmosis (Spoo y Riviera, 1995).

2.2.1. Estructura química

El compuesto base de las sulfonamidas es la sulfanilamida, cuya estructura es similar al ácido para-amino benzoico (PABA), factor requerido por las bacterias para la síntesis del ácido fólico. Es importante el grupo amino libre en posición 4 pues se relaciona con su actividad. Las sustituciones a nivel del radical sulfonilo modifican las características farmacocinéticas, pero no la actividad antibacteriana. Las sustituciones en el grupo amino en posición 4 dan compuestos de menor absorción intestinal (Sumano, 1991; Spoo y Riviere, 1995).

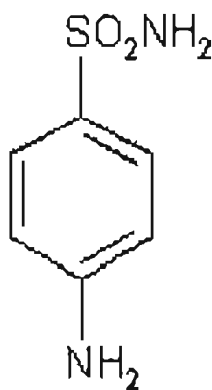


Figura 2. Estructura química de la sulfanilamida.

2.2.2. Mecanismo de acción

Las sulfonamidas actúan como análogos estructurales y antagonistas del PABA e impiden la utilización de este compuesto para la síntesis de ácido fólico. Este a su vez actúa en la síntesis de timina y puína. Esta acción se ejerce compitiendo por la acción de una enzima bacteriana responsable de la incorporación de PABA al ácido dihidropterico, precursor del ácido fólico (Chambers, 1998; Spoo y Riviere, 1995).

Las células de los mamíferos requieren ácido fólico preformado ya que no pueden sintetizarlo y por lo tanto no son atacadas.

2.2.3. Espectro de acción

Las sulfonamidas poseen un amplio espectro antibacteriano, *in vitro* ejercen actividad inhibitoria frente a un gran número de bacterias grampositivas y gramnegativas. En términos generales, entre los microorganismos considerados como sensibles se encuentran *S. pyogenes*, *S. neumoniae*, *Bacillus anthracis*, *C. diphtheriae*, *Hemophilus influenzae*, *Brucella*, *Vibrio cholerae*, *Hemophilus ducreyi*, *Yersinia pestis*, *Nocardia*, *Actinomyces*, *Calymmatobacterium granulomatis*, *Chlamydia trachomatis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Actinobacterium*, *Klebsiella spp.*, *Moraxella bovis*, *Nocardia spp.*, *Pasteurella spp.*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* Y *Coccidia* (Sumano, 1991).

2.2.4. Clasificación

Las sulfonamidas son clasificadas como de acción corta, intermedia o larga de acuerdo a su perfil concentración plasmática-tiempo. Las sulfonamidas son de acción corta si después de una dosis terapéutica las concentraciones plasmáticas se mantienen arriba de 50g/ ml por menos de 12 horas, de acción intermedia si estos niveles plasmáticos se mantienen entre las 12 y las 24 horas y de larga acción si se obtienen estos niveles plasmáticos hasta después de 24 horas de la dosificación, **Cuadro 1** (Spoo y Riviere, 1995).

Cuadro 1. Clasificación de las sulfonamidas basada en su perfil concentración plasmática – tiempo (Spoo y Riviere, 1995).

Corta	Intermedia	Larga	Entéricas
Sulfacetamida	Sulfadimethoxina	Sulfabromometazina	Sulfaguanidina
Sulfametazol	Sulfisoxazol	Sulfadimitoxina	Sulfaquinolaxina
Trisulfapirimidina	Sulfametoxazol	Sulfametazina	Sulfasalazina
Sulfatiazol	Sulfaclopiridacina		
Sulfisoxizol	Sulfametazina		

2.2.5. Farmacocinética de las sulfonamidas

2.2.5.1. Absorción

La mayoría de la sulfonamidas se absorben bien en el intestino cuando son administradas oralmente, esta absorción es regida por una difusión pasiva y su velocidad esta influenciada por la vascularización del sitio de absorción.

2.2.5.2. Distribución

La distribución es amplia en los diferentes territorios orgánicos, alcanzando concentraciones terapéuticas en plasma, líquido cefalorraquídeo, sinovial y peritoneal. Ello está en relación con la fijación a las proteínas plasmáticas y su liposolubilidad. Atraviesan la barrera placentaria y se observan en la sangre fetal y líquido amniótico, pudiendo producir efectos tóxicos. Atraviesan bien la barrera hematoencefálica. Las sulfonamidas tópicas pueden ser absorbidas y alcanzar niveles sanguíneos detectables.

2.2.5.3 Biotransformación

Las sulfonamidas son metabolizadas principalmente en el hígado. Su biotransformación ocurre por acetilación, conjugación glucurónica, e hidroxilación aromática en muchas especies. El tipo de metabolitos formados y la cantidad de cada uno varía dependido de la sulfonamida administrada; la especie, edad, dieta, y el desarrollo del animal; la presencia de enfermedades; y, con la excepción de cerdos y rumiantes, el género del animal. Los metabolitos N4-acetil no tienen actividad antimicrobiana y los hidroximetabolitos tienen del 2.5 a 39.5 % de la actividad del compuesto original.

El metabolismo de la sulfametazina en rumiantes involucra la acetilación del grupo para-amino (N₄) y la hidroxilación del anillo pirimidínico seguido por una glucoronidación (NOUWS, 1986).

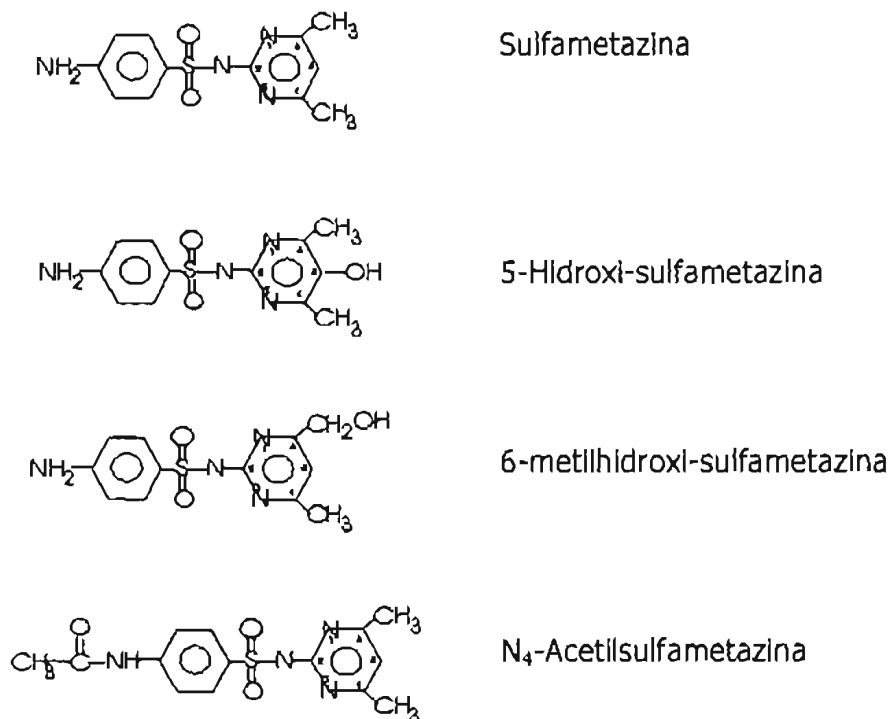


Figura 3. Formulas estructurales de la sulfametazina y sus metabolitos (NOUWS, 1986).

2.2.5.4. Eliminación

Las sulfonamidas se eliminan por la orina en una alta proporción (principalmente por filtración glomerular), en parte como fármaco libre y otra parte metabolizada. La alcalinización de la orina favorece la eliminación. Su acidificación puede causar precipitados con depósito y eventual obstrucción de las vías urinarias.

2.2.6. Mecanismos de resistencia de sulfonamidas

Los microorganismos desarrollan resistencia por mecanismos que pueden ser de naturaleza cromosómica o extracromosómica.

- Cromosómica: A través de mutaciones que producen un cambio en las enzimas de lo que resulta una disminución de afinidad por las sulfas, o aumentando la producción de PABA lo que neutraliza la competencia de las sulfas.
- Extracromosómica: La producción de una enzima dihidropteridato sintetasa alterada, que es 1.000 veces menos sensible a la droga, es el principal mecanismo de resistencia a sulfonamidas.

El uso veterinario de antibióticos, especialmente los empleados como promotores de crecimiento animal, está siendo objeto de duras críticas y presiones legales. Cuando los animales utilizados para la producción de alimentos, son tratados con medicamentos antimicrobianos, concentraciones significativas del fármaco pueden permanecer retenidas en tejido por un largo periodo de tiempo y los alimentos procedentes de estos animales pueden contener trazas de éstos que se incorporan al organismo humano a través de la cadena alimentaria. El riesgo de consumir carne que contenga tales residuos incluye el desarrollo de hipersensibilidad al fármaco que puede ser necesario para un tratamiento terapéutico y así como la selección de poblaciones de microorganismos resistentes (Cancho, 2000; Bewil, 1977).

2.3. BIODISPONIBILIDAD

Desde el punto de vista farmacológico, es importante contar con agentes terapéuticos eficaces que no creen al mismo tiempo riesgos innecesarios y tengan un mínimo de efectos secundarios, una vez que este ha sido incluido en una forma farmacéutica esta debe permitir la liberación del mismo hacia el sitio de acción en una cantidad y una velocidad adecuadas para lograr la respuesta farmacológica deseada, sin manifestaciones de ineficacia o de toxicidad; en resumen: el principio activo en un medicamento debe cumplir con los requisitos de eficacia, seguridad y biodisponibilidad óptimas. Esta idea es el fundamento del concepto denominado biodisponibilidad de un principio activo a partir de la forma farmacéutica en que es aplicado (Córdenas. 1996).

La definición de biodisponibilidad según la FDA (CFR 2000) indica que "es la medida tanto de la velocidad como de la cantidad a las cuales, una molécula terapéuticamente activa es absorbida a partir de un medicamento y llega a ser disponible en el sitio de acción". Como para la mayoría de los fármacos sería imposible (técnica y éticamente) medir la cantidad de fármaco en su sitio de acción. Una definición mucho más funcional es que la Biodisponibilidad es la medida tanto de la cantidad como de la velocidad con que un fármaco inalterado o la molécula farmacológicamente activa llega a circulación sistémica a partir del medicamento en que fue administrado; bajo el supuesto de que en general las concentraciones plasmáticas de un fármaco reflejan la concentración del mismo en su sitio de acción.

La "biodisponibilidad absoluta" de un medicamento es una medida de la eficacia de la vía de administración. La vía intravenosa es la referencia

absoluta dado que cuando se inyecta un fármaco por esta vía se localiza en el medio interno 100% de la dosis administrada. Para evaluar la biodisponibilidad absoluta se administra el mismo principio activo primero en una forma farmacéutica para uso intravenoso y, luego, en otra forma farmacéutica preparada para administrar por la vía que se quiere estudiar (por ejemplo, oral, intramuscular, inhalatoria, rectal, subcutánea, intraperitoneal). Se hace un muestreo seriado de sangre venosa y se grafican las concentraciones del fármaco en ordenadas y el tiempo en abcisas, el área que queda bajo la curva determinada por estos puntos (ABC) es proporcional a la cantidad de fármaco que hay en el organismo en el intervalo considerado. El cociente entre el ABC de la forma farmacéutica administrado por la vía en estudio, sobre el ABC de la forma farmacéutica administrada por vía intravenosa representa la fracción de la dosis administrada que efectivamente alcanzó el medio interno (F) (Estévez 2000).

$$\text{Biodisponibilidad Absoluta} = \frac{\text{ABC(Bolo administrado por vía oral)}}{\text{ABC(Solución intravenosa)}}$$

2.3.1 Parámetros farmacocinéticos

La biodisponibilidad se determina generalmente a partir de datos de concentración plasmática o de excreción urinaria del fármaco. El parámetro indicativo de la magnitud de la absorción cuando se mide el medicamento en el plasma, es el área total que encierra la curva de concentración plasmática versus tiempo, luego de la administración (ABC), que es directamente proporcional a la cantidad de fármaco que ingresa a la circulación sistémica. El término de velocidad se evalúa a través de la

concentración máxima alcanzada en la sangre ($C_{m\acute{a}x}$) y el tiempo al cual se alcanza esta concentración ($t_{m\acute{a}x}$) (Laboratorios Chile, 2001).

En general, para determinar la biodisponibilidad de los medicamentos se aplican los siguientes parámetros esenciales:

- a) Área bajo la curva del perfil sanguíneo (ABC).
- b) Concentración plasmática máxima ($C_{p_{m\acute{a}x}}$).
- c) Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$).

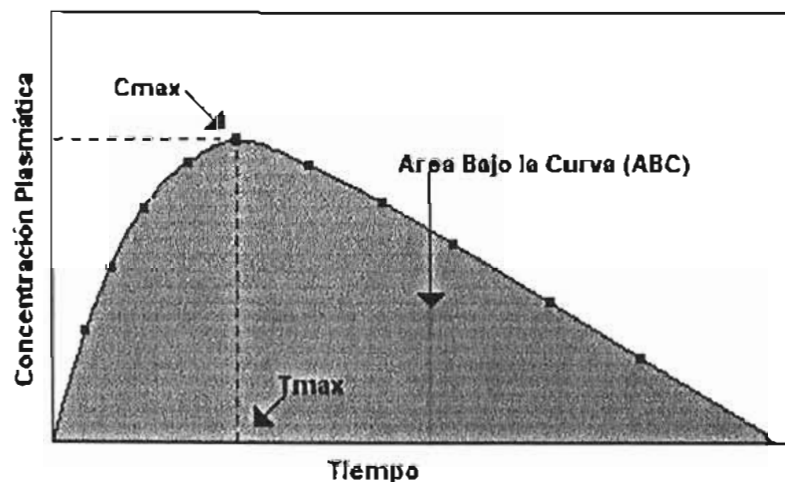


Figura 4. Representación de los parámetros farmacocinéticos en el perfil plasmático concentración vs tiempo.

Estos parámetros se definen como (Córdano, 1996):

2.3.1.1. Área Bajo la Curva (ABC): En relación con el concepto de biodisponibilidad, el ABC desde tiempo cero hasta tiempo infinito, representa la cantidad de fármaco que llega a circulación sistémica. Cuando la aplicación del medicamento es por vía intravenosa, el único parámetro determinante de la biodisponibilidad es por tanto, el ABC, la cual por definición representa un 100% de biodisponibilidad, ya que se considera que la dosis aplicada, llega completa e instantáneamente a la circulación sistémica.

2.3.1.2. Concentración Plasmática ($C_{p\text{ máx}}$): Parámetro de la biodisponibilidad de un fármaco contenido en un medicamento aplicado por vía extravascular. Desde un punto de vista cualitativo, este parámetro está en función de la cantidad y de la velocidad de absorción del principio activo.

Está en función de las siguientes variables:

- Fracción de dosis absorbida.
- Volumen de distribución aparente del fármaco (V_d).
- Constantes de velocidad tanto de absorción como de eliminación del fármaco (Gibaldi 1982).

2.3.1.3. Tiempo máximo ($T_{máx}$): Parámetro determinante de la biodisponibilidad en el caso de los medicamento aplicados por vía extravascular, está en función de:

- Velocidad de absorción del principio activo: A mayor velocidad de absorción del fármaco, más tempranamente se presentará el denominado $t_{máx.}$, es decir, el tiempo en el cual la concentración plasmática del fármaco fue la máxima.
- Velocidad de excreción del principio activo: La relación en este caso es de tipo inverso.

En el caso de experimentos de dosis única, los parámetros farmacocinéticos que se usan para determinar la biodisponibilidad según la Administración de Alimentos y Fármacos (Food Drug Administration, FDA) son:

- El área debajo de la curva de concentración y tiempo de plasma/sangre desde tiempo cero hasta tiempo t (AUC_{0-t}), calculada según la regla trapezoidal, donde t es el último punto temporal medible.
- El área debajo de la curva de concentración y tiempo de plasma/sangre desde tiempo cero hasta tiempo infinito ($ABC_{0-\infty}$), donde ($ABC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t/Z$, C_t es la última concentración medible del fármaco y Z es la constante de velocidad de eliminación terminal calculada según un método apropiado.
- La concentración máxima del fármaco ($C_{máx}$) y el tiempo al cual se alcanza la concentración máxima del fármaco ($T_{máx}$), obtenidos directamente de los datos sin interpolación.

2.3.2. Estimación del ABC por el método de la regla trapezoidal

El método de la regla trapezoidal para estimar el área bajo la curva consiste en dividir la curva en secciones que aproximan a una serie de trapezoides, con un triángulo en cada extremo, tal como se muestra en la **Figura 5**. Las áreas individuales de los trapezoides y los triángulos, se suman para obtener el área bajo la curva (Gibaldi, 1982; Clark, 1982).

El calculo correcto del ABC y por tanto de la cantidad total de fármaco absorbida esta en función de los siguientes factores:

- A. Muestreo de concentración plasmática del fármaco que comprenda un periodo total de tiempo de cuando menos tres vidas medias de eliminación del principio activo.
- B. Intervalos de muestreo cortos, de modo que las fases de absorción y de distribución del fármaco, puedan ser establecidas con la mayor precisión y exactitud posibles, al graficar los resultados en el perfil de concentración plasmática en función del tiempo.
- C. Empleo de un método analítico cuantitativo exacto, preciso, específico y sensible, de modo que las cantidades cuantificadas correspondan a la realidad.

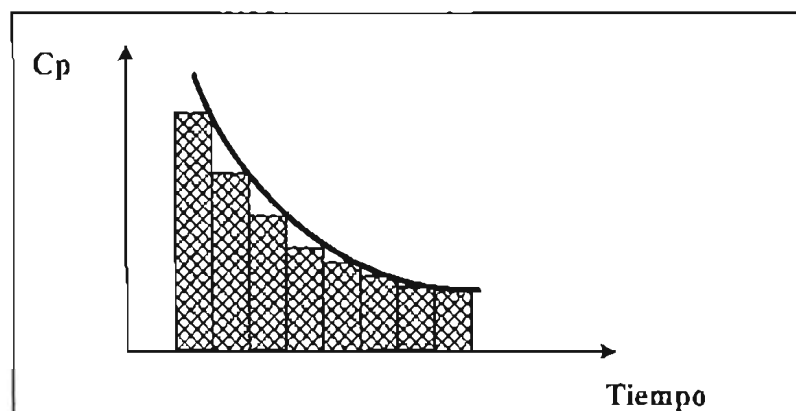


Figura 5. Regla de los trapecios para la estimación del área bajo la curva.

2.3.3. Factores que afectan la biodisponibilidad

Factores tales como la solubilidad, velocidad de disolución o de liberación, permeabilidad, degradación gastrointestinal y la rápida biotransformación del fármaco, todos por sí solos pueden contribuir a las características de disponibilidad. Estos factores pueden ser estudiados individualmente, y muchos problemas pueden ser anticipados pudiendo resolverse antes de que la etapa de formulación y la propia evaluación clínica comience (Morales, 2003).

2.3.3.1. Factores tecnológicos

- Factores inherentes al fármaco.

La liberación y absorción de un fármaco están determinadas por su solubilidad y su velocidad de disolución, lo cual a su vez está determinado por las propiedades del disolvente y del fármaco, así como por la diferencia entre la concentración existente en el medio y la concentración correspondiente a la saturación. Las propiedades del principio activo que pueden afectar su disolución y/o biodisponibilidad son (Gómez, 2000):

- a. Velocidad de disolución
- b. Polimorfismo
- c. Estado cristalino
- d. Peso molecular
- e. Forma química
- f. pK
- g. Coeficiente de partición

- Factores inherentes a la formulación del medicamento.

En cuanto a la formulación del medicamento, la elección del tipo y la cantidad de excipientes empleados de acuerdo a la forma farmacéutica que se trate, son de suma importancia respecto a la liberación y disolución del principio activo. Los excipientes de la formulación tienen principalmente influencia sobre la estabilidad del principio activo en la forma farmacéutica, además de la posibilidad de impedir su inactivación y la aceleración o retardo en la liberación y absorción de fármacos. Puede afirmarse que todos los excipientes utilizados para la fabricación de formas farmacéuticas influyen de una u otra manera sobre la absorción y, por

tanto, sobre la actividad del fármaco, por la influencia que pudieran tener sobre la absorción, ya que pueden alterar el peso molecular del fármaco, solubilidad, coeficiente de reparto del fármaco, así como la viscosidad del medio de disolución y la permeabilidad de la membrana (Gómez, 2000).

- Factores inherentes a la forma farmacéutica y al proceso de manufactura.

La elección de una determinada forma farmacéutica, así como su tipo y punto de aplicación, depende esencialmente de la indicación terapéutica, de la absorbilidad, toxicidad y la estabilidad del fármaco de que se trate. Un diseño y/o control inadecuado de operaciones tales como molienda, mezclado, compresión y secado entre otras, pueden modificar el estado cristalino de una sustancia y por ende, sus propiedades de disolución. La disolución del principio activo es en muchos casos, el proceso limitante para la absorción de un fármaco y por tanto puede modificar el inicio, la intensidad y la duración del efecto farmacológico

(Morales, 2003; Gomez, 2000)-

- Condiciones de almacenaje y periodo útil del producto.

Los medicamentos son mezclas complejas de componentes susceptibles de reaccionar o de modificarse con el paso del tiempo, mediante estudios acelerados de estabilidad se debe garantizar que los procesos de liberación y de disolución del fármaco contenido en el medicamento sean óptimos durante el periodo de vigencia del producto.

2.3.3.2. Factores biológicos

- PH y presencia de enzimas en el sitio de administración del medicamento (efecto del primer paso, inestabilidad fisicoquímica):

El grado de acidez condiciona la disolución y la ionización de algunos fármacos, siendo un factor limitante de su posible absorción. Esta acidez puede provocar la precipitación de algunos fármacos ácidos débiles, y, por otra parte, favorecer la hidrólisis de otros, siendo ambos fenómenos negativos para la biodisponibilidad (Aïache, 1983; Morales, 2003).

- *Velocidad de vaciamiento gástrico y motilidad intestinal:*

La duración del tránsito condiciona la absorción. Un fármaco que no se absorba en medio gástrico no interesa que permanezca mucho tiempo en el estómago y es conveniente que el tiempo de vaciado gástrico sea breve. Por el contrario, un tránsito intestinal lento será beneficioso sobre todo si el fármaco únicamente se absorbe en una zona determinada del intestino delgado (especialmente para la absorción activa) (Morales, 2003).

- *Condiciones dietéticas relacionadas con la administración del medicamento (ayuno, alimento graso, etc.)*
- Índice de perfusión sanguínea en el sitio de depósito y/o de absorción del fármaco:

En la difusión pasiva, la velocidad de absorción es proporcional al gradiente de concentración, $(C_e - C_i)$, es decir, a la diferencia de concentración a ambos lados de la membrana. La absorción pasiva conduce a un equilibrio, el cual se anula si el flujo sanguíneo no transporta el fármaco a medida que se absorbe, lo que es necesario para el paso a través de la membrana. Si, por una razón cualquiera, fisiológica o patológica, la zona donde se encuentra el fármaco que debe absorberse está mal vascularizada, la absorción será menos intensa.

2.3.3.3. Factores clínicos y terapéuticos

- Estado fisiopatológico: funcionamiento hepático, renal, digestivo.

- Terapia múltiple:
 - a. Competencia en el caso de transporte activo, en el sitio de absorción del fármaco.
 - b. Competencia por unión a proteínas.
 - c. Competencia por los procesos de biotransformación.
 - d. Competencia por los procesos de excreción.

Estos factores pueden alterar la velocidad y magnitud del nivel de fármaco en la circulación sistémica, así como también la distribución, metabolismo y eliminación del fármaco.

2.3.3.4. Rumiantes

En el caso de rumiantes existen diferentes factores, capaces de modificar la biodisponibilidad de los fármacos (Sumano, 1991):

- Los fármacos al entrar al rumen se diluirán y su gradiente de concentración no es favorable para la absorción (Ley de Fick: La velocidad de absorción es directamente proporcional a la superficie de absorción y a la concentración e inversamente proporcional al grosor de dicha superficie).
- Muchos fármacos se unen de manera reversible e irreversible a material ruminal, limitando su absorción.
- Los microorganismos ruminales utilizan algunos fármacos incorporándolos a su metabolismo.
- La presencia de varios estratos en el rumen, desde el gaseoso en la parte superior hasta el pastoso-sólido en la parte inferior puede limitar la velocidad de disolución de un fármaco dosificado en forma sólida que se manda hasta el fondo (situación que puede ser favorable para medicamentos de liberación prolongada).

III OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la biodisponibilidad absoluta así como los parámetros farmacocinéticos (t_{max} , C_{max} , y $ABC_{0-\infty}$) de Bolos orales de Sulfametazina sódica de liberación prolongada en ovinos, mediante la aplicación de un diseño cruzado de dos periodos y dos tratamientos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ✚ Administrar bolos orales de retención intrarruminal de sulfametazina, así como una solución intravenosa de sulfametazina sódica al 33% en ovinos.
- ✚ Observar la evolución *in vivo* de los bolos en ovinos, para determinar si libera concentraciones plasmáticas de sulfametazina que se encuentren en niveles terapéuticos.
- ✚ Determinar el efecto de la raza (columbia-pelibuey) y del sexo en los parámetros farmacocinéticos de sulfametazina administrada por vía intravenosa.

IV DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 LOCALIZACIÓN.

El trabajo fue realizado en el Área de Experimentación Animal de la Coordinación General de Estudios de Posgrado del Centro de Producción Agropecuaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México. El Módulo se localiza a una altitud de 2252 msnm, a una latitud norte de 19° 41' 32" y una longitud oeste 19° 11' 42". Caracterizado por un clima templado subhúmedo, con un promedio de precipitación pluvial anual de 1200 mm, con vientos dominantes del noroeste, una humedad relativa de 67.9% y una temperatura anual promedio de 14.7°C (Chávez, 2000). El trabajo analítico se realizó en Laboratorio de Estudios Multidisciplinarios Farmacia de la FES-C de la UNAM.

4.2 UNIDADES EXPERIMENTALES (UE).

En el estudio se utilizaron 16 borregos jóvenes (10 machos y 6 hembras), con un peso promedio de 12.9375 +/- 3.2294kg, 10 de raza columbia y 6 de raza pelibuey. Fueron mantenidos en corrales y se alimentaron con una combinación de concentrado y forraje en una proporción 80:20 y agua, ambos ad libitum.

4.3 TRATAMIENTOS.

Los animales recibieron sulfametazina sódica por vía intravenosa, para lo cual se utilizó una solución de sulfametazina sódica equivalente a sulfametazina base al 33% que fue preparada por disolución del fármaco en agua estéril.

Los bolos orales de liberación modificada de sulfametazina sódica fueron elaborados en el LEM-Farmacia de la FES-C. Las características de los bolos intrarruminales son: masa de 13.96 g, densidad de 1.9312 g/ml.

4.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Cada animal recibió los dos tratamientos, de acuerdo a un diseño experimental cruzado (2*2) de dosis única (2 periodos, 2 tratamientos), con un periodo de lavado de 8 días entre cada tratamiento. El modelo estadístico de un diseño cruzado (2*2) es:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + S_{ik} + P_j + T_{t(ij)} + E_{ijk}$$

Donde:

μ = Media general

G_i = Efecto de secuencia en el grupo i ($i = 1, 2$)

S_{ik} = Efecto del sujeto k en la secuencia i ($k = 1, 2, 3...N$)

P_j = Efecto de periodo ($j = 1, 2$)

$T_{t(ij)}$ = Efecto del tratamiento t ($t = 1, 2$) en la secuencia i , periodo j

Los animales fueron tratados de acuerdo al arreglo mostrado en el **Cuadro 2**.

4.5 TIEMPOS DE MUESTREO.

Después de la administración se colectaron muestras de sangre (3 ml c/u) de la vena yugular con agujas vacutainer en tubos con EDTA sódico, en los siguientes tiempos de muestreo:

- ✓ Administración IV: 20, 40, 60 min; 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48 y 72 h.
- ✓ Administración Oral: 1, 2, 4, 8, 10, 24, 48, 72, 96 horas; 7, 9, 11, 14, 16, 18, 22, 25, 28 y 32 días

Las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos, se separó el plasma y este fue mantenido en congelación a -25°C hasta su análisis.

Cuadro 2. Diseño experimental cruzado 2 tratamientos, 2 periodos.

Unidad Experimental	Sexo	Raza	Periodo	Tratamiento	Secuencia
661	M	C	1	IV	2
683	M	C	1	IV	2
674	H	C	1	IV	2
680	H	C	1	IV	2
685	H	C	1	IV	2
684	H	C	2	IV	1
682	H	C	2	IV	1
675	M	C	2	IV	1
669	M	C	2	IV	1
673	M	C	2	IV	1
349	M	P	1	IV	2
340	M	P	1	IV	2
339	M	P	2	IV	1
345	M	P	2	IV	1
849	M	P	2	IV	1
348	H	P	2	IV	1
661	M	C	2	Bolo	2
683	M	C	2	Bolo	2
674	H	C	2	Bolo	2
680	H	C	2	Bolo	2
685	H	C	2	Bolo	2
684	H	C	1	Bolo	1
682	H	C	1	Bolo	1
675	M	C	1	Bolo	1
669	M	C	1	Bolo	1
673	M	C	1	Bolo	1
349	M	P	2	Bolo	2
340	M	P	2	Bolo	2
339	M	P	1	Bolo	1
345	M	P	1	Bolo	1
849	M	P	1	Bolo	1
348	H	P	1	Bolo	1

Donde: Secuencia 1 (Bolo-IV); Secuencia 2 (IV-Bolo).

Para el análisis estadístico de los datos se codificaron de la siguiente manera:

Sexo	Macho	1	Hembra	2
Tratamientos	Bolo	2	IV	1
Raza	Columbia	2	Pelibuey	1

4.6 CRITERIO DE INCLUSIÓN

Animales sanos, jóvenes, de ambos sexos con peso promedio de 12 Kg.

4.7 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Animales tratados antes y durante el transcurso del estudio con fármacos antiparasitarios, por cualquier vía de administración, u otro tipo de fármacos y vacunas.

4.8 DOSIFICACIÓN

Para el tratamiento por vía intravenosa, la dosis total fue calculada conforme al peso corporal (cada animal fue pesado previo a la administración), la sulfametazina sódica se administro de acuerdo a una dosis de 100mg/kg de peso.

En el caso de la administración por vía oral, cada animal recibió solo un bolo, cada uno proporciona una dosis de 3.95 g de sulfametazina sódica equivalente a 3.6606 g de sulfametazina base.

4.9 MÉTODO DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE SULFAMETAZINA EN PLASMA

Para la determinación de sulfametazina en plasma se utilizó un método desarrollado^(Trujeque, 1998) y validado^(Morales, 2003) en el LEM-Farmacia por Cromatografía de Líquidos de Alta resolución (CLAR).

El método tiene un límite de cuantificación de 0.5 µg/ml de sulfametazina y es lineal en el rango de 0.5 hasta 200 µg /ml.

4.9.1 Instrumentos y equipo:

- ✓ Columna Symmetry™ C₁₈ de 3.9 x 150mm. Part No. WAT054205
- ✓ Bomba cuaternaria Mod. 616™ Ser. No. MX6CM8678M
- ✓ Controlador de la bomba Mod. 600S. Ser. No. SX5KM0096M
- ✓ Automuestreador Mod. 717 plus. Ser. No. MX60M1948M
- ✓ Detector de fotodiodos Mod. 996. Ser. No. MX5NM6889M
- ✓ Software Millenium Versión 2.1
- ✓ Equipo para filtración por membrana Millipore.
- ✓ Bomba de vacío con trampa para líquidos DGP 144. Mel de México
- ✓ Equipo de Mili Q_{PLUS} Millipore.

4.9.2 Material:

- ✓ Vasos de precipitado de 15, 50 y 100ml.
- ✓ Matraces volumétrico de 500, 200, 100, 50 y 10 ml.
- ✓ Pipetas volumétricas de 20, 10, 8, 6, 5, 4, 2, 1 y 0.5 ml.
- ✓ Frascos vial limpios de 5 ml
- ✓ Jeringas plastipack de 3 y 5 ml.

4.9.3 Reactivos:

- ✓ Sulfametazina base seca con pureza de 99.95%. HELM de México. Lote 0001
- ✓ Sulfatiazol. Materia prima. HELM de México. Lote 12519
- ✓ KH_2PO_4 Grado Reactivo. Marca Monterrey.
- ✓ Metanol Grado HPLC. Marca OmniSolv.
- ✓ Acetonitrilo Grado HPLC. Marca OmniSolv.
- ✓ Ácido acético concentrado.
- ✓ NaOH Grado reactivo. Marca Merck.
- ✓ Agua con calidad de $18.2 \text{ M } \Omega \text{ cm}$. Millipore.

4.9.4 Método analítico:

Como paso inicial las muestras de plasma fueron sometidas a un pretratamiento para lo que se utilizó un método de extracción en fase sólida con Cartuchos de Octadecilsilano (Sep-Pak C_{18}), para separar otros componentes del plasma que puedan dañar la columna o alterar las características del sistema cromatográfico.

4.9.4.1 Ensayo analítico para la extracción en fase sólida

4.9.4.1.1 Preparación del plasma con estándar interno (Sulfatiazol)

Con una pipeta volumétrica tomar 1 ml de plasma y transferirlo a un frasco vial limpio de capacidad de 5 ml, adicionarle 0.5 ml de sulfatiazol (estándar interno) de una concentración de $40 \mu\text{g} / \text{ml}$.

4.9.4.1.2 Proceso de acondicionamiento.

Con una jeringa de 5 ml tomar 2 ml de metanol, adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak y percolar el metanol al cartucho a una velocidad de 0.2 ml / seg.

Posteriormente con otra jeringa limpia de 5 ml tomar 2 ml de Buffer de fosfatos a pH = 7.4, adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak y percolar el Buffer al cartucho a una velocidad de 0.2 ml/ seg. El líquido que salga del cartucho Sep-pak de los anteriores pasos desecharlo.

4.9.4.1.3 Proceso de carga.

Con una jeringa limpia de 3 ml tomar todo el plasma con sulfatiazol que se encuentra en el frasco (del paso 1.0). Hacer pasar 1 ml de aire por la jeringa y adaptar la jeringa que contiene la muestra fortificada al cartucho Sep-pak. Percolar el plasma y el aire succionado al cartucho a una velocidad de 0.2 ml/ 10 s. y desechar el líquido que salga del cartucho Sep-pak.

4.9.4.1.4 Proceso de limpieza.

Con una pipeta volumétrica medir 2 ml de Buffer de fosfatos a pH = 7.4 y transferirlos a un frasco limpio de 10 ml. Tomarlos con una jeringa limpia de 5 ml y pasar aproximadamente 2 ml de aire por la jeringa. Adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak y eluir su contenido a una velocidad de 0.2 ml/ 10 s. Desechar el líquido que salga.

4.9.4.1.5 Proceso de recuperación.

Con una pipeta volumétrica medir 2 ml de metanol, transferirlos a un frasco limpio de 10 ml. Tomarlos con una jeringa limpia de 3 ml y pasar aproximadamente 1 ml de aire por la jeringa. Adaptar la jeringa al cartucho Sep-pak anterior y eluir su contenido (metanol y aire) a una velocidad de 0.2 ml/ 10 s. Colectar el líquido que salga.

4.9.4.2 Cuantificación de la sulfametazina

Filtrar el líquido resultante de la extracción en fase sólida de la muestra y coleccionar el líquido filtrado en un vial de capacidad de 1 ml (especial para el Automuestreador).

Finalmente el líquido coleccionado se analizó por Cromatografía de líquidos de alta resolución de fase reversa bajo las siguientes condiciones de operación:

- ✓ Columna: Symmetry™ C₁₈ de 3.9 x 150mm. Part No. WAT054205
- ✓ Fase móvil: Ácido acético al 0.5% : Acetonitrilo (85 :15)
- ✓ Velocidad de flujo: 1 ml/min.
- ✓ Volumen de inyección: 20 µl.
- ✓ Tiempo de análisis: 8 min.
- ✓ Longitud de onda: 266nm.

4.9.4.3 Método de cuantificación

Estandarización interna con Sulfatiazol

4.10 ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

Los parámetros farmacocinéticos de la administración vía intravenosa fueron calculados de los datos de tiempo-concentración usando el software WinNonLin 2.0 (Pharsight Corporation). El análisis farmacocinético fue realizado con el módulo de regresión no lineal de acuerdo a los modelos 1 y 7 (modelo abierto de un compartimiento y dos compartimentos, respectivamente). Este análisis se realizó para cada una de las unidades experimentales:

Modelo abierto de un compartimiento (modelo 1)

$$C = C_0 e^{-Kt}$$

Donde:

C Concentración plasmática a tiempo

t

C₀ Concentración plasmática inicial

K Constante de eliminación

t tiempo

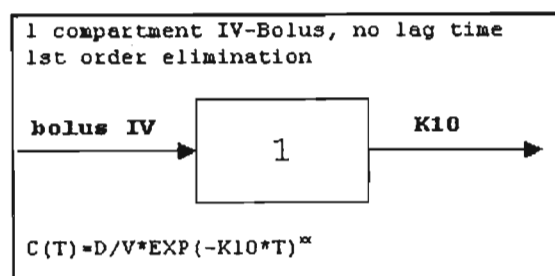


Figura 6. Modelo 1 (Modelo abierto de un compartimiento)

Modelo abierto de dos compartimentos (modelo 7)

$$C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$$

Donde:

C Concentración plasmática a tiempo

t

A y B son los interceptos

α Constante híbrida de velocidad asociada al proceso de distribución

β Constante híbrida de velocidad asociada al proceso de eliminación

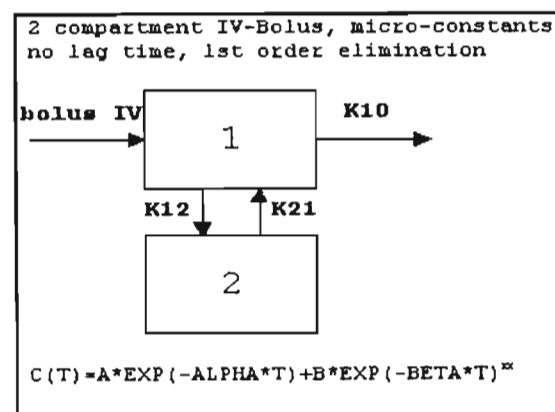


Figura 7. Modelo 7 (Modelo abierto de dos compartimentos)

El mejor modelo fue determinado en base al criterio de información estadístico de Akaike (AIC) así como por el coeficiente de variación (CV) de los parámetros estimados por el programa.

En el caso de los datos plasmáticos de sulfametazina obtenidos de la administración de los bolos, se grafico el perfil plasmático y de los datos sin transformar se obtuvieron los siguientes parámetros modelo independientes: $C_{p_{max}}$ y T_{max} .

Las áreas bajo la curva (ABC) concentración vs tiempo fueron calculadas por el método de trapezoides y se realizó la extrapolación al infinito mediante la expresión:

$$ABC_{t \rightarrow \infty} = C_p/K.$$

La biodisponibilidad absoluta fue calculada con la relación:

$$F = \left(\frac{ABC_{Coral}}{ABC_{iv}} \right) \times 100$$

4.11 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados de acuerdo a lo recomendado por la FDA, para diseños de este tipo (diseños cruzados sin repeticiones) con las mediciones de biodisponibilidad transformadas logarítmicamente. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) del ABC usando los procedimientos de Modelos Lineales Generales (GLM) de STATGRAPHICS Plus 4.0, a través de este análisis se evaluó el efecto debido a la variabilidad entre sujetos, de los períodos de estudio y de la secuencia.

Para cada parámetro farmacocinético se harán los siguientes cálculos: media, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza.

A través de un análisis de ANOVA multifactorial se evaluó el efecto de la raza y del sexo en los parámetros estadísticos, este se realizó en STATGRAPHICS Plus 4.0.

Cada parámetro es presentado como la media \pm el intervalo de confianza con un 0.05 de nivel de significancia.

V RESULTADOS

5.1 Administración Intravenosa

De la Figura 8 a la 23 se presentan los datos de concentración y los perfiles plasmáticos de cada una de las unidades experimentales, obtenidos de la administración intravenosa de sulfametazina, con una dosis de 100mg/kg de peso.

Se encuentran marcados con † las concentraciones detectables de Sulfametazina que se encuentran por debajo del límite de cuantificación (0.5 µg/ml). Estos datos no fueron considerados en el análisis farmacocinético.

Figura 8. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 661

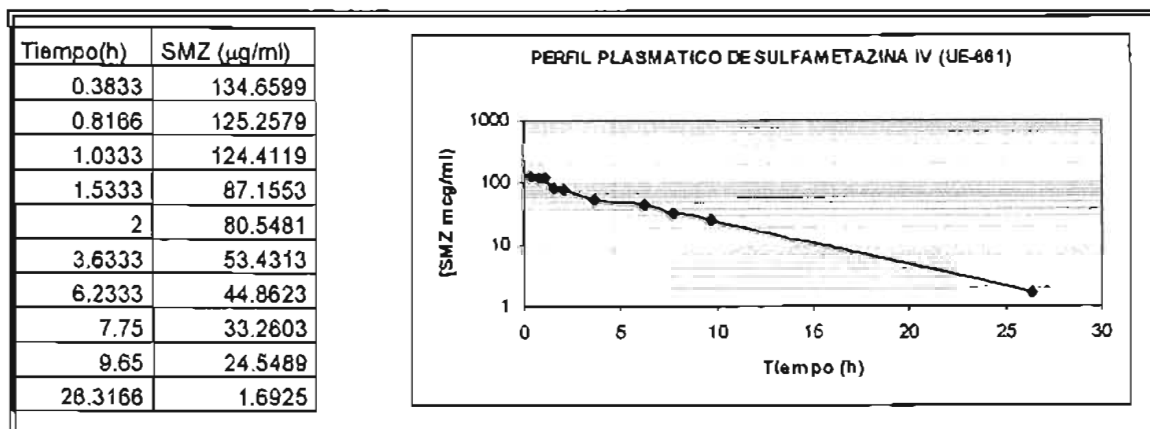


Figura 9. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 683

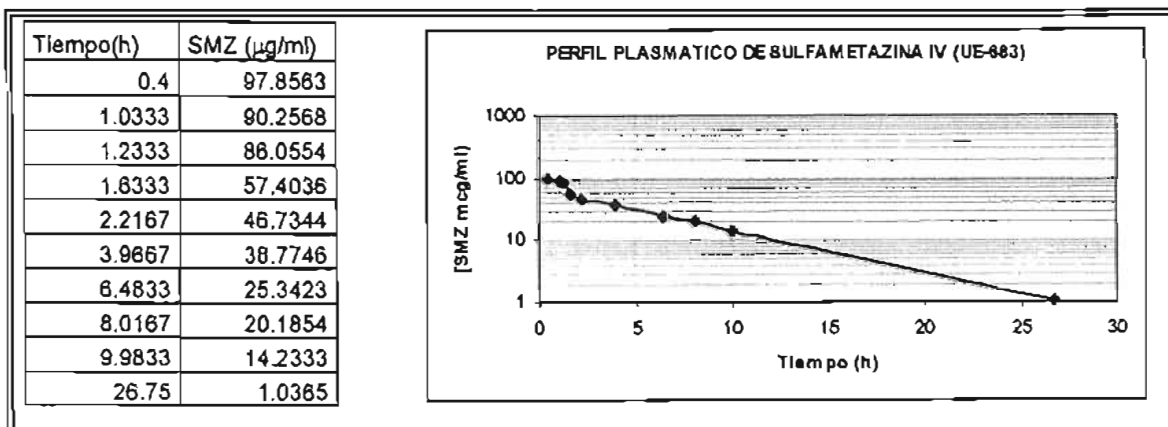


Figura 10. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 685

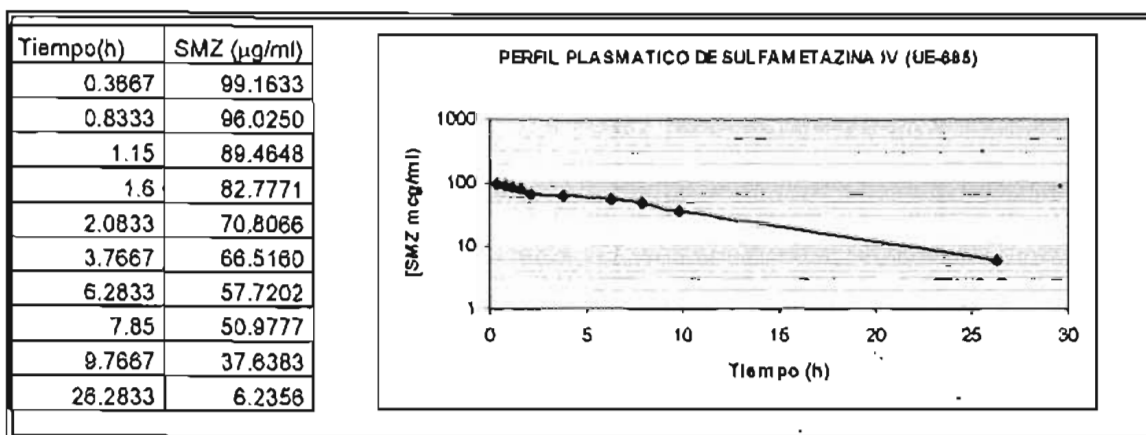


Figura 11. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 674

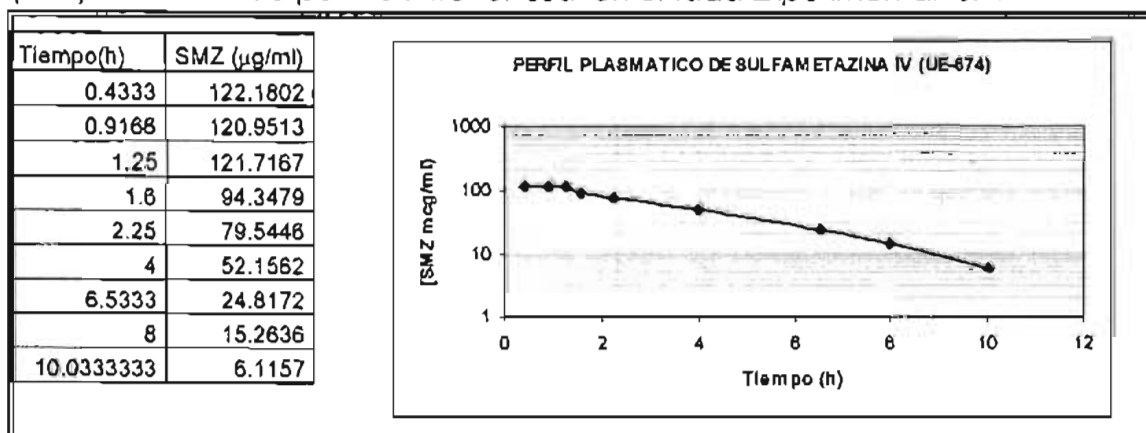


Figura 12. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 680

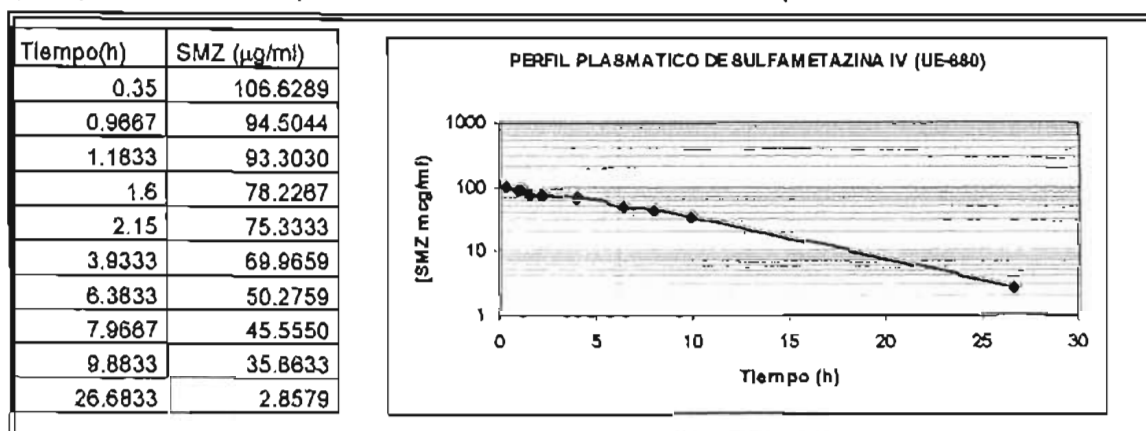


Figura 13. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 684

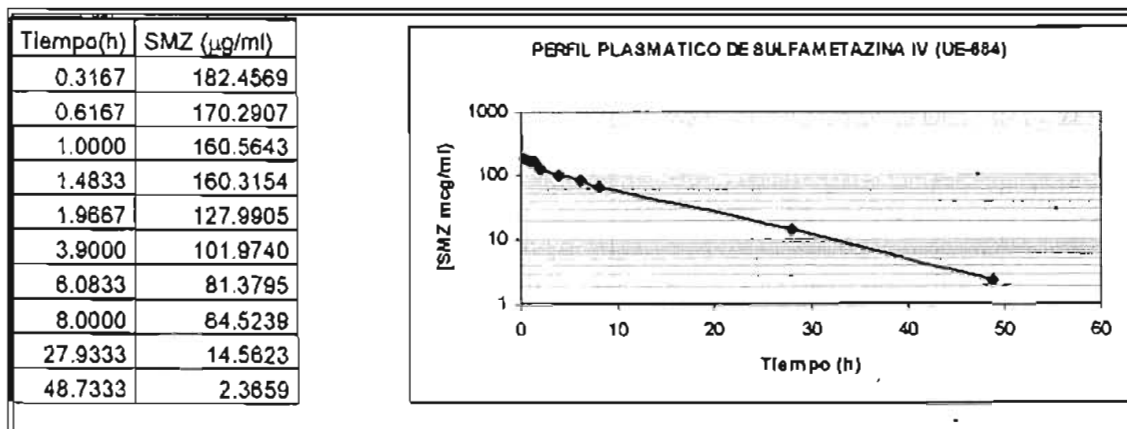


Figura 14. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 682

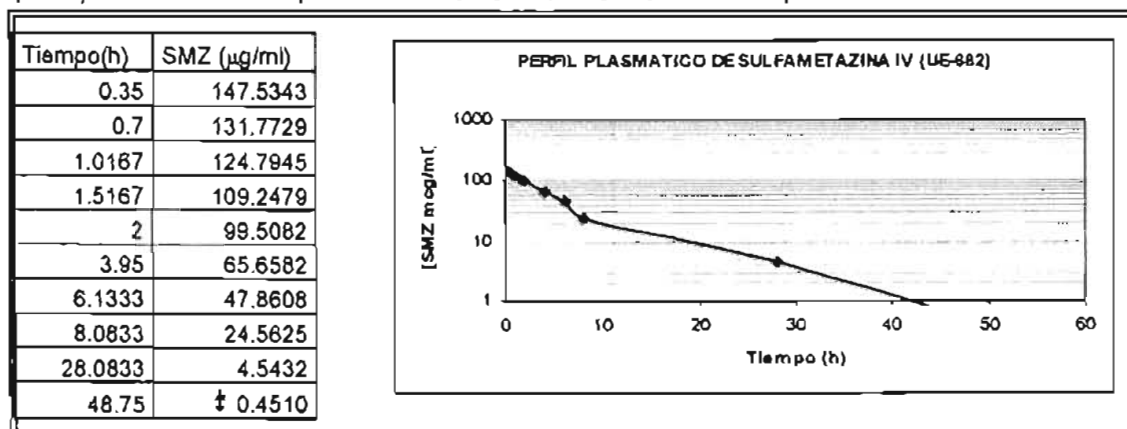


Figura 15. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 675

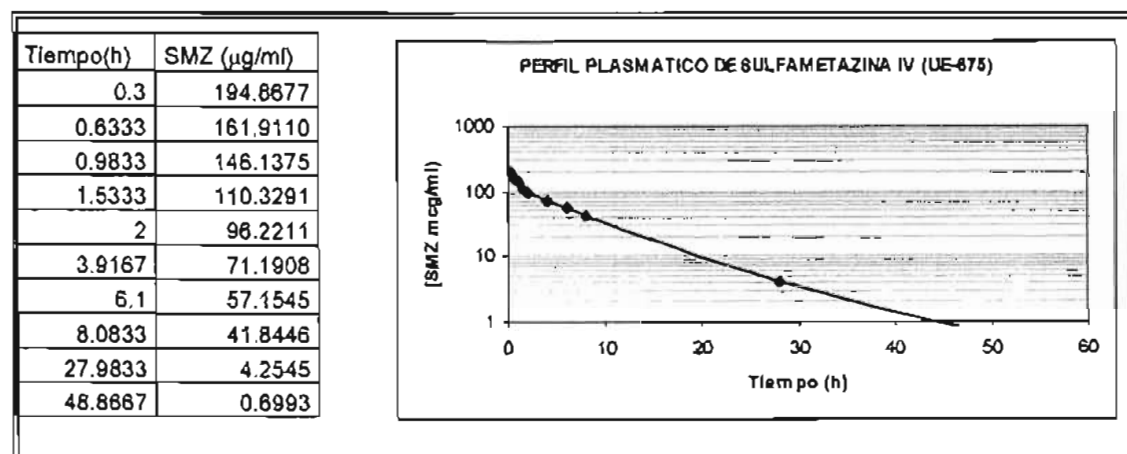


Figura 16. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 669

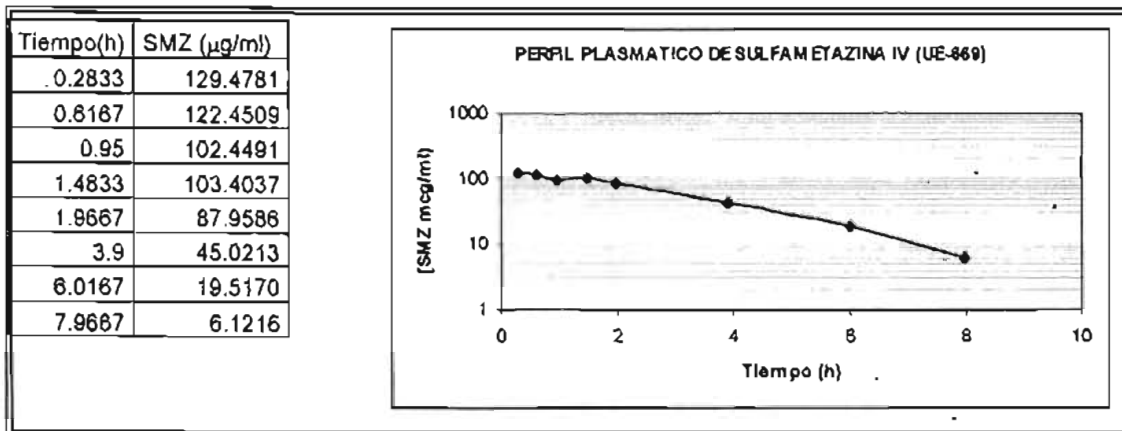


Figura 17. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 673

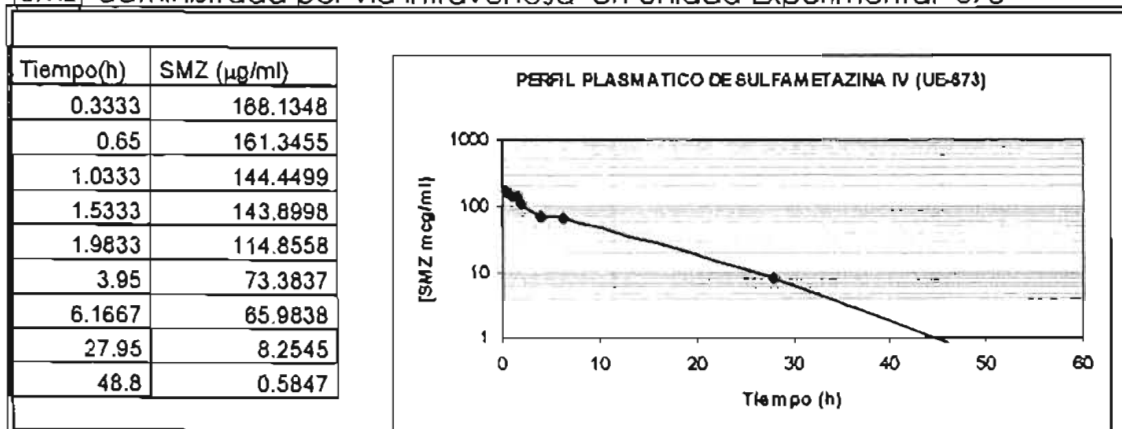


Figura 18. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 339

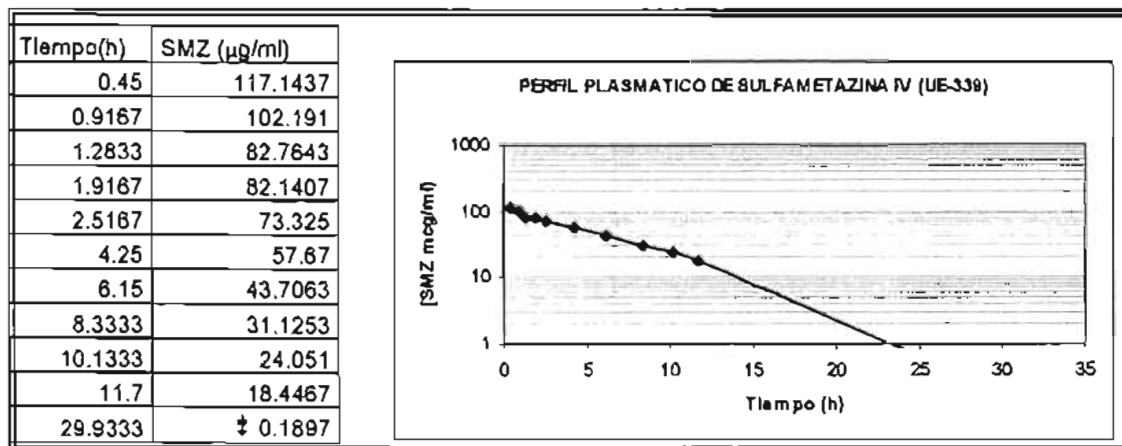


Figura 19. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 345

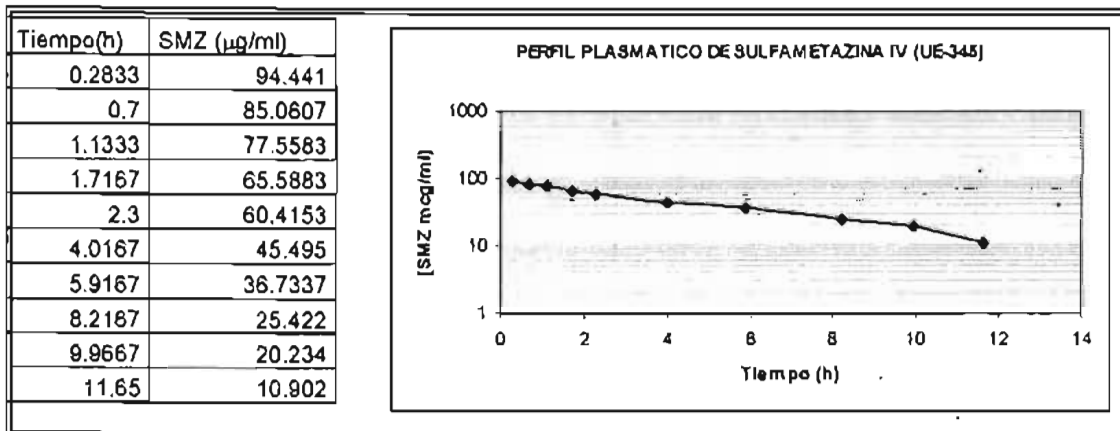


Figura 20. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 348

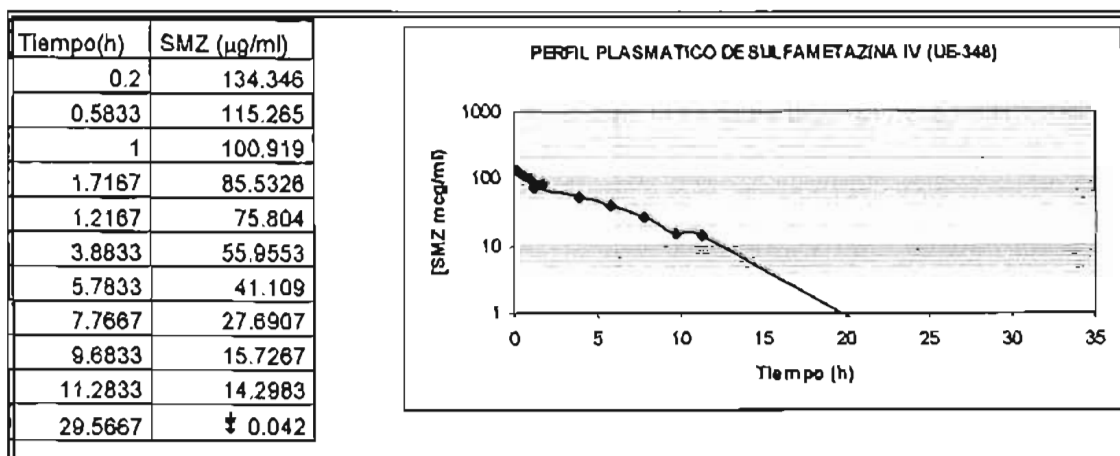


Figura 21. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 849

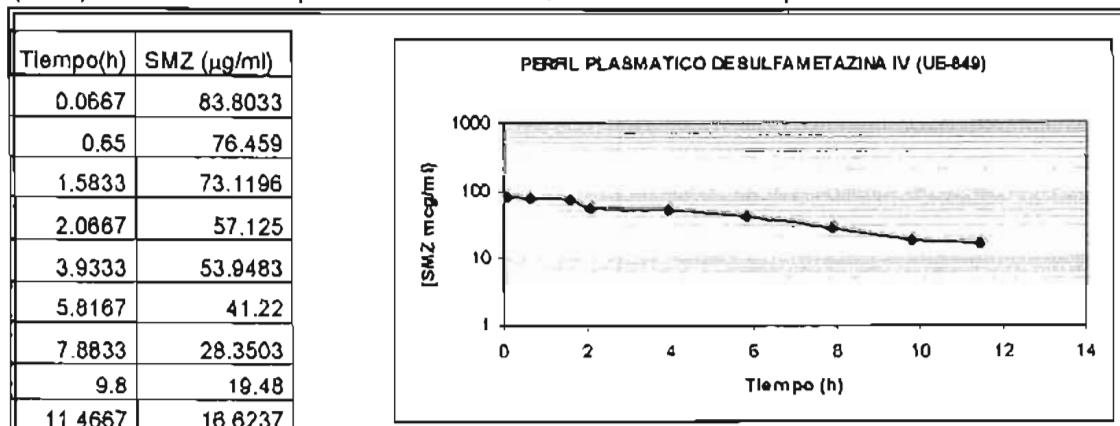


Figura 22. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 349

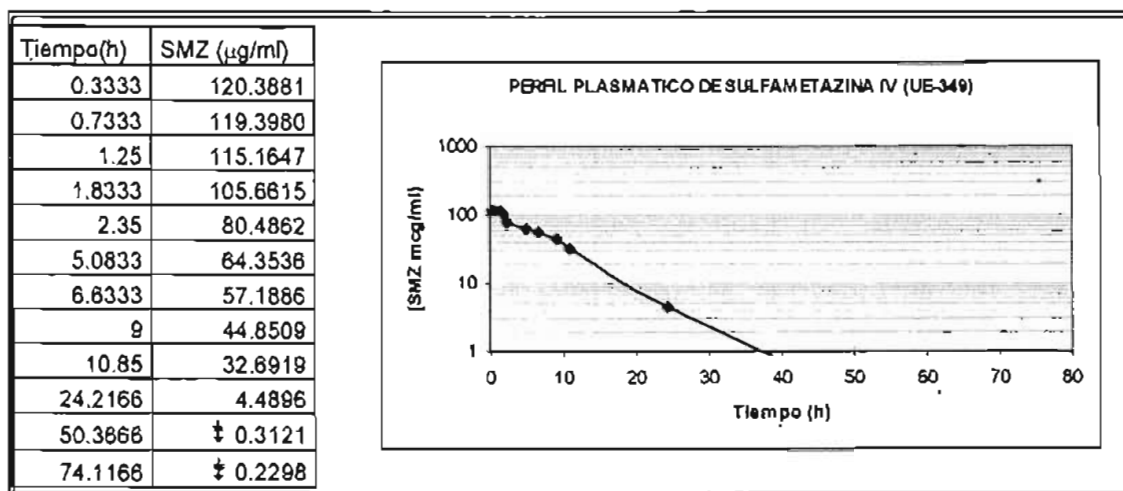
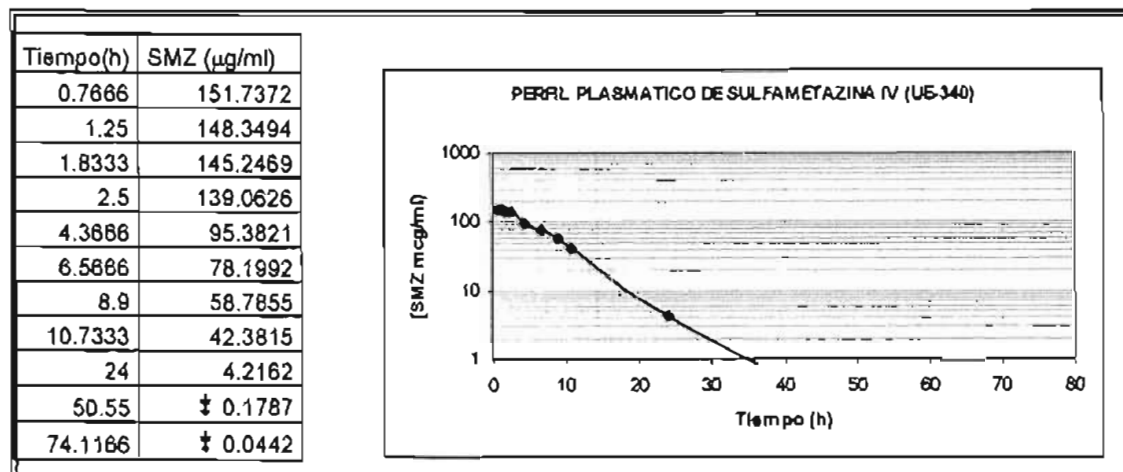


Figura 23. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina (SMZ) administrada por vía intravenosa en Unidad Experimental 340



5.2 Administración oral

Figura 24. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental-673

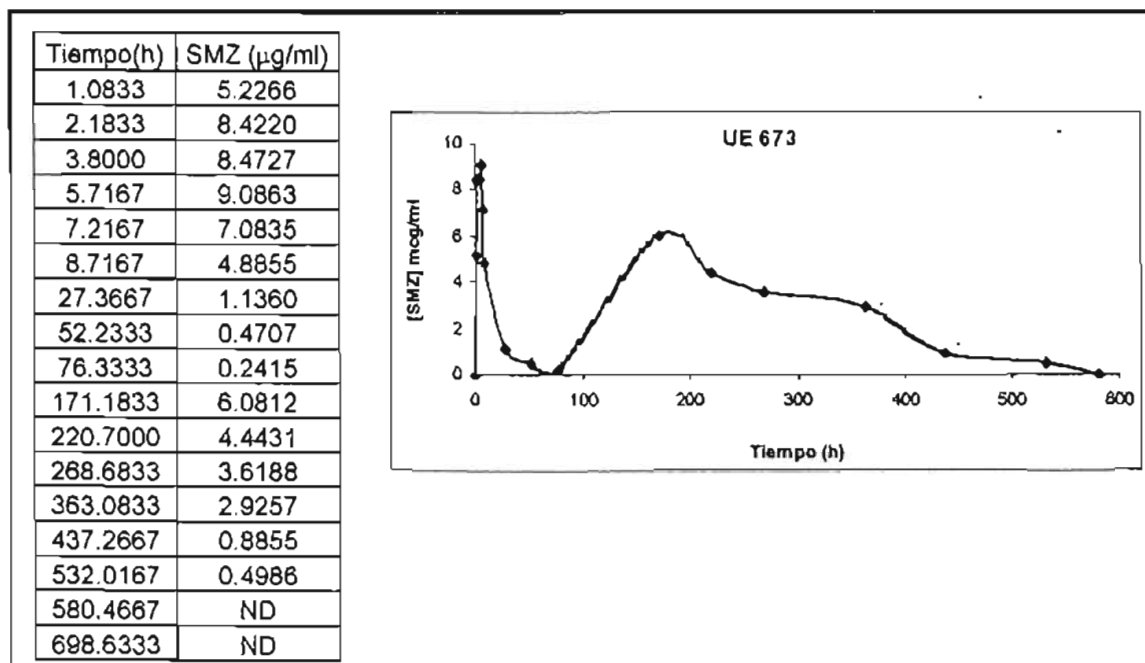


Figura 25. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental-669

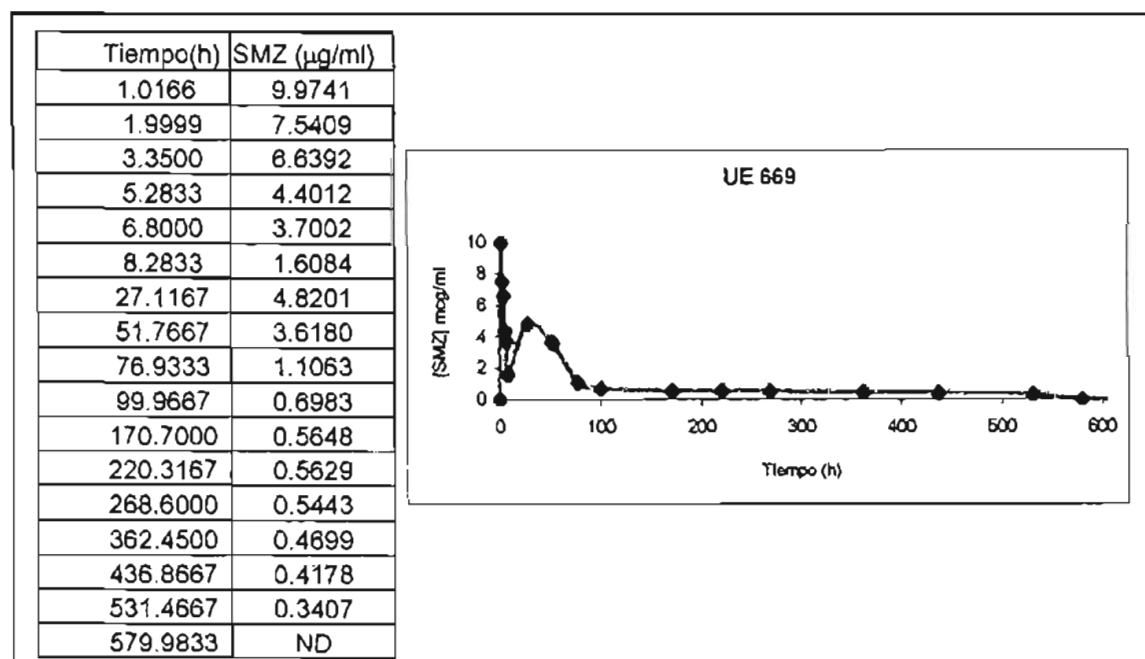


Figura 26. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental-675

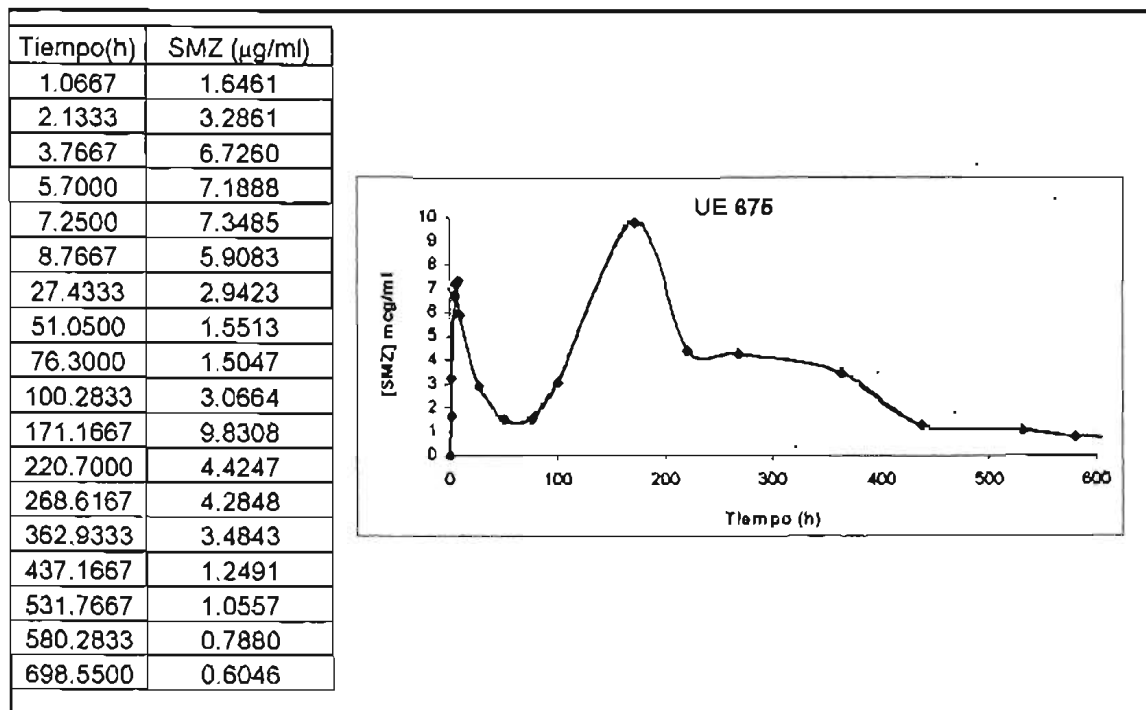


Figura 27. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental-682

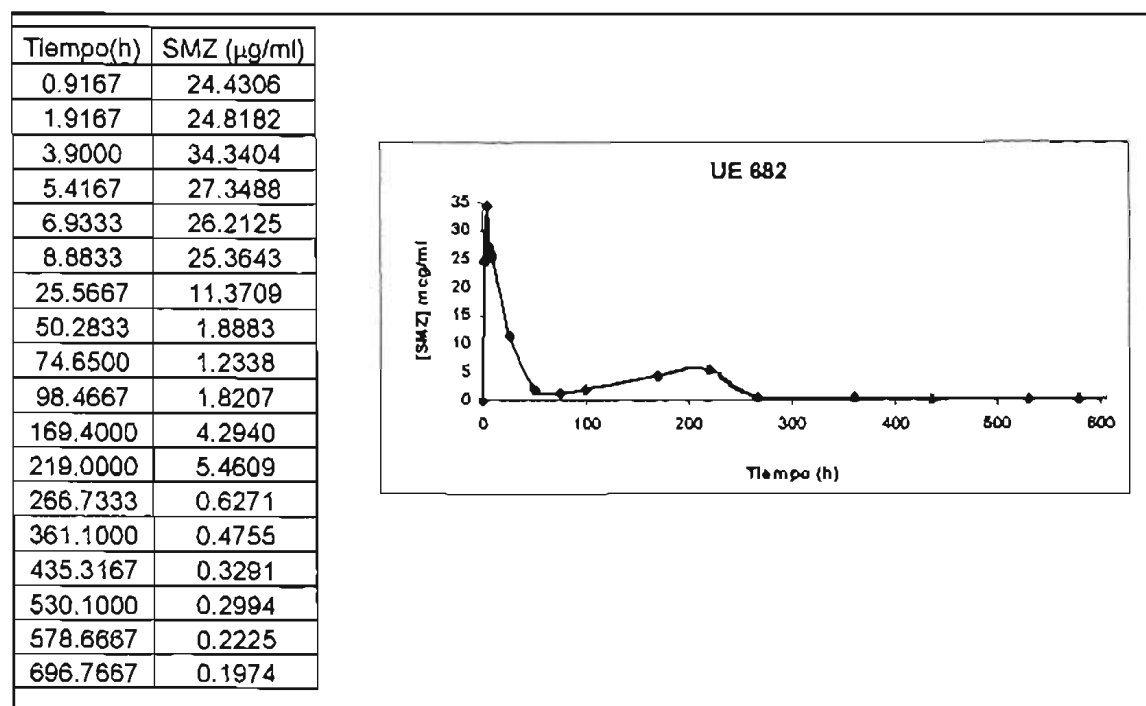


Figura 28. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -684

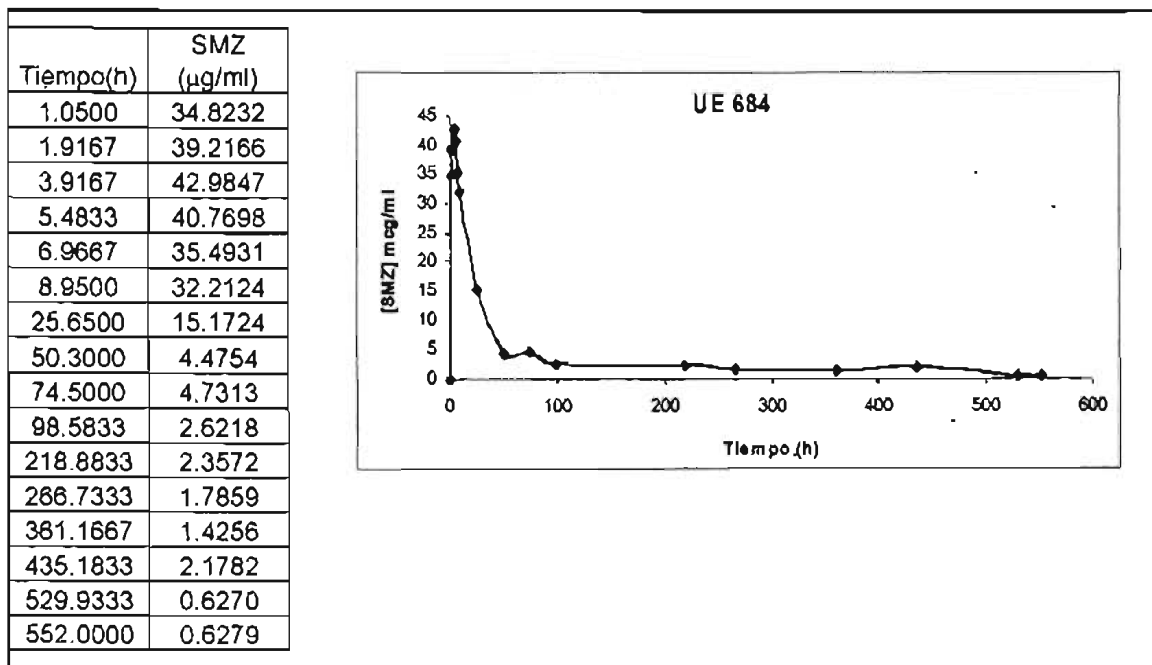


Figura 29. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -683

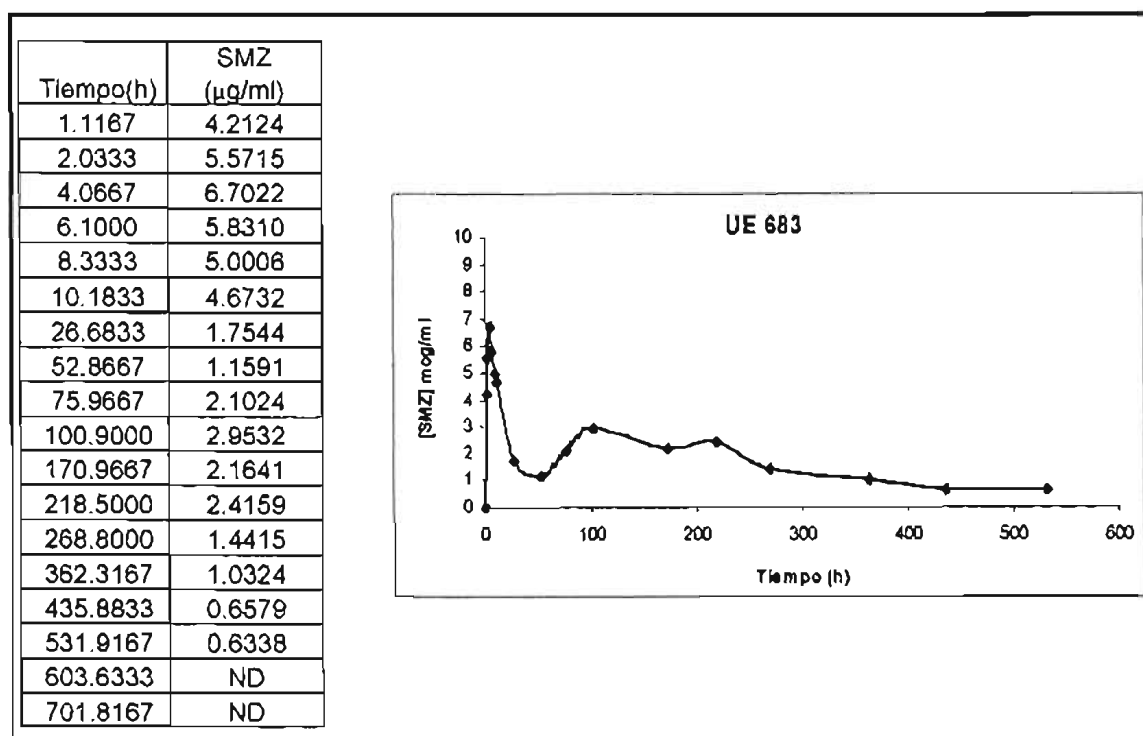


Figura 30. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -680

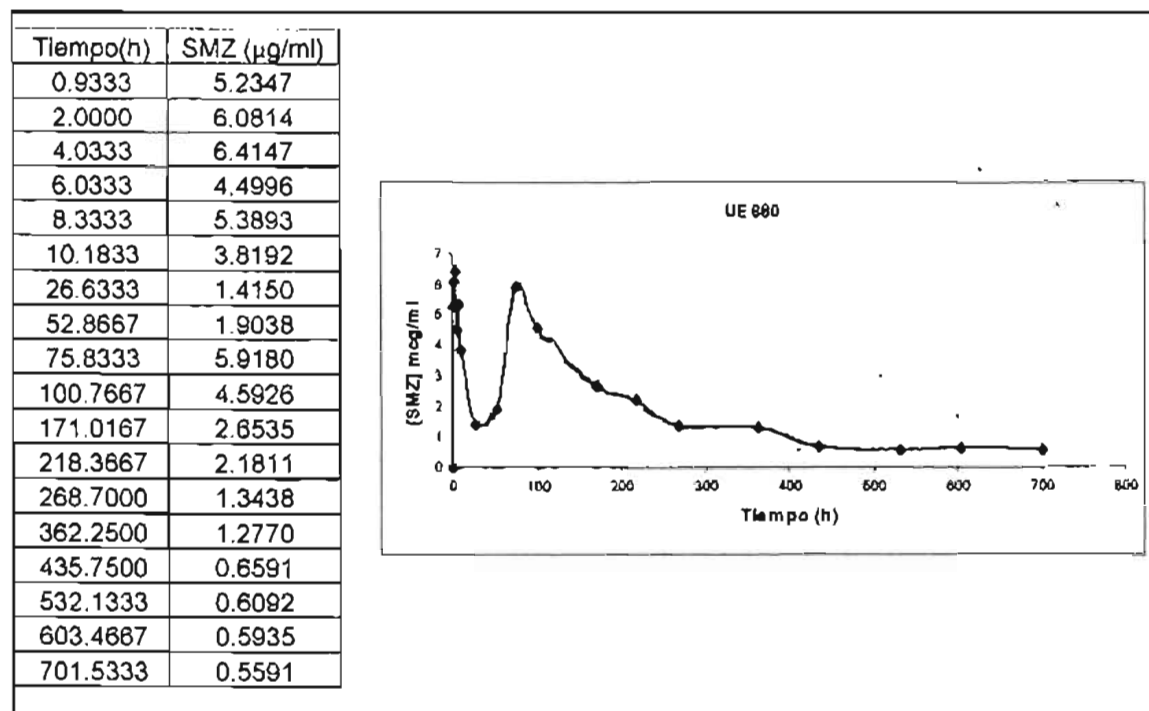


Figura 31. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -674

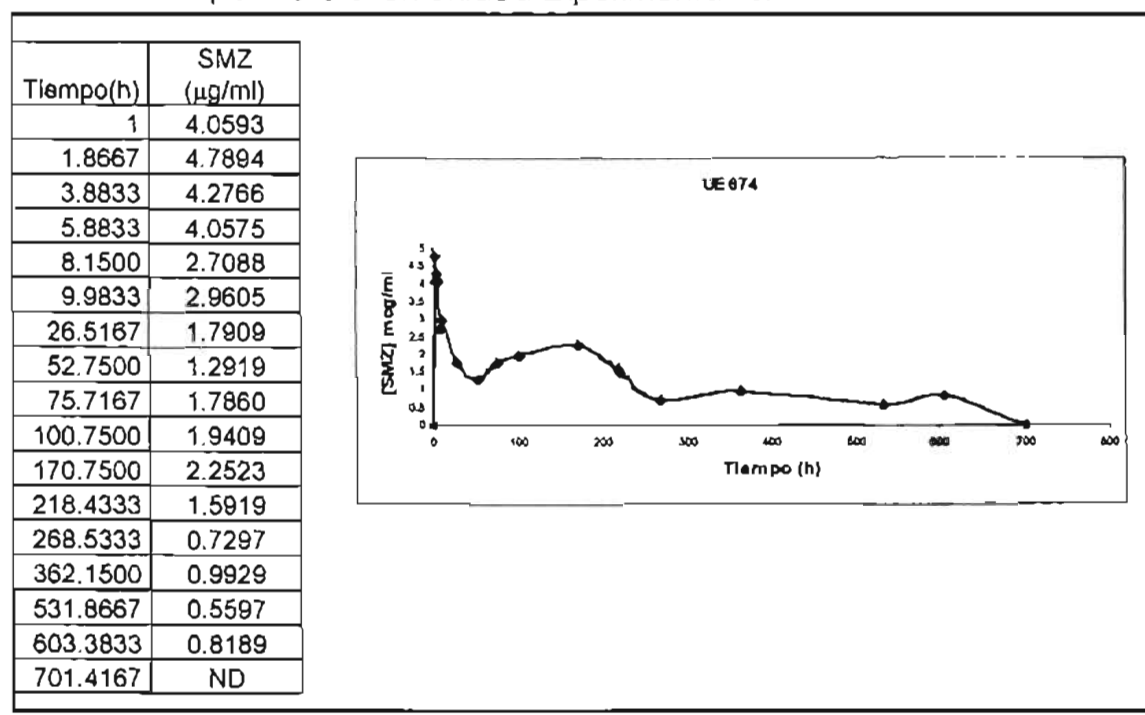


Figura 32. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -661

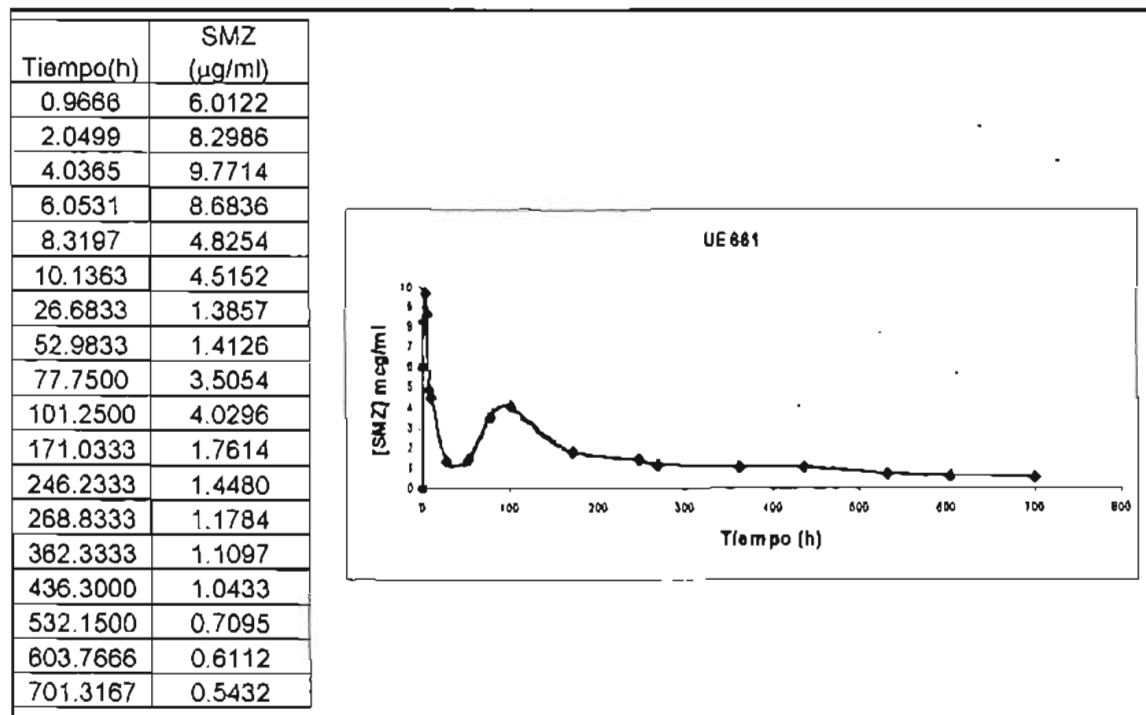


Figura 33. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -849

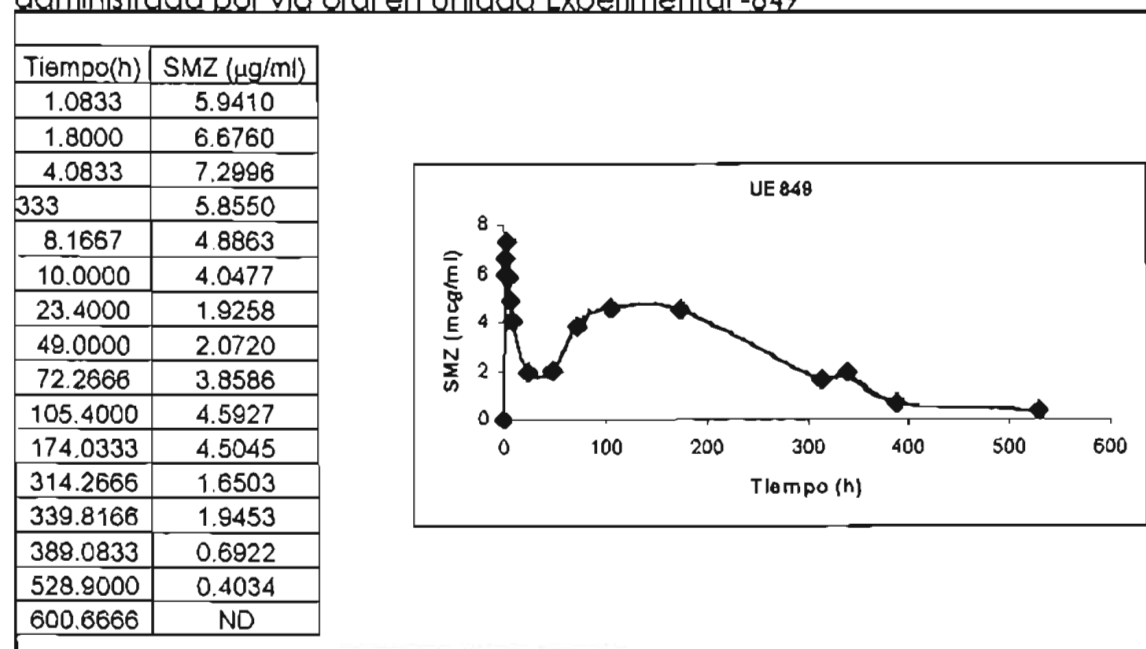


Figura 34. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -345

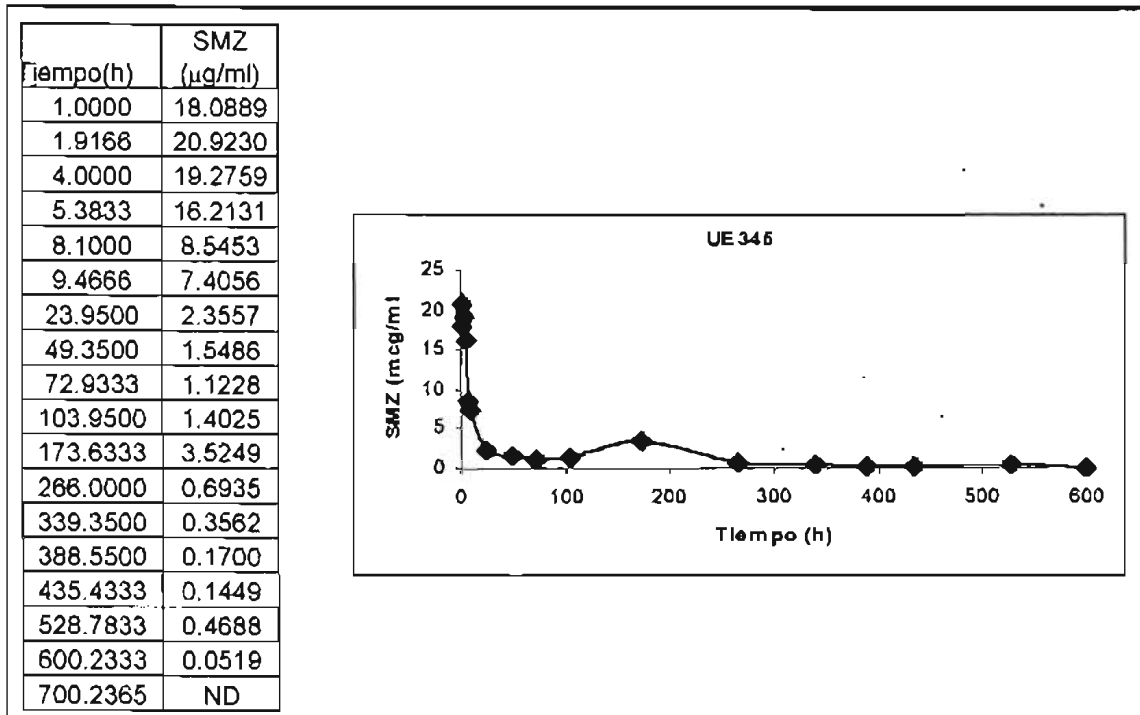


Figura 35. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -348

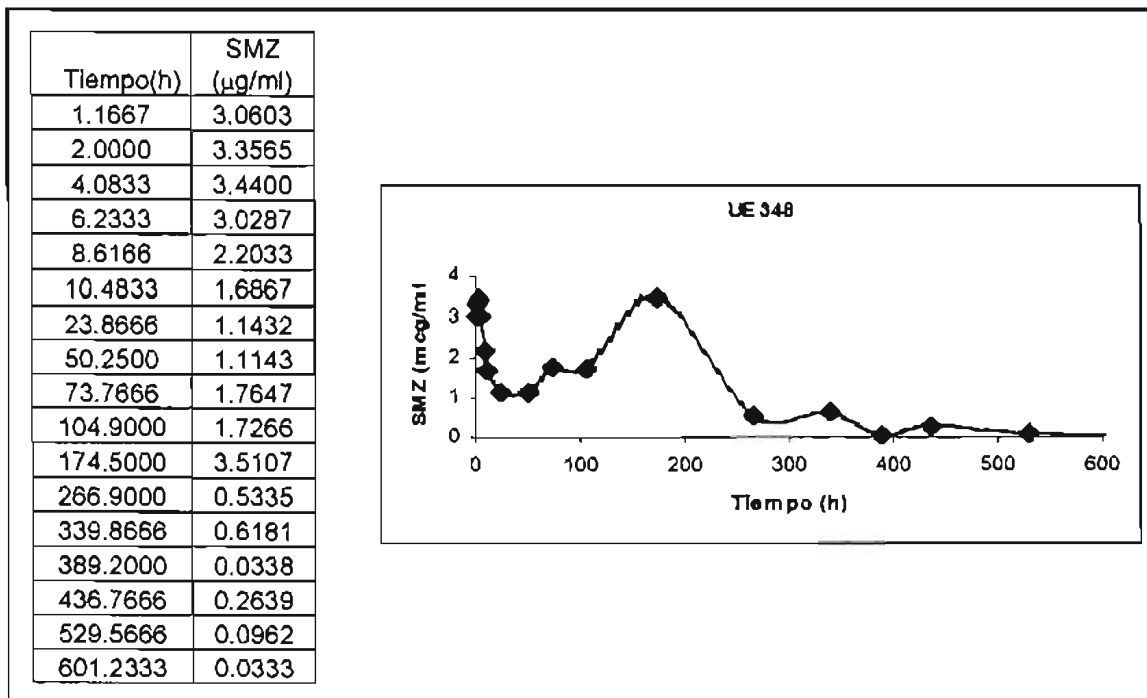


Figura 36. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -339

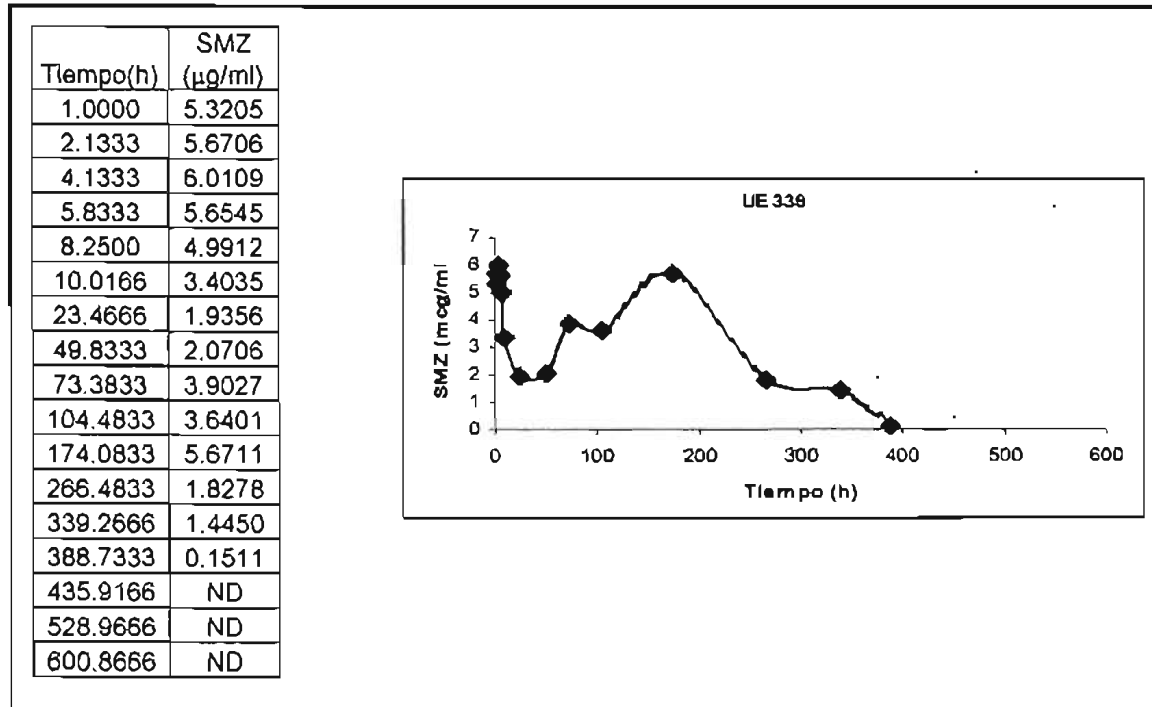


Figura 37. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -340

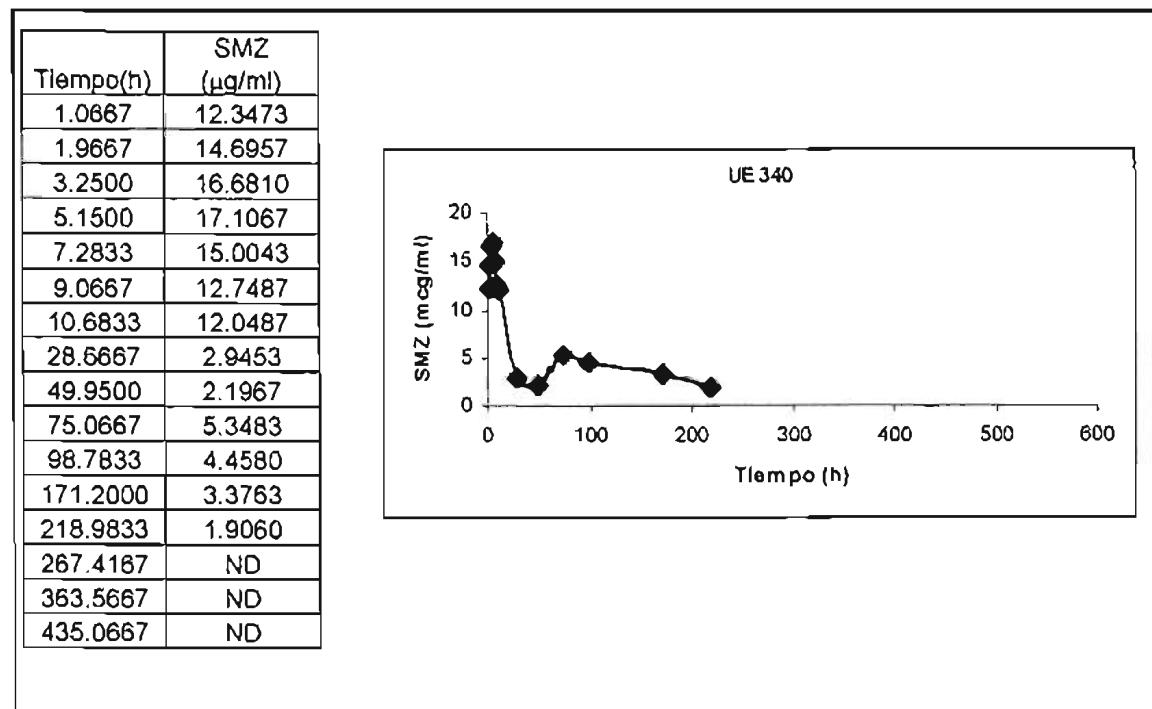
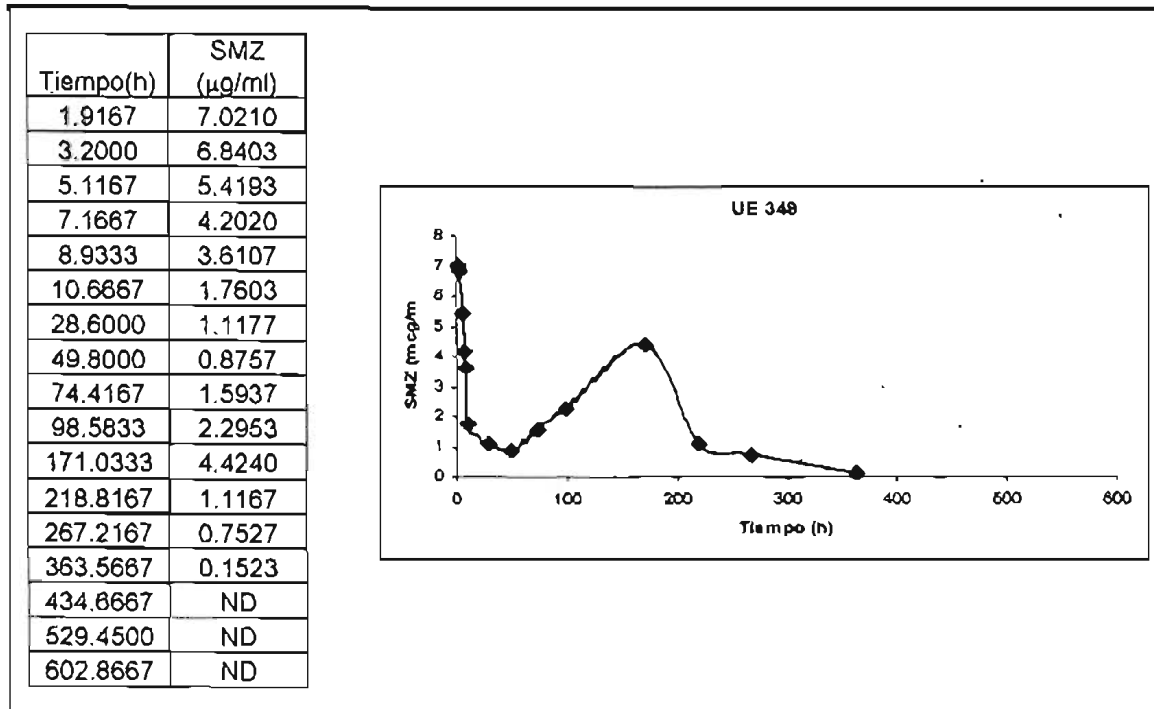


Figura 38. Datos y perfil plasmático de la concentración de sulfametazina administrada por vía oral en Unidad Experimental -349



VI ANÁLISIS DE RESULTADOS

Administración intravenosa

Una vez obtenidos los datos de concentración plasmática de SMZ provenientes de la administración intravenosa, se graficaron vs. el tiempo en escala semilogarítmica (lineal en las abscisas 'tiempo' y logarítmica en las ordenadas 'concentración plasmática'), donde se observó que para la mayoría de las unidades experimentales los datos se ajustaron a una línea recta, lo que indica que posiblemente la cinética del fármaco es de tipo lineal y por tanto el modelo farmacocinético responde a una cinética de primer orden en la que se presenta una proporcionalidad directa entre la velocidad de transferencia y la concentración del fármaco; además se encontró que para algunas de las unidades experimentales (UE 675) la gráfica no es totalmente recta sino que presenta una fracción inicial curva, lo que en farmacocinética lineal compartimental indica que en estas unidades experimentales el fármaco no se distribuyó de forma instantánea, suponiendo la existencia de más de un compartimiento.

Los datos fueron analizados en WINNONLIN aplicando los modelos 1 (bolus intravenoso - un compartimiento) y 7 (bolus intravenoso - dos compartimientos), se eligió el modelo más adecuado para cada una de las unidades experimentales considerando el criterio estadístico de Akaike (AIC) y el coeficiente de variación de los parámetros estimados por el modelo, donde en ambos casos se busca el valor más pequeño. En el **Cuadro 3** se presenta un resumen de los resultados encontrados de este análisis, en este se observa que para la mayoría de los datos existe una diferencia mínima en el criterio de Akaike entre los modelos 1 y 7. En las UE's 849, 340, 349, 673 y 682 el AIC es

menor para el modelo 1 con el que se obtienen los CV's más bajos; en el caso de la UE's 684, 683 y 661 el AIC es relativamente menor con el modelo 7, sin embargo el coeficiente de variación es mucho mayor con respecto al de los parámetros estimados por el modelo 1.

La unidad experimental No. 675 en cambio presenta un mayor ajuste estadístico con el modelo 7 (el criterio de Akaike es significativamente menor) y a excepción de las demás UE los coeficientes de variación son parecidos entre ambos modelos.

Cuadro 3. Comparación de la variabilidad y del criterio de Akaike (AIC) entre los modelos farmacocinéticos mono y bicompartimental, para los datos plasmáticos obtenidos de la administración intravenosa de Sulfametazina.

UE	849		340		349		673		682		684		683		661		675	
	MN	BC	MN	BC	MN	BC	MN	BC	MN	BC	MN	BC	MN	BC	MN	BC	MN	BC
P																		
A	84.797 ±60.3	84.768 ± MM	175.97 ±35.2	175.97 ±1.13	127.69 ±97.2	17.668 ±1.27	179.36 ±15.3	106.85 ±37.9	138.67 ±49.2	154.92 ±66.1	185.79 ±56.2	88.256 ±99.5	106.03 ±52.7	78.03 ±9.16	142.12 ± 64.5	93.400 ± 43.5	187.64 ±49.5	131.59 ±8.83
α	0.1561 ±92.7	0.136 ±1.18	0.126 ±39.5	0.1262 ±0.22	0.1269 ±82.7	0.5027 ±6.272	0.1905 ±54.0	0.3666 ±33.9	0.2536 ±96.4	0.2138 ±52.4	0.1397 ±31.8	0.3408 ±19.3	0.2518 ±46.5	0.5947 ±38.6	0.2191 ±49.2	0.645 ±60.14	0.2447 ±86.4	1.0507 ±18.2
B		0.0051 ± MM		0.0055 ± MM		113.96 ±19.4		79.469 ±87.6	18.406 ±5.48			105.78 ±43.1		43.696 ±7.11		71.130 ±63.97		102.69 ±13.1
β		0.0607 ± MM		0.0609 ± MM		0.1123 ±54.8		0.0794 ±88.8	0.0582 ±4.48			0.072 ±60.6		0.1064 ±5.52		0.1045 ±70.49		0.1055 ±19.50
AIC	46.12	50.909	66.079	70.079	72.702	75.911	59.407	60.699	50.721	49.146	65.22	62.728	67.925	67.495	70.953	67.066	77.889	52.33

M = Modelo: MN = monocompartimental (modelo 1), BC = bicompartimental (modelo 7)

P = Parámetro

MM = Coeficiente de variación mayor a 1000

La farmacocinética de la sulfametazina administrada en ovinos ya ha sido estudiada por varios autores en el **Cuadro 4** se presenta una comparación de algunos parámetros farmacocinéticos encontrados.

Cuadro 4. Parámetros farmacocinéticos de sulfametazina en ovinos reportados en la literatura.

Modelo	t _{1/2} (h)	V _d (l/kg)	Referencia	Ruta	Dosis (mg/kg)
Un compartimiento	7.09	0.327	Bourne (1977)	i.v.	107.5
Un compartimiento	5.87	0.293	Bevill (1977)	i.v.	107.25
Un compartimiento	3.88	0.48	Nawaz & Khan (1979)	i.v.	100
Un compartimiento	3.64	0.37	Nawaz & Nawaz (1983)	i.v.	100
Dos Compartimentos	0.42 _a 9.51 _b	0.474	Youseff (1981)	i.v.	100
Dos Compartimentos	0.14 _a 10.5 _b	0.338	Bulgin (1991)	i.v.	100

_a Fase de distribución _b Fase de eliminación

En estos estudios se ha descrito la evolución de la Sulfametazina en base a modelos farmacocinéticos de uno y dos compartimientos, si se comparan los tiempos de muestreo empleados se observa que se proponen modelos bicompartimentales cuando la toma de muestra se realizó en tiempos más cortos. El empleo de los modelos farmacocinéticos se basa en los datos obtenidos experimentalmente, por lo que estos deben ser lo suficientemente descriptivos del desempeño del fármaco en un organismo dado, cuando la toma de muestra no se realiza en periodos de tiempo cortos, es posible no observar farmacocinéticas que se ajustan a modelos bicompartimentales y considerarlas de un solo compartimiento.

Cuadro 5. Tiempos de muestreo utilizados en estudios farmacocinéticos de sulfametazina en borregos.

Ruta	Referencia	Tiempos de muestreo	Modelo
i.v.	Bourne (1977)	0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48 h	Un compartimiento
i.v.	Bewill (1977)	0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 16, 18, 24, 36, 48 y 60 h	Un compartimiento
i.v.	Bulgin (1991)	5, 10, 15, 30, 45 min, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24, 30, 36, 48, 72, 96, 120 y 144 h	Dos compartimientos

De acuerdo a los datos experimentales derivados de esta tesis el modelo farmacocinético abierto de un compartimiento (MAUC) es el que mejor describe la cinética de los resultados, una vez determinado el modelo farmacocinético que describe matemáticamente la evolución temporal de los niveles de fármaco y en base a los supuestos que el MAUC establece se calcularon los parámetros farmacocinéticos (**Cuadro 6**), exceptuando la unidad experimental 675 donde la evolución de la Sulfametazina se explica en base al modelo abierto de dos compartimientos (MADC), en este caso los parámetros farmacocinéticos se presentan en el **Cuadro 7**.

Cuadro 6. Parámetros farmacocinéticos obtenidos de la administración IV de Sulfametazina correspondientes a un modelo farmacocinético abierto de un compartimiento (MAUC).

Unidad Experimental	K_{el} (h ⁻¹)	Vd (l/kg)	Co (μg/ml)	$t_{1/2}$ (h)	ABC (μg/ml)'hora
339	0.1645	0.8623	115.84	4.212	703.96
340	0.1262	0.5676	175.978	5.492	1394.32
345	0.172	0.926	94.623	4.0261	549.612
348	0.2156	0.7894	126.537	3.4127	586.878
349	0.1269	0.7823	127.6984	5.4607	1006.026
669	0.2974	0.3617	145.5656	2.3302	489.3734
673	0.1905	0.395	179.3633	3.638	941.3986
674	0.2668	0.6491	149.396	2.5978	559.917
680	0.1124	0.9312	104.146	6.1632	926.036
682	0.2138	0.5268	154.924	3.2416	724.532
684	0.1397	0.4393	185.791	4.9609	1329.744
849	0.136	1.1781	84.7975	5.0816	622.649
685	0.0962	0.9751	99.0532	7.2021	1029.21
683	0.2518	0.6307	106.037	2.7527	421.112
661	0.2191	0.6672	142.1258	3.1629	648.5347
Media	0.1819	0.7121	132.7917	4.2490	795.5535
Desviación estándar	0.0607	0.2359	32.3443	1.4284	297.5525
Coefficiente de variación	33.3823	33.1273	24.3571	33.6170	37.4020

Cuadro 7. Parámetros farmacocinéticos para una administración IV de Sulfametazina correspondientes a un modelo abierto de dos compartimientos (MADC), obtenidos de los datos plasmáticos de la UE 675.

Parámetro	Símbolo	Estimado	Unidades
Concentración inicial (fase α)	A_0	131.5954	$\mu\text{g/ml}$
Concentración inicial (fase β)	B_0	102.6977	$\mu\text{g/ml}$
Constante de disp. α	α	1.0507	h^{-1}
Constante de disp. β	β	0.1055	h^{-1}
Constante de distribución	k_{12}	0.4231	h^{-1}
Constante de retorno	k_{21}	0.5198	h^{-1}
Constante de eliminación	k_{el}	0.2133	h^{-1}
Volumen c. central	V_c	0.5055	l/kg

Los Supuestos considerados en un MAUC son los siguientes:

- ↓ A tiempo cero existe una C_p^0 o en otras palabras todo entra instantáneamente.
- ↓ La distribución de cualquier cantidad de fármaco que entra al compartimiento es instantánea.
- ↓ El proceso de eliminación tiene una cinética de primer orden caracterizada por K_{el} (La K_{el} involucra todos los procesos mediante los cuales el fármaco deja de existir dentro del organismo por lo cual también se le denomina K_{global}).

Observamos que el volumen de distribución promedio ($0.7121 \pm 0.1002 \text{ L}$) es mayor en comparación con los reportados (0.327 Bourne en 1977, 0.293 Bevill en 1977, 0.48 Nawaz & Khan en 1979 y 0.37 Nawaz & Nawaz en 1983) mientras que el $t_{1/2}$ promedio ($4.249 \pm 0.6066 \text{ h}$) es cercano a los valores reportados por Bevill 1977 (5.87 h), Nawaz & Khan 1979 (3.88 h) y Nawaz & Nawaz 1983 (3.64 h).

Administración oral

Los perfiles plasmáticos de sulfametazina obtenidos de la administración del bolo de liberación prolongada se muestran en la sección de resultados, solo se presentan datos de 15 de las 16 unidades experimentales iniciales, ya que la 685 murió durante el estudio.

Cuando se administra un fármaco contenido en un medicamento de liberación prolongada se espera un perfil de liberación parecido al de la **Figura 39**, el cual se caracteriza por una prolongada fase de absorción y una lenta fase de eliminación.

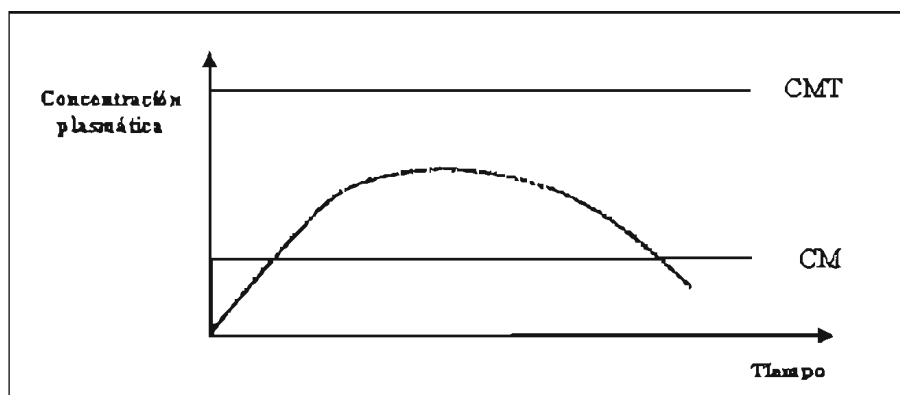


Figura 39. Perfil plasmático de fármacos en medicamentos de liberación prolongada.

El bolo de sulfametazina obtenido de la administración del bolo produjo un perfil plasmático de forma característica (**Figura 40**) en las que se distinguen de forma general dos fases, la primera de liberación inmediata y una segunda fase de liberación prolongada, representadas por la presencia de dos máximos de concentración (**Cuadro 8**).

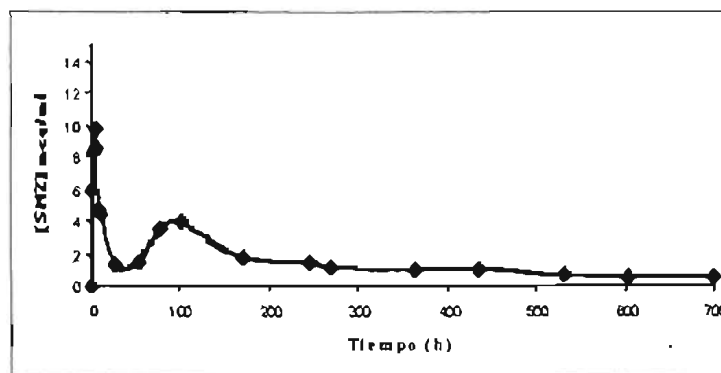


Figura 40. Perfil plasmático de bolos de SMZ de liberación prolongada

La fase de liberación inmediata pudo ser generada por el fármaco que se encontraba distribuido en la superficie del bolo, mientras que el demás fármaco tuvo que difundir a través del bolo y así generar la fase de lenta liberación.

A partir de los perfiles se extrajeron los parámetros modelo independientes C_{max} y T_{max} ; para la mayoría de las unidades experimentales el máximo de concentración 1 corresponde con el C_{max} que en promedio se presentó a las 3.8 ± 0.8166 h; con excepción de las unidades experimentales 675 y 348 cuya C_{max} se presentó en el máximo de concentración plasmática 2 a las 172.83 ± 1.1927 h. Los bolos produjeron una C_{max} que en promedio fue de 13.051 ± 5.7962 µg/ml.

Los datos experimentales muestran que el bolo produce en promedio niveles plasmáticos detectables de SMZ en borregos por 520 horas, esto es que la sulfametazina se mantuvo alrededor de 22 días en circulación;

Cuadro 8. Máximos de concentración de los perfiles plasmáticos del bolo de sulfametazina.

Unidad Experimental	Maximo1	Tiempo 1	Maximo2	Tiempo 2
339	6.0109	4.1333	5.6711	174.08
340	17.1067	5.1500	5.3483	75.07
349	7.0210	1.9167	4.4240	171.03
345	20.9230	1.9166	3.5249	173.63
849	7.2996	4.0830	4.5927	105.40
661	9.7714	4.0365	4.0296	101.25
674	4.7894	1.8667	2.2523	170.75
680	6.4147	4.0333	5.9180	75.83
683	6.7022	4.0667	2.9532	100.90
684	42.9847	3.9167	4.7313	74.50
682	34.3404	3.9000	5.4609	219.00
669	9.9741	1.0166	4.8201	27.12
673	9.0863	5.7167	4.4431	220.70
675	7.3485	7.2500	9.8308	171.17
348	3.4400	4.0833	3.5107	174.50
Media	12.8809	3.8057	4.7674	135.6622
Desviación estándar	11.5254	1.6136	1.7349	58.8148

La concentración mínima efectiva (CME) de sulfametazina reportada es de $50\mu\text{g/ml}$, es evidente que el bolo no produce estas concentraciones, pero aun así cumple con el efecto terapéutico deseado para el tratamiento de la coccidiosis, esto ya se ha evaluado, primero en el trabajo de Chávez (2000) en donde se observó una disminución significativa en el conteo de ooquistes, ya que las cuentas pasaron de 109,400 en el inicio a 1,100 en 11 días, manteniéndose así por 29 días. Además en otro trabajo alterno al estudio de biodisponibilidad de los bolos en ovinos, se evaluó la efectividad mediante el conteo de ooquistes en 5 de las unidades experimentales de raza columbia, este trabajo es parte de la tesis aun no publicada de Cruz (2004), En la **Figura 41** se observa una disminución considerable al pasar de 17,920 a 5,300 en siete días, disminuyendo hasta 120 en el día 10 y además, el efecto se mantiene hasta el último conteo tomado el día 39.

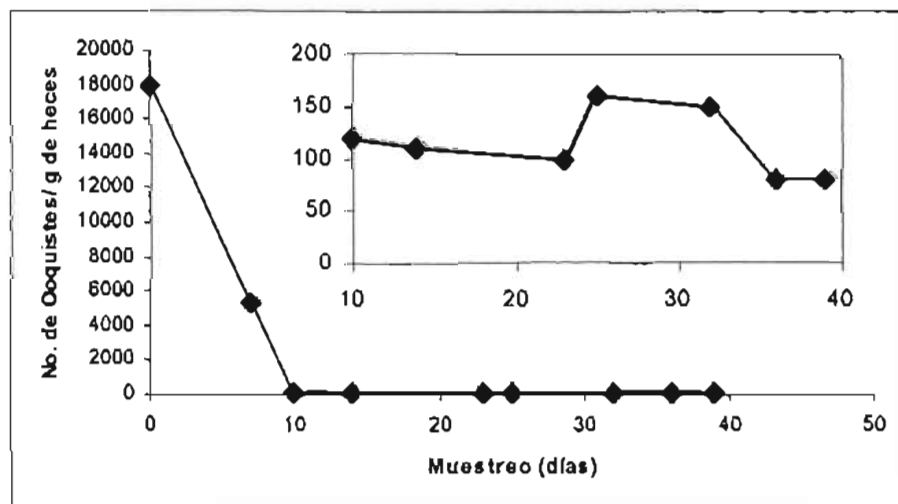


Figura 41. Eliminación promedio de ooquistes en ovinos tratados con bolos intraruminales de sulfametazina sódica; Cruz, 2004.

Por lo que la formulación del bolo de Sulfametazina es adecuada para el tratamiento de la coccidiosis al producir una liberación prolongada del fármaco, si después de 520 horas sigue existiendo liberación, indirectamente se supone que aun hay fármaco en el sitio de acción y que por lo tanto la acción terapéutica.

Biodisponibilidad.

Se calculo el ABC por el método trapezoidal de c/u de los perfiles, tanto para la administración oral como intravenosa (**Cuadro 9**), con la finalidad de determinar la biodisponibilidad absoluta del bolo de sulfametazina. Sin embargo, en el caso de la administración oral no fue posible obtener un modelo farmacocinético que describa la evolución *in vivo* de los bolos, por lo que no se realizó la extrapolación al infinito, se considero solo el ABC de 0 a t, donde t es el tiempo en el que se obtuvo la última concentración mayor o igual al límite de cuantificación (0.5µg/ml). Por lo tanto no se obtuvo la biodisponibilidad absoluta de los bolos, si no una biodisponibilidad relativa.

Cuadro 9. Valores de Área Bajo la Curva (ABC) y calculo de Biodisponibilidad (F) de bolos de sulfametazina sódica.

Unidad Experimental	ABC _{Bolo} (µg/ml)*h	ABC _{iv} (µg/ml)*h	Dosis _{Bolo} (mg/kg)	Dosis _{iv} (mg/kg)	F
675	2060.8229	1196.96	228.7875	65.2987	0.4914
673	1416.3105	1540.32	215.3294	70.9768	0.3031
669	388.1495	460.3	178.5658	52.6602	0.2487
682	1380.971	930.34	261.4714	81.6233	0.4634
684	1990.0135	1871.21	281.5846	81.6233	0.3083
680	1171.3915	974.1693	246.6695	96.9852	0.4728
674	765.1544	538.8707	245.4275	96.9852	0.5611
661	1032.6696	805.326	213.4548	94.8300	0.5697
683	869.9772	531.583	194.5172	66.8863	0.5627
349	637.7303	1031.5894	261.4714	99.9000	0.2362
340	1025.9747	1381.9623	366.06	99.9000	0.2026
339	1156.1654	729.5755	332.7818	99.9000	0.4757
345	695.3034	548.8439	261.4714	87.6315	0.4246
348	576.3894	619.3138	305.05	99.9000	0.3048
849	1209.8092	610.5188	366.06	99.9000	0.5408

.En promedio los bolos de sulfametazina tienen una biodisponibilidad del 41.1054 ± 6.6092 % (**Cuadro 10**).

Cuadro 10. Biodisponibilidad de los bolos de sulfametazina sódica.

UE	Biodisponibilidad (%)
849	54.0793
345	42.4582
348	30.4789
339	47.5725
340	20.2607
349	23.6195
661	56.9678
683	56.2751
674	56.1108
680	47.2778
684	30.8275
682	46.3375
675	49.1397
669	24.8687
673	30.3082
Media aritmética	41.1054
Desviación estándar	13.0601
Coeficiente de Variación	31.7723

Análisis Estadístico.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el logaritmo natural del Área Bajo de la Curva ajustada de acuerdo a la dosis (LN ABC_Dosis) usando los procedimientos de Modelos Lineales Generales (GLM) de STATGRAPHICS 4.0 (Anexo 1), el modelo estadístico incluye factores que dan cuenta de las siguientes fuentes de variación: Secuencia, UE anidadas en secuencias, Período y Tratamiento (formulación)

Considerando que las suposiciones en que se basa el análisis de ANOVA, se puede interpretar de la siguiente manera:

- ↳ Los individuos elegidos para el estudio fueron asignados en forma aleatoria a una de las secuencias del estudio.
- ↳ Los efectos principales del modelo estadístico, como efecto del individuo, secuencia, período y tratamiento para un estudio estándar cruzado 2 X 2, deberán ser aditivos. No deberá haber ninguna Interacción entre estos efectos.
- ↳ Los residuales del modelo deberán estar distribuidos en forma independiente y normal.

Cabe mencionar que este análisis estadístico esta establecido para la determinación de bioequivalencia, sin embargo fue aplicado para conocer el efecto de los factores de estudio en el LN del ABC.

Análisis de varianza para LN ABC_Dosis

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrados medios	F	P-Value
Modelo	10.9695	16	0.685593	9.91	0.0001
Residuales	0.899304	13	0.0691773		
Total (Corr.)	11.8688	29			

Suma de cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrados medios	F	P-Value
Periodo	0.00068734	1	0.00068734	0.01	0.9221
Secuencia	0.218091	1	0.218091	3.15	0.0992
Tratamiento	6.21563	1	6.21563	89.85	0.0000
UE(Secuencia)	4.30329	13	0.331023	4.79	0.0041
Residuales	0.899304	13	0.0691773		

El modelo es estadísticamente significativo con un nivel de confianza del 99%, por lo que el Ln del ABC se relaciona con los cuatro factores de estudio, con una r^2 ajustada del 83.0973%.

La segunda tabla evalúa la significancia estadística de cada uno de los factores del modelo, en la cual se observa que el único factor no significativo es el Periodo ($P > 0.1$).

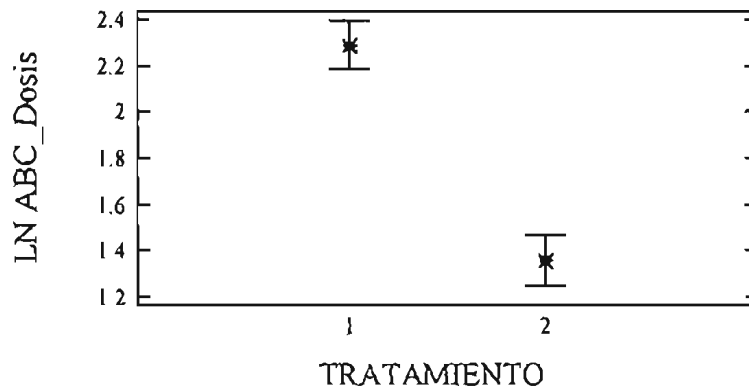


Figura 42. Medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre tratamientos ($P < 0.05$).

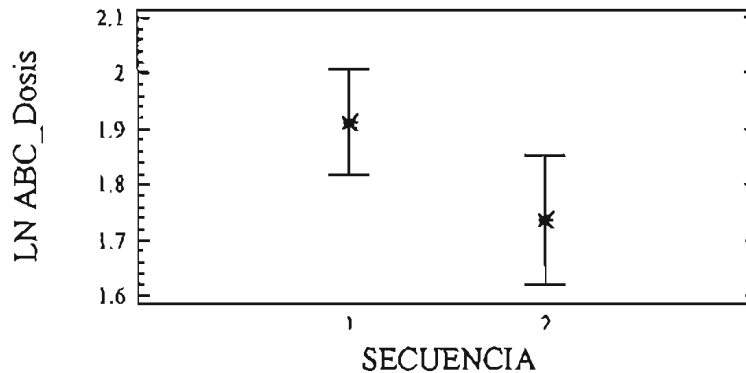


Figura 43. Medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre secuencias ($P < 0.05$).

La diferencia estadística entre las medias de cada tratamiento es un resultado esperado ($P < 0.1$), ya que se trata de dos formulaciones distintas administradas por diferente vía y que de acuerdo con los objetivos de este estudio no pretende funcionar de forma comparable, ya que la

administración intravenosa de SMZ tiene con finalidad principal la determinación de la biodisponibilidad absoluta de los bolos.

También se presenta un efecto estadístico de secuencia ($P < 0.1$), es decir, una diferencia entre la respuesta promedio del grupo de secuencia uno y el grupo de secuencia dos. Entre las causas posibles se puede considerar la gran variabilidad que existe entre los individuos de estudio, ya que se utilizaron unidades experimentales de distinta raza y sexo, que además no estaban balanceados en el diseño experimental (ver Tabla 2).

Para la evaluación del efecto de la raza y sexo en la farmacocinética de la sulfametazina se realizó un análisis de varianza, con los parámetros farmacocinéticos obtenidos de la administración intravenosa.

Se evaluó el efecto raza y sexo, para cada uno de los parámetros, variando el nivel de probabilidad hasta encontrar algún efecto estadísticamente significativo (Anexo 2).

La raza tiene un efecto estadístico significativo en el volumen de distribución de la sulfametazina, ($P < 0.05$), en los borregos de raza Columbia la sulfametazina tiene un menor volumen de distribución (Vd) en comparación con los de raza pelibuey (Figura 44); el Vd es una medida del grado de distribución, ha sido reportado (Bewill, 1977) que la sulfametazina se distribuye a través de varios tejidos corporales y que esta distribución está ligada con el grado de perfusión, ya que las concentraciones más altas se encuentran en riñón, hígado, corazón en comparación con músculo, concentración que a la vez es mucho más alta que en tejido adiposo. De forma general es sabido que la raza Pelibuey es de una conformación carnica relativamente mayor a la Columbia, esta diferencia en masa muscular podría explicar la diferencia en el Vd.

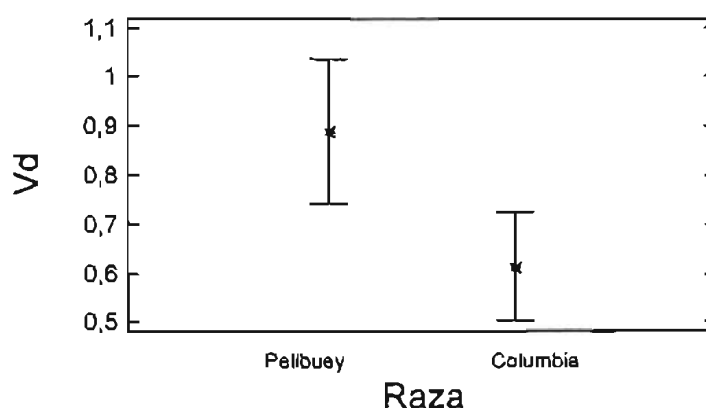


Figura 44. Comparación de medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre el Vd de ambas razas.

Con respecto a la Concentración plasmática inicial (C_0) que esta estrictamente relacionada con el volumen de distribución (entre mayor sea volumen de distribución se alcanzara una concentración plasmática más baja), en consecuencia también se encontró una diferencia estadística aunque con menor nivel de confianza ($P < 0.35$) entre las medias de la C_0 de cada raza; así la raza Pelibuey que tiene un V_d estadísticamente mayor alcanza una C_0 menor en comparación con la de la raza Columbia (Figura 45).

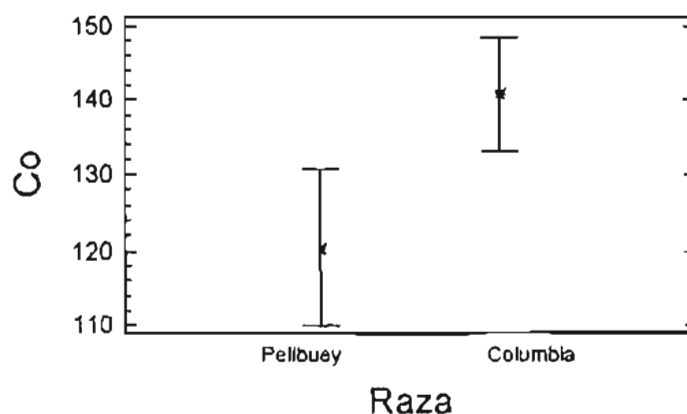


Figura 45. Comparación de medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre la C_0 de ambas razas.

Por otro lado, la raza también tiene un efecto estadístico en la constante de eliminación (K_{el}), ya que en la raza Pelibuey la constante de eliminación es significativamente menor a la de la raza Columbia ($P < 0.15$), este parámetro farmacocinético también puede relacionarse con el V_d , ya que al distribuirse más ampliamente tardará mayor tiempo en eliminarse (Figura 46).

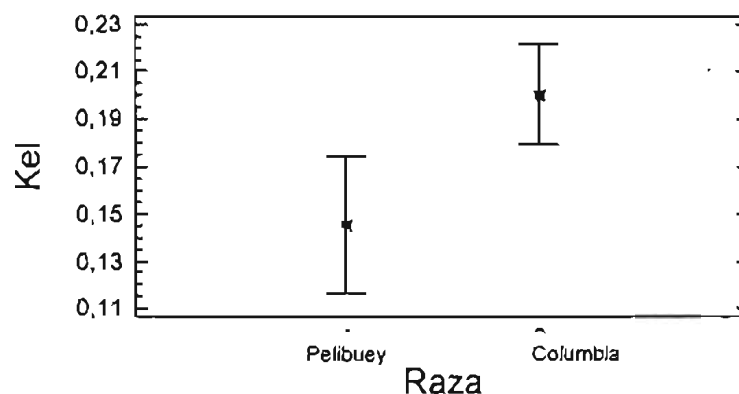


Figura 46. Comparación de medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre la K_{el} de ambas razas.

En el tiempo de vida media por su parte se encontró un efecto estadístico debido a la raza y además, a diferencia de los demás parámetros farmacocinéticos también por el factor sexo ($P < .30$), Figura 47.

La variación del $t_{1/2}$ guarda una relación inversa con la K_{el} , dada por la ecuación:

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{K_{el}}$$

Se han reportado (Wilkamp, 1992) varios efectos de factores fisiológicos y patológicos que afecta el metabolismo de la sulfametazina, estos incluyen farmacocinética dependiente de la dosis en humanos recién nacidos, en ganado vacuno y cabras; dependencia de la edad en ganado vacuno y efecto debido al sexo en ratas y cabras. A sí mismo se ha observado que algunas hormonas están involucradas en la regulación del metabolismo de fármacos; por lo que el efecto del sexo ha sido asociado con reacciones de biotransformación que puede ser influenciadas por hormonas entre las cuales se encuentra la conjugación glucuronica, que es uno de los procesos que sufre la SMZ para su eliminación en rumiantes.

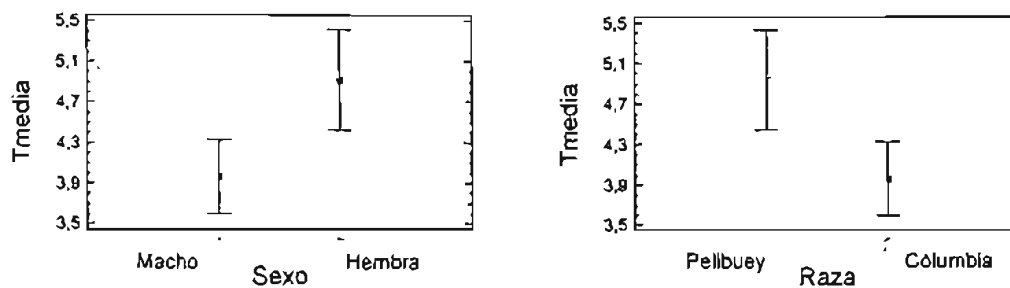


Figura 47. Comparación de medias e intervalos de diferencia mínima significativa entre el $t_{1/2}$ de ambas razas y sexos.

VII CONCLUSIONES

- ✚ Los parámetros farmacocinéticos obtenidos de la administración intravenosa de sulfametazina fueron: volumen de distribución promedio de 0.6518 ± 0.1374 y 0.8509 ± 0.1606 litros además un tiempo de vida media promedio de 4.2149 ± 1.1157 y 4.6141 ± 0.6892 h para la razas columbia y pelibuey respectivamente.
- ✚ Las concentraciones plasmáticas del bolo de sulfametazina alcanzaron una Concentración plasmática máxima de $13:051 \pm 5.7962$ $\mu\text{g/ml}$ a un tiempo máximo de 3.8 ± 0.8166 h y se detectaron por un periodo promedio de 520 horas, esta concentración esta por debajo de la concentración mínima efectiva de 50 $\mu\text{g/ml}$, pero se obtuvo un efecto terapéutico adecuado para el tratamiento de la coccidiosis este efecto se determino al observar una disminución significativa en el conteo de ooquistes.
- ✚ La Biodisponibilidad de los bolos de sulfametazina sódica de liberación prolongada fue del 41.1054 ± 6.6092 %.
- ✚ Se encontró que los parámetros farmacocinéticos obtenidos de la administración intravenosa de sulfametazina en ovinos, tales como Volumen de distribución ($P < 0.05$), Concentración plasmática inicial ($P < 0.3$), Constante de eliminación ($P < 0.15$) y $t_{1/2}$ ($P < 0.3$) se ven afectados estadísticamente de manera principal por el factor raza (Pelibuey y Columbia), además en el caso del t_{tiempo} de vida media también existe un efecto significativo debido al sexo; estos efectos se explican en base a las diferencias fisiológicas entre ambas razas y por la interacción hormonal en la reacciones de biotransformación, respectivamente.

VIII REFERENCIAS

1. Adams, Richard. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 7ma ed. USA: University Press, 1995:962-979.
2. Añache J.M. *Biofarmacia. El Manual Moderno*, México, 1983:3-11, 92-93, 276-314.
3. Amador, González E. *Fabricación de un bolo de liberación prolongada con sulfametazina sódica para el tratamiento de coccidiosis en cabras*. Tesina Especialización en Procesos Farmacéuticos. México: UNAM 1999.
4. Bañuelos, G.V.E. *Estudio de la presencia del protozooario Eimeria en explotaciones ovinas con diferentes sistemas de manejo*. Tesis de Licenciatura. M.V.Z. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán México: U.N.A.M 1987.
5. Bevill, Richard. *Disposition of Sulfonamides in Food -Producing Animals: Concentrations of sulfamethazine and its Metabolites in Plasma, Urine and Tissues of Lambs Following Intravenous Administration*. *Am J Vet Res* 1977; 38:973-977.
6. Bourne, DWA; Bevill, RF. *Disposition of sulfonamides in food-producing animals: Pharmacokinetics of sulfamethazine in lambs*. *Am J Vet Res* 1977; 38:967-972.
7. Bulgin, MS. *Pharmacokinetics, safety and tissue residues of sulfamethazine in sheep*. *J Vet Pharmacol Ther* 1991; 14:36-45.
8. Cancho Grande, B. *El uso de los antibióticos en la alimentación animal: perspectiva actual*. *Cienc. Tecnol. Aliment* 2000; 1:39-47.
9. Cárdenas R. Hilda. *Aspectos Biofarmacéuticos de la Evaluación de Medicamentos*. UAM Xochimilco, México 1996:27,39,65,101-104.
10. CAPRITEC. <http://capritec.com.br/art28.htm>. Mayo 2001.
11. Chambers, H.F. and Jawetz, E. *Sulfonamides, Trimethoprim, and Quinolones*, in *Basic and Clinical Pharmacology*, (Katzung, B. G., ed) Appleton-Lange, 1998, p. 761-763.

12. Chapman, H.D., J.A. Lewis y R.M. Searle. The effect of naturally acquired infections of coccidia in lambs. *Res. Vet. Sci.* 1973; 14:369-375.
13. Chavez Rivera Oscar "Evaluación de la utilización de bolos intrarruminales de lenta liberación de sulfametazina sódica en el control de la coccidiosis caprina. Tesis de Maestría. México: UNAM 2000.
14. Cordero del Campillo M. y Hidalgo A.M.R. Etiología. Eimeriosis Ovinas. *Rev Ovis.* 1996; 45:11-18.
15. Cuéllar, O .J. A. Parasitosis del Aparato Digestivo. En: Principales Enfermedades de los Ovinos y Caprinos. México; 1986:103-118.
16. Cruz, Francisco. Efecto del sexo sobre el comportamiento de bolos intrarruminales de lenta liberación de sulfametazina sódica. Proyecto de Tesis MVZ, México: UNAM 2004.
17. Deb, A.R., B.N. Sinha, B.N. Sahai y M.Z. Ansari. Efficacy of amprolium, sulphametazine and sulmet against coccidiosis in goats. *Indian Vet. J* 1981; 58:689-691.
18. Estévez C. Francisco. Estudios de bioequivalencia: enfoque metodológico y aplicaciones prácticas en la evaluación de medicamentos genéricos. *Rev Med Uruguay* 2000; 16: 133-143
19. Evrard B. & Delattre L. Biopharmaceutical Aspects of the Development of a Sustained_Release Sulfamethazine Bolus for Lambs. *J Control Rel* 1995; 35:107-115.
20. Fayer, R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. *Vet. Parasitol.* 1980; 6:75-103.
21. Fitzgerald, P.R. The economic impact of coccidiosis in domestic animals. *Adv. Vet. Sci.* 1980; 24:121-143.
22. Gabrielsson, J. & Weiner D. L. Methodology for pharmacokinetic/pharmacodynamic data analysis. *PSTT*, 1999;2:24;244-252
23. Guía para la industria. estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia para productos farmacéuticos administrados oralmente. U.S. Department Of Health And Human Services Public Health Service. Food and Drug

- Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Octubre 2000.
24. Guía para la industria. Statistical approaches to establishing bioequivalence. U.S. Department Of Health And Human Services Public Health Service. Food And Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Enero 2001.
 25. Guía para la industria. Bioequivalence guidance. Food and Drug Administration. Center for Veterinary Medicine (CVM) Octubre 10, 2000.
 26. Guía para la industria. Guía procedimientos estadísticos para estudios de bioequivalencia usando un diseño estándar cruzado de dos tratamientos. U.S. Department Of Health And Human Services Public Health Service. Food And Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Febrero 1997.
 27. Guideline for efficacy studies for systemic sustained release sulfonamide boluses for cattle. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service. Food And Drug Administration. Center For Veterinary Medicine.
 28. Gómez, A. L. Desarrollo de un Programa en Ambiente Multimedia para Bioequivalencia de Medicamentos. Tesis, Químico Farmacéutico Biólogo. México: UNAM 2000.
 29. Kimberling, Leon V. Diseases of sheep, 3ra ed. USA: LEA & Febiger, 1988:159-163.
 30. Laboratorios Chile. <http://www.labchile.com/medicos/fundamentos.htm>. Mayo 2001.
 31. Levine, N.D. Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man. 2a. ed. USA: Publishing Company, 1973.
 32. Lima Melo Araceli. Comparación del uso de sulfamonometoxina, sulfametazina, sulfamerazina y sulfadiazina en la disminución de ooquistes de *Eimeria* spp en ovinos. Tesis MVZ. México: UNAM 1996.

33. Martin, W. B. Enfermedades de la oveja. España: Acribia, 1998: 54-57.
34. Morales, H. A. Desarrollo y validación de procesos farmacéuticos: Estudios de disolución in vitro y biodisponibilidad de bolos de sulfametazina sódica. Tesis, Químico Farmacéutico Biólogo. México: UNAM 2003.
35. Murphy, J. The Advantages of a timed-release sulfamethazine bolette for calves. *Vet Med* 1986; Septiembre:882-885.
36. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Viernes 7 de Mayo de 1999.
37. Nawaz, M. & Khan, F. H. Pharmacokinetics and urinary excretion of sulphadimidine in sheep and goats. *J Vet Pharmacol Ther* 1979; 2:129-132.
38. Nawaz, M. & Nawaz, R. Pharmacokinetics and urinary excretion of sulphadimidine in sheep during summer and winter. *Vet Rec* 1983; 112:379-381.
39. Nouws, Jacques. Age and dosage dependency in the plasma disposition and renal clearance the sulfametazine and its N₄-acetyl and hidroxy metabolites in calves and cows. *Am J Vet Res.*1986; 47:642-649
40. Pout, D.D. Coccidiosis of sheep. *Vet. Bull.* 1969;39:609-618.
41. Quiroz, R.H. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en Animales Domésticos. 1a. ed. México: Edit. Limusa; 1984:130-135.
42. Soulsby, E.J.L. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7a. ed. México: Edit. Interamericana; 1987.
43. Spoo y Riviere. Sulfamides. *Vet Pharmacology and Therapeutics*. Editado por Adams. USA: Iowa State University Press; 1995:753-773.
44. Sumano, L.H. y Ocampo C.L. Farmacología Veterinaria. México: McGraw-Hill; 1991.
45. Taylor, M. Diagnosis y Control de coccidiosis in sheep. In *Practice*. 1995:172-177.
46. Trujeque García A. Desarrollo y validación de un método analítico para la cuantificación de sulfametazina en plasma de cabra por cromatografía

-
- líquida de alta resolución (CLAR). Tesis, Químico Farmacéutico Biólogo. México: UNAM 1998.
47. Witkamp, R. F. et al. Comparative aspects and sex differentiation of plasma sulfamethazine elimination and metabolite formation in rats, rabbits, dwarf goats, and cattle. *Am J Vet Res* 1992; 53:1830-1835.
48. Youssef, SAH, et al. Some pharmacokinetic and biochemical aspects of suphadiazine and sulfadimidine in ewes. *J Vet Pharmacol Ther* 1981; 4:173-182.

ANEXOS

Análisis estadístico para la evaluación del modelo experimental, realizado en STATGRAPHICS Plus 4.0.

UE	TRT	SEC	PER	ABC_Dosis	LNABC_Dosis
661	1	2	1	8.49232022	2.139162252
683	1	2	1	7.943071364	2.072300022
674	1	2	1	5.556215802	1.714917265
680	1	2	1	10.04451504	2.307026718
684	1	1	2	22.92490537	3.13222389
682	1	1	2	11.59812747	2.45084366
675	1	1	2	18.33054461	2.908568773
669	1	1	2	8.740917608	2.168015174
673	1	1	2	21.70174201	3.077392534
349	1	2	1	10.66871171	2.367315319
340	1	2	1	14.14483083	2.649349245
339	1	1	2	7.820137137	2.056702091
345	1	1	2	6.263089186	1.834673544
348	1	1	2	6.786830831	1.914984092
849	1	1	2	6.111299299	1.810139402
661	2	2	2	4.840540148	1.577026315
683	2	2	2	4.472494824	1.497946379
674	2	2	2	3.080968818	1.125244099
680	2	2	2	4.759892964	1.560225181
684	2	1	1	7.067195543	1.955463731
682	2	1	1	5.853524958	1.767044037
675	2	1	1	8.271218288	2.112781812
669	2	1	1	2.82612355	1.038906002
673	2	1	1	6.577413143	1.883641529
349	2	2	2	2.439005682	0.891590449
340	2	2	2	2.623834071	0.964636634
339	2	1	1	3.474244495	1.245377044
345	2	1	1	3.030100093	1.108595653
348	2	1	1	2.035410588	0.710697562
849	2	1	1	3.514169589	1.256803249

General Linear Models

General Linear Models

Number of dependent variables: 1
 Number of categorical factors: 4
 Number of quantitative factors: 0

Analysis of Variance for LN ABC_Dosis

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	10.9695	16	0.685593	9.91	0.0001
Residual	0.899304	13	0.0691773		
Total (Corr.)	11.8688	29			

Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
PER	0.00068734	1	0.00068734	0.01	0.9221
SEC	0.218091	1	0.218091	3.15	0.0992
TRT	6.21563	1	6.21563	89.85	0.0000
UE (SEC)	4.30329	13	0.331023	4.79	0.0041
Residual	0.899304	13	0.0691773		

Total (corrected) 11.8688 29
All F-ratios are based on the residual mean square error.

R-Squared = 92.4229 percent
R-Squared (adjusted for d.f.) = 83.0973 percent
Standard Error of Est. = 0.263016
Mean absolute error = 0.15394
Durbin-Watson statistic = 1.32053

Residual Analysis

```
-----  
n      Estimation      Validation  
MSE    0.0691773  
MAE    0.15394  
MAPE   9.96337  
ME     -2.22045E-17  
MPE    -1.34661
```

The StatAdvisor

This pane summarizes the results of fitting a general linear statistical model relating LN ABC_Dosis to 4 predictive factors. Since the P-value in the first ANOVA table for LN ABC_Dosis is less than 0.01, there is a statistically significant relationship between LN ABC_Dosis and the predictor variables at the 99% confidence level.

The second ANOVA table for LN ABC_Dosis tests the statistical significance of each of the factors as it was entered into the model. Notice that the highest P-value is 0.9221, belonging to A. Since the P-value is greater or equal to 0.10, that term is not statistically significant at the 90% or higher confidence level. Consequently, you should consider removing A from the model.

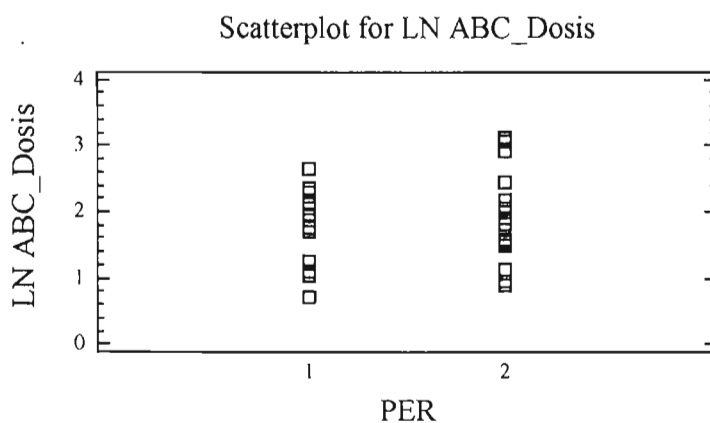
The R-Squared statistic indicates that the model as fitted explains 92.4229% of the variability in LN ABC_Dosis. The adjusted R-squared statistic, which is more suitable for comparing models with different numbers of independent variables, is 83.0973%. The standard error of the estimate shows the standard deviation of the residuals to be 0.263016. This value can be used to construct prediction limits for new observations by selecting the Reports option from the text menu. The mean absolute error (MAE) of 0.15394 is the average value of the residuals. The Durbin-Watson (DW) statistic tests the residuals to determine if there is any significant correlation based on the order in which they occur in your data file. Since the DW value is less than 1.4, there may be some indication of serial correlation. Plot the residuals versus row order to see if there is any pattern which can be seen.

The output also summarizes the performance of the model in fitting the data, and in predicting any values withheld from the fitting process. It displays:

- (1) the mean squared error (MSE)
- (2) the mean absolute error (MAE)
- (3) the mean absolute percentage error (MAPE)
- (4) the mean error (ME)
- (5) the mean percentage error (MPE)

Each of the statistics is based on the residuals. The first three statistics measure the magnitude of the errors. A better model will give a smaller value. The last two statistics measure bias. A better model will give a value close to 0.0.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**



95.0% confidence intervals for coefficient estimates (LN ABC_Dosis)

Parameter	Estimate	Standard Error	Lower Limit	Upper Limit	V.I.F.
CONSTANT	1.82592	0.0490101	1.72004	1.9318	
PER	0.00488528	0.0490101	-0.100995	0.110765	1.04167
SEC	0.0870207	0.0490101	-0.0188594	0.192901	1.0
TRT	0.464565	0.0490101	0.358685	0.570445	1.04167
UE (SEC)	-0.261897	0.175344	-0.640705	0.116911	1.77778
UE (SEC)	0.0680979	0.169776	-0.298681	0.434877	1.66667
UE (SEC)	-0.441302	0.175344	-0.82011	-0.0624936	1.77778
UE (SEC)	-0.600095	0.175344	-0.978904	-0.221287	1.77778
UE (SEC)	-0.109442	0.169776	-0.476221	0.257337	1.66667
UE (SEC)	0.119199	0.169776	-0.24758	0.485979	1.66667
UE (SEC)	-0.309476	0.175344	-0.688284	0.0693324	1.77778
UE (SEC)	0.567581	0.175344	0.188773	0.946389	1.77778
UE (SEC)	-0.318814	0.169776	-0.685594	0.0479651	1.66667
UE (SEC)	0.597739	0.175344	0.218931	0.976547	1.77778
UE (SEC)	0.194731	0.169776	-0.172048	0.56151	1.66667
UE (SEC)	0.196008	0.175344	-0.182801	0.574816	1.77778
UE (SEC)	0.630907	0.175344	0.252099	1.00972	1.77778

The StatAdvisor

This table shows 95.0% confidence intervals for the coefficients in the model. Confidence intervals show how precisely the coefficients can be estimated given the amount of available data and the noise which is present. Also included are variance inflation factors, which can be used to measure the extent to which the predictor variables are correlated amongst themselves. VIF's above 10, of which there are 0, are usually considered to indicate serious multicollinearity. Serious multicollinearity greatly increases the estimation error of the model coefficients as compared with an orthogonal sample.

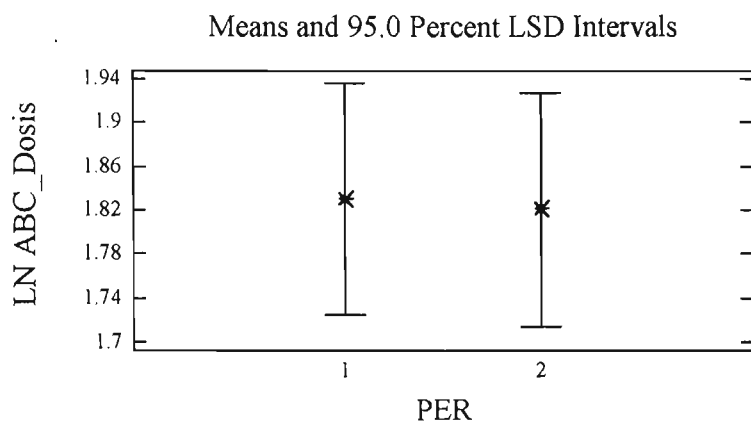
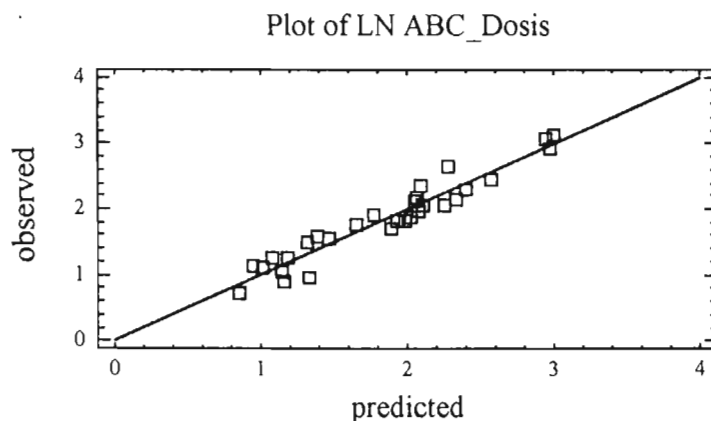


Table of Least Squares Means for LN ABC_Dosis
with 95.0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	30	1.82592	0.0490101	1.72004	1.9318
PER					
1	15	1.8308	0.0693107	1.68106	1.98054
2	15	1.82103	0.0693107	1.67129	1.97077
SEC					
1	18	1.91294	0.0619934	1.77901	2.04687
2	12	1.73889	0.0759261	1.57487	1.90292
TRT					
1	15	2.29048	0.0693107	2.14074	2.44022
2	15	1.36135	0.0693107	1.21161	1.51109
UE within SEC					
339 1	2	1.65104	0.18598	1.24925	2.05283
340 2	2	1.80699	0.18598	1.40521	2.20878
345 1	2	1.47163	0.18598	1.06985	1.87342
348 1	2	1.31284	0.18598	0.911054	1.71463
349 2	2	1.62945	0.18598	1.22767	2.03124
661 2	2	1.85809	0.18598	1.45631	2.25988
669 1	2	1.60346	0.18598	1.20167	2.00525
673 1	2	2.48052	0.18598	2.07873	2.8823
674 2	2	1.42008	0.18598	1.01829	1.82187
675 1	2	2.51068	0.18598	2.10889	2.91246
680 2	2	1.93363	0.18598	1.53184	2.33541
682 1	2	2.10894	0.18598	1.70716	2.51073
683 2	2	1.78512	0.18598	1.38334	2.18691
684 1	2	2.54384	0.18598	2.14206	2.94563
849 1	2	1.53347	0.18598	1.13168	1.93526

The StatAdvisor

This table shows the mean LN ABC_Dosis for each level of the factors. It also shows the standard error of each mean, which is a measure of its sampling variability. The rightmost two columns show 95.0% confidence intervals for each of the means. You can display these means and intervals by selecting Means Plot from the list of Graphical Options.



Multiple Comparisons for LN ABC_Dosis by SEC

 Method: 95.0 percent LSD

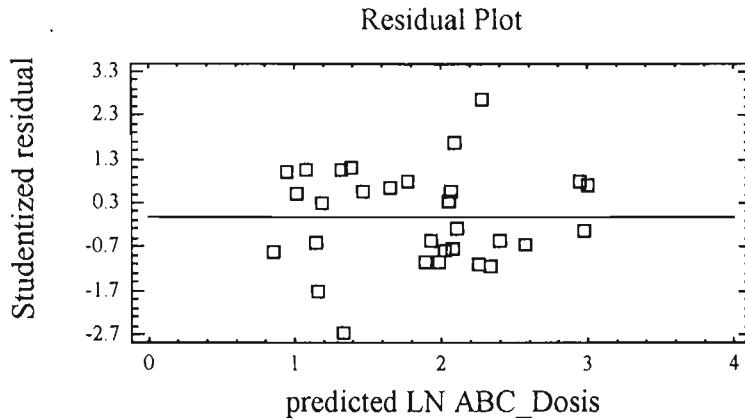
SEC	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
2	12	1.73889	X
1	18	1.91294	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	0.174041	0.21176

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

 This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. There are no statistically significant differences between any pair of means at the 95.0% confidence level. At the top of the page, one homogenous group is identified by a column of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.



General Linear Models

Multiple Comparisons for LN ABC_Dosis by PER

Method: 95.0 percent LSD

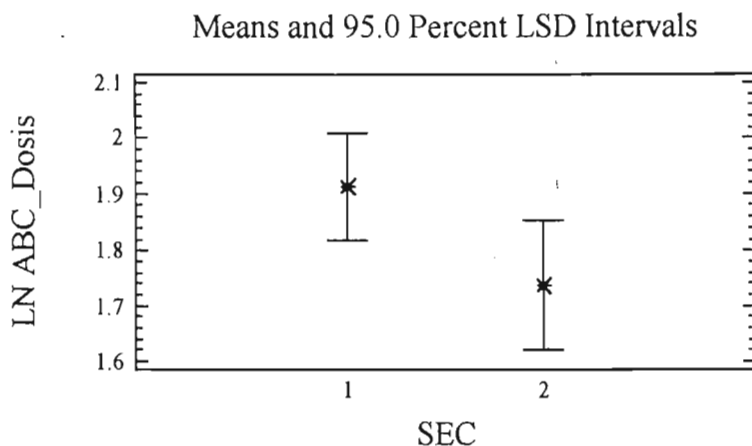
PER	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
2	15	1.82103	X
1	15	1.8308	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	0.00977056	0.207482

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. There are no statistically significant differences between any pair of means at the 95.0% confidence level. At the top of the page, one homogenous group is identified by a column of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.



General Linear Models

Multiple Comparisons for LN ABC_Dosis by TRT

Method: 95.0 percent LSD

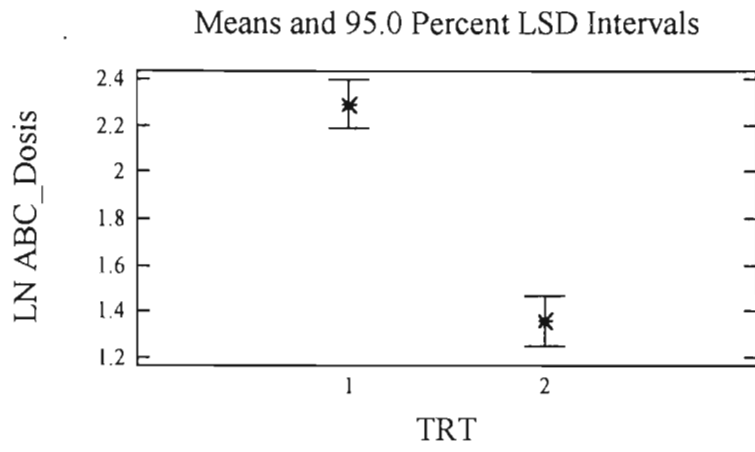
TRT	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
2	15	1.36135	X
1	15	2.29048	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	*0.92913	0.207482

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 1 pair, indicating that this pair shows a statistically significant difference at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.



Anexo 2. Resultados del análisis estadístico para evaluar el efecto de la raza y sexo en los parámetros farmacocinéticos obtenidos de la administración intravenosa de sulfametazina.

Multifactor ANOVA - Tmedia

Analysis Summary

Dependent variable: Tmedia

Factors:

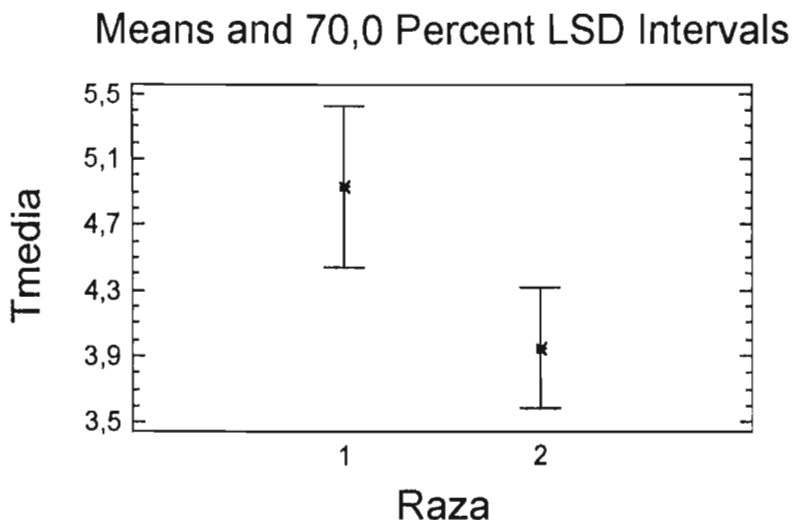
Sexo

Raza

Number of complete cases: 15

The StatAdvisor

 This procedure performs a multifactor analysis of variance for Tmedia. It constructs various tests and graphs to determine which factors have a statistically significant effect on Tmedia. It also tests for significant interactions amongst the factors, given sufficient data. The F-tests in the ANOVA table will allow you to identify the significant factors. For each significant factor, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. The Means Plot and Interaction Plot will help you interpret the significant effects. The Residual Plots will help you judge whether the assumptions underlying the analysis of variance are violated by the data.



Analysis of Variance for Tmedia - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value

MAIN EFFECTS					
A:Sexo	2,82241	1	2,82241	1,39	0,2616
B:Raza	2,94926	1	2,94926	1,45	0,2517

RESIDUAL	24,4074	12	2,03395
TOTAL (CORRECTED)	28,5637	14	

All F-ratios are based on the residual mean square error.
The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variability of Tmedia into contributions due to various factors. Since Type III sums of squares (the default) have been chosen, the contribution of each factor is measured having removed the effects of all other factors. The P-values test the statistical significance of each of the factors. Since 2 P-values are less than 0,3, these factors have a statistically significant effect on Tmedia at the 70,0% confidence level.

Table of Least Squares Means for Tmedia
with 70,0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	15	4,44332			
Sexo					
1	9	3,96277	0,477545	3,44549	4,48006
2	6	4,92387	0,642615	4,22778	5,61996
Raza					
1	6	4,93455	0,642615	4,23846	5,63064
2	9	3,95209	0,477545	3,43481	4,46938

The StatAdvisor

This table shows the mean Tmedia for each level of the factors. It also shows the standard error of each mean, which is a measure of its sampling variability. The rightmost two columns show 70,0% confidence intervals for each of the means. You can display these means and intervals by selecting Means Plot from the list of Graphical Options.

Multiple Range Tests for Tmedia by Raza

Method: 70,0 percent LSD				
Raza	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	9	3,95209	0,477545	X
1	6	4,93455	0,642615	X
Contrast			Difference	+/- Limits
1 - 2			*0,982453	0,88377

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 1 pair, indicating that this pair shows a statistically significant difference at the 70,0% confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are

identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 30,0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

Multifactor ANOVA - Tmedia

Multiple Range Tests for Tmedia by Sexo

```

-----
Method: 70,0 percent LSD
Sexo      Count      LS Mean      LS Sigma      Homogeneous Groups
-----
1          9          3,96277      0,477545      X
2          6          4,92387      0,642615      X
-----
Contrast          Difference          +/- Limits
-----
1 - 2                          *-0,961093          0,88377
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

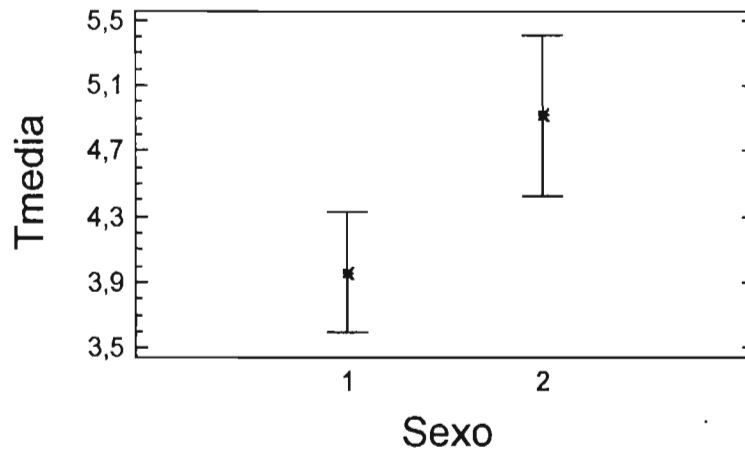
The StatAdvisor

```

-----
This table applies a multiple comparison procedure to determine
which means are significantly different from which others. The bottom
half of the output shows the estimated difference between each pair of
means. An asterisk has been placed next to 1 pair, indicating that
this pair shows a statistically significant difference at the 70,0%
confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are
identified using columns of X's. Within each column, the levels
containing X's form a group of means within which there are no
statistically significant differences. The method currently being
used to discriminate among the means is Fisher's least significant
difference (LSD) procedure. With this method, there is a 30,0% risk
of calling each pair of means significantly different when the actual
difference equals 0.

```

Means and 70,0 Percent LSD Intervals



Multifactor ANOVA - Kel

Analysis Summary

Dependent variable: Kel

Factors:

Sexo

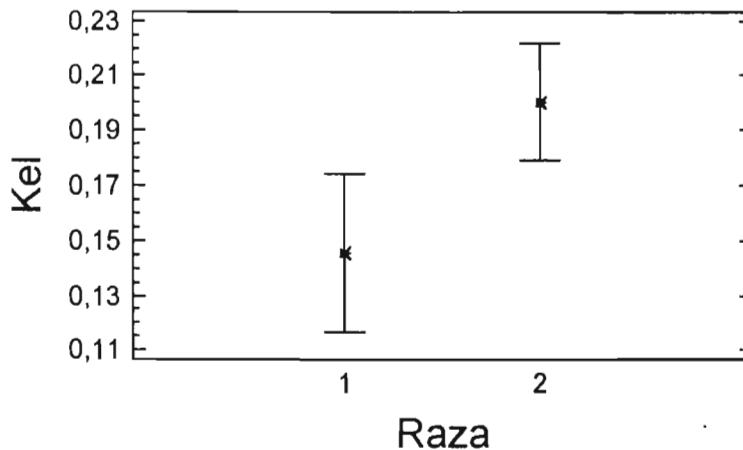
Raza

Number of complete cases: 15

The StatAdvisor

This procedure performs a multifactor analysis of variance for Kel. It constructs various tests and graphs to determine which factors have a statistically significant effect on Kel. It also tests for significant interactions amongst the factors, given sufficient data. The F-tests in the ANOVA table will allow you to identify the significant factors. For each significant factor, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. The Means Plot and Interaction Plot will help you interpret the significant effects. The Residual Plots will help you judge whether the assumptions underlying the analysis of variance are violated by the data.

Means and 85,0 Percent LSD Intervals



Analysis of Variance for Kel - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Sexo	0,00364493	1	0,00364493	1,05	0,3260
B:Raza	0,00930979	1	0,00930979	2,68	0,1277
RESIDUAL	0,041711	12	0,00347592		
TOTAL (CORRECTED)	0,051636	14			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variability of Kel into contributions due to various factors. Since Type III sums of squares (the default) have been chosen, the contribution of each factor is measured having removed the effects of all other factors. The P-values test the statistical significance of each of the factors. Since one P-value is less than 0,15, this factor has a statistically significant effect on Kel at the 85,0% confidence level.

Table of Least Squares Means for Kel
with 85,0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	15	0,172953			
Sexo					
1	9	0,190222	0,0197414	0,159861	0,220584
2	6	0,155684	0,0265653	0,114828	0,19654
Raza					
1	6	0,145354	0,0265653	0,104498	0,18621
2	9	0,200552	0,0197414	0,170191	0,230914

The StatAdvisor

This table shows the mean Kel for each level of the factors. It also shows the standard error of each mean, which is a measure of its sampling variability. The rightmost two columns show 85,0% confidence intervals for each of the means. You can display these means and intervals by selecting Means Plot from the list of Graphical Options.

Multiple Range Tests for Kel by Raza

Method: 85,0 percent LSD				
Raza	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	6	0,145354	0,0265653	X
2	9	0,200552	0,0197414	X

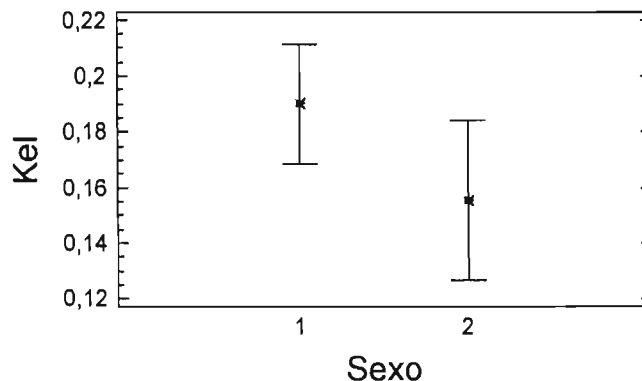
Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	*-0,0551982	0,0518722

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 1 pair, indicating that this pair shows a statistically significant difference at the 85,0% confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 15,0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

Means and 85,0 Percent LSD Intervals



Analysis Summary

Dependent variable: Vd

Factors:

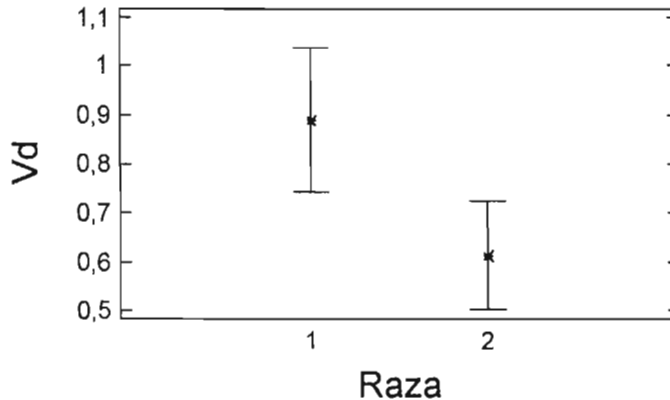
- Sexo
- Raza

Number of complete cases: 15

The StatAdvisor

 This procedure performs a multifactor analysis of variance for Vd. It constructs various tests and graphs to determine which factors have a statistically significant effect on Vd. It also tests for significant interactions amongst the factors, given sufficient data. The F-tests in the ANOVA table will allow you to identify the significant factors. For each significant factor, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. The Means Plot and Interaction Plot will help you interpret the significant effects. The Residual Plots will help you judge whether the assumptions underlying the analysis of variance are violated by the data.

Means and 95,0 Percent LSD Intervals



Analysis of Variance for Vd - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value

MAIN EFFECTS					
A:Sexo	0,0429148	1	0,0429148	0,95	0,3496
B:Raza	0,235248	1	0,235248	5,19	0,0417
RESIDUAL	0,543474	12	0,0452895		

TOTAL (CORRECTED)	0,779126	14			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

The StatAdvisor

 The ANOVA table decomposes the variability of Vd into contributions due to various factors. Since Type III sums of squares (the default) have been chosen, the contribution of each factor is measured having removed the effects of all other factors. The P-values test the

statistical significance of each of the factors. Since one P-value is less than 0,05, this factor has a statistically significant effect on Vd at the 95,0% confidence level.

Table of Least Squares Means for Vd
with 95,0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	15	0,751718			
Sexo					
1	9	0,692463	0,0712595	0,537201	0,847724
2	6	0,810974	0,0958913	0,602044	1,0199
Raza					
1	6	0,890454	0,0958913	0,681524	1,09938
2	9	0,612983	0,0712595	0,457721	0,768244

The StatAdvisor

This table shows the mean Vd for each level of the factors. It also shows the standard error of each mean, which is a measure of its sampling variability. The rightmost two columns show 95,0% confidence intervals for each of the means. You can display these means and intervals by selecting Means Plot from the list of Graphical Options.

Multiple Range Tests for Vd by Sexo

Method: 95,0 percent LSD				
Sexo	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	9	0,692463	0,0712595	X
2	6	0,810974	0,0958913	X
Contrast			Difference	+/- Limits
1 - 2			-0,118511	0,265262

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. There are no statistically significant differences between any pair of means at the 95,0% confidence level. At the top of the page, one homogenous group is identified by a column of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5,0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

Multifactor ANOVA - Vd

Multiple Range Tests for Vd by Raza

```

-----
Method: 95,0 percent LSD
Raza      Count      LS Mean      LS Sigma      Homogeneous Groups
-----
2          9          0,612983     0,0712595     X
1          6          0,890454     0,0958913     X
-----
Contrast          Difference      +/- Limits
-----
1 - 2              *0,277471      0,265262
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

```

-----
This table applies a multiple comparison procedure to determine
which means are significantly different from which others. The bottom
half of the output shows the estimated difference between each pair of
means. An asterisk has been placed next to 1 pair, indicating that
this pair shows a statistically significant difference at the 95,0%
confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are
identified using columns of X's. Within each column, the levels
containing X's form a group of means within which there are no
statistically significant differences. The method currently being
used to discriminate among the means is Fisher's least significant
difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5,0% risk of
calling each pair of means significantly different when the actual
difference equals 0.

```

Multifactor ANOVA - Co

Analysis Summary

Dependent variable: Co

Factors:

Sexo

Raza

Number of complete cases: 15

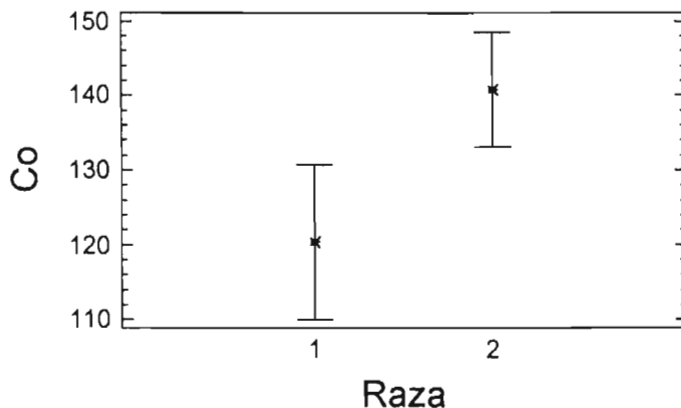
The StatAdvisor

```

-----
This procedure performs a multifactor analysis of variance for Co.
It constructs various tests and graphs to determine which factors have
a statistically significant effect on Co. It also tests for
significant interactions amongst the factors, given sufficient data.
The F-tests in the ANOVA table will allow you to identify the
significant factors. For each significant factor, the Multiple Range
Tests will tell you which means are significantly different from which
others. The Means Plot and Interaction Plot will help you interpret
the significant effects. The Residual Plots will help you judge
whether the assumptions underlying the analysis of variance are
violated by the data.

```

Means and 65,0 Percent LSD Intervals



Analysis of Variance for Co - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Sexo	6,99067	1	6,99067	0,01	0,9378
B:Raza	1270,01	1	1270,01	1,15	0,3042
RESIDUAL	13227,9	12	1102,33		
TOTAL (CORRECTED)	14646,1	14			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variability of Co into contributions due to various factors. Since Type III sums of squares (the default) have been chosen, the contribution of each factor is measured having removed the effects of all other factors. The P-values test the statistical significance of each of the factors. Since one P-value is less than 0,35, this factor has a statistically significant effect on Co at the 65,0% confidence level.

Table of Least Squares Means for Co with 65,0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	15	130,602			
Sexo					
1	9	131,358	11,1173	120,546	142,17
2	6	129,845	14,9601	115,297	144,394
Raza					
1	6	120,408	14,9601	105,859	134,957
2	9	140,795	11,1173	129,984	151,607

The StatAdvisor

This table shows the mean Co for each level of the factors. It also shows the standard error of each mean, which is a measure of its sampling variability. The rightmost two columns show 65,0% confidence intervals for each of the means. You can display these means and intervals by selecting Means Plot from the list of Graphical Options.

Multiple Range Tests for Co by Raza

```

-----
Method: 65,0 percent LSD
Raza      Count      LS Mean      LS Sigma      Homogeneous Groups
-----
1          6          120,408      14,9601       X
2          9          140,795      11,1173       X
-----
Contrast          Difference      +/- Limits
-----
1 - 2              *-20,3872      18,4714
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

```

-----
This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 1 pair, indicating that this pair shows a statistically significant difference at the 65,0% confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 35,0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

```