



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**DESARROLLO DE UN BOLO DE SULFAMETAZINA Y SELENIO DE LIBERACIÓN LENTA PARA
CABRAS O/Y OVEJAS: OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO, FORMULACIÓN Y ESTUDIO DE
BIODISPONIBILIDAD.**

T E S I S

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS**

P R E S E N T A

GUADALUPE ALVAREZ AVILA

TUTOR: RAQUEL LÓPEZ ARRELLANO (FES CUAUTITLÁN)

COMITÉ TUTORAL.

ALMA REVILLA VÁZQUEZ (FES CUAUTITLÁN)

EFRÉN RAMÍREZ BRIBIESCA

(MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL)

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2014.



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.

DEDICATORIAS

A mis principales motores, por regalarme cada día una sonrisa y un Te amo, a mi esposo Camilo, mi hijo Ricardo y mi hijo Daniel.

A Miguel Álvarez y Carolina Ávila por ser mis padres y hacerme ver mis errores por enseñarme el camino hacia Dios y a crecer con humildad y buenos principios.

A mis hermanos(as): Roberto, Rosa, Miguel, Lourdes, Francisco, Carmen, José Luis, Karina, Pablo y Juan por compartir conmigo su infancia, adolescencia y juventud. Que Dios los colme de bendiciones y que alcancen sus sueños.

A todos mis buenos amigos y amigas, Ady, Gabby, Profe Juan José, Doctora Raquel, Profe Pepe, Claudia, Victor, Tere.....

A toda esa gente que está presente día con día y a todos los que han pasado en el transcurso de mi vida y que de alguna manera han dejado buenas experiencias en mí.

AGRADECIMIENTOS

A mi esposo Camilo y mis hijos Ricardo y Daniel por ser parte de mi vida y por qué los amo por sobre todas las cosas, saben hijos este trabajo es una prueba más en mi vida de que todo se logra, pese a todas las adversidades, los Amo.

Adriana Morales. Por tu amistad incondicional, por escucharme, por alentarme, por quererme, te quiero amiga casi hermanas verdad!!!

Gabriela Rodríguez. Por tu linda amistad y apoyo en la realización de este trabajo, pero sobre todo por tu calidad humana. Gracias Gabby.

Rosa María, José Ángel y Diego de Jesús.

Por su valiosa ayuda en cuidar a mis peques porque sé que en ningún lugar están mejor que con ustedes, que Dios los bendiga.

A la familia Fernández Soto.

Por la ayuda que me brindan, que Dios los proteja.

A mi honorable comité tutorial: Doctora Raquel López, Doctor Efrén Ramírez, Doctora Alma Revilla, mi jurado evaluador: Doctor Jorge Tortora, Doctor Maximino Huerta, Doctora Ofelia Mora, Doctor Rene Rosiles. Muchas Gracias.

RESUMEN

Se evaluó la efectividad de un bolo experimental de lenta liberación ruminal para cabritos con sulfametazina sódica para el tratamiento de coccidiosis, en una dosis de 265 mg / Kg y selenito de sodio como complemento nutricional, en una dosis de 0.2 mg / Kg peso vivo por día. Se utilizaron 15 cabritos (8 hembras y 7 machos) de un peso promedio de 13.5 Kg, divididos en tres grupos, cada uno con cinco cabritos en tratamiento, los tratamientos fueron bolo con sulfametazina (Bolo SMZ), bolo con sulfametazina más selenio (Bolo SMZ-Se) bolo sin ningún principio activo (Bolo Placebo). Se aplicó un diseño experimental de un factor con tres niveles (tratamientos) para realizar una comparación de medias con un nivel de significancia de $P < 0.05$ con el paquete estadístico Statgraphics Plus 5. Los cabritos fueron alojados en jaulas metabólicas individuales para controlar la alimentación, evitar la reinfección y observar la posible regurgitación del bolo, a cada cabrito se le tomó muestras de sangre por punción de la vena yugular, se tomó una primera muestra de sangre, tiempo 0 hrs, después se muestreó en los siguientes tiempos: 1, 3, 5, 9 y 24 hrs del primer día y 2, 5, 9, 12, 19, 26 y 33 días siguientes, se verificó la permanencia del bolo en rumen por medio de placas radiográficas. Al final del tratamiento se sacrificaron los animales y se obtuvieron los bolos administrados. Se compararon los tratamientos sin observar diferencia ($P < 0.05$) entre las concentraciones plasmáticas de sulfametazina en los bolos que contenían sulfametazina y los que contenían sulfametazina más selenio, determinando concentraciones plasmáticas de sulfametazina menores a 0.6 $\mu\text{g/ml}$, con resultados satisfactorios a los 21 días, con cero ooquistes en heces, se determinó el área bajo la curva de sulfametazina sin observar diferencia ($P < 0.05$) entre los tratamientos de los bolos que contenían sulfametazina y los que contenían sulfametazina más selenio. La concentración plasmática de selenio incremento significativamente en los cabritos administrados con bolo sulfametazina más selenio, con respecto a los cabritos que se les administró bolo sulfametazina y placebo. Se mantuvieron concentraciones plasmáticas de selenio alrededor de 0.2 ppm en plasma en cabritos administrados con selenio, los bolos permanecieron en rumen durante 35 días. El selenio no modificó los parámetros farmacocinéticos de la sulfametazina, por lo que no existió interacción entre sulfametazina y selenio. Los bolos de lenta liberación ruminal de sulfametazina sódica más selenio evidenciaron buenos efectos en la prevención y tratamiento de coccidiosis caprina en infección natural, la eficacia del bolo es larga y con esto se puede minimizar el manejo de los animales con la fácil administración de los bolos.

Palabras Clave: Selenio, sulfametazina, bolos intraruminales, biodisponibilidad.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatorias	II
Agradecimientos	III
Resumen	IV
Índice general	V
Índice de Cuadros	VII
Índice de Figuras	VIII
Índice de Anexos	X
Introducción	11
I. Marco Teórico	13
I.1. Biodisponibilidad	13
I.1.1. Objetivos de los estudio de biodisponibilidad	14
I.1.2. Métodos para determinar la biodisponibilidad	14
I.1.3. Parámetros Farmacocinéticos	14
I.1.4. Factores que influyen en la biodisponibilidad	15
I.1.5. Factores que dependen del principio activo, la forma farmacéutica y el proceso de fabricación	16
I.1.6. Factores fisiológicos y patológicos que influyen en la biodisponibilidad	16
I.2. Farmacocinética de las sulfamidas	18
I.2.1. Absorción	18
I.2.2. Factores que modifican la absorción	19
I.2.3. Distribución	20
I.2.4. Factores que modifican la distribución	22
I.2.5. Metabolismo	23
I.2.6. Factores que modifican el metabolismo	24
I.2.7. Excreción	25
I.2.8. Factores que modifican la excreción	25
I.3. Sulfametazina	27
I.3.1. Mecanismo de acción	28
I.4. Coccidiosis	29
I.4.1. Patogenia	31
I.4.2. Signología	31
I.4.3. Diagnóstico	31
I.4.4. Tratamiento	32

ÍNDICE GENERAL (continuación)

I.4.5. Prevención y control	32
I.5.Selenio	33
I.5.1. Requerimientos de selenio	35
I.5.2. Suplementación de selenio	36
I.6 Interacciones medicamentosa	37
I.6.1. Interacciones de sulfamidas	38
II. Justificación	41
III. Hipótesis	41
IV. Objetivos	41
V. Desarrollo experimental	42
VI. Materiales y métodos	43
VII. Resultados y discusión	53
VIII. Conclusiones	71
IX. Referencias	72
X. Anexos	80

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Cantidad de cada componente de los bolos intraruminales utilizados en el estudio	44
Cuadro 2	Asignación y condiciones iniciales de los 15 animales en los tres grupos de tratamiento	46
Cuadro 3	Condiciones de digestión ácida para plasma	49
Cuadro 4	Curva de referencia de selenio	49
Cuadro 5	Resultados de índice de Hausner e índice de Carr al evaluar propiedades de flujo en granulado de bolo de sulfametazina más selenio	53
Cuadro 6	Resultados de las características físicas y geométricas de los bolos de lenta liberación elaborados por el método de granulación por fusión	54
Cuadro 7	Resultados de regurgitación y tiempo de permanencia de los bolos elaborados por el método de granulación por fusión	54
Cuadro 8	Resultados de las características físicas y geométricas de los bolos de lenta liberación elaborados por el método de granulación por fusión con una mayor cantidad de agente densificador	55
Cuadro 9	Resultados de regurgitación y permanencia de los bolos elaborados por el método de granulación por fusión con mayor cantidad de agente densificador	56
Cuadro 10	Resultados de los parámetros de validación del método analítico para la cuantificación de sulfametazina	61
Cuadro 11	Análisis de variancia para conocer si existe diferencia significativa entre los tratamientos sobre concentraciones plasmáticas de sulfametazina administrado vía oral en cabritos	63
Cuadro 12	Resultados de los parámetros farmacocinéticos de Sulfametazina evaluados post-administración de bolos intraruminales en cabritos en los dos grupos tratados	66
Cuadro 13	Análisis de variancia de la concentración plasmática de selenio en los tres grupos experimentales	68
Cuadro 14	Resultados de los parámetros farmacocinéticos de selenio evaluados post-administración de bolos intraruminales en cabritos en los tres grupos tratados.	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Diagrama de flujo del desarrollo experimental	42
Figura 2	Diagrama de flujo del proceso de elaboración para la obtención de bolos intraruminales	43
Figura 3	Cabritos en Jaulas metabólicas	45
Figura 4	Administración de los bolos intraruminales y toma de muestras a los cabritos	47
Figura 5	Apariencia física de los bolos elaborados	56
Figura 6	Radiografía tomada a la quinta semana de experimentación del cabrito 114 del grupo bolo SMZ-Se	57
Figura 7	Radiografía tomada a la quinta semana de experimentación del cabrito 87 del grupo bolo placebo	57
Figura 8	Radiografía tomada a la quinta semana de experimentación cabrito 241 del grupo bolo SMZ	58
Figura 9	Bolos recuperados del rumen después del sacrificio, grupo bolo SMZ-Se	58
Figura 10	Bolos recuperados del rumen después del sacrificio grupo bolo placebo	59
Figura 11	Bolos recuperados del rumen después del sacrificio grupo bolo SMZ	59
Figura 12	Representación de la concentración plasmática de sulfametazina en los dos grupos de experimentación tratados con bolos intraruminales, administrado por vía oral en cabritos, cada punto representa el promedio y las barras representan el error estándar $(\frac{s}{\sqrt{N}})$	62
Figura 13	Representación de las concentraciones plasmáticas de sulfametazina con media y error estándar por día de muestreo, en los dos grupos tratados con sulfametazina	63
Figura 14	Evolución de la carga parasitaria de los animales tratados con bolos intraruminales, vía administración oral en cabritos	64
Figura 15	Representación del Área Bajo la Curva de Sulfametazina (ABC) en los grupos tratados, administrado por vía oral en cabritos	66
Figura 16	Representación de la concentración plasmática de selenio en los tres grupos de experimentación tratados con bolos, administrado por vía oral en cabritos, cada punto representa el promedio y las barras representan el error estándar $(\frac{s}{\sqrt{N}})$	67

ÍNDICE DE FIGURAS (continuación)

Figura 17	Representación de las concentraciones plasmáticas de selenio con media y error estándar por día de muestreo, en cada uno de los tres grupos experimentales	69
Figura 18	Representación del Área Bajo la Curva de Selenio (ABC) en los tres grupos tratados, administrado por vía oral en cabritos	70
Figura 19 a 33	Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos	88
Figura 34 a 43	Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos	96

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Materiales	80
Anexo 2	Validación de método cromatográfico para la determinación de sulfametazina en plasma y curva de referencia de selenio.	81
Anexo 3	Concentración de selenio en plasma para cada unidad experimental	88
Anexo 4	Concentración de sulfametazina en plasma para cada unidad experimental	96

INTRODUCCIÓN

El éxito que pueda tener cualquier programa de tratamiento para animales, igual que para el humano, depende de la administración del medicamento, en la dosis correcta, en el momento apropiado y con la frecuencia necesaria (Amador, 1999). El diseño de una forma farmacéutica considera numerosos factores; un análisis de las propiedades físicas y fisicoquímicas de los fármacos y de los excipientes, un diseño adecuado para la administración, así como el empleo de métodos in vivo que provean información de la biodisponibilidad (Arancibia, 1991).

En los estudios de biodisponibilidad se determinan parámetros farmacocinéticos, los cuales se correlacionan con los efectos terapéuticos del fármaco en el organismo, hay tres parámetros importantes: la concentración máxima (C max), el tiempo para alcanzar la concentración máxima (T max) y el área bajo la curva de la concentración plasmática versus el tiempo (ABC). Estos permiten apreciar los dos factores importantes de la biodisponibilidad: la cantidad de fármaco disponible, que está relacionada con el ABC y la velocidad a la cual se hace biodisponible que está ligada a T max y Cmax (Arancibia, 1991).

El campo de la salud animal proporciona una gran oportunidad para la introducción de nuevos dispositivos para la liberación controlada de fármacos. Los sistemas ruminales de liberación prolongada para rumiantes dependen de la densidad y de la forma geométrica, para prevenir la regurgitación en la rumia, el uso de bolos, como dispositivos de aplicación oral, juega un papel importante en reducir la frecuencia de dosificación, con el beneficio de reducir el manejo de los animales y administración de dosis controlada y exacta (Amador, 1999), en animales lactantes (corderos o chivos) resulta difícil la administración de fármacos en el agua o pienso, ya que las cantidades que comen o beben son insuficientes para obtener concentraciones plasmáticas adecuados, es por eso que la ingestión forzada es la forma de administración más adecuada en estas edades (Amador, 1999; Chávez, 2000) .

La infección con parásitos, especialmente aquellos que afectan el tracto gastrointestinal como las coccidias y causan pérdidas en los rebaños de cabras han llevado a buscar tratamientos adecuados para estos animales, las sulfonamidas son uno de los grupos de fármacos más utilizados por su actividad quimioterapéutica. Son compuestos sintéticos que se han utilizado desde 1932 para reducir la incidencia de enfermedades infecciosas y la mortalidad en humanos y animales. Debido a su supuesta propiedad de promover el crecimiento animal y mejorar la eficiencia en la alimentación, se ha incrementado su uso en el campo veterinario, donde se emplean principalmente como aditivos en las dietas.

La utilización de sulfonamidas (sulfas) ha sido recomendada para la prevención y/o tratamiento de la coccidiosis. La sulfa detiene la formación de ácido fólico e inhibe las funciones celulares que dependen

de éste y además es probable que compitan con el PABA (ácido para amino benzoico). Las sulfonamidas son comúnmente administradas por vía oral y que pueden ser dadas en soluciones orales o en forma de bolos. Aunque la mayor parte de las sulfas se absorben rápidamente a través del tracto gastrointestinal, pueden ocurrir variaciones entre especies, principalmente en los rumiantes por su anatomía y fisiología digestiva (Chávez, 2000).

El selenio es un mineral traza, funcional en casi 100 proteínas y con funciones como antioxidante, mejora la inmunidad, fertilidad y función muscular. La deficiencia de selenio afecta de manera importante en la etapa de desarrollo y durante la gestación. Algunas de las formas mediante las cuales se pueden corregir la deficiencia de selenio, es la inclusión en forma de sales en el alimento, aplicación de inyecciones subcutáneas y la dosificación oral de bolos intraruminales (Blodgett, 1987).

Actualmente se sigue abusando de los fármacos practicándose la polifarmacia. Las consecuencias de estas interacciones medicamentosas pueden ser: disminución de la actividad terapéutica, incremento de la toxicidad e incremento de la actividad terapéutica por efecto sinérgico o aditivo. Considerando a esta última como deseable y única justificación de las mismas (Stockey, 2007).

I.1. BIODISPONIBILIDAD

La biodisponibilidad es la medida de la cantidad de fármaco inalterado que llega a circulación general y la velocidad a la que ocurre. Desde una perspectiva de tecnología farmacéutica es un parámetro que define la calidad de un producto, y se refiere a la eficiencia con la que una forma farmacéutica administrada al organismo, cumple con la función de hacer que el principio activo, sea aprovechable en su máxima potencialidad (Helgi, 2003).

I.1.1. Objetivos de los estudio de biodisponibilidad

La biodisponibilidad es un termino farmacocinetico que describe la velocidad y la cantidad de un principio activo que se absorbe y llega al sitio de acción. Considerando que las concentraciones de fármaco no pueden medirse directamente en el sitio de acción, los estudios de biodisponibilidad comprenden la determinación del fármaco en sangre o en orina. Ello se basa en la premisa de que la concentración del fármaco en el sitio de acción esta en equilibrio con la concentración en sangre y por ello es posible determinar indirectamente la respuesta del fármaco, midiendo los niveles del fármaco en sangre o en orina (Helgi, 2003).

Los estudios de biodisponibilidad se llevan a cabo con diferentes propósitos (Helgi, 2003)

Para un fármaco nuevo los estudios de biodisponibilidad son importantes para:

1. Determinar la eficiencia de absorción o fracción biodisponible, por distintas vías de administración.
2. Establecer cuál es la mejor vía de administración.
3. Determinar la influencia de la formulación y el proceso de fabricación sobre la biodisponibilidad del principio activo.

Mientras que para un fármaco conocido, estos estudios permiten:

1. Determinar la equivalencia entre el producto genérico en relación con el producto innovador.
2. Determinar la biodisponibilidad de un fármaco contenido en formas farmacéuticas distintas.

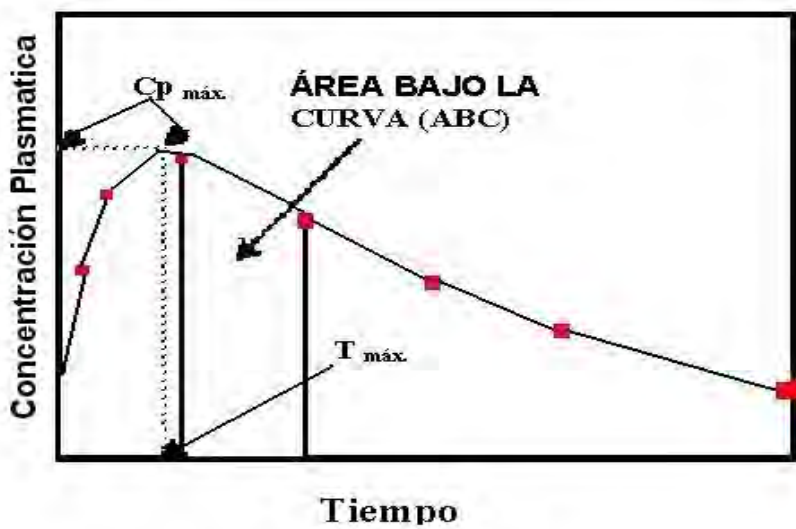
I.1.2. Métodos para determinar la biodisponibilidad (Helgi, 2003)

Evento	Método de evaluación	Ejemplo.
Niveles de fármaco en circulación	Perfil de concentración plasmática vs tiempo Concentración máxima, tiempo máximo, área bajo la curva.	Niveles en plasma, sangre, suero.
Eliminación	Cantidad acumulada excretada, velocidad de excreción máxima, tiempo máximo	Muestra de orina
Efecto farmacológico	Inicio, duración, intensidad, efecto.	Presión arterial, glucosa en sangre.
Estudios in vitro	Factor de similitud	Por ciento disuelto a diferentes tiempos de muestreo.

I.1.3. Parámetros Farmacocinéticos.

Son indicadores de la velocidad y cantidad absorbida. (Morales, 2003)

La concentración máxima (C_{max}), el tiempo para alcanzar la concentración máxima (T_{max}) y el área bajo la curva de la concentración plasmática versus el tiempo (ABC). Estos permiten apreciar los dos factores importantes de la biodisponibilidad: la cantidad de fármaco disponible, que está relacionada con el ABC y la velocidad a la cual se hace biodisponible que está ligada a T_{max} y C_{max} (Arancibia, 1991).



I.1.4. Factores que influyen en la biodisponibilidad

La biofarmacia es una disciplina aplicada que alcanza su mayor potencialidad en las etapas de preformulación que conlleva al diseño de un medicamento. Ello conjuga las relaciones entre las propiedades fisicoquímicas de un medicamento y la respuesta terapéutica observada después de su administración (Morales, 2003).

La administración oral del medicamento es preferida en muchos casos. Factores como la solubilidad, velocidad de disolución o de liberación, permeabilidad, degradación gastrointestinal y la rápida biotransformación del fármaco, todos o por si solos pueden contribuir a las características de la disponibilidad (Morales, 2003).

La disposición de los fármacos puede ser influida por diversos factores, entre los que se mencionan los estados fisiológicos (edad, gestación), enfermedad, vía de administración y formulación. El conocimiento detallado del comportamiento farmacocinético en animales de producción, jóvenes o adultos, tiene importancia en el aspecto terapéutico, debe existir un nivel óptimo de fármaco en sangre y en tejidos, sin producir toxicidad en el animal (Watson *et al.* 1987; Schwark, 1992).

En las diferentes etapas de la preformulación del desarrollo de un medicamento, es importante tener definido el límite de absorción de un fármaco, la velocidad máxima u óptima y la magnitud de la absorción que puede ser alcanzada en la forma más rápida disponible diseñada para el fármaco en cuestión, cada fármaco debe ser considerado individualmente, ya que las propiedades fisicoquímicas, sus usos terapéuticos y las características de disposición fisiológica de los diferentes fármacos deben ser consideradas en el diseño y evaluación de tales estudios. Por lo tanto, en el desarrollo de un nuevo medicamento, debe considerarse no solamente las características farmacológicas y toxicológicas, sino además, las propiedades biofarmacéuticas (Morales, 2003).

Los principales factores que influyen en la biodisponibilidad, se pueden dividir en dos grandes grupos (Helgi, 2003):

1. Factores que dependen del principio activo, la forma farmacéutica y el proceso de fabricación.
2. Factores fisiológicos y patológicos relacionados con el paciente.

I.1.5. Factores que dependen del principio activo, la forma farmacéutica y el proceso de fabricación.

Para que el fármaco administrado por vía oral alcance la circulación sistémica, se requiere que se encuentre disuelto y esté disponible para su absorción en el tracto gastrointestinal; cualquier factor que influya sobre estos procesos, podría afectar su biodisponibilidad (Helgi, 2003).

Las propiedades inherentes al principio activo tales como la solubilidad, velocidad de disolución, polimorfismo, estado cristalino, peso molecular, forma química (ácido, base o sal), pka o pkb, coeficiente de partición, tamaño de partícula son propiedades fisicoquímicas que afectan la disolución de un fármaco y por ende su biodisponibilidad (Arancibia, 1991; Helgi, 2003).

Los factores inherentes a la forma farmacéutica, la elección del tipo y la cantidad de excipientes empleados de acuerdo a la forma farmacéutica de que se trate, son de suma importancia respecto a la liberación y disolución del fármaco. En general para su elección se deben considerar: compatibilidad fisicoquímica de la formulación, presencia de agentes humectantes; tipo, espesor y porosidad de recubrimientos; forma, tamaño y porosidad de las matrices que contienen el fármaco, diluentes y desintegrantes; compactadores y agentes granulantes; lubricantes, tamaño de granulo y distribución; fuerza de compresión, humedad durante el proceso de fabricación (Arancibia, 1991; Helgi, 2003).

En cuanto a factores inherentes al proceso y/o reproceso de fabricación del medicamento, se encuentra el uso de operaciones unitarias tales como molienda, mezclado, compresión y secado entre otras, las cuales 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 (Arancibia, 1991).

Las condiciones de almacenaje y periodo útil del producto es otro factor tecnológico que pudiera modificar el comportamiento cinético, debido a que los medicamentos son mezclas complejas de componentes susceptibles de reaccionar o de modificarse con el paso del tiempo, o por influencia de factores externos como son la temperatura y humedad (Arancibia, 1991).

I.1.6. Factores fisiológicos y patológicos que influyen en la biodisponibilidad

Entre los factores fisiológicos que pueden afectar la biodisponibilidad de un fármaco se pueden mencionar los siguientes: (Aulton, 2004; Arancibia, 1991; Helgi, 2003)

- Variabilidad de pH de los fluidos gastrointestinales y presencia de enzimas en el sitio de administración del medicamento.

- Velocidad de vaciamiento gástrico y motilidad intestinal.
- Edad, género, peso.
- Condiciones dietéticas relacionadas con la administración del medicamento.
- Índice de perfusión sanguínea en el sitio de depósito y/o de absorción del fármaco.
- Estados de enfermedad.
- Factores genéticos.

I.2. FARMACOCINÉTICA DE LAS SULFAMIDAS

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

I.2.1. Absorción

Las sulfamidas en general son rápidamente absorbidas cuando se administran por vía parenteral y en el aparato digestivo de monogástricos y aves cuando su administración es oral. Esta absorción es regida por una difusión pasiva y su velocidad está influida por la vascularización del sitio de absorción (González, 2005). El intestino delgado es el sitio principal donde ocurre este proceso. Hay fármacos que tiene una pobre solubilidad en agua y por lo tanto tiene poca o ninguna absorción en el aparato digestivo, por ejemplo el ftalilsulfatiazol y otras sulfamidas son utilizadas en infecciones microbianas susceptibles, localizadas en este aparato, para ejercer su acción *in situ*.

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

En cabras, la absorción de sulfadoxina y de trimetoprim fue dos tercios de lo administrado; en los recién nacidos fue menor, incrementándose la absorción con la edad. La eliminación fue menor en los recién nacidos que en los adultos, aumentando con la edad. Con el trimetoprim administrado a cabritos, cabras adultas y a vacas, se observó mayor concentración plasmática en los recién nacidos que en edades adultas, justificado esto por efecto de los líquidos ruminales que producirían una degradación del fármaco (Nielsen *et al.* 1978).

Estudios realizados en corderos, mostraron que la utilización de bolos retenidos en retículo-rumen con matriz lipídica conteniendo sulfametazina, producían una liberación sostenida del fármaco, lográndose niveles plasmáticos por encima de la concentración mínima inhibitoria de sulfametazina durante 100 horas y una biodisponibilidad del 51.7 %, adecuados para el tratamiento de coccidiosis (Evrard *et al.* 1995).

Murphy *et al.* (1986) evaluaron el mismo fármaco, administrado bajo la forma de bolo de eliminación lenta en terneros de 3 a 5 días de vida, obteniéndose concentraciones plasmáticas que excedían el

mínimo nivel terapéutico desde las 4 a 120 horas post tratamiento. Trabajos realizados en equinos adultos por Van Duijkeren *et al.* (1995) concluyeron que la administración por vía oral de sulfacloropiridazina-trimetoprim conjuntamente con la ración, influyó la absorción de la misma, ya que los picos de concentraciones plasmáticas encontrados produjeron una curva bifásica con un primer pico ocurrido entre las 1 y 2 horas y un segundo a las 8-10 horas y la biodisponibilidad, fue significativamente reducidas en comparación a las observadas cuando se utilizó sonda nasogástrica y vía endovenosa. Estas dos últimas vías resultaron ser adecuadas para lograr concentraciones plasmáticas suficientemente efectivas contra los agentes susceptibles.

González (2005), estudió la biodisponibilidad en ovejas Columbia y Pelibuey administrando bolos intraruminales de sulfametazina de liberación prolongada vía oral, determinó la concentración máxima de $13.051 \pm 5.7962 \mu\text{g/mL}$ en un tiempo máximo de 3.8 ± 0.8166 horas, obteniendo un efecto terapéutico adecuado para el tratamiento de la coccidiosis y por lo tanto una disminución significativa en el conteo de ooquistes.

I.2.2. Factores que Modifican la Absorción

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

El pH abomasal de 7.5 en un individuo recién nacido, se va tornando más ácido en la medida que se modifica la dieta del animal. Estas diferencias en el pH influyen directamente en la tasa de absorción pues determinan el grado de ionización del fármaco. Compuestos que se inactivan en medio ácido, como la penicilina, pueden verse menos afectados por el pH del medio y por ende ser mejor absorbidos en un neonato que en el medio ácido propio del abomaso de un bovino adulto (Schwark, 1992).

Otro aspecto a tener en cuenta son los cambios que se producen a nivel de la superficie mucosa del intestino que afectan su capacidad de absorción; durante las primeras horas de vida existe una gran permeabilidad en la mucosa intestinal que permite el pasaje de los anticuerpos calostrales, pero también posibilita la absorción de otras macromoléculas como es el caso de los aminoglucósidos y algunas sulfamidas que normalmente no se absorben en el intestino de un animal adulto (Caprile & Short, 1987). En la medida que transcurren los días, la superficie mucosa del tubo digestivo aumenta al igual que lo hace la perfusión sanguínea de las mismas, lo que teóricamente favorecería la absorción de fármacos;

no obstante, con el transcurso del tiempo también se incrementa la actividad enzimática, tal es el caso de las enzimas del complejo citocromo P-450 involucradas en el metabolismo de xenobióticos, lo cual actuaría como barrera para el acceso del fármaco hacia la circulación sistémica por un efecto de metabolismo de primer paso (Williams, 1983). La actividad propulsiva del tubo digestivo también debe considerarse, ya que la misma es menor en neonatos que en adultos y por lo tanto puede afectar el grado de absorción (De Backer, 1986).

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

Cuando consideramos el efecto ejercido por el rumen en el comportamiento cinético de los fármacos, ya sean administrados por vía oral o intraruminal, se debe tener en cuenta el efecto de dilución que ejerce, su contenido, los pre-estómagos constituyen del 12 al 15 % del peso corporal. Además, la solución del fármaco en el rumen no presenta una concentración homogénea. El contenido ruminal se encuentra dividido en una serie de capas estratificadas que no se mezclan de forma homogénea: la fracción acuosa progresa con velocidad constante en ovinos y bovinos y tarda aproximadamente 6 horas en alcanzar el abomaso. Sumado a esto, las bases débiles administradas por vía oral pueden quedar atrapadas en el rumen por ionización y liberarse gradualmente, prolongando la eliminación y aumentando el volumen de distribución (Dunlop, 1983). En los rumiantes adultos la fracción de fármaco que se excreta a través de la saliva, puede alcanzar el tracto digestivo y probablemente ser reabsorbida nuevamente llegando a la circulación sanguínea y pudiendo ser otra vez excretada por las glándulas salivales, estableciéndose así un circuito rumen - sangre -saliva (Dunlop, 1983). En los rumiantes, el volumen de producción de saliva es muy grande (aproximadamente 100 a 200 L/día en los bovinos) es ligeramente alcalina (pH 8.2). Por ello, la cantidad de fármaco que puede ser excretado por el fluido salival es considerable, a diferencia del resto de las especies domésticas.

I.2.3. Distribución

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

La distribución de las sulfas es amplia en los diferentes territorios orgánicos, alcanzando concentraciones terapéuticas en plasma, líquido cefalorraquídeo, sinovial y peritoneal, en relación a la fijación en 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 (González, 2005).

El término farmacocinético utilizado para estimar el alcance de la distribución de un fármaco es el volumen de distribución (Vd), que indica el espacio virtual disponible del cuerpo que contiene al fármaco, para equiparar en el supuesto más sencillo (modelo monocompartmental, dosis única, vía intravenosa), la cantidad de fármaco en el organismo y la concentración del fármaco en plasma, determinados al mismo tiempo. Basado en este parámetro, la distribución del mismo puede ser caracterizada como amplia (mayor de 0.7 L/kg), moderada (0.3 a 0.7 L/kg) o limitada (menor de 0.3 L/kg). Las sulfamidas son consideradas de distribución moderada (Baggot, 2001).

González (2005), estudió la biodisponibilidad en ovejas Columbia y Pelibuey y determinó los parámetros farmacocinéticos obtenidos de una administración intravenosa, el volumen de distribución fue 0.6518 ± 0.1374 y 0.8509 ± 0.1606 litros, y el tiempo de vida de 4.2149 ± 0.1857 y 4.6141 ± 0.6892 h para la raza Columbia y Pelibuey respectivamente.

Las sulfas una vez absorbidas se unen a proteínas plasmáticas, usualmente albúmina, esta unión varía entre las distintas sulfamidas y entre las distintas especies, observándose variaciones de rango que van de 15 a 90 % de unión. Así, para las sulfamidas de corta duración este porcentaje es bajo, siendo elevado para las de larga actividad; por ejemplo sulfadimetoxina que se une a las proteínas plasmáticas en un 97.7 % y un 98.6 %, su metabolito N4 acetil sulfadimetoxina y el sulfametoxazol se unen en un 65 % (Costa, 1996).

La unión a proteína incrementa marcadamente la semivida de la sulfamida. Existe un equilibrio entre la fracción libre y la fracción ligada a las proteínas, la constante disociación del complejo sulfa proteína varía según la sulfamida que se considere (Costa, 1996). Se ha observado en casos de parasitosis en ovejas que el cuadro de hipoproteinemia, explicaría las diferencias de concentración plasmáticas y de permanencia de sulfametazina en el plasma en relación con los animales sanos (Righter *et al.* 1979). Como las sulfamidas son ácidos débiles, no hay pasaje significativo a leche; sin embargo, puede ocurrir por difusión pasiva, limitándose el uso como antimicrobiano en las mastitis. El proceso puede depender de diversos factores, entre los que se incluye la unión a proteínas y valores de pKa (USP, 2000). Nows *et al.* (1991) observaron un rápido pasaje de sulfametoxazol a leche con un pico máximo de concentración a las 3 horas, el que fue decreciendo paralelamente con el descenso de las

concentraciones en el plasma; las concentraciones encontradas en leche fueron cuatro veces menores que en plasma. Al respecto, Mc Evoy *et al.* (1999) observaron similar comportamiento con la sulfametazina administrada con el alimento, la que una vez cumplido el período de retiro no fue detectada en la leche, utilizando técnicas sensibles como HPLC.

I.2.4. Factores que Modifican la Distribución

Existen varios factores que afectan la distribución de fármacos, difieren entre neonatos y adultos y por lo tanto originan modificaciones en la disposición cinética. Uno de los cambios más importantes es la modificación en las proporciones del contenido acuoso. El agua corporal puede comprender el 75% del peso total en un neonato, mientras que en un adulto es del 50 al 60%. En el caso de cabras de una semana de vida, el volumen extracelular representa el 43% del peso corporal, mientras que desciende en la tercera al 34% (Kami *et al.* 1984). Este tipo de cambios podría tener un efecto significativo en la distribución de fármacos polares y compuestos hidrosolubles como el caso de penicilinas, aminoglucósidos y antiinflamatorios no esteroides (De Backer, 1986; Baggot, 1992). La unión de los fármacos a las proteínas plasmáticas es otro factor importante a tener en cuenta, ya que solamente la fracción libre puede atravesar las membranas capilares. Esta unión a proteínas plasmáticas depende de la cantidad de proteínas presentes y de la afinidad del fármaco hacia las mismas. Debido a que los neonatos presentan una menor cantidad de proteínas plasmáticas que los adultos, el grado de unión está condicionado por la edad del animal (Baggot, 1977). En el cerdo, la unión del trimetoprin a las proteínas plasmáticas se incrementa de un 45% en el neonato a un 75% en el adulto (Gyrd, *et al.* 1984). También en cerdos, la unión del ácido salicílico a las proteínas plasmáticas se incrementa en forma paralela al aumento en la concentración de albúmina en plasma (Short & Tumbleson, 1973). En general en los neonatos existe una menor tasa de unión a las proteínas plasmáticas y por ende los fármacos pueden evidenciar una mayor distribución (Baggot, 1992). El epitelio ruminal constituye una barrera permeable que permite el pasaje de fármacos liposolubles y no ionizados. Este pasaje bidireccional se rige por el gradiente de concentración a ambos lados de la membrana. Esto origina que las bases liposolubles administradas por vía parenteral difundan pasivamente a través del epitelio ruminal y queden retenidas por ionización (Dunlop, 1983).

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

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

I.2.5. Metabolismo

Las sulfamidas son metabolizadas principalmente en hígado, su biotransformación ocurre a través de mecanismos de acetilación, hidroxilación aromática, glucuronidación y conjugación con sulfato. Existe una base genética que explica el diferente comportamiento de las especies animales, en relación a los mecanismos metabólicos conocidos. El tipo de metabolitos formados y la cantidad de cada uno varía dependiendo de la sulfonamida administrada, la especie, edad, dieta, 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 de 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 pirimídico seguido de la glucuronidación (González, 2005).

En la mayoría de las especies la acetilación es la vía metabólica más común, se produce mayormente en hígado y en pulmón a través del sistema N-acetil transferasa y acetil coenzima A. La acetilación puede expresarse por la cantidad total de N4- acetilsulfamida excretada de modo acumulativo a través de la orina. En los rumiantes (ovinos y bovinos) y en el cerdo, esta vía y aparentemente los metabolitos acetilados (N4- acetilsulfamida) encontrados en orina, indican el mecanismo más frecuente de metabolización. Los metabolitos acetilados son menos solubles, por lo que se incrementa el riesgo de daños en los túbulos renales por formación de cristales y precipitación de estos, tanto en los animales como en el hombre (Hanna, 1996; Spoo, 2001).

También la hidroxilación es otro camino adicional por el cual se metabolizan las sulfamidas en los animales, fue ignorado durante mucho tiempo a causa de su poca importancia en algunas especies y de las dificultades analíticas. Este es un proceso que consiste en la oxidación del anillo aromático con sustitución de los grupos metil, bajo la regularización del sistema enzimático citocromo P-450. La hidroxilación del metabolito acetilado de una sulfamida ocurre en baja proporción (Costa, 1996; Zweers *et al.* 1998).

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

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

I.2.6. Factores que Modifican el Metabolismo

El principal sitio donde los fármacos son biotransformados es el hígado, y las reacciones metabólicas que allí acontecen pueden clasificarse en reacciones de Fase I (oxidación, reducción e hidrólisis) y Fase II (acetilación, glucuronoconjugación, metilación, sulfonación y conjugación con aminoácidos) (Benet *et al.* 1996; Baggot, 2001). El grado de desarrollo de estas vías metabólicas al nacimiento es diferente para cada una de ellas; así la actividad oxidativa del sistema microsomal citocromo P-450 al igual que las reacciones de glucuronoconjugación están poco desarrolladas en neonatos, en tanto que la capacidad de acetilación y conjugación con sulfatos y glicina en el recién nacido es similar a la de los adultos (De Backer, 1986; Nouws, 1992). El metabolismo oxidativo en terneros se desarrolla de manera gradual, siendo similar al de los adultos entre las 3 y 12 semanas de vida (Nouws, 1992). Es importante consignar que la naturaleza del fármaco al igual que la composición del alimento afectan el desarrollo del metabolismo oxidativo a nivel hepático, así la ingesta de alimentos toscos estimula los procesos oxidativos, mientras que la alimentación con leche parece demorarla (Kawalek & El Said, 1991). En terneros, la baja capacidad oxidativa durante los primeros días de vida se ha demostrado para varias sulfamidas (Nouws *et al.* 1988). Por otra parte las lesiones provocadas por diferentes agentes químicos y microorganismos a los hepatocitos, alteran la importante función de biotransformación de los fármacos.

I.2.7. Excreción

La mayoría de las sulfamidas o sus metabolitos son eliminadas(os) por vía renal, mediante la filtración glomerular, por transportadores activos en los túbulos proximales o por absorción pasiva de fármacos no ionizados por los túbulos distales, son eliminados en parte como fármaco libre y otra parte metabolizada. Respecto al pH urinario, si el mismo es bajo favorece la reabsorción tubular aumentando la semivida de la misma, puede causar precipitados con depósitos y eventual obstrucción de las vías urinarias. Por esto, la alcalinización de la orina incrementa la eliminación urinaria debido a la baja reabsorción tubular pasiva por el incremento en el pH. Muchas de las sulfamidas con una semivida prolongada experimentan una marcada reabsorción tubular sumada a una recirculación enterohepática (Spoo & Riviere 2001).

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

Por otra parte Bevill *et al.* (1977) realizando estudios con ovinos, describen que a las 60 horas pos administración de sulfametazina (107 mg/kg, IV) encontraron en orina valores acumulados de sulfametazina (18 %), hidroximetabolito (18 %), metabolitos polares (24 %) y un 11 % como metabolitos acetilados. También investigando la presencia de los metabolitos en los tejidos de estos animales post-mortem, detectaron que las mayores concentraciones se encontraban en tejido renal, hígado, corazón y en menor proporción en el tejido muscular y escasos en adiposo. Otras vías de eliminación son la lagrimal, heces, bilis, leche y transpiración. Las sulfamidas de acción entérica son primariamente eliminadas por heces, siendo una muy pequeña parte absorbida y metabolizada, para ser luego eliminada por la vía renal.

En equinos, el trimetoprim no metabolizado se elimina en muy pequeñas cantidades por heces y en un 10 % en orina, siendo su semivida en el plasma de 1.9 – 4.3 h mientras que las semividas de las diferentes sulfamidas varían considerablemente, de 2.71 h para la sulfadiazina y de 14 h para la sulfadoxina, siendo en esta especie el riñón, la vía más importante de excreción (Van Duijkeren *et al.* 1995).

I.2.8. Factores que Modifican la Excreción

La principal ruta de eliminación de fármacos y sus metabolitos es renal. El fármaco libre en plasma, alcanza la luz tubular por filtración glomerular, y en el caso de bases y ácidos débiles por secreción

tubular. La cantidad final de fármaco eliminado en la orina está gobernado por el grado de reabsorción tubular que acontece en la nefrona distal. Esto se ve afectado por factores tales como la concentración de la orina, el pH urinario y pK del fármaco (Benet *et al.* 1996). Debido a que los cambios en la dieta provocan modificaciones en el pH urinario, éste es un factor que puede afectar el grado de ionización del fármaco y por ende la reabsorción tubular (Watson *et al.* 1987). La funcionalidad renal es incompleta en la mayoría de los animales al momento del nacimiento. En rumiantes, parece ser completa entre la primera y segunda semana de vida (Friis, 1983; De Backer, 1986).

I.3. SULFAMETAZINA SÓDICA

La sulfametazina (SMZ) es un antibiótico que se encuentra dentro de la familia de las sulfonamidas. Es un antibiótico de amplio espectro contra gérmenes gram positivos y negativos como: Pasteurella, Salmonella, E. coli, Fusobacterium, Shigella, Streptococcus y Staphylococcus, Campylobacter, Corynebacterium y Coccidias. Para el tratamiento de infecciones respiratorias, digestivas, genitourinarias, del sistema nervioso central y locomotor de todos los animales domésticos, que se encuentra dentro del espectro de acción de la familia de las sulfonamidas. La bibliografía reporta su uso en una amplia variedad de animales tales como bovinos, equinos, porcinos, aves de corral, pequeños rumiantes y conejos, entre otros (Prescott, 2002)

Su acción abarca dos campos el bacteriológico y el parasitológico. En el primero poseen acción contra gérmenes gram (+) y gram (-), lo que hace que su uso esté indicado en afecciones de cuadros diferentes como neumonías, bronquitis, enteritis, cistitis, mastitis. En el campo parasitológico su acción es relevante, siendo el fármaco de elección para el tratamiento de la coccidiosis en bovinos y cerdos, al actuar en forma inmediata y letal sobre las formas intermedias del parásito, cortando su ciclo evolutivo.

Las sulfonamidas han sido y son recomendadas para la prevención y/o tratamiento de la coccidiosis, el tratamiento exitoso de las infecciones utilizando sulfas, depende de la presencia de una población infectante sensible al tratamiento, concentraciones adecuadas del fármaco en sangre y tejidos, y la presencia de las defensas celulares y humorales del hospedero. Se requiere de una fagocitosis activa para la remoción final del agente infeccioso. Clínicamente las sulfas han demostrado mejores resultados cuando son administrados durante estados de infección aguda. Durante esta etapa los mecanismos de defensa humoral y celular del hospedero están siendo movilizados y actúan conjuntamente con los efectos del fármaco. La terapia con sulfas generalmente es improductiva en situaciones de infección crónica (Soulsby, 1987; Bevill, 1991).

La sulfametazina ha sido formulada para uso en el agua de bebida, como aditivo para alimento, en preparaciones intravenosas y bolos de liberación sostenida con el fin de conseguir niveles sanguíneos terapéuticos de 50 µg / ml dentro de las 6 a 12 horas de administrada y que los mismos se mantengan en esos niveles por dos a cinco días posteriores a la administración oral, con resultados positivos en casos de neumonía y difteria en bovinos (Spoo & Riviere, 2001).

I.3.1. Mecanismo de acción

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

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

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

Las sulfamidas y el PABA tienen estructuras químicas semejantes lo que permite a las sulfamidas desplazar al mismo en la vía de producción del ácido fólico. La sulfanilamidas y todas las sulfamidas inhiben la biosíntesis de ácido fólico sustituyendo el PABA. La misma síntesis puede ser restituida por agregado de grandes cantidades -en el sistema- de PABA. Este mecanismo de inhibición en las células de los mamíferos no es válido, ya que las mismas utilizan el ácido fólico preformado obtenido de la dieta y no tienen la dihidropterato sintetasa. En cambio las bacterias no poseen un sistema de transporte del ácido fólico. Las sulfamidas tienen a su vez un pequeño efecto en aquellos organismo microbianos que, como las células de los mamíferos pueden utilizar el ácido fólico preformado (Spoo & Riviere, 2001; Sköld, 2001).

I.4. COCCIDIOSIS

La coccidiosis es una enfermedad infecciosa parasitaria producida por protozoarios (los animales más sencillos), denominada científicamente como Eimerias, también conocidas como coccidias, que se alojan en la mucosa intestinal (Chávez, *et al.* 2005). Esta parasitosis tiene la particularidad de afectar de forma aguda a los animales jóvenes, ya que los adultos poseen inmunidad contra ellos, presentándose en estos de forma crónica.

A la enfermedad, comúnmente se le llama *chorro* con sangre o eimeriosis, diarrea hemorrágica o sanguinolenta, disentería parasitaria, esteritis (Cuellar, 1986).

Los parásitos del género *Eimeria* son intracelulares, localizados en las células epiteliales del intestino del hospedador. Las coccidias llevan a cabo una reproducción asexual (esquizogonia) y una sexual (gametogonia). Fuera del animal, o sea en el suelo, las eimerias se reproducen asexualmente (esporogonia). La ingestión de un ooquiste esporulado puede dar lugar a la eliminación de alrededor de un millón de ooquistes (Amador, 1999).

Además de la ingestión de ooquistes maduros o esporulados, para la presentación de una coccidiosis en una explotación caprina se requieren obligadamente, tres factores (Cuellar, 1986; Chávez, 2000).

1. Que exista humedad relativa elevada. Se ha visto que en humedad relativa menor al 25% es casi imposible la presentación de ooquistes infectantes. Se necesita alrededor de un 75% de humedad relativa microambiental, que favorezca la supervivencia y maduración del protozoario. La coccidiosis es más frecuente en la época de lluvias dada la alta humedad prevaleciente. En humedades relativas del 60% pueden sobrevivir, aunque pueden deformarse y en algunas ocasiones liberar los esporoquistes.

Otras condiciones que favorecen la esporulación son la temperatura y la oxigenación, sin embargo, los valores extremos disminuyen los ooquistes infectantes. La temperatura óptima para la supervivencia y desarrollo rápido del ooquiste es de 20 a 25 °C (temperatura ambiental), pero temperaturas entre 35 y 40 °C producen degeneración y muerte de los ooquistes. La fermentación y la putrefacción, las soluciones saturadas de bióxido de carbono y los iones carbonato, impiden o detienen la segmentación y acaban por destruir a los ooquistes, ya que requieren oxígeno para esporular (Díaz, 2013).

2. La presencia de fases infectantes del protozoario (ooquistes maduros). El parásito es eliminado al exterior en excremento de los animales, por lo tanto, cuando hay una excesiva acumulación de materia fecal, se favorece la contaminación de alimentos y agua de bebida, con la consecuente presentación de la enfermedad.

La contaminación fecal de agua y alimento favorece la presencia de coccidiosis en el hato. Un solo animal puede eliminar hasta varios miles de ooquistes, sin que manifieste signos de enfermedad; sin embargo, contamina el medio donde se encuentran los cabritos.

3. La coccidiosis ocurre en los corderos desde la lactación hasta después del destete. La razón de que solo en los animales jóvenes se presente la coccidiosis, obedece a la respuesta inmune ante la presencia del parásito y a medida que el cabrito crece y se vuelve adulto es más resistente.

Los factores asociados, que junto a los anteriores proporcionan las condiciones favorables para la coccidiosis, son el hacinamiento, la falta de ventilación, pisos poco permeables que permitan la acumulación de líquidos y aquellas situaciones que produzcan tensión en los animales. Muchos de estos factores se observan en los modelos de producción caprina intensiva y de pastoreo con encierro nocturno en México.

La mayoría de los animales, particularmente los adultos y corderos con buen estado de salud, poseen el parásito pero no manifiestan signos clínicos, una coccidiosis sub-clínica. La importancia que tiene esta presentación se basa en que son una fuente continua de ooquistes para los animales jóvenes (Cuellar, 1986).

Para que la coccidiosis tenga manifestaciones clínicas se requiere: (Cuellar, 1986).

- a) Un cordero con una edad de uno a cuatro meses. En los animales de mayor edad es casi imposible la coccidiosis clínica.
- b) La ingestión de una gran cantidad de ooquistes maduros.
- c) Que las coccidias involucradas sean muy virulentas.
- d) Un mal estado nutricional o inmune del cordero, el cual está relacionado con la cantidad y calidad del alimento ingerido durante la lactación. A últimas fechas se ha asociado a la deficiencia de selenio.

I.4.1. Patogenia

Los ooquistes esporulados ingresan al organismo con el forraje y/o el agua de bebida. Colonizan a los pocos días las células epiteliales del intestino, parasitando su citoplasma (parásito intracelular), destruyéndolas en gran cantidad a medida que completan su ciclo biológico. Estos parásitos utilizan la vía fecal como puerta de salida del hospedador (Georgi, 1985).

La patogenia de la coccidiosis está relacionada con los cambios inducidos por las especies de *Eimeria* en la mucosa intestinal. La severidad de las alteraciones depende de la especie y la carga parasitaria. La salida de los merozitos y gametocitos provoca la pérdida de células epiteliales de la mucosa, con atrofia y fusión de vellosidades, la falta de madurez de las células de las vellosidades provocan un cuadro de mala absorción con fuerte diarrea y deshidratación. Además en la mucosa con un epitelio dañado se producirá la rotura de vasos con pérdida de sangre (Amador, 1999).

I.4.2. Signología

La enfermedad, sólo se presenta en forma clínica en cabritos, cuando ingieren gran cantidad de ooquistes esporulados en poco tiempo. Si el número de ooquistes es bajo o de especies poco virulentas, no se presentan signos clínicos. Después de los seis meses de edad y en los animales adultos, la coccidiosis es extremadamente rara. El primer signo, generalmente entre las cuatro o cinco semanas de edad, es la eliminación de heces pastosas, que posteriormente se vuelven fluidas, de tonalidad verde o café y pueden ir acompañadas de sangre. Los animales afectados se deprimen, muestran dolor abdominal y mucosas pálidas, su apetito disminuye y pierden peso, se debilitan y desmedran y si no son tratados puede sobrevenir la muerte de los cinco a los seis días. La muerte ocurre por la deshidratación y pérdida de electrolitos y por la anemia debida a la hemorragia intestinal y la anorexia (Ernst & Benz, 1986). Los animales que no mueren pero estuvieron enfermos, en ocasiones quedan subdesarrollados por el daño al intestino, quedando incapacitados para absorber eficientemente los nutrientes (Cuellar, 1986; Georgi, 1985; Ernst & Benz, 1986).

I.4.3. Diagnóstico

El cuadro clínico que presentan los animales con coccidiosis en rumiantes es razonablemente específico, considerando la edad y las características de la diarrea. El diagnóstico debe realizarse basándose en la epidemiología, análisis de laboratorio y hallazgos pos-mortem. El número de ooquistes de *Eimerias* detectadas no indica necesariamente la severidad de la coccidiosis, ya que en casos sobreagudos los ooquistes son eliminados después de la aparición de los signos clínicos, además animales sanos pueden eliminar más de 1.000.000 de ooquistes por gramo de heces. Los animales pueden morir de coccidiosis

antes de que eliminen ningún ooquiste, la producción de ooquistes puede ser transitoria, de forma tal que un animal que está muriendo de coccidiosis puede mostrar pocas estructuras (Cuellar, 1986).

Diagnóstico de laboratorio: Un análisis de materia fecal por flotación (con NaCl) posibilita la visualización de los ooquistes, sin embargo el resultado es difícil de interpretar por la falta de correlación en muchos casos, entre la severidad del proceso y la eliminación de formas parasitarias, los ooquistes están conformados por 4 esporocistos con 2 esporozoitos cada uno.

Diagnóstico post mortem: En la necropsia se pueden visualizar las lesiones en los distintos tramos intestinales, algunas de estas lesiones (denudación del intestino, placas de ooquistes, petequias, macroesquizontes) son características de algunas especies de Eimeria, todo esto le otorga al clínico una ayuda importante para arribar con mayor precisión al diagnóstico.

I.4.4. Tratamiento

Se recomienda el uso de sulfas: sulfaguanidina (2g al día durante seis días), sulfamerazina, sulfametazina y sulfaguanidina (140 mg/kg. de peso vivo durante siete días). El Amprolium (50-62.5 mg/kg de peso vivo), se ha usado como tratamiento o como preventivo, actualmente solo se encuentra registrado en avicultura. Diclazuril (1 mg/kg de peso vivo) se puede administrar una única dosis en las épocas de riesgo y, eventualmente, repetirla 3 semanas después en caso de fuerte presión anticoccidial. Toltrazuril (30 ppm en agua por 14 días) suprime la producción de ooquistes (Cuellar, 1986).

Los fármacos se denominan en general anticoccidianos, entre los cuales puede diferenciarse los coccidiostatos que solo inhiben el crecimiento de los coccidios y los coccidicidas que interrumpen el ciclo de vida. Todos los anticoccidianos son susceptibles de inducir resistencia por parte de los protozoarios. Para evitar la resistencia existen programas de rotación de fármacos (Cuellar, 1986).

I.4.5. Prevención y control

Las medidas de prevención y control no son hasta el momento suficientemente efectivas. Como primera medida de control, es recomendable que los animales jóvenes no sean introducidos en los lotes de animales adultos, ya que se considera que éstos actúan como portadores clínicamente sanos, convirtiéndose en fuente de infestación para los jóvenes. También se puede prevenir la enfermedad reduciendo la contaminación del agua y alimentos con heces que puedan contener ooquistes, aplicar el tratamiento individual con coccidicidas a aquellos animales que manifiesten signos de enfermedad. En el caso de animales en engorda intensiva, es de utilidad la administración continua de coccidiostatos en el alimento (Cuellar, 1986).

I.5. SELENIO

El Selenio (Se) es un microelemento esencial para los animales, requerido para varias funciones vitales del organismo, es el componente estructural de poco más de 30 selenoproteínas, la mayoría de ellas importantes por su actividad enzimática. Con funciones como antioxidante, mejora la inmunidad, fertilidad y función muscular. El animal que consume grano conteniendo selenometionina puede retenerlo en el tejido muscular o en el hígado o bien liberar el elemento de la molécula y producir selenocisteína, siendo esta la forma biológicamente activa, Lo que lo que más afecta la absorción del Selenio en sales inorgánicas es su forma química; el selenito de sodio es más rápidamente absorbido que el selenato de bario (Silva *et al.* 2000). La absorción se da a través del duodeno, seguido del ciego, sin absorción a nivel de rumen o abomaso, el selenio es transportado por el plasma para incorporarlo a los tejidos y muchas enzimas, favoreciendo la respuesta de los tejidos, del sistema digestivo y previniendo la distrofia muscular (Church & Pond 1988).

Dentro de las selenoproteínas, las mejor caracterizadas y estudiadas son la Glutación Peroxidasa (GPx) que remueve los peróxidos de la membrana celular y la Selenoproteína P (SePP) proteína plasmática secretada por el hígado que transporta al selenio en 60 %. Otras dos enzimas de importancia mayor son la Tio redoxina reductasa cuya función es reducir nucleótidos durante la síntesis de ADN y las Iodotironinas deiodinasas, responsables de la conversión periférica de T4 en T3 activa (Manzanarez, 2007).

Tanto la vitamina E como la glutación peroxidasa son antioxidantes que protegen a las células fagocíticas y los tejidos circundantes del ataque oxidativo de los radicales libres producidos por el estallido respiratorio de los neutrofilos y macrófagos durante la fagocitosis (Silva *et al.* 2000). La función de la superóxido dismutasa y de la glutación peroxidasa, es la de proteger a los fagocitos contra los grupos citotóxicos que ellos mismos generan (O_2 , H_2O_2), los cuales son esenciales para sus propiedades bactericidas, durante el “estallido respiratorio”, siendo estos compuestos necesarios para su función antimicrobiana, los macrófagos contienen glutación peroxidasa en sus lisosomas y un déficit nutricional de Se resulta en la declinación de la actividad de esta enzima, decreciendo su capacidad bactericida, pero no la acción de fagocitar bacterias. La proliferación de los linfocitos y la síntesis del ácido 5-hidroxi-eicosatenoico y el leucotrieno B4, agentes quimiotácticos para los neutrofilos, están reducidas en las células de los rumiantes con dietas deficientes de Se. Indicando que el Se es importante en la regulación del ácido araquidónico, vía la ruta de la 5-lipooxigenasa lo cual explica parcialmente el mecanismo involucrado en la disminución de la resistencia a infecciones en los animales con deficiencia de selenio (Abd, 2007). El efecto combinado del Se y del Cu sobre las funciones inmunes de las células fagocíticas puede ser explicado mediante los pasos metabólicos que se llevan a cabo en el proceso de fagocitosis (Ricciardino, 1993). Durante el mismo los fagocitos incrementan marcadamente la respiración mitocondrial, lo cual genera una gran cantidad de O_2 , con la subsecuente producción de H_2O_2 (peróxido

de hidrogeno); esto ocasiona un “stress” oxidativo en el medio interno de los fagocitos; esta condición puede conducir a un daño oxidativo, vía oxidación de elementos críticos dentro de la célula (tioles solubles, proteínas con grupos sulfidrilos y lipoproteínas de las membranas celulares (Rickaby, 1981; Rodríguez, 2013).

Los trastornos productivos por la deficiencia de selenio pueden ser severos. En animales lactantes es común la muerte súbita por falla cardiaca asociada a cambios degenerativos en miocardio; en animales jóvenes y adultos son comunes los problemas de distrofia muscular nutricional, retraso en el crecimiento e infertilidad. La distrofia muscular se presenta en todas las especies pero es más frecuente en terneros, borregos y cabritos; sobre todo en aquellos de crecimiento rápido y nacidos de madres que han ingerido dietas deficitarias durante largo tiempo. Desmedro o falta de vigor es otra de las enfermedades muy conocida provocada por la deficiencia de selenio, enfermedad que responde a la administración de este mineral (Ramírez, 2008). La deficiencia provoca necrosis del hígado, distrofia de los músculos especialmente el cardíaco, inmunodeficiencia y reducción de la fecundidad (Pond & Maner 1976; Torrent & Edens 1996).

Los animales que reciben una dieta deficiente en selenio durante la gestación pueden dar a luz crías que sufren la deficiencia de selenio, pueden nacer muertos o muy débiles y morir durante los primeros días de vida. En casos de extrema deficiencia, puede ocurrir un daño permanente y los animales recién nacidos no responderán a la administración de selenio, en estos casos, es necesario suplementar a las madres con cantidades adecuadas de selenio durante la gestación. Algunos becerros en rebaños deficientes en selenio tienen deteriorada la estructura y función de la glándula tiroides. Además, la deficiencia de selenio suprime la respuesta del sistema inmune, interfiriendo con su capacidad para combatir las infecciones y disminuyendo su resistencia a las enfermedades. Estos problemas para el recién nacido pueden significar la diferencia entre la vida o la muerte. Una deficiencia menos aguda de este elemento traza también contribuye a problemas crónicos de salud en animales añeros y adultos. Muchos de estos animales desarrollan una enfermedad de larga duración y son incapaces de utilizar el alimento apropiadamente, y pueden morir. Su pelo puede desarrollar una apariencia “blanqueada” o “desteñida”. Muchos animales afectados tienen un pelaje áspero, duro, encrespado y no lo mudan de manera normal por lo que no se muestra la apariencia normal, saludable y brillante (Hansen *et al.* 1993).

En los rumiantes el Selenio por la acción de la flora ruminal se une a aminoácidos como la cisteína y la metionina, luego así, es absorbido, se ha señalado que los microorganismos ruminales son los probables responsables de la baja absorción de selenio en rumiantes. Los microorganismos ruminales tienen la capacidad de reducir el selenio de la dieta a formas insolubles y no biodisponibles para el animal. De esta manera, la mayoría del selenio que se aporta en la dieta podría ser eliminado por las heces. Sin embargo, los microorganismos ruminales también tienen la capacidad de realizar lo contrario; incorporar

selenio a las proteínas bacterianas, aumentando así su biodisponibilidad. Los procesos antes mencionados no están claramente explicados, pero se menciona que se puede aumentar o disminuir la biodisponibilidad de selenio en rumiantes, modificando el porcentaje de proteína y carbohidratos en la dieta (NRC, 1980).

I.5.1. Requerimientos de selenio

El NRC (National Research Council) en los años 1989 y 2001, define los requerimientos diarios de selenio como 0.3 mg/kg de materia seca para todas las clases de ganado lechero y monogástricos. No existen nuevos datos disponibles para poner en duda este requerimiento. Sin embargo, la mayoría de los datos que soportan este requerimiento fueron generados a partir de experimentos en los cuales se suministró 0.3 mg de selenio por kilogramo de alimento en base seca, de manera que la cantidad total de selenio en la dieta se encontraba entre 0.35 y 0.40 mg/kg.

El selenio en cantidades de 5 a 8 ppm es tóxico en la dieta, provocando pérdida del apetito y defectos en el pelo, retraso en el crecimiento, separación de las pezuñas y anemia (Church & Pond 1988).

Para obtener una expresión saturada y la actividad de todas las selenoproteínas funcionales, el requerimiento recomendado actualmente es 30-70 μg / día para el humano y 0.15- 0.30 mg/kg materia seca para animales. El nivel crítico para prevenir síntomas de deficiencia es 10 μg / día en el humano y 0.05 mg/kg materia seca para animales. El nivel más alto tolerable para el selenio, es 400 μg /día para el humano y 2 mg / kg materia seca para animales. La LD_{50} para varios selenocomponentes está en un rango de 2.0 a 5.0 mg / kg de peso corporal (Mueller, *et al.* 2009).

En poblaciones normales existe una amplia variabilidad en cuanto a los requerimientos diarios de Selenio reportados; estudios de suplementación de Selenio en América y Europa sugieren que una dosis diaria de 80-100 μg / día es necesaria para optimizar la actividad de las diferentes selenoenzimas y en especial de la GPx plaquetaria. La recomendación diaria actual dada por el "US National Research Council" es de 50 - 75 μg / día; por su parte el grupo de expertos de la OMS/FAO sugiere un aporte dietético diario de 21 a 40 μg / día. Más recientemente, la "US Food and Nutrition Board" ha sugerido un aporte diario basal de 55 μg / día. El "UK Reference Nutrient Intake (NRI)" establece un consumo diario de 75 μg /día, considerándose adecuado para asegurar la actividad de la GPx plasmática (Manzanarez, 2007).

I.5.2. Suplementación de selenio para rumiantes

La Food and Drug Administration (FDA) prohibió la adición de selenio suplementario a los alimentos para el ganado. Sin embargo, a partir del periodo de 1974-1980, esta agencia regulatoria gradualmente permitió la suplementación de selenio para varias clases de ganado. Actualmente, la FDA está permitiendo la suplementación de selenio con un límite superior de 0.3 ppm en las dietas del ganado. La regulación para la suplementación mineral a libre acceso es de 120 ppm, sin exceder 3 mg/cabeza/día para el ganado vacuno y de 120 ppm sin exceder 0.70 mg/cabeza/día para ovejas.

Las fuentes de selenio actualmente en uso en los Estados Unidos son el selenito de sodio (Na_2SeO_3) y selenato de sodio (Na_2SeO_4) y levadura orgánica aprobada para algunas especies. La forma de selenato, la cual es usada con menos frecuencia, ha sido considerada preferible debido a que el selenito es reducido con mayor facilidad a selenio elemental, menos disponible, que puede formar compuestos insolubles con otros metales. Otras fuentes suplementales de selenio incluyen al selenito de calcio, dióxido de selenio y selenato de bario.

I.6. INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS

Las interacciones medicamentosas son aquellas modificaciones que sobre el mecanismo de acción, la farmacocinética o el efecto de un fármaco puede producir: otro fármaco, otra sustancia o los alimentos cuando se administran concomitantemente. La interacción implica una posible alteración del efecto previsible que produce un fármaco cuando se administra solo (Stockley, 2007).

En un sentido amplio se considera interacción medicamentosa cualquier interferencia modificadora del tipo, intensidad o duración de la respuesta biológica a un medicamento, originado por agentes endógenos o exógenos dotados o no de acción "per se" (Stockley, 2007)

Stockley, (2007) considera la posibilidad de tres tipos de interacciones.

1. Farmacéutica o farmacotecnia. Afecta a la liberación del medicamento de su forma de administración.
2. Farmacocinética. La interacción se manifiesta en la disposición del medicamento en el biosistema, absorción, distribución, metabolismo y excreción.
3. Farmacodinámica. La interacción afecta a los lugares de acción.

Se pueden clasificar en:

- a) Interacciones de sinergia y de antagonismo. Las interacciones que producen efectos sinérgicos incrementan el efecto del fármaco y pueden ser de sumación de efectos o de potenciación. Generalmente cuando dos fármacos que tienen el mismo mecanismo de acción producen una interacción de sinergia se produce un efecto de sumación. El peligro que tienen las interacciones de sinergia, desde un punto de vista clínico, es que pueden dar lugar a manifestaciones tóxicas de uno o de los dos fármacos que intervienen en la interacción. En las interacciones de antagonismo se produce una disminución del efecto de los fármacos. Desde el punto de vista clínico el peligro que comportan es la ineficacia de uno o de los dos fármacos implicados en la interacción (Stockley, 2007; Hansten, 2012)
- b) Interacciones conocidas o desconocidas. Existe la sospecha colectiva de que las primeras son menos numerosas que las segundas, debido a este desconocimiento la mayor parte de las veces pueden pasar desapercibidas (Stockley, 2007).

- c) Interacciones beneficiosas, banales o perjudiciales. Dependiendo de las consecuencias que produzcan.

En ocasiones pueden buscarse interacciones que potencien la acción de un fármaco mediante otro que produzca los mismos efectos pero por distinto mecanismo de acción. Esta forma de actuar permite disminuir las dosis de cada uno de ellos y evitar efectos secundarios. Sería el típico ejemplo de una interacción beneficiosa. La mayor parte de las veces las interacciones suelen ser perjudiciales porque o producen efectos tóxicos o si son antagónicas pueden hacer caer el tratamiento farmacológico dentro de parámetros ineficaces (Stockley, 2007).

I.6.1. Interacciones de sulfamidas.

El peligro que tienen las interacciones de sinergia, desde un punto de vista clínico, es que pueden dar lugar a manifestaciones tóxicas de uno o de los dos fármacos que intervienen en la interacción. Podemos mencionar las combinaciones de sulfamidas con otros fármacos antimicrobianos, más comúnmente con trimetoprim, que han mostrado ser terapéuticamente útiles en medicina veterinaria, tanto en grandes como pequeños animales, denominándose sulfas potenciadas. Las sulfamidas también suelen ser sinérgicas de las polimixinas frente a microorganismos entéricos, incluso a bacterias que son resistentes a cada uno de estos cuando se utilizan por separado (Prescott, 2002). Generalmente cuando dos fármacos que tienen el mismo mecanismo de acción producen una interacción de sinergia se produce un efecto de sumación (Stockey, 2007).

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

Los fármacos que son más susceptibles de sufrir una interacción son los que tienen un margen terapéutico muy estrecho, sus dosis terapéuticas están muy próximas a las dosis tóxicas o ineficaces o los que con pequeños cambios en su concentración plasmática dan lugar a cambios importantes, desde el punto de vista clínico. Los fármacos que tienen alta afinidad por las proteínas plasmáticas, como es el caso de los antidiabéticos orales y los que utilizan vías de eliminación que pueden ser modificadas frecuentemente por otros fármacos (Stockey, 2007).

Una vez absorbido el fármaco se distribuye en sangre unido a las proteínas plasmáticas, la combinación con las mismas es semejante a la interacción fármaco-receptor y se pueden considerar receptores silenciosos. Algunos fármacos unidos a las proteínas plasmáticas, pueden ser desplazados por otras sustancias aumentando la concentración de la fracción libre; por ejemplo el sulfafenazol es desplazado por la sulfonilurea; la warfarina por la fenilbutazona; la bilirrubina por las sulfanilamidas. En todos estos casos, al incrementarse la concentración del fármaco, se incrementa la actividad terapéutica y sobre todo la toxicidad (Velasco & Moreno, 1992).

También Munsey *et al.* (1996) estudiaron la afinidad de la sulfametazina con las proteínas plasmáticas del cerdo, observando que la unión fue principalmente con la albúmina y que el aumento de temperatura, disminuyó la afinidad y se incrementó marcadamente con un cambio en el pH. Por otra parte, describen que la unión de la sulfametazina a la albúmina es débil y que la albúmina de los cerdos, como la de otros mamíferos posee sitios de unión para warfarina y dansilsarcosine, sobre los cuales interactúa la sulfametazina.

Se recomienda que las sulfamidas potenciadas no deban ser utilizadas en forma intravenosa en equinos sedados o anestesiados con detomidina, debido a que se observa decaimiento, colapso e incluso muerte. También describen disritmia, hipotensión, apnea y muerte durante o inmediatamente de utilizar halotano como anestésico. Asimismo, se reporta que la sulfadimetoxina reduce los requerimientos de thiopental, ya que se aumenta el volumen de distribución de éste por desplazamiento de la unión a las proteínas por la sulfadimetoxina, incrementando la fracción libre del thiopental de 15.3 a 40.2%, evidenciándose un aumento del efecto hipnótico en las ratas (Taylor *et al.* 1988).

Los anestésicos locales, tales como benzocaína y procaína son ésteres amínicos del ácido paraaminobenzoico que pueden antagonizar la acción de las sulfonamidas, debido a que son metabolizados a PABA, por lo se debe tomar precaución de no administrarlos en forma conjunta ya que disminuye el efecto de las sulfamidas (Karalliedde & Henry, 1998; Stockey, 2007).

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

Augusto *et al.* (2007) determinaron la posible interacción farmacocinética entre sulfametazina y dexametasona en caninos, en el grupo tratado con sulfametazina y dexametasona se observaron diferencias significativas en los parámetros de ABC (área bajo la curva), λ (constante de eliminación), $t_{1/2\lambda}$ (semivida de eliminación), Vss (volumen de distribución en estado estacionario) y Cl (clearance total), la presencia de dexametasona, determinó menores concentraciones plasmáticas y menor biodisponibilidad de Sulfametazina. Los autores señalan que pudo ser debido a una modificación en la fracción de fármaco libre y unido a proteínas plasmáticas, a una mayor tasa de eliminación, reflejada en un aumento en la constante de eliminación y una disminución en su semivida. Se observó un aumento en la tasa de metabolización hepática del fármaco, sumado a un aumento en la tasa de eliminación (ya sea por vía biliar o por vía renal). Señalan que la interacción entre sulfametazina y dexametasona modifica el comportamiento cinético de la sulfametazina y puede disminuir su eficacia terapéutica. Esto resultaría en un fracaso terapéutico y mayor posibilidad de desarrollo de resistencia bacteriana.

II. JUSTIFICACION

Los pequeños rumiantes son más susceptibles a presentar una deficiencia por selenio, durante las primeras semanas de vida, debido a una gran demanda de selenio durante la etapa de desarrollo muscular o que las madres han recibido antes o durante la gestación una alimentación deficiente de selenio. Las crías dependen del aporte de selenio que reciben a través de la leche de su madre y si esta se encuentra deficiente aporta deficientes o nulas concentraciones de selenio, por lo tanto la cría es susceptible de padecer cualquier trastorno relacionado con la deficiencia de este mineral, incluida la deficiencia inmune, sumado a esto la coccidiosis es una enfermedad que solo se presenta en animales jóvenes, aparentemente esta gran susceptibilidad tiene una base inmunológica y a medida que crece y se vuelve adulto es más resistente. Por lo que, es recomendable la combinación y administración de estos dos componentes en un bolo intraruminal en la etapa del destete. El empleo de selenito de sodio podría mejorar el estatus inmunológico de los corderos y fortalecer la respuesta inmune del animal contra la coccidiosis.

III. HIPÓTESIS

La administración de bolos intraruminales que contienen sulfametazina y selenio en cabritos, mejorara la concentración de selenio sanguíneo y disminuirá la cuenta de ooquistes, más que el uso de bolos que contengan solo sulfametazina.

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Fabricar un bolo de lenta liberación ruminal para cabritos que contenga sulfametazina sódica para el tratamiento de coccidiosis y selenito de sodio como complemento nutricional.

OBJETIVO PARTICULARES

Optimizar la fórmula y condiciones de fabricación de los bolos de sulfametazina sódica y selenito de sodio, elaborados por el método de granulación por fusión.

Evaluar la biodisponibilidad de selenio y sulfametazina determinando los parámetros farmacocinéticos de área bajo la curva (ABC), concentración máxima (Cp máx), tiempo máximo (T máx).

V. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

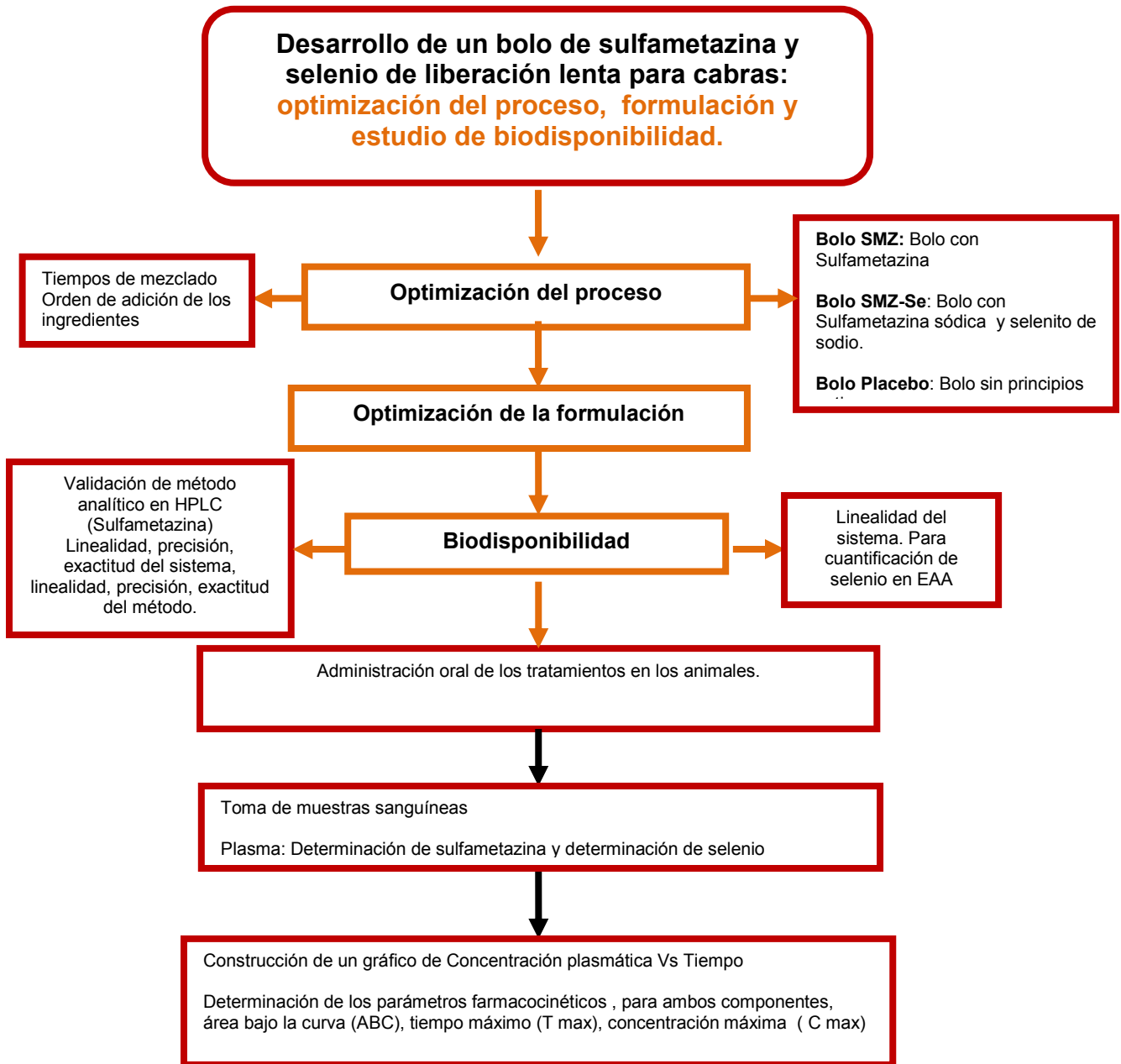


Figura 1. Diagrama de flujo del desarrollo experimental

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración de los bolos intraruminales de sulfametazina sódica más selenito de sodio

En el laboratorio de ensayos de desarrollo farmacéutico (LEDEFAR) UNAM se elaboraron los tres tipos de bolos intraruminales, bolo sulfametazina (Bolo SMZ), bolo sulfametazina más selenio (Bolo SMZ-Se), bolo placebo (Bolo Placebo). Para la optimización del proceso de elaboración del bolo de sulfametazina más selenio, se partió de dos procesos previamente definidos uno para bolos de selenio y otro para bolos de sulfametazina que se describen en tesis que se realizaron en el laboratorio de Ensayos de Desarrollo Farmacéutico de la FES Cuautitlán (Amador, 1999; Rojo, 2002; Rodríguez, 2005; González, 2005).

El proceso de fabricación de los bolos intraruminales se realizó por el método de granulación por fusión, este proceso ya ha sido validado por trabajos experimentales previos (Rojo, 2002; Rodríguez, 2005) lo que se optimizó en este trabajo fue la formulación de los bolos intraruminales de sulfametazina sódica más selenito de sodio. El proceso se ejemplifica en la Figura 2.

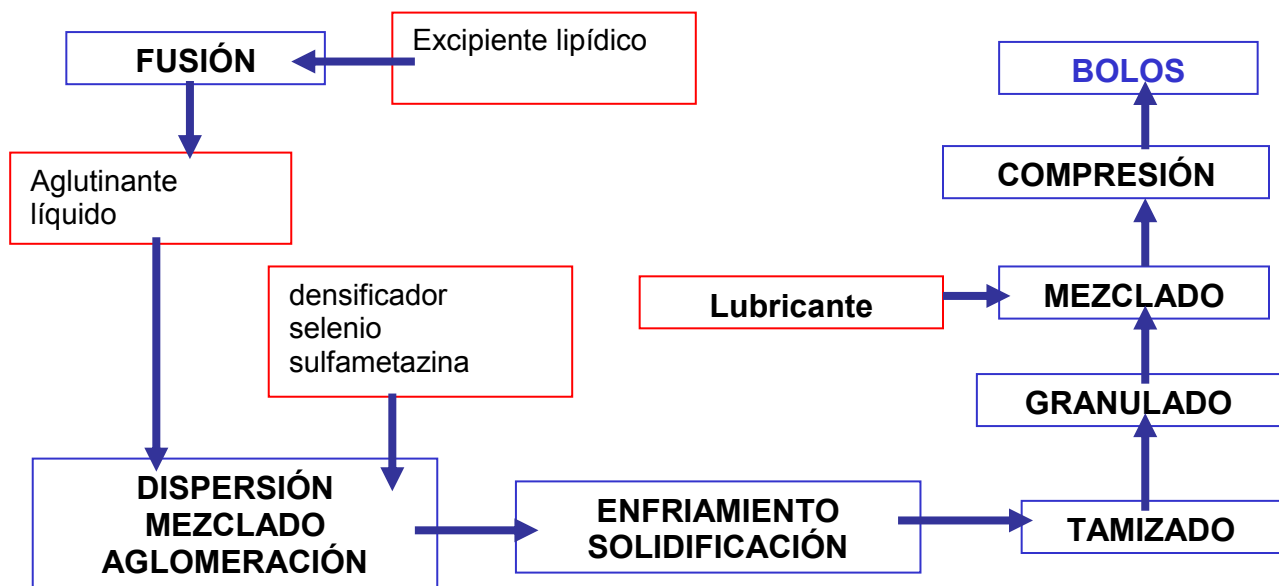


Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de elaboración para la obtención de bolos intraruminales.

La formulación de los bolos intraruminales incluyó al selenito de sodio (Na_2SeO_3) como fuente de selenio y a la sulfametazina sódica. El excipiente lipídico un aceite vegetal hidrogenado el cual tiene la función de controlar la liberación de los principios activos, un agente densificador para lograr la densidad óptima y así evitar la regurgitación del bolo y la adición de un agente lubricante y un agente deslizando que reduzcan la fricción y adhesión entre las piezas metálicas durante la compresión (Cuadro 1).

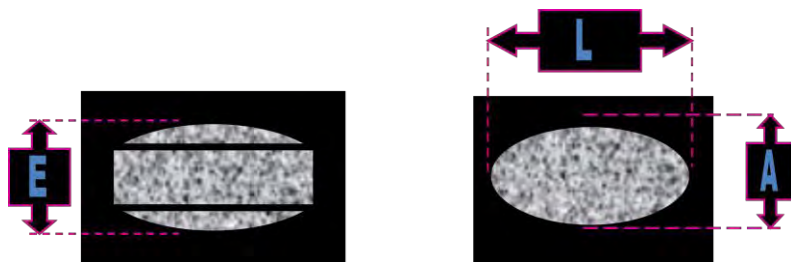
Cuadro 1. Cantidad de cada componente de los bolos intraruminales utilizados en el estudio.

COMPONENTES	Bolo SMZ g/ Bolo	Bolo SMZ-Se g/ Bolo	Bolo Placebo g/ Bolo
	No. Lote SMZ151210	No. Lote SMZSE020211	No. Lote PLAFEB2011
Sulfametazina sódica	4.00	4.00	-
Selenito de sodio	-	0.2	-
Excipiente controlador de la liberación	4.17	4.17	3.54
Excipiente densificador	11.00	11.33	8.3064
Lubricante y deslizante	0.3	0.3	0.1478
Total	19.47	20.00	12.00

Evaluación de los bolos elaborados, vía granulación por fusión.

Dureza: La dureza de los bolos se evaluó como resistencia a la ruptura. La determinación en Kilopounds (Kp) se realizó empleando un durómetro Vankel. La prueba se realizó a 10 bolos de cada lote.

Longitud, ancho y espesor: Se midieron los tres parámetros a 10 bolos de cada lote, utilizando para ello un micrómetro digital Mitutoyo modelo CD-6 CS.



Densidad: La densidad de los bolos se calculó determinando la masa del bolo en una balanza analítica digital y posteriormente determinando su volumen por desplazamiento de agua dentro de probeta graduada de 25 ml.

$$\rho = \frac{M}{V}$$

Donde:

ρ = densidad del bolo (g/cm³)

M= masa del bolo (g)

V= Volumen del bolo (cm³)

Características de los animales

Se utilizaron 15 cabritos de raza Alpina, 8 hembras y 7 machos con pesos entre 8 y 21 Kg y edad entre 8 y 9 semanas, los animales fueron aislados en jaulas metabólicas de la unidad de experimentación del Posgrado de Ciencias de la Producción y Salud Animal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Al iniciar el experimento, los animales presentaban en forma endémica coccidiosis, que se confirmó por análisis coproparasitológico (Díaz, 2012).

Todos los animales fueron alimentados alrededor de medio día durante toda la experimentación con forraje (avena y maíz), concentrado y agua a libre acceso.

Los animales fueron ubicados en jaulas metabólicas individuales (Figura 3), para controlar la alimentación, evitar la reinfección y observar la posible regurgitación del bolo. Estas jaulas están diseñadas con piso elevado (aproximadamente 70 cm del suelo), paredes de madera, comederos de aluminio y un recipiente para agua. La jaula metabólica tiene medidas aproximadas de 1 m de largo por 50 cm de ancho y 70 cm de alto. Se encontraban en un área techada y protegida de corrientes de aire. En base a los requerimientos del SICUAE los cabritos se sacaban de las jaulas de una a dos horas al día y se dejaban en un corral cercano a las jaulas metabólicas.



Figura 3. Cabritos en Jaulas metabólicas.

Distribución y criterio de agrupamiento de los animales en los tres grupos de tratamiento

Los cabritos se pesaron el día en que se recibieron, fueron identificados con arete.

Se agruparon en base al peso en una distribución por balanceo del peso, a cada grupo se le asignaron cinco animales, con una eliminación de ooquistes conocidos, se decidió agrupar las unidades por carga parasitaria las que tenían menos ooquistes se les administró bolo placebo, y al los que tenían más ooquistes se les administró el bolo sulfametazina más selenio (bolo SMZ-Se), esto como un desafío para la formulación (Cuadro 2).

Cuadro 2.- Asignación y condiciones iniciales de los 15 animales en los tres grupos de tratamiento.

Grupo	Tratamiento	Arete	Número de Jaula Metabólica	Sexo	Peso (Kg)	Carga parasitaria (ooquistes/g de heces)	Promedio Carga parasitaria (ooquistes/g de heces)
Bolo SMZ	Bolo Sulfametazina	24	16	Hembra	18.0	2750	2950±3828.5
	Bolo Sulfametazina	11	17	Macho	14.0	10750	
	Bolo Sulfametazina	22	19	Macho	13.5	3800	
	Bolo Sulfametazina	85	20	Macho	12.0	2950	
	Bolo Sulfametazina	241	18	Hembra	10.5	750	
Bolo SMZ-Se	Bolo Sulfametazina-selenio	25	14	Macho	17.5	3450	7500±7893.1
	Bolo Sulfametazina-selenio	91	11	Macho	14.5	10900	
	Bolo Sulfametazina-selenio	12	20	Hembra	13.0	23200	
	Bolo Sulfametazina-selenio	20	12	Hembra	12.0	7500	
	Bolo Sulfametazina-selenio	114	15	Hembra	8.0	5000	
Bolo Placebo	Bolo Placebo	131	2	Macho	21.0	1150	250±405.2
	Bolo Placebo	13	4	Macho	14.5	400	
	Bolo Placebo	21	1	Hembra	14.0	200	
	Bolo Placebo	15	3	Hembra	12.0	250	
	Bolo Placebo	87	5	Hembra	12.0	200	

Tratamientos

Grupo Bolo SMZ, los cinco cabritos del grupo recibieron un bolo intraruminal con sulfametazina sódica que se les administró por vía oral.

Grupo Bolo SMZ-Se, los cinco cabritos del grupo recibieron un bolo intraruminal con sulfametazina sódica y selenito de sodio que se les administró por vía oral, con un equivalente a 90mg de selenio y 4g de sulfametazina sódica por bolo.

Grupo Bolo Placebo, los cinco cabritos del grupo recibieron un bolo intraruminal sin principios activos que se les administró por vía oral.

Los bolos se administraron de forma manual colocándolos detrás de la base de la lengua para forzar su deglución y se corroboró la misma por inspección visual (Figura 5).



Figura 4. Administración de los bolos intraruminales y toma de muestras a los cabritos.

Toma de muestras

Las muestras de sangre se tomaron por punción de la vena yugular utilizando agujas estériles BD Vacutainer® calibre 20G- X 38mm y tubos al vacío de 6 ml con Heparina Vacutainer® BD (Figura 4).

Para los tiempos de muestreo se consideraron las tesis previas realizadas con bolos de sulfametazina (González, 2005; Morales, 2003). Antes de la administración del tratamiento (bolo intraruminal) se tomó una primera muestra de sangre, tiempo 0 hrs, después se muestreó en los siguientes tiempos: 1, 3, 5, 9 y 24 hrs del primer día y 2, 5, 9, 12, 19, 26 y 33 días siguientes.

Las muestras se tomaron entre las 7:30 y 9:00 AM, se etiquetaron e inmediatamente después del muestreo se almacenaron en una hielera que contenía bolsas con hielo, una vez en el laboratorio, se centrifugaron los tubos a una velocidad de 3500 rpm durante 15 minutos, el plasma obtenido se separó en microtubos y se almacenó a una temperatura de - 20 °C hasta su análisis.

Radiografías

En la semana cinco de experimentación, se eligió aleatoriamente un animal de cada grupo de estudio y se tomó una placa radiográfica, para observar presencia y condición del bolo administrado.

Sacrificio

En la semana seis se sacrificaron los cabritos en el taller de carnes de FES Cuautitlán siguiendo la norma regulatoria para la especie. El día del sacrificio se exploró el rumen de cada cabrito para buscar el o los restos de bolo, a los bolos recuperados se les tomaron fotografías.

Tratamiento de las muestras y determinación de las concentraciones plasmáticas de selenio y sulfametazina.

Cuantificación de selenio en plasma por Digestión ácida (Gleason, 2004).

Para la cuantificación de selenio en plasma se empleó la siguiente metodología, los materiales y reactivos se presentan en el Anexo 1.

Se descongelaron las muestras de plasma a temperatura ambiente, con una micropipeta de capacidad se tomaron 0.5 g de plasma y se colocaron en un vaso de teflón para microondas, al vaso de teflón se agregaron 5 ml de agua desionizada, 2.5 ml de ácido nítrico concentrado y 1ml de peróxido de hidrogeno al 30%.

Se dejó reposar por 30 minutos, transcurrido el tiempo de reposo, se taparon los vasos y se montaron en las chaquetas del carrusel para horno de microondas y este se colocó en el horno y se realizó la digestión ácida en el horno de microondas MARS-digestión CEM bajo las condiciones del Cuadro 3.

Cuadro 3. Condiciones de digestión ácida para plasma.

Etapa	Potencia (W)	Potencia (%)	Rampa (min)	Temperatura (°C)	Tiempo de mantenimiento (min)
1	1600	75	4	140	2
2	1600	75	2	180	4
3	1600	75	2	200	4

Transcurrido el tiempo de la digestión ácida en el horno, se sacaron los vasos del horno y se dejaron enfriar a temperatura ambiente, se vaciaron las muestras en matraces de 25 ml y se llevó a la marca de aforo con ácido clorhídrico 7 M, se trasvasaron las soluciones en frascos de pvc, previamente etiquetados.

La curva de referencia de selenio fue elaborada en un rango de concentración de 0 a 18 µg /L de selenio la cual fue preparada de la siguiente manera:

Del estándar de selenio High Purity 1000 µg /L se tomaron 50 µL con una micropipeta, se vació en un matraz volumétrico de 25 ml y se llevó a la marca de aforo con agua desionizada (solución stock), de la solución stock se tomaron los volúmenes que se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Curva de referencia de selenio

Sistema	Volumen de la solución stock (µL)	Concentración (µg /L)
1	50	2
2	150	6
3	250	10

4	350	14
5	450	18

Los volúmenes se colocaron en matraces de 50 ml y se llevaron a la marca de aforo con ácido clorhídrico 7 M, las soluciones anteriores y las muestras se analizaron por espectrofotómetro de absorción atómica con el sistema de generador de hidruros Varian®.

Cuantificación de Sulfametazina en plasma por extracción en fase sólida (Morales, 2003).

A cada una de las muestras de plasma tomadas en los diferentes tiempos de muestreo, se les realizó la siguiente metodología, los materiales y reactivos se presentan en el Anexo 1.

Preparación de las muestras de plasma con estándar interno con sulfatiazol.

Se descongelaron las muestras de plasma a temperatura ambiente, se tomó 1 ml del plasma con una pipeta volumétrica, se llevó este volumen a un frasco vial limpio de 5 ml y se le adicionaron 0.5 ml de estándar interno con sulfatiazol de una concentración de 40 µg/ml.

Extracción en fase sólida de las muestras con sulfametazina.

1. Proceso de acondicionamiento del cartucho Sep-Pack C18

Con una jeringa de 5 ml se tomaron 2 ml de metanol, se adaptó la jeringa al cartucho Sep-pack C18 y se percoló el metanol a través del cartucho Sep-pack C18 a una velocidad de 0.2 ml / seg, con otra jeringa limpia de 5 ml se tomaron 2 ml de buffer de fosfato pH = 7.4, se adaptó la jeringa al cartucho Sep-pak C18 y se percoló el buffer a través del cartucho Sep-pack a una velocidad de 0.2 ml / seg. El líquido que salió del cartucho Sep-pak C18 de los anteriores pasos se desechó.

2. Proceso de carga de la muestras con sulfametazina en el cartucho Sep-pack C18

Con una jeringa limpia de 3 ml se tomó todo el plasma con sulfametazina que se encontraba en el frasco, se hizo pasar 1 ml de aire por la jeringa y se adaptó la jeringa que contiene la muestra fortificada al cartucho Sep-pak C18, se percoló el plasma y el aire succionado a través del cartucho Sep-pack C18 a una velocidad de 0.2 ml /10 seg y se desechó el líquido que salió del cartucho Sep- pak C18.

3. Proceso de limpieza del cartucho Sep-pack C18

Con una pipeta volumétrica se midieron 2 ml de buffer de fosfatos pH = 7.4 y se transfirieron a un frasco limpio de 10 ml, se tomaron con una jeringa limpia de 5 ml se pasaron aproximadamente 2 ml de aire

por la jeringa, se adaptó la jeringa al cartucho Sep-pak C18 y se eluyó el contenido a una velocidad de 0.2 ml / 10 seg y se desechó el líquido que salió.

4. Proceso de recuperación de la sulfametazina

Con una pipeta volumétrica se midieron 2 ml de metanol y se transfirieron a un frasco limpio de 10 ml, se tomaron con una jeringa limpia de 3 ml y se pasaron aproximadamente 1 ml de aire por la jeringa, se adaptó la jeringa al cartucho Sep-pak C18 anterior y se eluyó el contenido (metanol y aire) a una velocidad de 0.2 ml / 10 seg, se colectó el líquido que salió.

5. Cuantificación de la sulfametazina

Se filtró el líquido resultante de la extracción en fase sólida de la muestra con los filtros HPLC. Se colectó el líquido filtrado del paso anterior en un vial de capacidad de 1 ml (especial para el automuestreador del HPLC).

Condiciones cromatográficas:

Fase móvil de 80:20 Ácido Acético 0.50 % Acetonitrilo, flujo de 1 ml / min, tiempo de corrida de 8 min, volumen de inyección de 20 µl, longitud de onda de 266 nm, columna Purosfer STAR RP-18 endcapped (5 µm)

Diseño experimental

Se utilizó un diseño de un factor (tratamiento= T), con tres niveles

Nivel 1. Bolo intraruminal con sulfametazina (Bolo SMZ).

Nivel 2. Bolo intraruminal con sulfametazina más selenio (Bolo SMZ-Se).

Nivel 3. Bolo intraruminal sin principios activos (Bolo Placebo).

Análisis estadístico

Se hicieron comparaciones de medias por cada tratamiento para establecer posibles diferencias entre ellas y evaluar el efecto del tratamiento sobre las concentraciones plasmáticas de selenio y las concentraciones plasmáticas de sulfametazina.

Las variables independientes fueron, tipo de bolo administrado y el tiempo de muestreo. Las variables dependientes fueron, concentración plasmáticas de selenio ($\mu\text{g/g}$ muestra) y concentración plasmática de sulfametazina ($\mu\text{g/mL}$).

Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + T_i + S_j + \varepsilon_{ij}$$

μ = Medía poblacional.

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento ($i = 1, 2, \dots, T$).

S_j = Efecto del j -ésimo día ($j = 1, 2, \dots, S$).

ε_{ij} = Error aleatorio con el tratamiento i y el día j .

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El granulado para la elaboración de los bolos SMZ-Se presentó buen flujo, evaluándose por parámetros de índice de Hausner e índice de Carr. Hausner, citado por Aulton (2004) señala que el cociente de densidad consolidada y densidad aparente está relacionado con la fricción entre las partículas, por lo que podría utilizarse para predecir las propiedades de flujo de un polvo. Demostró que los polvos con poca fricción entre las partículas, como las esferas gruesas, tenían índices de alrededor de 1.2, mientras que los polvos más cohesivos, de flujo menos libre, como las escamas, tenían índices mayores a 1.6, el índice de Hausner evaluado en el granulado de SMZ-Se resultó menor a 1.2 por lo que el polvo presenta buen flujo. Carr, citado por Aulton (2004) desarrollo otro método indirecto para medir el flujo de polvo a partir de las densidades de masa y señala que índices de Carr entre 5 y 15 % son polvos con excelentes propiedades de flujo mientras que polvos con índices de Carr mayores de 23% son considerados como polvos de mal flujo, el granulado SMZ-Se presentó índices de 13 a 15% indicativos de un polvo con buen flujo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Resultados de índice de Hausner e índice de Carr al evaluar propiedades de flujo en granulado de bolo de sulfametazina más selenio

Densidad aparente (g/mL)	Densidad consolidada (g/mL)	Índice de Hausner	Índice de Carr (%)
1.0289	1.2136	1.1795	15.21
1.0182	1.2092	1.1875	13.06
1.0329	1.2029	1.1646	14.00

El granulado también presentó buenas características de compactabilidad y lubricación que se observaron al momento de comprimir en la tableteadora monopunzónica, los bolos al ser expulsados de la tableteadora no presentaron fricción en la maquina, ni ralladuras en el bolo, el flujo resultó uniforme y los bolos presentaron una variación mínima de peso. Los resultados de las características físicas y geométricas se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Resultados de las características físicas y geométricas de los bolos de lenta liberación elaborados por el método de granulación por fusión: bolo sulfametazina (Bolo SMZ), bolo sulfametazina más selenio (Bolo SMZ-Se).

Bolo	No. Lote	Ancho (mm)	Largo (mm)	Dureza (Kp)	Densidad (g/mL)	Peso (g)	Espesor (mm)
SMZ	SMZ260210	21.10	52.13	34.78	1.77	15.93 (0.19)	12.04 (0.04)
SMZ-Se	SMZSE190210	21.10	52.10	35.00	1.86	16.70 (0.06)	12.76 (0.01)

Los datos entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.

Fue de suma importancia la densidad de los bolos, ya que en el presente ensayo los bolos administrados tenían densidades menores a las recomendadas (Cuadro 6) y en el cual se observó la regurgitación en casi la mitad de las animales (Cuadro 7).

Cuadro 7. Resultados de regurgitación y tiempo de permanencia de los bolos elaborados por el método de granulación por fusión.

Bolo	No. Lote	Regurgitado	Regurgitado (proporción)	Tiempo de Permanencia (días)
SMZ	SMZ260210	SI	(0.45) 5 DE 11	2 bolos en el 1er día
				3 bolos en el 4to día
SMZ-Se	SMZSE190210	SI	(0.41) 5 DE 12	3 bolos en el 5to día
				2 bolos en el 4to día

El porcentaje de regurgitación fue del 41 % para los bolos SMZ-SE y 45 % para los bolos SMZ, la permanencia en el retículo rumen fue de 5 días, en ambos grupos, atribuible a la baja densidad que presentaban los bolos. Chávez (2001), señala que la diferencia en el tiempo de retención en retículo rumen de los bolos se debe a la densidad del bolo el cual es un factor determinante para su permanencia en este lugar, Chávez administró dos tratamientos, uno con bolos de sulfametazina con densidades promedio de 1.84 g/ml reportando regurgitación a los 10 días post-administración y el otro con densidad promedio de 1.9312 g/ml reportando regurgitación en algunos animales a los 20 días post-administración.

Debido a las características anatómicas y fisiológicas de los rumiantes, se requiere que el diseño de los dispositivos de retención ruminal (RRD's) supere la regurgitación y las condiciones extremas en el medio ambiente del rumen tales como pH y la actividad enzimática microbiana. La rumia es un mecanismo donde el contenido del rumen que ha sido colectado, masticado, tragado y fermentado durante el pastoreo, es regurgitado y remasticado paulatinamente por el animal. Existen dos caminos básicos para evitar la regurgitación de un dispositivo intraruminal: 1) elaborándolo lo suficientemente pesado (altamente denso) para que permanezca en el retículo rumen, 2) por utilización de un diseño

geométrico el cual evita el pasaje de regreso a través del cardias y el esófago (GyuriK, 1983). Si un dispositivo es lo suficientemente denso, permanecerá en el retículo. La densidad mínima para prevenir la regurgitación varía dependiendo de la dieta, si el animal pastorea libremente se necesita de una mayor densidad debido a que la motilidad del rumen es mayor en animales que pastan que en aquellos estabulados que reciben dietas más refinadas. Se ha establecido que una densidad de 2.25 a 3.5 g/ml deberá mantenerse para evitar la regurgitación en animales de pastoreo y densidades de 1.8 g/ml probablemente son suficiente para animales estabulados (GyuriK, 1983).

Se reformularon los bolos, aumentando la concentración del agente densificador con el consecuente aumento en la masa y densidad, se utilizaron los mismos punzones para conservar dimensiones geométricas. En el Cuadro 8 se presentan los resultados de las características físicas y geométricas de los bolos.

Cuadro 8. Resultados de las características físicas y geométricas de los bolos de lenta liberación elaborados por el método de granulación por fusión con una mayor cantidad de agente densificador, bolo sulfametazina (Bolo SMZ), bolo sulfametazina más selenio (Bolo SMZ-Se) y bolo sin principios activos (Bolo Placebo).

Bolo	No. Lote	Ancho (mm)	Largo (mm)	Dureza (Kp)	Densidad (g/mL)	Peso (g)	Espesor (mm)
SMZ	SMZ151210	21.07	52.10	35.00	1.95	19.56 (0.16)	12.60 (0.02)
SMZ-Se	SMZSE020211	21.11	52.10	35.00	2.01	20.13 (0.29)	12.89 (0.07)
Placebo	PLAFEB2011	13.31	44.95	25.08	2.73	12.24 (0.16)	12.06 (0.11)

Los datos entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.



Figura 5. Apariencia física de los bolos elaborados.

La forma geométrica que presentaron estos bolos fue adecuada para la administración en cabritos y facilitó su dosificación. En la Figura 5 se observa que los bolos presentaban una geometría tal, que evita partes agudas que pudieran dañar la mucosa del esófago o el rumen, presentan puntas redondas, forma oval. Es posible apreciar el color gris metálico, con más intensidad en los bolos placebo, debido al agente densificador y la ausencia de los principios activos (polvos blancos), en los bolos SMZ y bolos SMZ-Se es menos intenso el color grisáceo, debido a la cantidad de sulfametazina, es observable una superficie lisa y continua a causa de la deformación plástica del agente controlador de la liberación.

Cuadro 9. Resultados de regurgitación y permanencia de los bolos elaborados por el método de granulación por fusión con mayor cantidad de agente densificador.

Bolo	No. Lote	Regurgitado	Regurgitado (Proporción)	Tiempo de Permanencia (Días)
SMZ	SMZ151210	SI	(0.2) 1 DE 5	1 bolo en el 8vo día
SMZ-Se	SMZSE020211	NO		
Placebo	PLAFEB2011	SI	(0.4) 2 DE 5	1 bolo en el 5to.día
				1 bolo en el 15vo.día

Los bolos resultaron más densos, sin embargo, regurgitaron dos animales del grupo bolo placebo (Cuadro 9), posiblemente por la diferencia en masa y dimensiones geométricas. Estos bolos fueron diferentes en dimensiones, debido a la ausencia de los dos principios activos y porque ya no era posible

comprimir esta masa en los punzones donde se comprimieron los bolos SMZ-Se, a pesar de que los valores de densidad cumplían con los requerimientos los cabritos de este grupo regurgitaron, se realizó un análisis estadístico para conocer si alguna variable no controlada influía en que los cabritos regurgitarán el bolo, pero ni el peso ni el sexo presentaron un valor significativo de riesgo, esto indica que hay otros factores aparte de la densidad y forma geométrica, que son importantes de considerar.

La permanencia e integridad de los bolos administrados se observó a través de las placas radiográficas (Figuras 6, 7 y 8) y es posible observar la integridad de los bolos en el compartimento retículo ruminal.



Figura 6. Radiografía tomada a la quinta semana de experimentación del cabrito 114 del grupo bolo SMZ-Se.

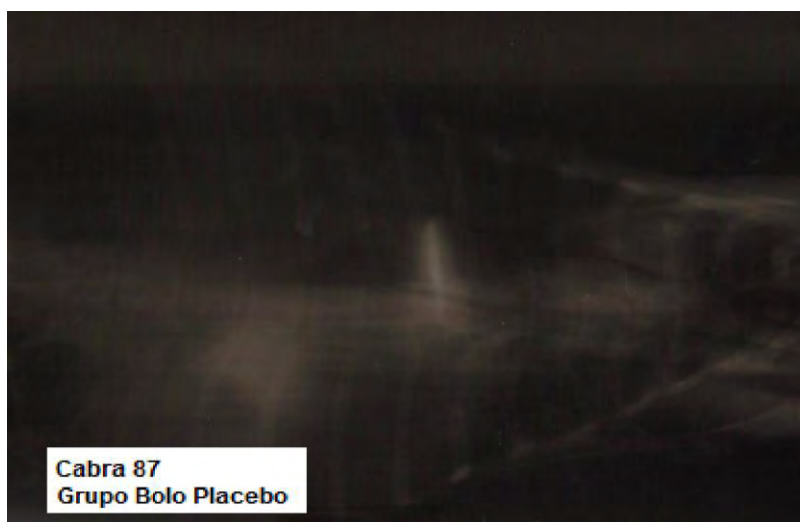


Figura 7. Radiografía tomada a la quinta semana de experimentación del cabrito 87 del grupo bolo placebo.



Figura 8. Radiografía tomada a la quinta semana de experimentación cabrito 241 del grupo bolo SMZ.

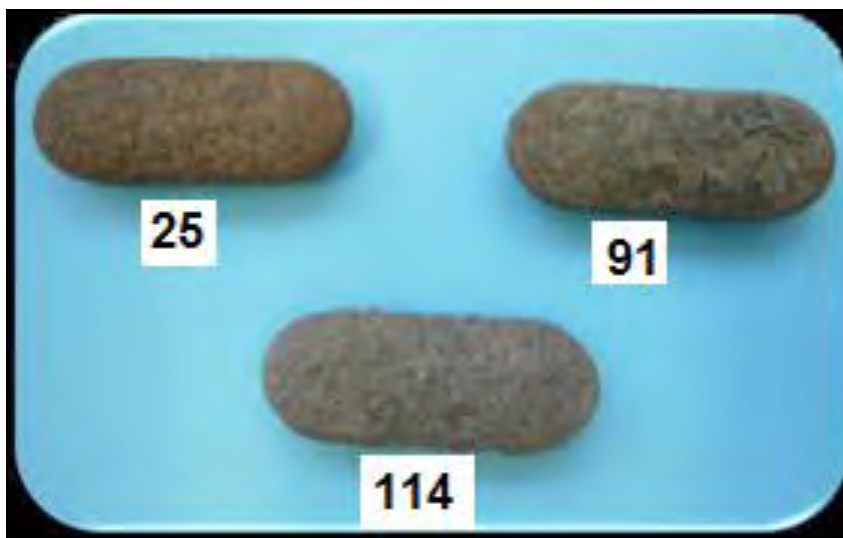


Figura 9. Bolos recuperados del rumen después del sacrificio, grupo bolo SMZ-Se



Figura 10. Bolos recuperados del rumen después del sacrificio grupo bolo placebo.



Figura 11. Bolos recuperados del rumen después del sacrificio, grupo bolo SMZ-Se (cabrito 91, 25, 114, 20) y grupo bolo SMZ (cabrito 11, 22, 241).

En la Figura 9, 10 y 11 se muestran los bolos que permanecieron 35 días en el rumen de los cabritos. En estas fotografías se puede apreciar las diferencias y su aspecto físico, en los bolos SMZ-Se (Figura 9) se observa una superficie porosa a causa de la liberación del principio activo, en los bolos placebo en contraste la superficie esta lisa e intacta (Figura 10). La apariencia de los bolos SMZ-Se y SMZ es porosa comparada con los bolos placebos. La superficie porosa permitió la liberación de los principios activos y es consecuencia del proceso.

La formación de esta superficie porosa en los bolos, permitió en trabajos previos conocer el mecanismo de liberación de la sulfametazina el cual se explica en función del modelo de Higuchi, en donde, la liberación no es constante, sino que es dependiente del tiempo e indica que el proceso de liberación está controlado por la difusión (Morales, 2003).

En la Figura 11 se observa que en los bolos SMZ existe un agrietamiento o fisuras en el centro del bolo y un color rojizo debido a la oxidación del hierro. Un bolo se fragmentó posiblemente por la pérdida de consistencia producida por la liberación de los principios activos que van dejando una matriz cada vez más porosa, que pueda finalmente fragmentarse por la masticación en la rumia. En los bolos SMZ-Se, se observa una apariencia un poco más compacta y la coloración rojiza en el bolo es menos intensa, tal vez por el poder antioxidante del selenio.

Validación del método cromatográfico para la determinación de sulfametazina en plasma.

La cuantificación de sulfametazina se realizó por cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos. Las condiciones cromatográficas, metodología y resultados de la validación del método se muestran en el Anexo 2. En el Cuadro 10 se muestran los valores obtenidos en la validación del método, el método fue capaz de cuantificar la sulfametazina en el plasma con coeficientes de variación dentro de especificaciones y fue capaz de discriminar los productos de biodegradación y sustancias endógenas contenidas en el plasma de cabritos. El método resultó lineal, exacto y preciso, en un intervalo de concentraciones de 0.5 a 40 $\mu\text{g/ml}$ de Sulfametazina, con límite de detección de 0.1105 $\mu\text{g/ml}$ y límite de cuantificación de 0.3348 $\mu\text{g/ml}$.

Cuadro 10. Resultados de los parámetros de validación del método analítico para la cuantificación de sulfametazina.

Parámetro evaluado	Valores de referencia o Especificaciones	Valor obtenido
Linealidad del sistema	C.V. \leq 2.00% $r^2 \geq$ 0.999 $r \geq$ 0.999	C.V. = 1.8681% $r^2 =$ 0.9998 $r =$ 0.9998
Precisión del sistema	C.V. \leq 2.00%	C.V. = 1.3221%
Exactitud del sistema	C.V. \leq 2.00% IC para la media poblacional debe incluir el 100	C.V. = 0.9851% IC= 99.99 a 101.07
Linealidad del método	C.V. \leq 5.00% $r^2 \geq$ 0.999 $r \geq$ 0.999 IC pendiente debe incluir la unidad IC Intercepto debe incluir el cero	C.V. = 2.58% $r^2 \geq$ 0.9999 $r \geq$ 0.9999 IC= 0.9961 1.0054 IC= -0.1114 0.0512
Precisión del método	C.V. \leq 5.00%	C.V.= 1.2171
Exactitud del método	C.V. \leq 2.00% IC para la media poblacional debe incluir el 100	C.V. =1.1712 IC= 99.77 a 101.05

Perfiles Plasmáticos de Sulfametazina

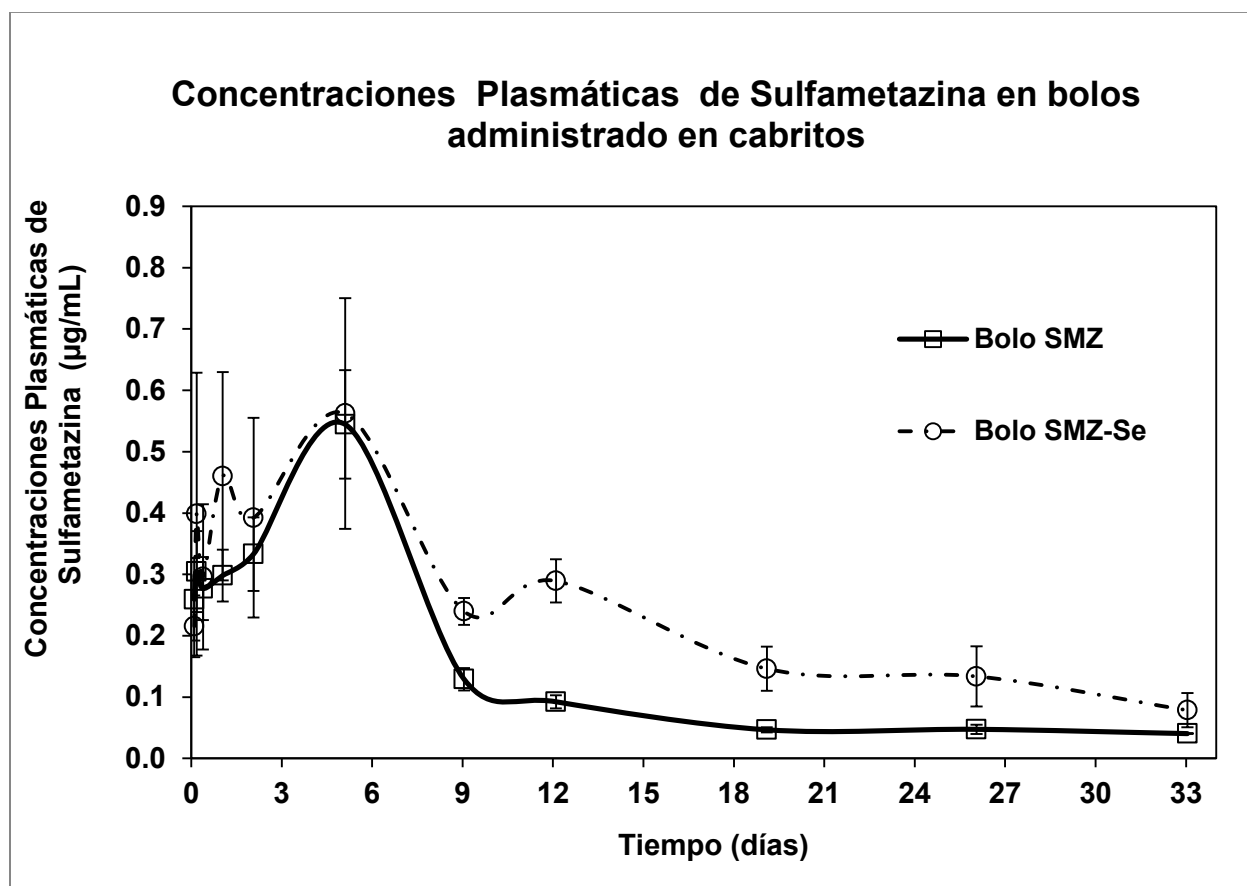


Figura 12. Representación de la concentración plasmática de sulfametazina en los dos grupos de experimentación tratados con bolos intraruminales, administrado por vía oral en cabritos, cada punto representa el promedio y las barras representan el error estándar ($\frac{S}{\sqrt{N}}$).

En la Figura 12 se grafica el comportamiento en el tiempo de la concentración plasmática de sulfametazina para los dos tipos de bolos, en el grupo bolo SMZ-Se se observa un perfil de concentración plasmática de forma característica para la sulfametazina, en la que se distinguen en forma general dos fases, la primera de liberación inmediata y la segunda de liberación prolongada, representada con dos máximos de concentración. La fase de liberación inmediata se puede asociar con la cantidad de sulfametazina que se encuentra en la superficie del bolo, mientras que el resto tiene que difundir a través de poros y así generar la fase de lenta liberación. En ambos grupos se presentó un comportamiento similar sobre las concentraciones plasmáticas de sulfametazina. En el bolo SMZ-Se esa curva bifásica presentó un primer pico a la hora y un segundo a las cinco horas. Las concentraciones plasmáticas de sulfametazina con bolo con sulfametazina más selenio son mayores, pero no son significativamente diferentes ($P > 0.05$) de las encontradas en animales que recibieron el bolo solo con sulfametazina. La variación observada al inicio del tratamiento se debe a que en cada grupo

experimental las variaciones individuales no son controlables, la idiosincrasia de cada animal se refleja en la media de cada grupo experimental.

Los animales tratados con bolo sulfametazina más selenio presentaron concentraciones plasmáticas de sulfametazina más altas y por más tiempo en comparación con el grupo bolo sulfametazina, se realizó un análisis de variancia para conocer si hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

Cuadro 11. Análisis de variancia para conocer si existe diferencia significativa entre los tratamientos sobre concentraciones plasmáticas de sulfametazina administrado vía oral en cabritos.

Efecto	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor de P
Entre grupos	0.0420713	1	0.0420713	0.84	0.3624
Dentro del grupo	4.87229	97	0.0502298		
Total	4.91436	98			

En el Cuadro 11 se describe que no hay diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos sobre la variable concentración plasmática de sulfametazina, con una $P > 0.05$. Se realizó un análisis de comparación de medias en cada tiempo, con errores estándar y se reportan en la Figura 13.

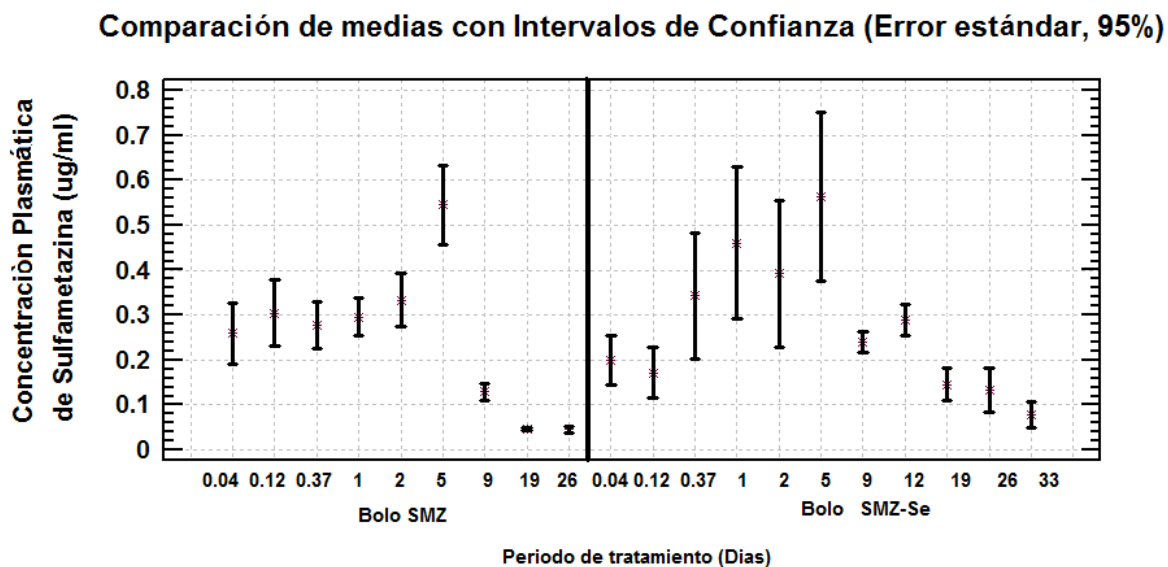


Figura 13. Representación de las concentraciones plasmáticas de sulfametazina con media y error estándar por día de muestreo, en los dos grupos tratados con sulfametazina.

Efecto del Tratamiento

En la Figura 13 se observa que en el grupo bolo SMZ las concentraciones plasmáticas de sulfametazina se mantuvieron más altas pero no diferentes en los dos primeros tiempos del grupo bolo SMZ-Se, también es observable que el grupo bolo SMZ se mantienen las concentraciones plasmáticas de la sulfametazina por un periodo de 2 días antes de llegar a su concentración máxima a los 5 días, después se observa un descenso muy marcado a los 9 días y para el día 19 y 26 las concentraciones de sulfametazina son casi nulas.

En el grupo bolo SMZ-Se las concentraciones plasmáticas de sulfametazina en los 5 primeros días son muy variables debido a la idiosincrasia de cada animal, después de este tiempo la variación se ve disminuida. El bolo SMZ-Se presentó dos picos, un primer pico ocurrido a la hora y un segundo a las 5 horas. Este comportamiento ya había sido observado en trabajos realizados anteriormente con bolos sulfametazina (González, 2005), el cual se debe al tipo de liberación que tiene la sulfametazina en estos bolos de lenta liberación.

La concentración mínima efectiva de sulfametazina reportada es de 50 ug/ml, es evidente que el bolo intraruminal no produjo estas concentraciones en ninguno de los dos tratamientos, pero aun así cumplió con el efecto terapéutico deseado para el tratamiento de la coccidiosis con una disminución significativa en el conteo de ooquistes (Figura 14). Los datos en plasma sugieren que la sulfametazina estaba presente en el tracto digestivo desde donde se absorbió y se puede pensar que en estos periodos de tiempo en el que la sulfametazina estaba en circulación estaba también ejerciendo su acción farmacológica *in situ*, en la luz intestinal.

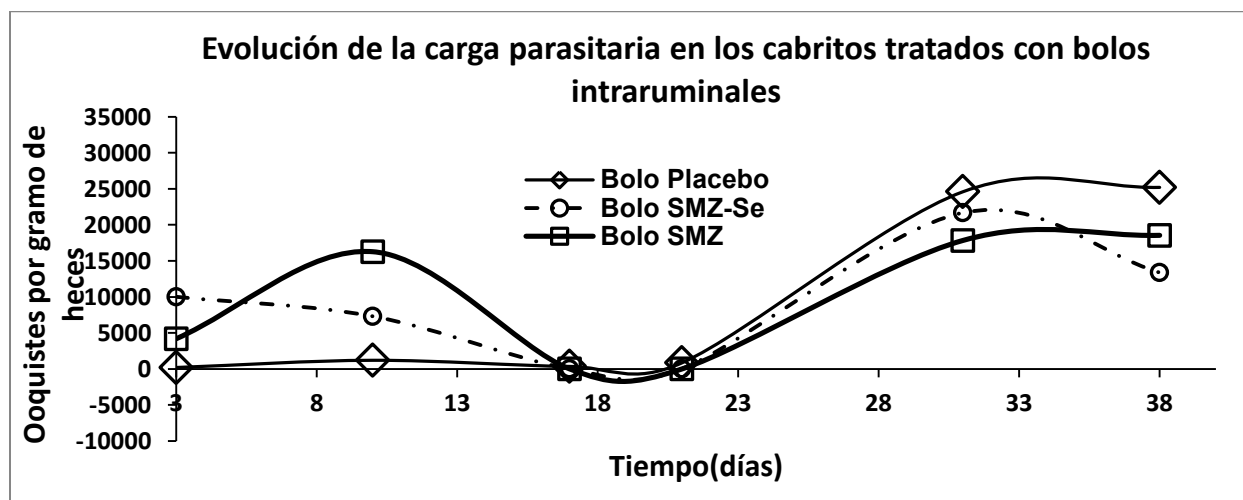


Figura 14. Evolución de la carga parasitaria de los animales tratados con bolos intraruminales, vía administración oral en cabritos.

Los bolos intraruminales que contenía sulfametazina funcionaron como un buen coccidiostato, reduciendo considerablemente la carga parasitaria en los cabritos, los dos grupos tratados con sulfametazina (bolo SMZ y bolo SMZ-Se) demostraron una menor eliminación de ooquistes con cuentas mínimas entre los 17 y 21 días.

En el grupo bolo Placebo se observan una carga parasitaria menor desde el inicio del tratamiento y el grupo bolo SMZ-Se la mayor carga debido al desafío que enfrentaría la formulación, en el grupo bolo SMZ-Se se observa una disminución paulatina en la cuenta de ooquistes hasta los 21 días, en el grupo bolo SMZ se observa un aumento en la cuenta de ooquistes después de los 8 días. Estos resultados pudieran estar relacionados con las concentraciones plasmáticas de sulfametazina ya que en el grupo bolo SMZ la sulfametazina se mantuvo en concentraciones menores en los primeros días y antes del máximo de concentración en comparación con el bolo SMZ-Se. El grupo bolo SMZ-Se a diferencia del bolo SMZ presentó dos máximos de concentración en los primeros 5 días pos-tratamiento y aun después del máximo de concentración este presentaba concentraciones más altas y diferentes de sulfametazina que el bolo SMZ.

El tratamiento logró el control de la enfermedad durante 21 días, para después mostrar en los tres grupos un aumento en la carga parasitaria, por arriba de su valor inicial, esto puede atribuirse a que ya se había completado el efecto del bolo y que las concentraciones plasmáticas de sulfametazina ya estaban disminuidas y los cabritos se re-infestaron, esto sugiere la administración de otro bolo en este periodo para evitar la resistencia de la sulfametazina sobre estos parásitos.

Los resultados obtenidos sugieren que la combinación sulfametazina más selenio beneficia la reducción de ooquistes y al mismo tiempo protege contra el daño oxidativo causado por el propio fármaco (Rodríguez, 2013).

Se determinó el área bajo la curva de la sulfametazina en los dos grupos tratados en donde se estableció un relación de concentración plasmática versus tiempo, en donde el área bajo la curva esta relaciona con la cantidad total de fármaco absorbida a la circulación sistémica tras la administración de una dosis única (Aulton, 2004). Para determinar el área bajo la curva se utilizó el método de trapezoides, este método describe a la curva de concentración plasmática versus tiempo como una función que las divide en líneas rectas, lo que permite dividir a la misma en un número determinado de trapezoides. Entonces, el área de cada trapezoide se calcula fácilmente y la suma de todas las áreas de todos los trapezoides da un estimado de la verdadera área bajo la curva ABC (Liztli, 2005). En la figura 15 se observa que no existe una diferencia en el área bajo la curva entre los dos grupos tratados con sulfametazina.

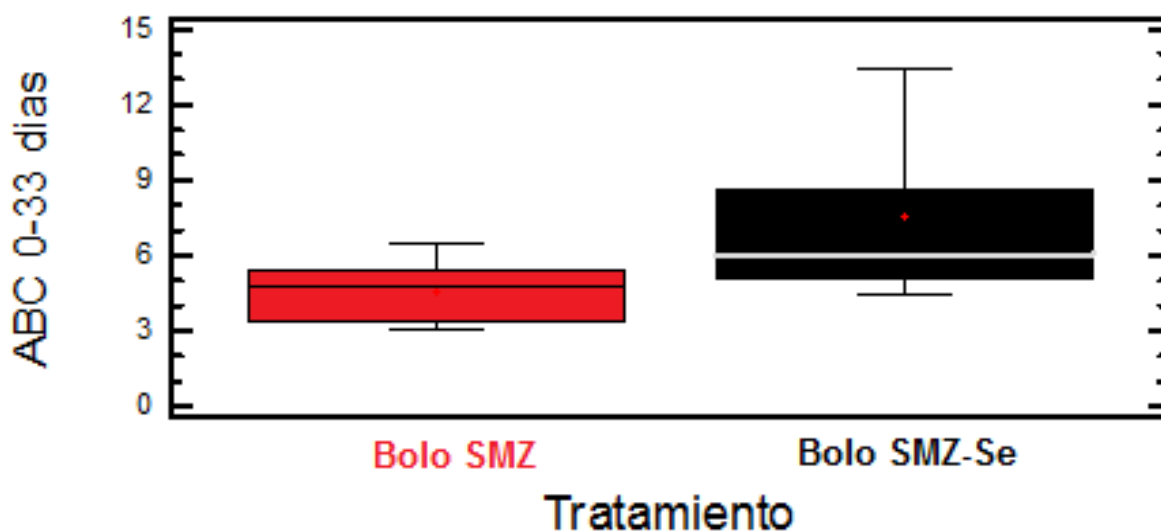


Figura 15. Representación del Área Bajo la Curva de Sulfametazina (ABC) en los grupos tratados con los bolos que contenían sulfametazina sódica, Bolo con sulfametazina (Bolo SMZ), Bolo sulfametazina y selenio (Bolo SMZ-Se), administrado por vía oral en cabritos.

Cuadro 12. Resultados de los parámetros farmacocinéticos de sulfametazina evaluados post-administración de bolos intraruminales en cabritos en los dos grupos tratados.

PARAMETRO	Bolo SMZ	Bolo SMZ-Se
ABC 0-33($\mu\text{g/ml}$ de SMZ al día)	4.6139 \pm 1.4442	7.5396 \pm 3.6754
Cmax ($\mu\text{g /ml}$)	0.5445	0.5622
Tmax (días)	5	5

En el Cuadro 12 se muestran los parámetros farmacocinéticos de sulfametazina tras la administración oral de los bolos en cabritos, se observa que el tiempo máximo al cual se alcanza la concentración máxima es de 5 días y la concentración es de 0.5445 $\mu\text{g/ml}$ para el bolo SMZ y 0.5622 $\mu\text{g/ml}$ para el bolo SMZ-Se.

En el grupo tratado con sulfametazina más selenio no se observaron diferencias significativas en los parámetros de ABC (área bajo la curva), Cmax (concentración máxima), Tmax (tiempo máximo) con respecto al bolo sulfametazina.

Es evidente que los parámetros farmacocinéticos de la sulfametazina no se modificaron tras la administración conjunta de selenio y esto indica que de cierta manera la combinación de estos dos

fármacos no causó interacción, la combinación entre sulfametazina y selenio no modifica el comportamiento cinético de la sulfametazina y no disminuye su eficacia terapéutica.

El bolo intraruminal y su matriz lípida en la formulación fue adecuado para producir una liberación de sulfametazina por un periodo de 21 días, lo que indica que la formulación es útil, ya que si después de 21 días sigue existiendo liberación, aún hay fármaco en el sitio de acción y por lo tanto acción terapéutica.

Perfiles Plasmáticos de Selenio

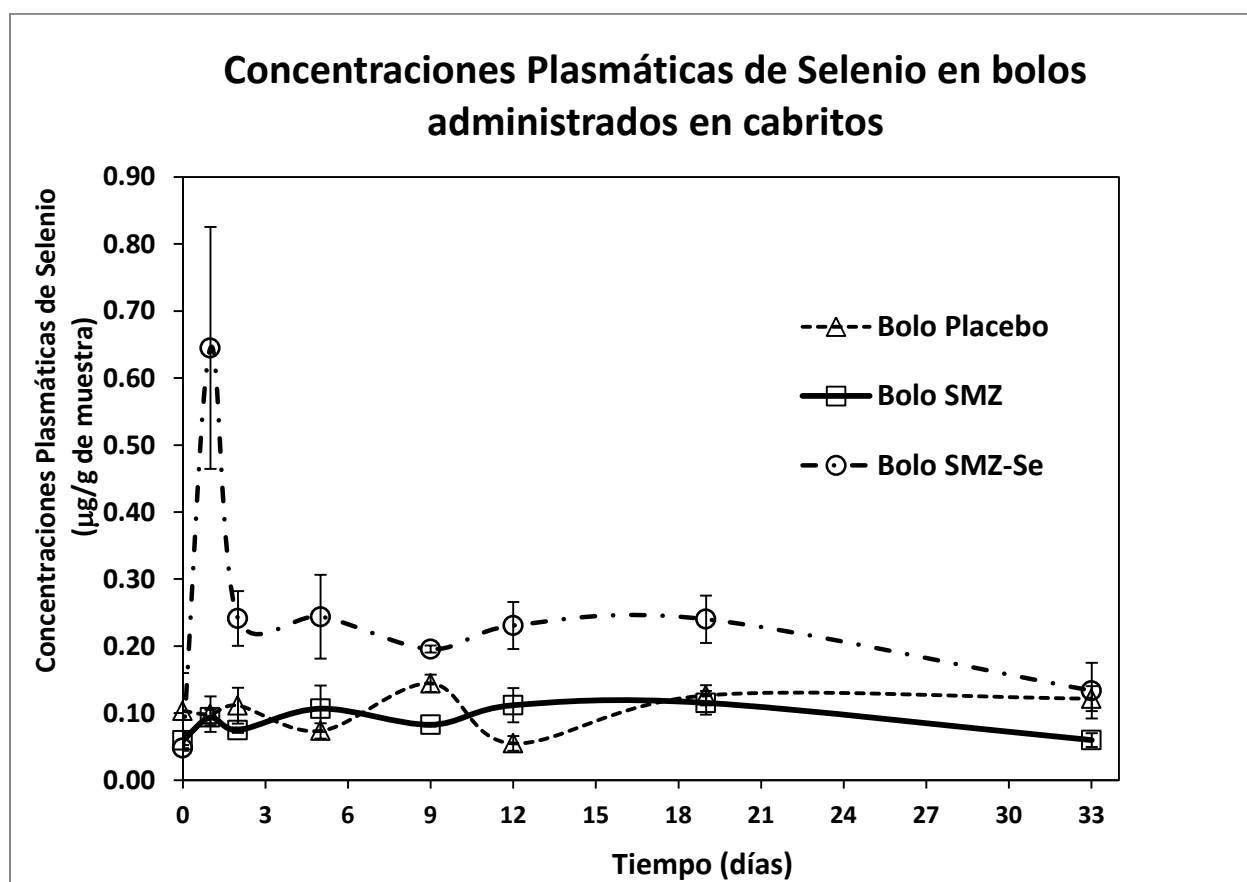


Figura 16. Representación de la concentración plasmática de selenio en los tres grupos de experimentación tratados con bolos, administrado por vía oral en cabritos, cada punto representa el promedio y las barras representan el error estándar ($\frac{s}{\sqrt{N}}$).

Shi (2010) y Ramírez (2001) indican que la concentración normal de selenio en plasma de cabritos es de 0.1 ppm, Liguang Shi (2011), reporta concentraciones de 0.1054-0.1183 ppm, Petretera (2009) 130 ng/g y Pavlata *et al.* (2011) de 0.0677-0.0146 ppm sin observar signos de deficiencia. Las concentraciones de 0.02-0.03 ppm (Deore, *et al.* 2007; Ramírez 2001) son consideradas inadecuadas, Ramírez encontró

signos de distrofia muscular nutricional con niveles de 0.02ppm. Las cantidades tóxicas reportadas por Deore *et al.* (2007) son de 0.4 ppm.

Las concentraciones plasmáticas de selenio reportadas en la Figura 16, indican que las concentraciones plasmáticas son normales para los dos grupos de experimentación no suplementados (Bolo SMZ y Bolo Placebo) lo que coincide con lo reportado por Shi (2010) y Ramírez (2001), el grupo bolo SMZ y grupo bolo placebo presentan concentraciones plasmáticas de selenio similares observándose incremento en algunos tiempos de muestreo quizás por alguna fuente externa de selenio (alimento) del metabolismo animal. El grupo bolo SMZ-Se presentó concentraciones plasmática de alrededor de 0.20 ppm por 26 días y mantuvieron concentraciones más elevadas y diferentes en comparación con los grupos sin selenio (bolo placebo y bolo SMZ) se observó un pico máximo un día después de la administración, este pico ya había sido observado en administración de bolos de selenato de bario (Pérez, 2007), a pesar de que en este pico máximo se alcanzaron concentraciones tóxicas según lo reportado por Deore, *et al.* (2007), ninguno de los animales mostró signos de intoxicación, esta concentración descendió en un tiempo corto, de haberse mantenido los animales pudieron presentar signos de intoxicación (Pérez, 2007).

Las diferencias de concentración plasmática de selenio entre los grupos experimentales se corroboraron con el análisis de varianza. En el Cuadro 13 se describe la diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las variables con un valor de $P < 0.05$.

Cuadro 13. Análisis de variancia para conocer si existe diferencia significativa entre los tratamientos sobre concentraciones plasmáticas de selenio administrado vía oral en cabritos.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor de P
Entre grupos	0.5868	2	0.2934	15.57	0.0000
Intra grupos	2.0357	108	0.0188		
Total	2.6225	98			

Para identificar cuales medias son significativamente diferentes se realizó un análisis de comparación de medias en cada tiempo de muestreo, con error estándar y se reportan en la Figura 17.

Comparación de medias con Intervalos de Confianza (Error estándar, 95%)

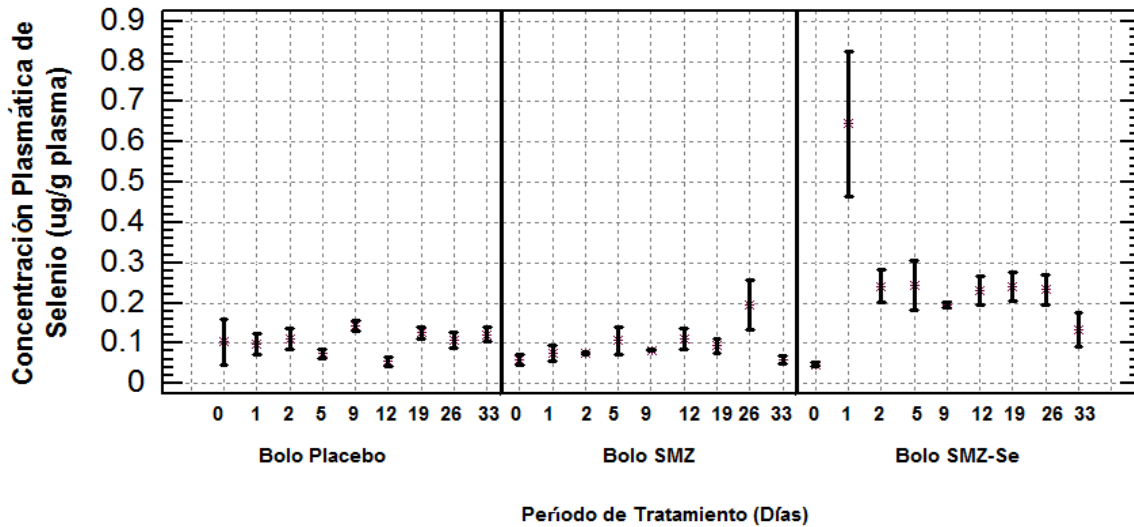


Figura 17. Representación de las concentraciones plasmáticas de selenio con media y error estándar por día de muestreo, en cada uno de los tres grupos experimentales.

En la Figura 17 se observa que las concentraciones plasmáticas de selenio en los animales que recibieron el bolo SMZ-Se, fueron significativamente más altas $P < 0.05$.

Las concentraciones de selenio en el grupo bolo SMZ-Se, se mantienen por arriba de las iniciales un día después la administración y después del máximo de concentración hasta los 26 días, las concentraciones de selenio en plasma a los 33 días ya no difieren de las encontradas inicialmente. Por tanto, el efecto positivo del bolo con selenio es observable entre los primeros 26 días, Un efecto positivo de la administración del bolo con sulfametazina más selenio fue notorio un día después del máximo.

En el día cero no existe diferencia significativa en las concentraciones plasmáticas de las animales asignadas a los diferentes tratamientos.

Desde el día 1 y hasta el día 33 las concentraciones plasmáticas de selenio en los animales que recibieron la combinación de sulfametazina más selenio bolo SMZ-Se, son mayores a los que se observan en animales que recibieron el bolo placebo y bolo SMZ, es decir, si hubo un efecto del tratamiento con selenio aplicado en los bolos administrados $P < 0.05$.

Para determinar el área bajo la curva de selenio se utilizó el método de trapezoides (Liztli, 2005), mismo método que se utilizó para determinar área bajo la curva de sulfametazina.

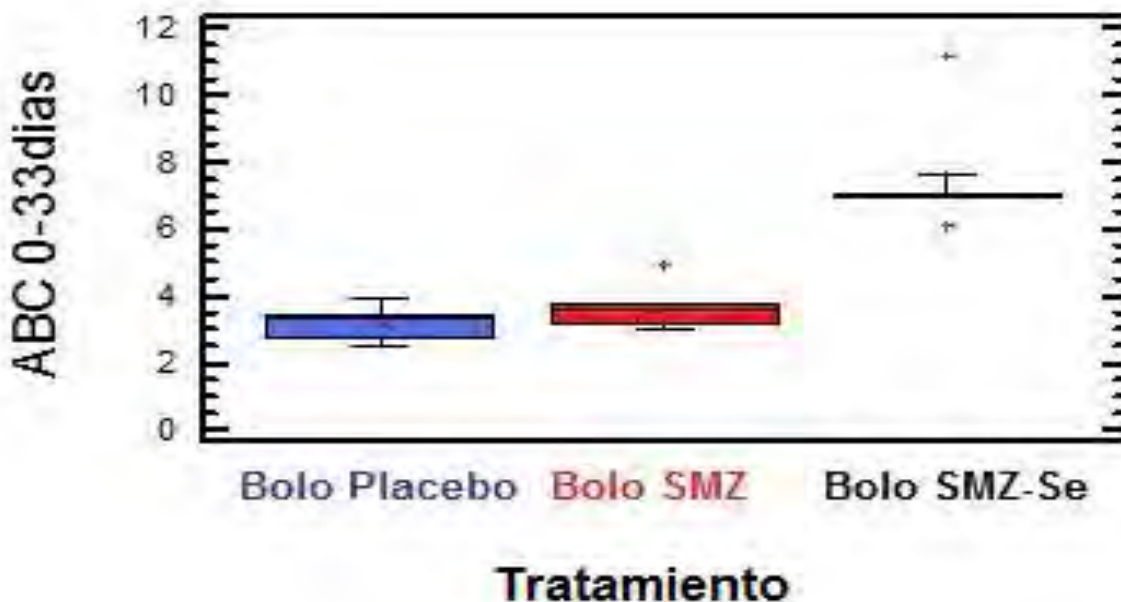


Figura 18. Representación del Área Bajo la Curva de Selenio (ABC) en los tres grupos tratados, Bolo Placebo, Bolo con sulfametazina (Bolo SMZ), Bolo sulfametazina más selenio (Bolo SMZ-Se) administrado por vía oral en cabritos.

En la Figura 18 se puede apreciar que los tratamientos bolo placebo y bolo SMZ son semejantes entre ellos y con el tratamiento bolo SMZ-Se se observó una diferencia. También se tiene que el tratamiento con selenio presenta mayor área bajo la curva, es decir mayor cantidad de selenio absorbido tras la administración oral de los bolos, también es posible observar que el tratamiento bolo SMZ-Se presenta una menor variabilidad entre los animales.

Cuadro 14. Resultados de los parámetros farmacocinéticos de selenio evaluados post-administración de bolos intraruminales en cabritos en los tres grupos tratados.

PARAMETRO	Bolo Placebo	Bolo SMZ	Bolo SMZ- Se
ABC 0-33(μg de Se/g plasma día)	3.1802 \pm 0.5805	3.6869 \pm 0.7543	7.6441 \pm 2.0055
Cmax (μg de selenio/gr de plasma)			0.6449 \pm 0.2244
Tmax (h)			24

En el Cuadro 14 se resumen los parámetros farmacocinéticos de selenio tras la administración oral de los bolos en los animales y se observa que el tiempo máximo al cual se alcanza la concentración máxima es a las 24 horas y la concentración es de 0.6449 $\mu\text{g}/\text{g}$ de plasma para el bolo SMZ-Se, no se muestran datos para el grupo bolo SMZ y bolo Placebo por qué no fueron suplementados con bolo que contuviera selenio.

VIII. CONCLUSIONES

Los bolos intraruminales elaborados mostraron características que los hacen adecuados para su manejo, administración y retención ruminal.

Los bolos intraruminales con sulfametazina sódica más selenito de sodio presentaron una eficacia satisfactoria para controlar la coccidiosis en cabritos, disminuyeron la cuenta de ooquistes en forma significativa, su efecto duró 21 días.

El bolo sulfametazina más selenio permitió mantener las concentraciones plasmáticas de selenio de manera sostenida por cuatro semanas, así mismo, el bolo intraruminal de lenta liberación, produce perfiles de liberación in vivo, que da lugar a concentraciones sanguíneas adecuadas para que tengan una acción terapéutica deseada.

No existió interacción farmacocinética entre la sulfametazina sódica y el selenio de sodio, pues no existieron modificaciones en los parámetros farmacocinéticos evaluados área bajo la curva, tiempo máximo y concentración máxima.

IX. REFERENCIAS

Abd E. H. (2007). Deficiencia y suplementación de selenio en pequeños rumiantes. Tesis Doctorado en ciencias de la Producción y la Salud animal. Facultad de Estudios superiores Cuautitlán UNAM.

Amador G. E. (1999). *Fabricación de un bolo de liberación prolongada con sulfametazina sódica para el tratamiento de coccidiosis en cabras*. Tesis de especialización en procesos farmacéuticos. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Arancibia, A. (1991). Calidad Biofarmaceutica. Estudios *in vitro e in vivo*. *Acta Farm. Bonearense*, 10, 123-133.

Augusto M. L., Martín A. H., Zarazaga P. (2007). Interacción farmacológica entre dexametasona y sulfametazina en caninos. *Rev. Compl. Cs Vet*, 1, 113-117

Aulton, E. M. (2004). *Farmacía. La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas*. Ed Churchill livingstone, Elsevier.

Baggot, J. (1977). *Principios de farmacología clínica veterinaria*. Ed Acribia. Zaragoza.

Baggot, J. (1992). Clinical pharmacokinetics in veterinary medicine. *Clin. Pharmacokinetics*, 22, 254-273.

Baggot, J. (2001). *The physiological basis of veterinary clinical pharmacology*. Ed Blackwell Science Ltd. Oxford.

Benet, L.; Kroetz, D.; Sheiner, L. (1996). *Farmacocinetica. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Ed. McGraw-Hill. Interamericana. México. 3-29.

Bevill, R. F. (1991). In *veterinary pharmacology and therapeutics*. Edited by Booth, N. H. Mc Donald E.I. Iowa State University Press Ames.

Bevill, R. F.; Sharma, R.M.; Meachum, S.H.; Wozniak, S.C.; Bourne, W.A.; Dittert, L.W. (1977). Disposition of sulfonamides in food-producing animals: concentration of sulfamethazine and its metabolites in plasma, urine, and tissues of lambs following intravenous administration. *Am. J. Vet. Res*, 38, 973-977.

Blodgett, D. J; Beuill R.F (1987). Pharmacokinetics of selenium administered parenterally at toxic doses in sheep. *Am. J. Vet. Res*. 48, 530-534

Branson, K.; Booth, N. (1995). Injectable anesthetics. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 209-267. The Iowa State University Press-Ames. Iowa.

Caprile, K.; Short, C. (1987). Pharmacologic consideration in drug therapy in foals. *Vet. Clin. of North Am. Equine Pract*, 3, 123-124.

Costa, B. P. (1996). Las Sulfamidas: actualidad como agentes terapéuticos. *Med. Vet*, 13, 585-593.

Cuéllar, O. J. A. (1986). Parasitosis del aparato digestivo. En principales enfermedades de los ovinos y caprinos. Editorial por Pijoan, P. y Tortora, J, México, D.F.

Chávez R. O. (2000). *Patogenia, control y tratamiento de la coccidiosis caprina usando bolos intraruminales de Sulfametazina y cultivo monoespecífico de Eimeria*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Chávez, R. O.; De Lucas, T. J.; Arellano, L. R.; Tórtora, P.J. (2005). Utilización de bolos ruminales de liberación de sulfametazina sódica en el control de la coccidiosis ovina. *Arq. ciên. vet. Zool*, 8, 147-153.

Church, D.; Pond, W. (1988). *Basic animal nutrition and feeding*. 3 ed. U.S.A.

De Backer, P.; Debakere, M.; De Corte, B. (1978). Plasma levels of chloramphenicol after oral administration in calves during the first weeks of life. *J. Vet. Pharmacol. Therap*, (1) 135-139.

De Backer, P. (1986). *Comparative neonatal pharmacokinetics*. Ed MTP Press Ltd, Lancaster, UK.

Deore M.; Dumka V.; Sharma S.; Srivastava A. (2007). Selenium toxicokinetics after oral and intravenous administration in buffalo calves. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 24, 55–59.

Díaz, S. V. (2012). *Efectos de bolos intraruminales de sulfas y selenio para el control de la coccidiosis caprina*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Dunlop, R. H. (1983). *Ruminal influence on drug action*. *Veterinary Pharmacology and Toxicology*, Ed. MTP Press Limited, Lancaster.

Ernst J. V.; Benz G. W. (1986). *Intestinal coccidiosis in cattle. The veterinary clinics of North America/parasites: epidemiology and control*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA..

Evrard, B.; Delahaut, P.; Hubert, P.; Crommen, J.; Delattre, L. (1995). Biopharmaceutical aspects of the development of sulfamethazine oral sustained release bolus for lambs. *J. Controlled. Release.* 35,107-115.

Food and Drug Administration (1989). Target safety guidelines for new animal drugs, Office of New Animal Evaluation.

Friis, C. (1983). Postnatal development of renal function in goats. *Veterinary Pharmacology and Toxicology.* Ed. MTP Press, Lancaster.

Georgi, J. R. (1985). *Parasitology for veterinarians.* 14 Ed. W. B. Saunders Co., Phila. PA.

Gleason, H. M. E. (2004). *Desarrollo y optimización de los métodos de digestión acida en horno de microondas para la cuantificación de selenio en muestras biológicas.* Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

González, C. R. (2005). *Estudio de biodisponibilidad y de los parámetros farmacocinéticos de bolos de sulfametazina sódica en ovinos.* Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Gyurik, R. J. (1983). *Rumen Retention Devices in Drug Delivery Devices Fundamentals and Applications.* Ed. Praven Tyle. New York. Marcel Dekker.

Gyrd-Hansen, H.; Friis, C.; Nielsen, P.; Rasmussen, F. (1984). Metabolism of trimetopim in neonatal and young pigs: comparative in vivo and in vitro studies. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 55, 402

Hansen, D.; Hathaway, R.; Oldfield, J. E. (1993). White muscle and other selenium-responsive diseases of livestock. University Extension Service, Oregon.

Hansten, P. D.; Horn, J. R. (2012). *Drug Interactions Analysis and Management.* Wolters Kluwer.

Hardman, J.; Limbird, L.; Molinoff, P.; Ruddon, R.; Goodman Gilman, A. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.* Ed. graw-Hill. Interamericana. México.

Hanna, P.E. (1996). Metabolic activation and detoxification of Arylamines. *Current. Med. Chem.* 3, 195-210.

Helgi J. C.; Hong C. E. (2003). Biodisponibilidad y Bioequivalencia. Ed. Sofía de la Mora Campos.

Homeida, A.M. (2000). Phenotypic variation in sulphonamide acetylation. *J. Camel. Pract. Research.* 7, 109-111.

Hurtado, C.; Gómez, A. C. (2002). Antibacterianos, esterilización y desinfección. Manual de microbiología Veterinaria. Ed. Mc graw-hill. Interamericana. Madrid.

Kami, G.; Merritt, A.; Duelly, P. (1984). Preliminary studies of plasma and extracellular fluid volume in neonatal ponies. *Eq. Vet. J.* 16, 356-358.

Karalliedde, L.; Henry, J. (1998). Handbook of Drug Interactions. Ed. Arnold. London.

Kawalek, J. C.; El Said, K. R. (1991). Effect of diet on the development of hepatic drug metabolizing enzymes in food producing animals. *J. Anim. Sci.* 89, 497.

Liztli, G. A. (2002). *Elaboración de programas interactivos en multimedia para la enseñanza de la tecnología farmacéutica desarrollo de un programa en ambiente multimedia para bioequivalencia de medicamentos.* Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Liguang S.; Wenjuan X.; Wenbin Y.; Chunxiang Z.; Youshe R.; Lei S.; Qian W.; Rujie Y.; Fulin L. (2011). Effect of sodium selenite, Seyeast and nano elemental selenium on growth performance, Se concentration and antioxidant status in growing male goats. *Small Ruminant Research* 96, 49–52.

Manzanarez C. W. (2007). Selenio en los pacientes críticos con respuesta inflamatoria sistémica. *Nutrición hospitalaria*, 22, 295-306.

Martin, J. T. (2002). Sulfamidas y diaminopirimidinas. Farmacología y terapéutica veterinaria. Ed. Mc graw-hill. Interamericana. Madrid.

Mc Evoy, J. D. G.; Mayne, C.S.; Higgins, H.C.; Kennedy, D.G. (1999). Transfer of sulphamethazine from contaminated dairy feed to cows' milk. *Vet. Rec.* 144, 470-475.

Morales, H. E. A. (2003). *Estudios de disolución in vitro y biodisponibilidad de bolos de sulfametazina sódica.* Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Mueller, A. S. Mueller, K. Wolf, N. M. Pallauf (2009). Selenium and diabetes, an enigma? *Inst Agric Nutri Scie*, 43, 1029-59.

Munsey, T.; Grigg, R.E.; McCormack, A.; Symonds, H.W.; Bowmer, C.J. (1996). Binding of sulphamethazine to pig plasma proteins and albumins. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 19, 135-141.

Murphy, J.; Wong, M.; Ray, W. (1986). The advantages of a timed-release sulfamethazine bolette for calves. *Vet. Med.* 9, 882-885.

National Research Council (1980). Mineral tolerance of domestic animals, Subcommittee on mineral toxicity in animals, National Academy of Sciences, Washington, D.C.

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

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

Nouws, J. F. M.; Vree, T.B.; Degen, M.; Mevius, D. (1991). Pharmacokinetics of sulphametoxazol in calves and cows. *Vet. Quarterly.* 13, 10-15.

Nouws, J.; Guelen, P.; Mevius, D.; Driessens, F. (1986). Age difference in pharmacokinetics of and amoxicillin trihydrate 15% formulation administered intramuscularly to ruminants. *Vet. Quaterly.* 8, 339-342.

Nouws, J. F. M.; Vree, T.B.; Mevius, D.; Degen, M. (1989a). Pharmacokinetics, metabolism and renal clearance of sulphatroxazole in calves and cows. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 12, 50-57.

Pavlata, L.; Slosarkova, S. (2005). Effects of increase diodinesupply on the selenium status of kids. *Vet. Med. Czech*, 50, 186–194.

Pérez, B. E. F. (2007). *Estudio de perfiles de selenio en sangre y liquido ruminal de bolos de selenato de bario*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Petrera, F. (2009). Effect of either sodium selenite or Se–yeast supplementation on selenium status and milk characteristics in dairy goats. *Small Ruminant Research.* 82, 130–138.

Plumb, D.C. (1999). Veterinary drug handbook. 3era ed. Iowa State University Press-Ames.

Prescott J. F. (2002). Sulfonamidas, diaminopirimidinas y sus combinaciones. Ed. Inter-Medica. Buenos Aires.

Pond, W.; Maner, J. (1976). Producción de cerdos en climas templados y tropicales. Trad. Pedro Ducar Malvenda, Editorial Acribia, Zaragoza, España.

Quiroz, R. H. (1984). Parasitología y enfermedades parasitarias en animales domésticos. Editorial Limusa, México,

Ramírez, B. E.; Vázquez, R. A.; López, A. R.; Hernández, C. M; Tortora, P. J; García, G. E; Cruz, M. R. (2008). Suplemento de selenio con bolos intraruminales de selenito de sodio en ovinos. Universidad Autónoma de México, Colegio de postgraduados. México.

Righter, H. F.; Showalter, D.H.; Teske, R.H. (1979). Comparative plasma kinetics of orally administered sulfamethazine in clinically parasitized and parasitism treated lambs. *J. Vet. Pharmacol. Therap*, 2, 203-208.

Ricciardino, M. Z. (1993). Actualización en funciones bioquímicas de cobre, selenio y zinc en rumiantes. Deficiencias de microelementos en bovinos en la provincia de Entre Ríos, INTA E.E.A Concepción del Uruguay, Argentina.

Rickaby, C. D. (1981). The selenium requirement of ruminants. In: Recent Advances in Animal Nutrition. Ed Haresign. Univ. of Nottingham School of Agriculture, Butterworffis, London.

Rodríguez, G. Á. (2005). *Optimización y validación del proceso de fabricación de bolos intraruminales de selenio inorgánico*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Rodríguez, P. G. (2013). *Estudio del efecto de la suplementación de selenio sobre biomarcadores de estrés oxidativo en plasma de cabra*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Rojo, G. J. H. (2002). *Validación prospectiva del proceso de fabricación de bolos de liberación prolongada de Sulfametazina sodica*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

- Shi L.; Yang R.; Yue W.; Xun W.; Zhang C.; Ren Y.; Shi Lei.; Lei F.; (2010). Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. *Animal Reproduction Science* 118, 248–254.
- Schwark, W. (1992). Factors that affect drugs disposition in food producing animals during maturation. *J. Anim. Sci.* 70, 3635–3645.
- Short, C.; Tumbleson, M. (1973). Binding of drugs to plasma proteins of swine during the perinatal period. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 24, 612.
- Silva, J. H.; Quiroga, M.A.; Auza, N.J. (2000). Selenio en el rumiante. Relaciones suelo, planta, animal. *Med. Vet.* 17, 229-246
- Sköld, O. (2001). Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Vet. Res.* 32 261- 273.
- Soulsby, E.J. (1987). Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ed. Editorial Interamericana. Mexico.
- Spoo, J.W.; Riviere, J.E. (2001). Sulfonamides. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa. State University Press. Ames.
- Stockey. (2007). Interacciones Farmacológicas. 2da Ed. Pharma Editores. Mexico D.F.
- Taylor, P.M.; Rest, R.J.; Duckham, T.N.; Wood, E.J.P. (1988). Possible potentiated sulphonamide and detomidine interactions. *Vet. Record.* 122, 143.
- Torrent, J.; Edens, F. (1996). Organic selenium: the new frontier in selenium. *In Biotechnology in the feed industry: Proceedings of Alltech's 12th annual symposium.*
- USP 24, NF 19. (2000). Pharmacopeia. The standard of Quality.
- Van Duijkeren, E.; Vulto, A.G.; Sloet Van Olduitenborghoostbaan, M.M.; Kessels, B.G.F.; Van Miert, A.S.J.P.A.M.; Breukink, H.J. (1995). Pharmacokinetics of trimetoprim sulphachlorpyridazine in horses alter oral, nasogastric and intravenous administration. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 18, 47-53.
- Velasco, A.; Moreno, A. (1992). Interacciones medicamentosas. Ed. Interamericana. 1166-1188. Mac Graw-Hill. Nueva York.

Watson, A.D.J.; Van Gogh, H.; Van Deurzen, E.J.M.; Van Duin, C.T.M. (1987). Pharmacokinetics of three sulphonamides in ruminant and preruminant kids. *Res. Vet. Sc.* 43, 208-216.

Williams, G. (1983). Drug effect during development and carcinogenicity. In: ruckebush, p.; toutain, p.; koritz, g. (Ed) *Vet Pharmacol and Toxicol. Proc. 2rd Congr. Europ. Assoc. Vet. Pharmacol. Toxicol.* Sept. 13-17, 1982.

Zweers-Zeilmaker, W.M.; Horbach, G.J.; Witkamp, R.F. (1998). Effect of non steroidal anti-inflammatory drugs and sulphonamides on hepatic cytochrome P-4502C activity in vitro in goat and cattle. *J. Vet. Pharm. Therap.* 21, 154-157.

X. ANEXOS

Anexo 1. Materiales

Optimización de la formulación

-Equipo.

Balanza analítica Mettler Toledo modelo AB204-5.

Mezclador planetario Erweka modelo PRS.

Vasija enchaquetada Erweka modelo DE.

Molino para sólidos Erweka modelo TG2S.

Reóstato CRAF.

Granulador oscilante Erweka modelo FGS.

Mezclador de Pantalón modelo KB 15/UG.

Durómetro Vanderkamp modelo 40-2000.

Tableteadora Korsh

-Reactivos.

Sulfametazina sódica, Astroquim. S.A. de C. V (México).

Selenito de sodio, Valno. S.A. de C. V (México).

Hierro Reducido, Mallinckrodt Baker, S.A. De C. V., (St Louis Missouri).

Rilanit Especial, Cognis Mexicana, S.A. de C. V. (México).

Estearato de Magnesio, Helm. S.A. de C. V (México).

Talco, Helm. S.A. de C. V (México).

Biodisponibilidad

Equipos.

Cromatografo de líquidos de alta resolución. (HPLC)

Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

Generador de Hidruros

Horno de microondas (MARS-digestión CEM)

Reactivos

Acetonitrilo calidad HPLC

Ácido acético glacial J. T. Baker

Cartuchos Sep- Pak Waters

Ácido nítrico J. T. Baker

Ácido Clorhídrico. J. T. Baker

Peróxido solución al 30%

Boro hidruro de sodio J. T. Baker

Hidróxido de sodio perlas J. T. Baker

Agua des- ionizada

Anexo 2. Validación de método cromatográfico para la determinación de sulfametazina en plasma.

Fase Móvil: (80:20) Ácido Acético 0.50 %: Acetonitrilo

Flujo: 1ml/min

Tiempo de corrida: 8 min

Volumen de inyección: 20 µl

Longitud de onda: 266 nm

Columna: Purosfer STAR RP-18 endcapped (5 µm)

Linealidad del sistema

Preparar una curva de calibración de nueve concentraciones de sulfametazina.

N° Sistema	Volumen de Sulfametazina (ml)	Solución Sulfametazina	Volumen Sulfatiazol (ml)	Volumen (ml)	Sulfametazina (ug/ml)
1	2.0	B	2.0	100	0.5
2	4.0	B	2.0	100	1.0
3	1.0	A	1.0	50	2.0
4	2.0	A	1.0	50	4.0
5	4.0	A	1.0	50	8.0
6	6.0	A	1.0	50	12.0
7	8.0	A	1.0	50	16.0
8	10.0	A	1.0	50	20.0
9	20.0	A	1.0	50	40.0

Linealidad del Método

Solución stock de sulfametazina 1000 ug/ml.

Pesar, 100 mg de sulfametazina base en un vaso de precipitados de 15 ml y adicionar 1.0 ml de NaOH 1.5 N con una pipeta volumétrica clase TD. Transferir lo anterior a un matraz volumétrico de 100 ml clase A y llevar al volumen de aforo con agua desionizada.

A partir de la solución stock preparar los siguientes sistemas en agua desionizada:

N° Sistema	Vol. De Sulfametazina (ml)	Volumen Final (ml)	Sulfametazina (ug/ml)
1	1.0	100	10
2	2.0	100	20
3	2.0	50	40
4	4.0	50	80
5	6.0	50	120
6	8.0	50	160
7	10.0	50	200
8	20.0	50	400

Finalmente de cada uno de los sistemas mostrados en la Cuadro anterior se preparó la curva de calibración de sulfametazina en plasma. Esto se realizó transfiriendo 1.0 ml de cada una de las soluciones a un matraz volumétrico de 10 ml respectivamente y llevando al volumen de aforo con plasma limpio. Las concentraciones obtenidas fueron: 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 y 40 ug/ ml. Posteriormente se realizó el ensayo analítico para sulfametazina.

Evaluación de parámetros de validación para cuantificación de sulfametazina

Linealidad del sistema

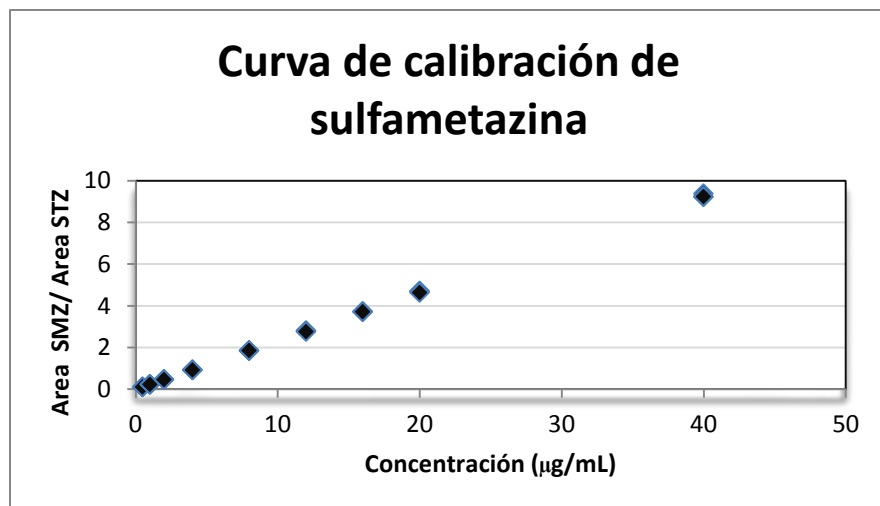
Datos obtenidos para el análisis de linealidad de sistema.

Concentración ug/ml	Respuesta analítica		
	Área SMZ / Área STZ		
0.50008	0.1106	0.1114	0.1084
1.00016	0.2301	0.2237	0.2291
2.00000	0.4661	0.4616	0.4647
4.00000	0.9203	0.9320	0.9212
8.00000	1.8350	1.8578	1.8481
12.0000	2.8015	2.7871	2.7666
16.0000	3.7323	3.7052	3.7145
20.0000	4.6854	4.7047	4.6295
40.0000	9.2288	9.3799	9.2429

La ecuación obtenida de la curva de calibración y los parámetros estadísticos a partir de un análisis de regresión se muestra a continuación.

Respuesta analítica= 0.2325 concentración - 0.0029

Parámetros estadísticos de la regresión	Curva de Calibración	
Coefficiente de correlación	0.9998	
Coefficiente de determinación	0.9998	
Coefficiente de variación	1.8681	
Intervalo de confianza del intercepto	-0.0189	0.0131



Precisión del sistema

Concentración ug/ml	Respuesta analítica Área SMZ / Área STZ			C.V
2.00	0.4734	0.4614	0.4697	0.9621
	0.4711	0.4703	0.4645	
4.00	0.9266	0.9350	0.9169	1.0491
	0.9214	0.9249	0.9437	
8.00	1.8492	1.8479	1.8310	0.9450
	1.8302	1.8334	1.8013	

Exactitud del sistema

Concentración ug/ml	% RECOBRO			C.V	IC % RECOBRO	
2.00	100.18	100.14	100.20	1.28	99.90	102.63
	101.64	102.16	103.25			
4.00	99.17	99.86	100.42	0.61	99.35	100.63
	100.16	99.49	100.82			
12.00	100.13	99.94	100.08	0.48	99.83	100.84
	100.80	99.98	101.08			

Linealidad del Método

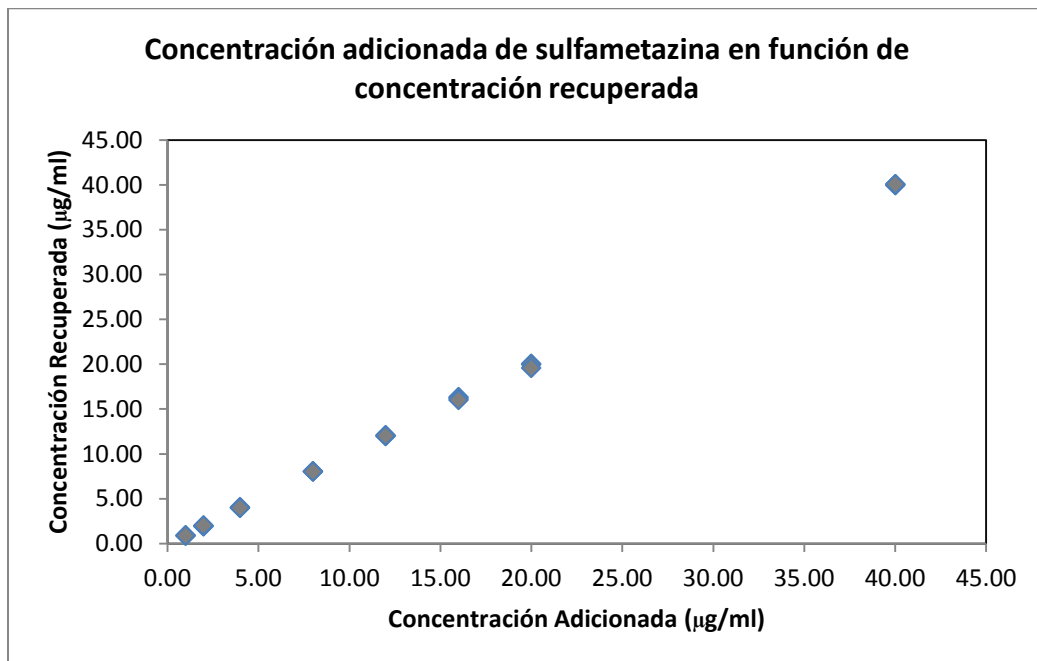
Datos obtenidos para el análisis de linealidad de método.

Concentración Adicionada ug/ml	Respuesta analítica		
	Área SMZ / Área STZ		
1.0007	0.0447	0.0426	0.0431
2.0014	0.0921	0.0909	0.0949
4.0028	0.1860	0.1892	0.1867
8.0056	0.3740	0.3741	0.3731
12.0084	0.5618	0.5572	0.5582
16.0112	0.7578	0.7520	0.7439
20.0140	0.9306	0.9277	0.9084
40.0280	1.8540	1.8583	1.8583

La ecuación obtenida de la curva de calibración y los parámetros estadísticos a partir de un análisis de regresión se muestra a continuación.

Respuesta analítica= $1.00074 \text{Concentración} - 0.03011$

Parámetros estadísticos de la regresión	Curva de Calibración
Coefficiente de correlación	0.9999
Coefficiente de determinación	0.9999
Coefficiente de variación	2.5865
Intervalo de confianza del intercepto	-0.0330 0.0512
Intervalo de confianza de la pendiente	0.9961 1.0054



Precisión del método.

Concentración ug/ml	Respuesta analítica Área SMZ / Área STZ			C.V
	4.0028	0.1897	0.1888	
	0.1895	0.1860	0.1867	
8.0056	0.3817	0.3809	0.3741	1.11
	0.3719	0.3740	0.3731	
12.0084	0.5539	0.5750	0.5572	1.55
	0.5498	0.5618	0.5582	

Exactitud del método.

Concentración ug/ml	% RECOBRO			C.V	IC % RECOBRO
	4.0028	101.11	100.64		
	101.02	99.09	99.47		
8.0056	102.29	102.08	100.26	1.11	99.57 101.94
	99.66	100.24	99.99		
12.0084	99.14	102.93	99.73	1.55	98.48 101.75
	98.41	100.57	99.92		

Evaluación de parámetros de validación para cuantificación de selenio.**Linealidad del sistema.**

Datos obtenidos para el análisis de linealidad de sistema.

Conc (µg/L)	Abs
2	0.0292
6	0.1169
10	0.205
14	0.2837
16	0.3568

La ecuación obtenida de la curva de calibración y los parámetros estadísticos a partir de un análisis de regresión se muestra a continuación.

Respuesta analítica= 0.0226 concentración - 0.0190

Parámetros estadísticos de la regresión	Curva de Calibración	
Coeficiente de correlación	0.9940	
Coeficiente de determinación	0.9920	
Intervalo de confianza del intercepto	-0.0540	0.0159
Intervalo de confianza para la pendiente	0.0194	0.0258

Anexo 3. Concentración de selenio en plasma para cada unidad experimental

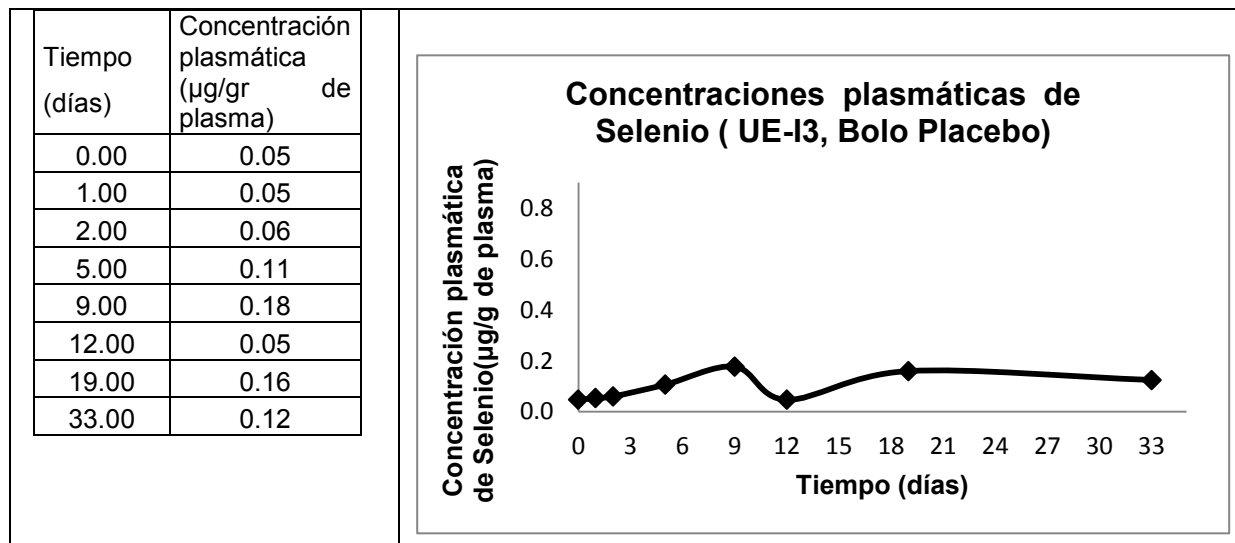


Figura 19. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

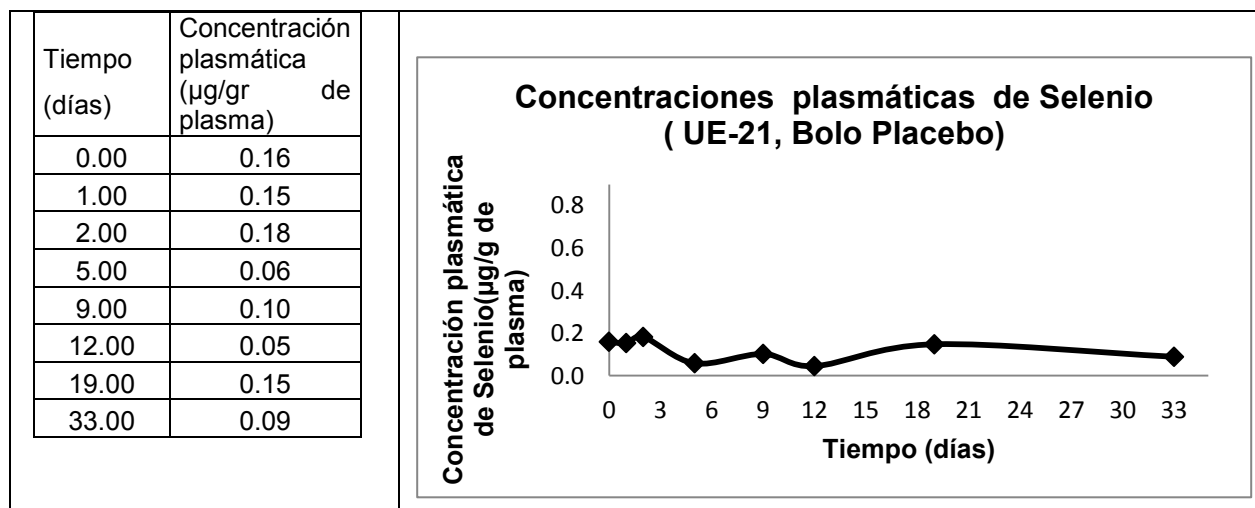


Figura 20. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

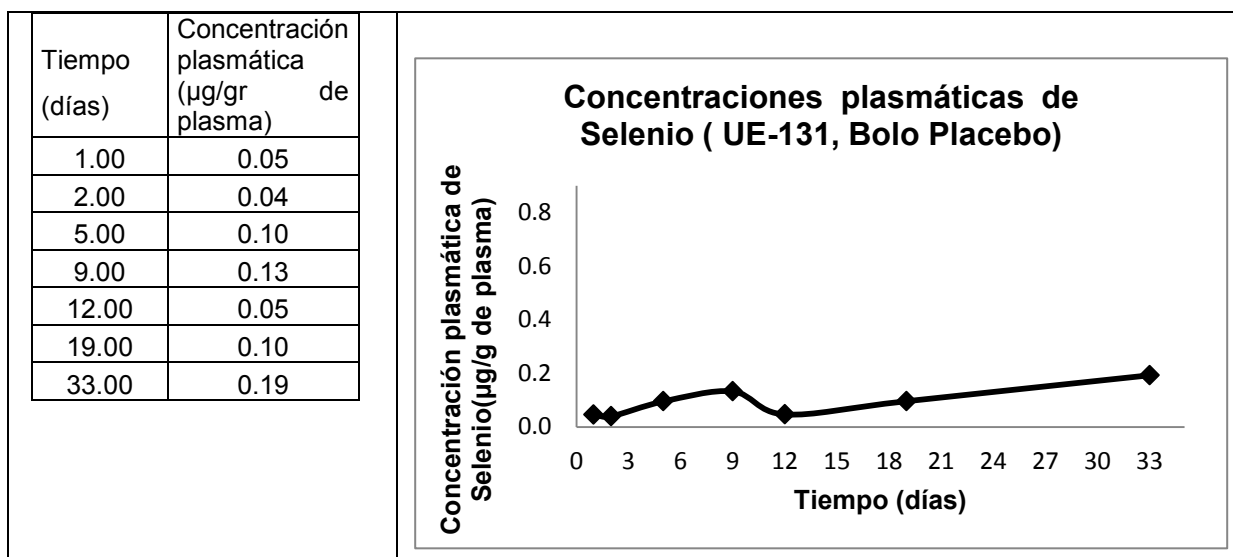


Figura 21. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

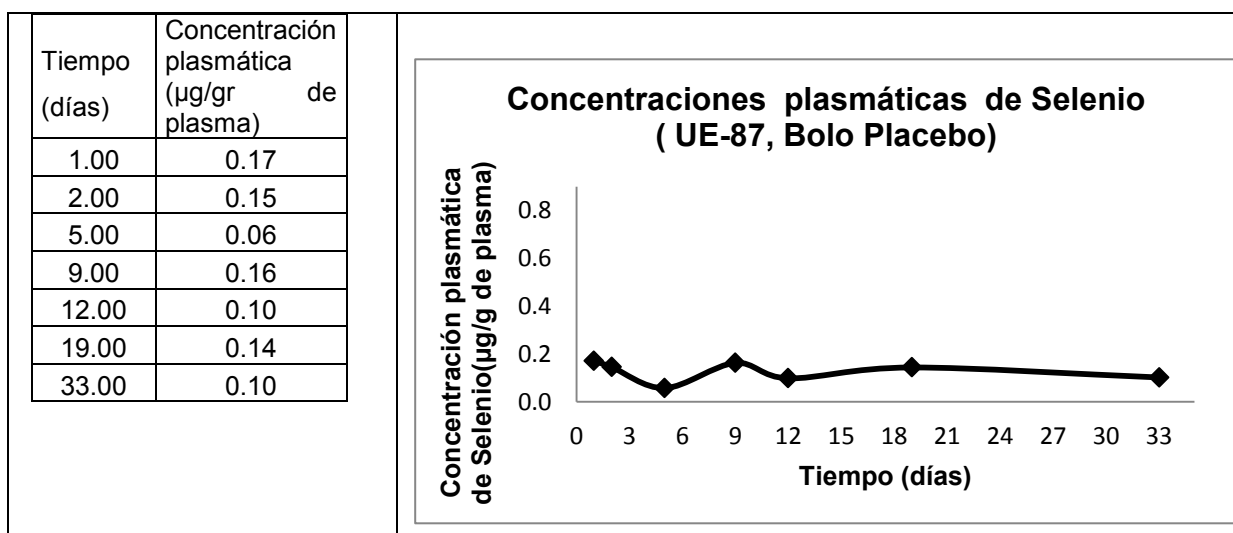


Figura 22. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

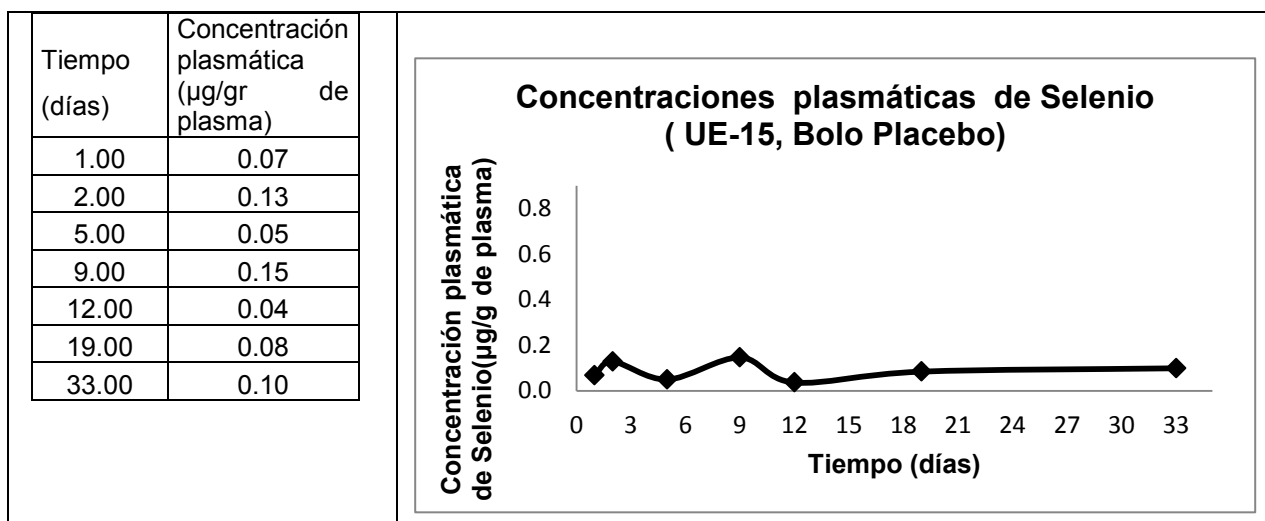


Figura 23. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

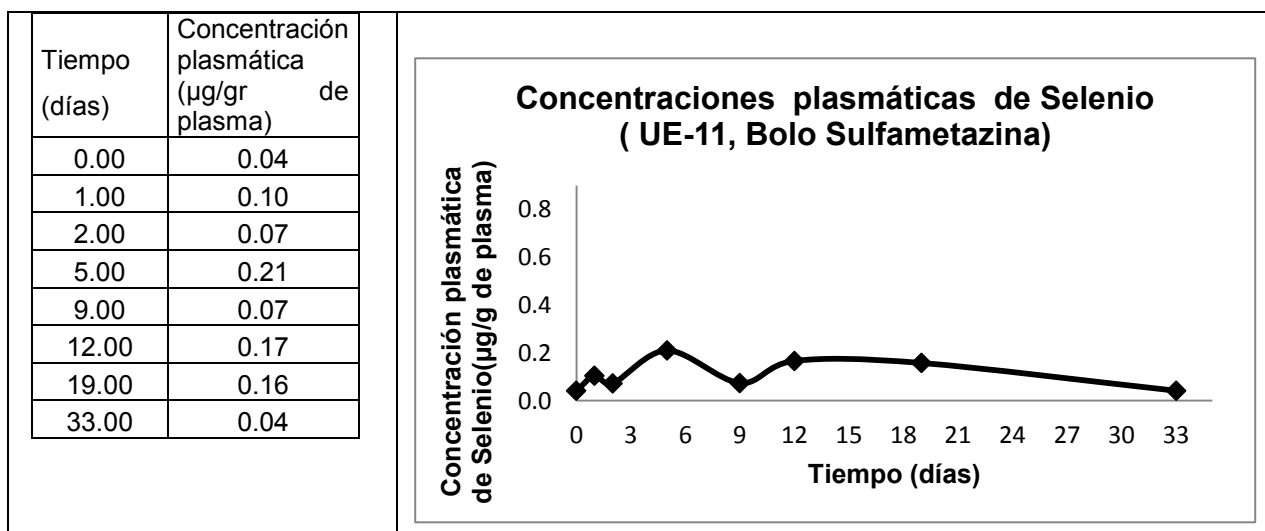


Figura 24. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

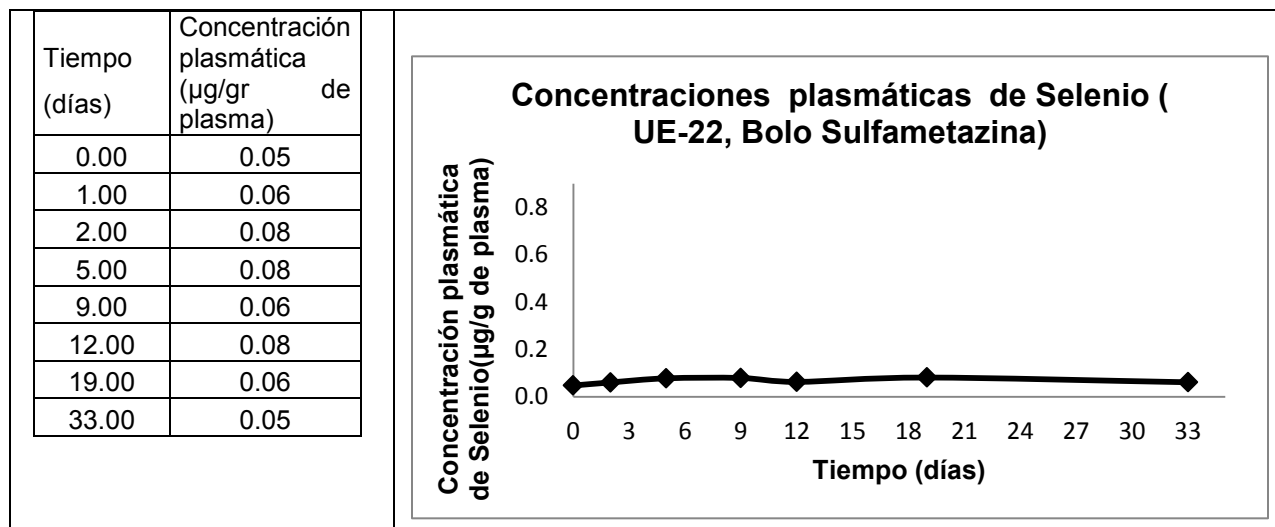


Figura 25. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

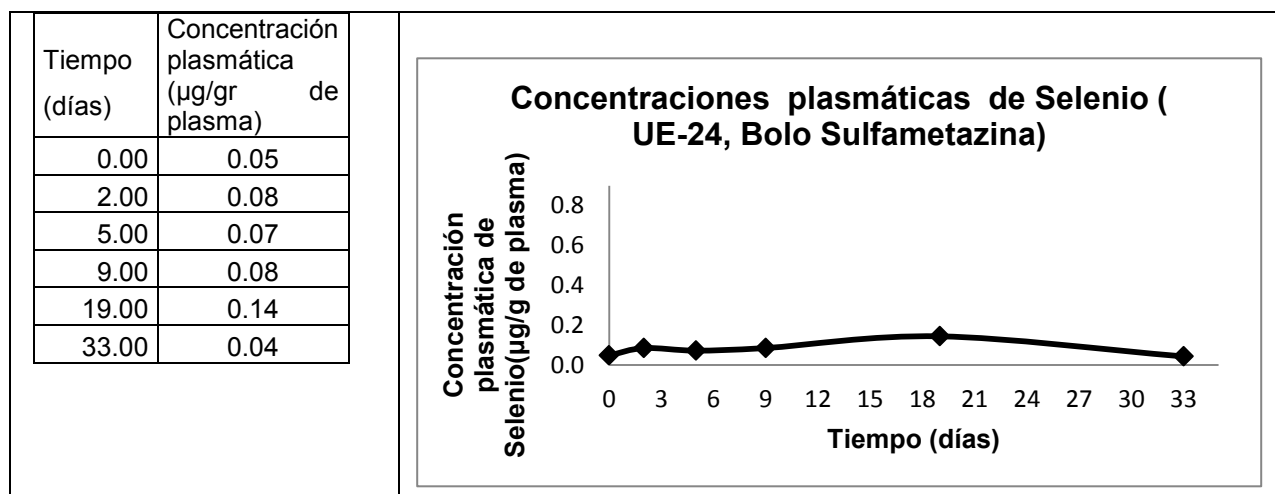


Figura 26. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

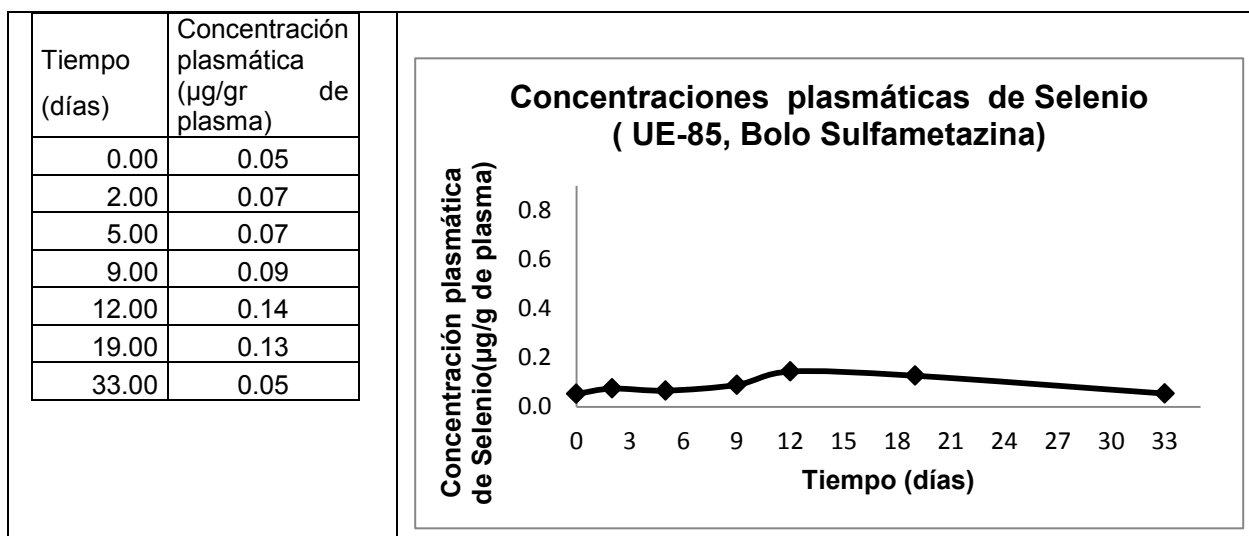


Figura 27. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos

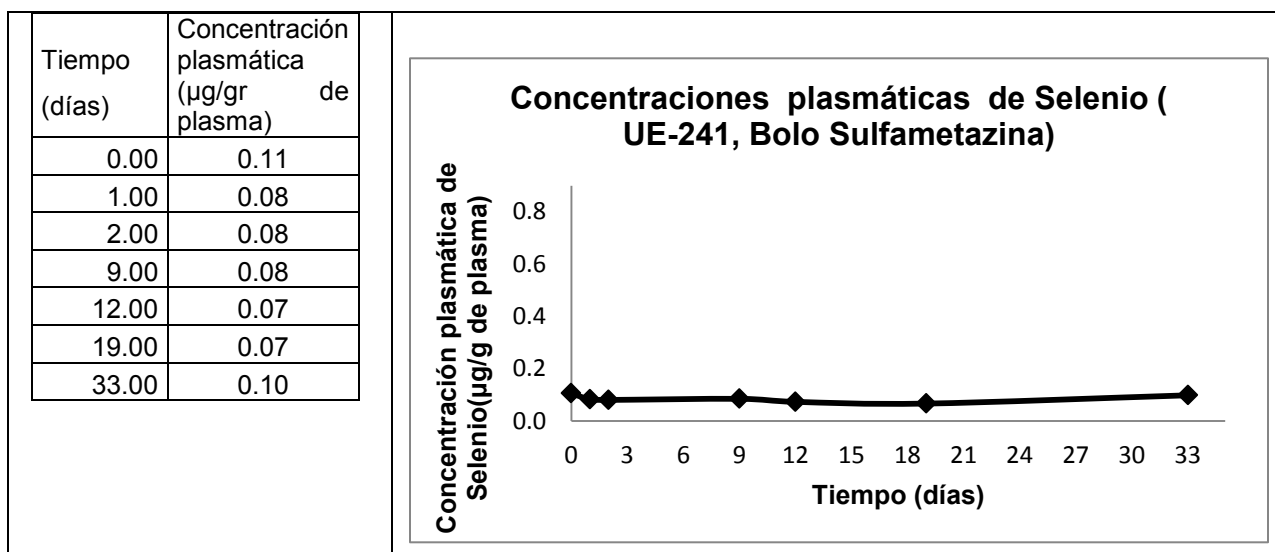


Figura 28. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

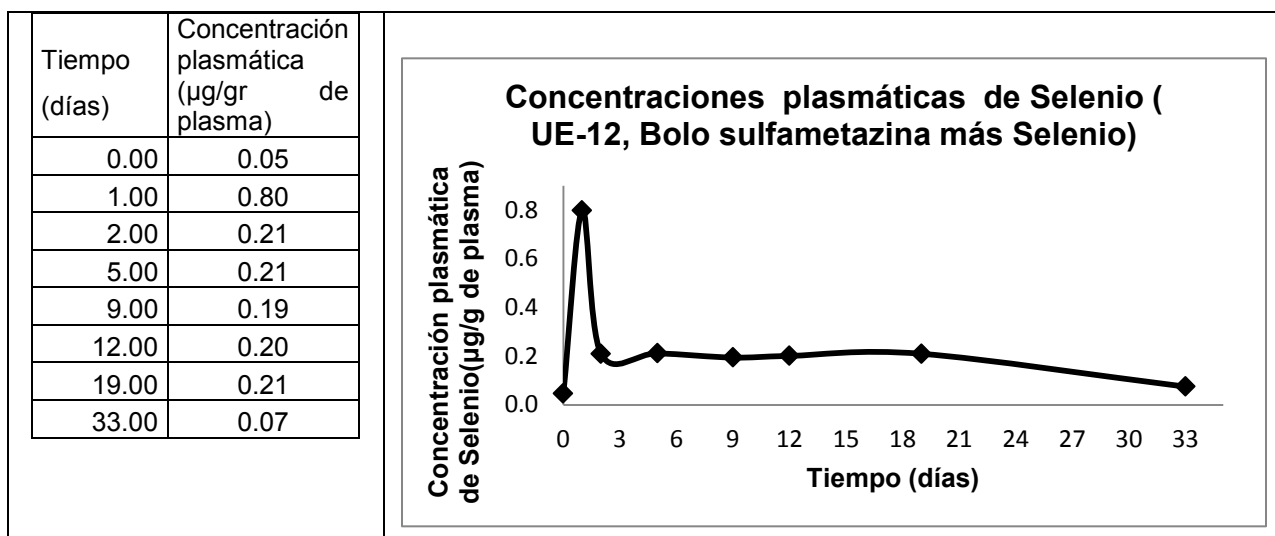


Figura 29. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

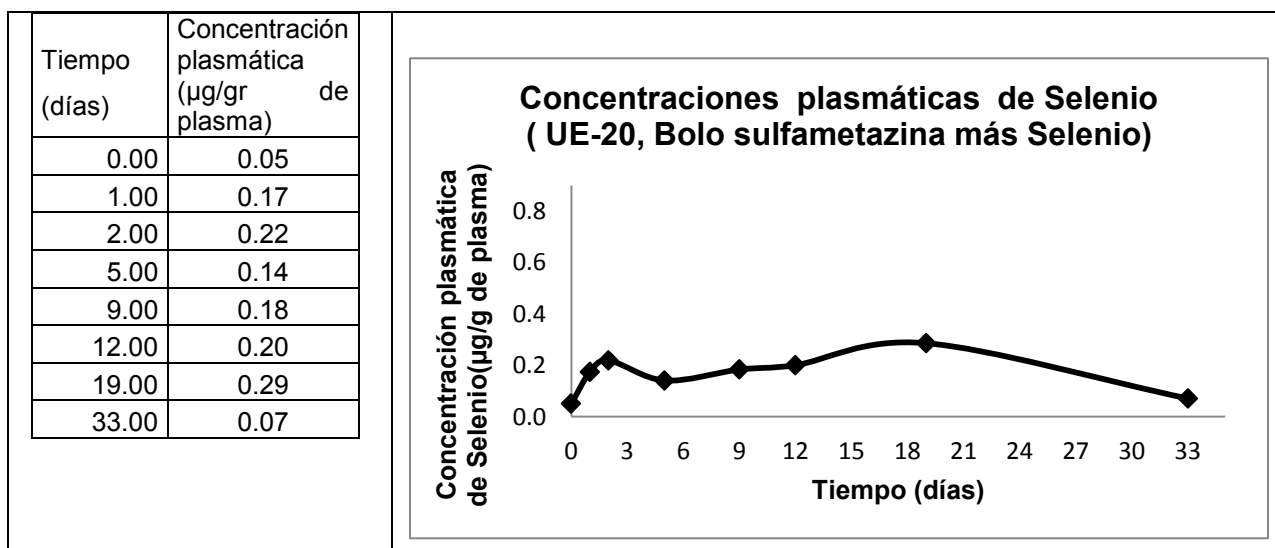


Figura 30. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

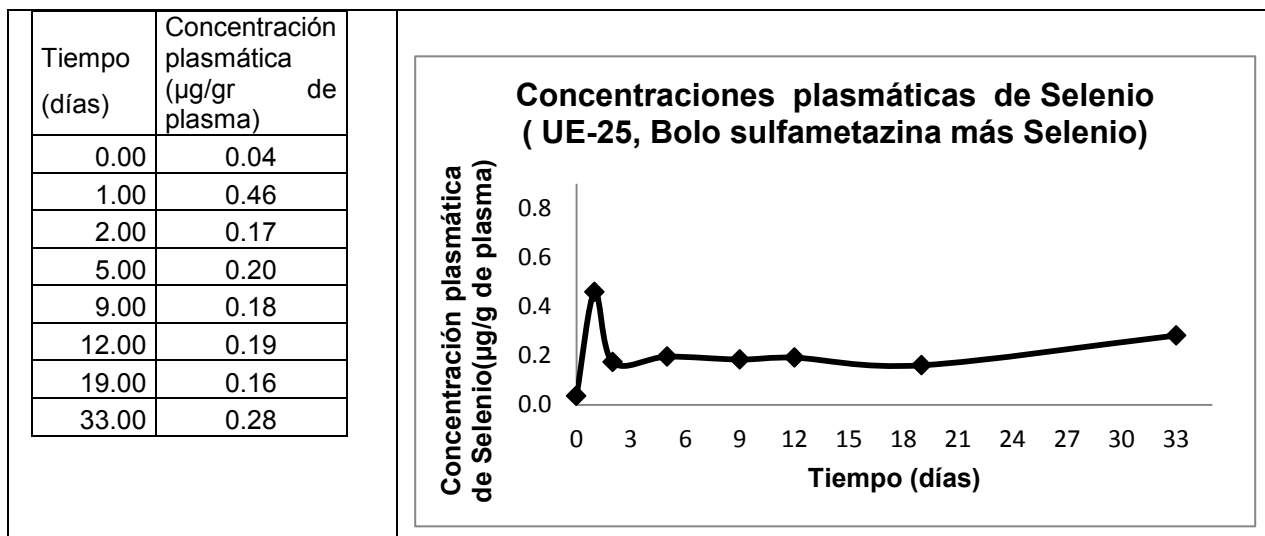


Figura 31. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

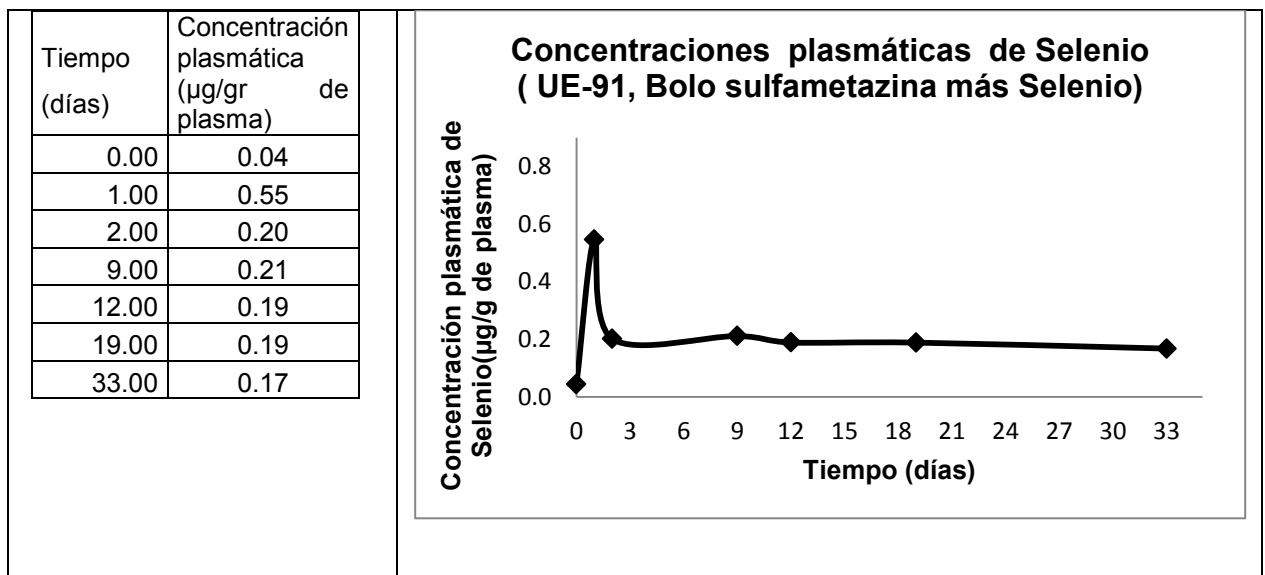


Figura 32. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

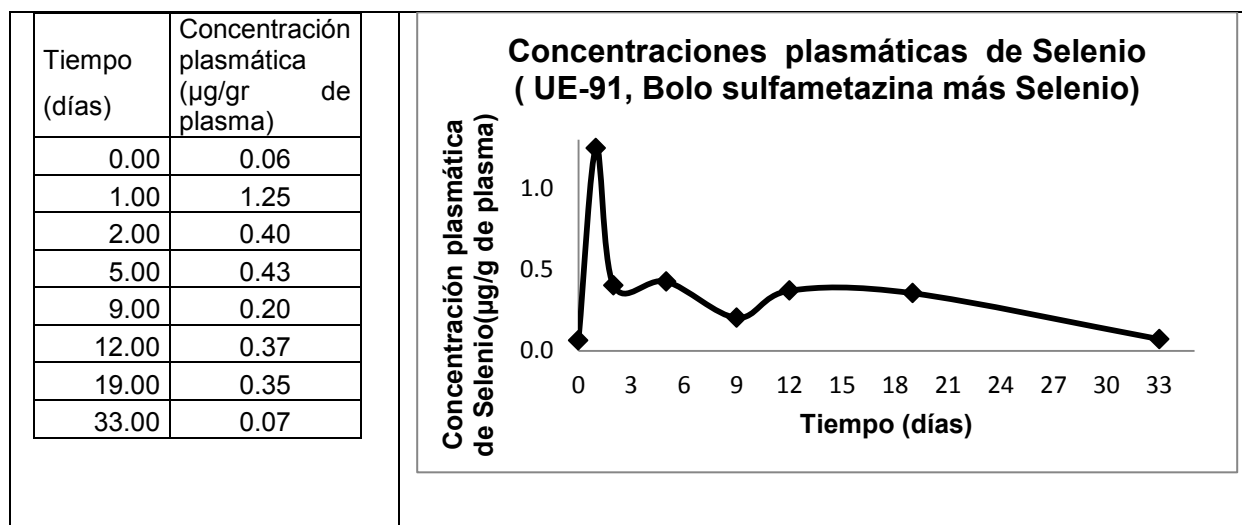


Figura 33. Representación de la disposición plasmática individual de selenio administrada por vía oral en cabritos.

Anexo 4. Concentración de sulfametazina en plasma para cada unidad experimental

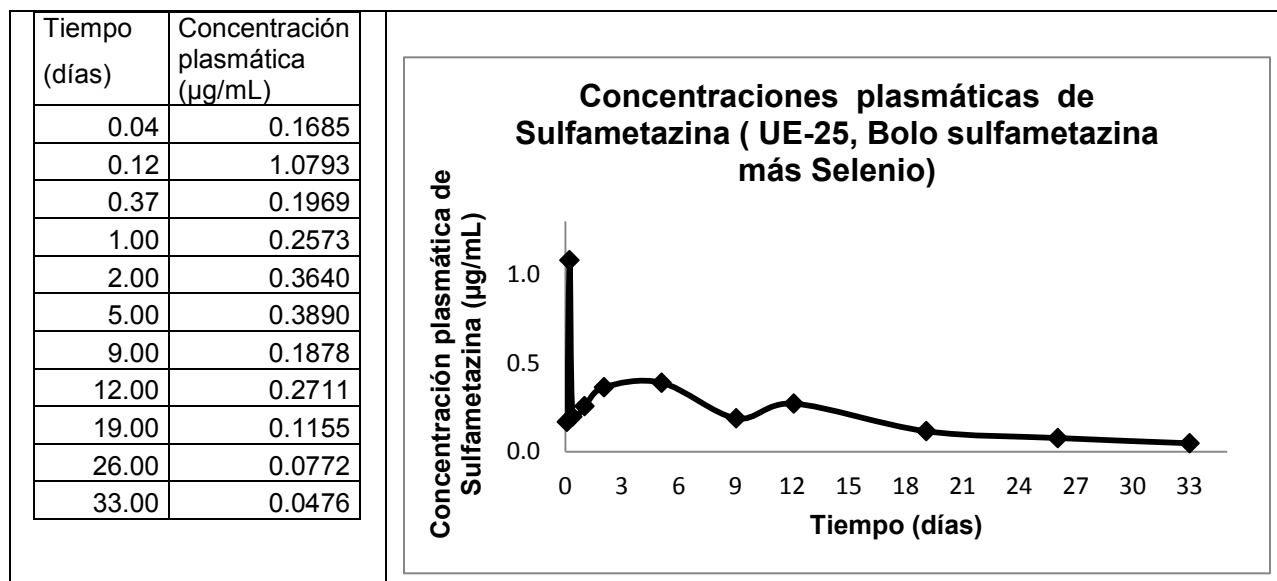


Figura 34. Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos.

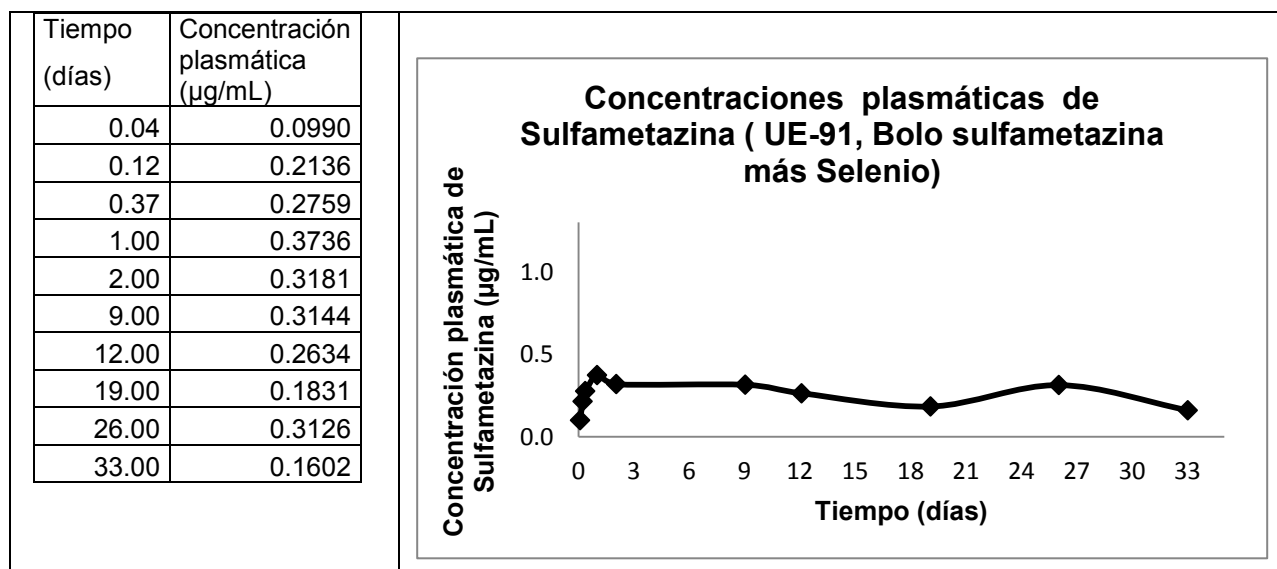


Figura 35. Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos.

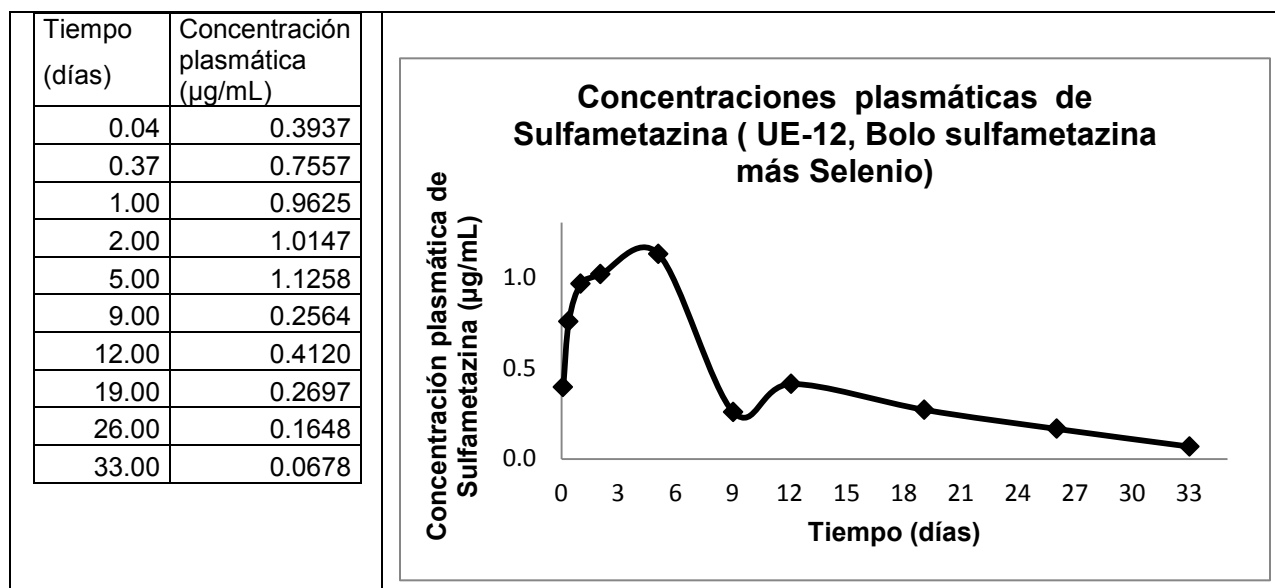


Figura 36. Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos.

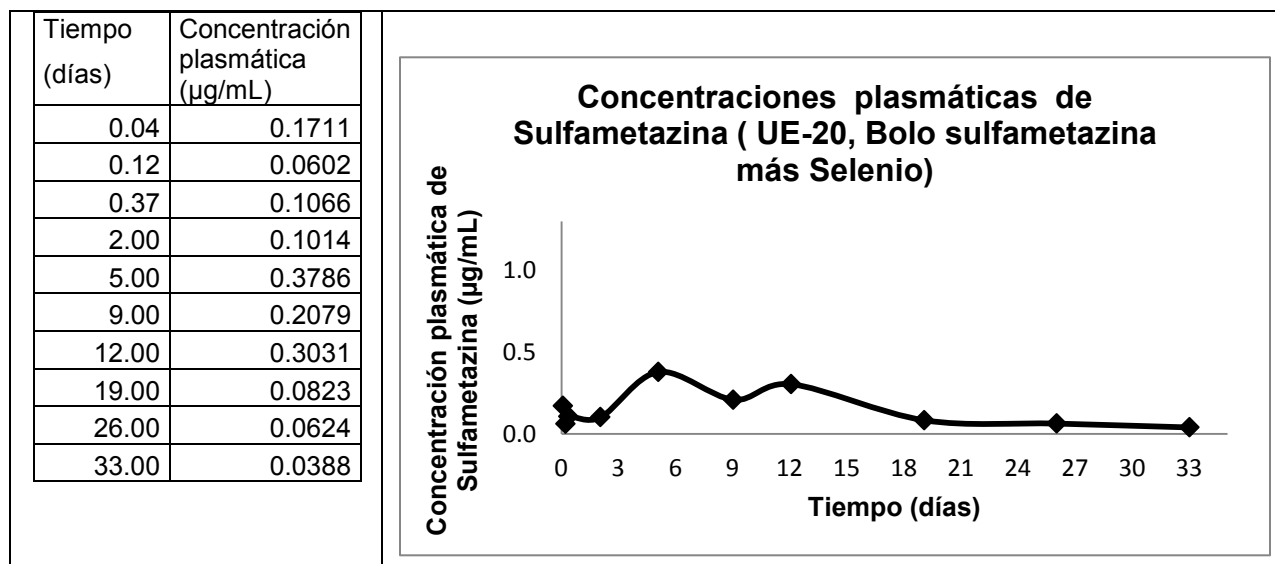


Figura 37. Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos.

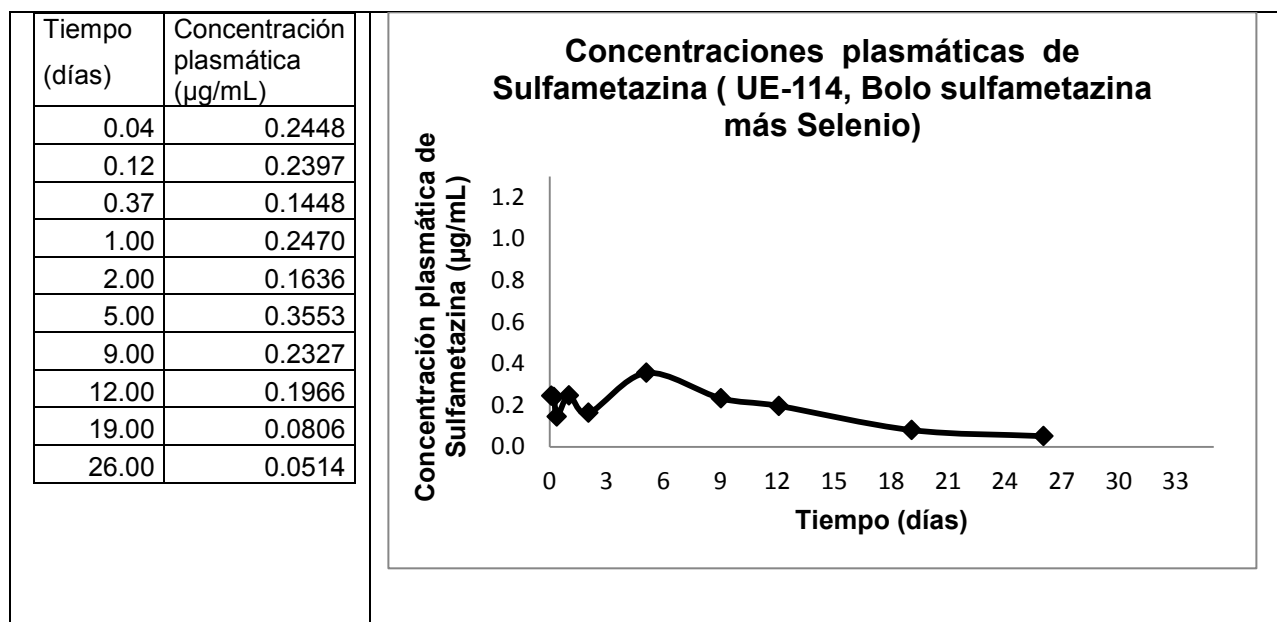


Figura 38. Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos

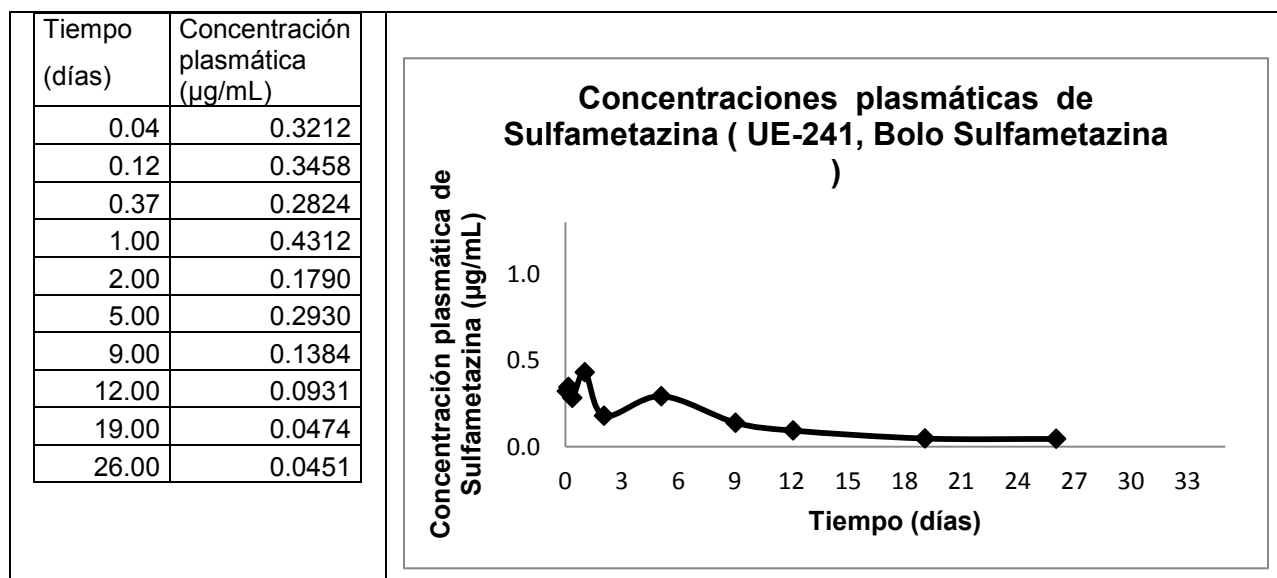


Figura 39. Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos.

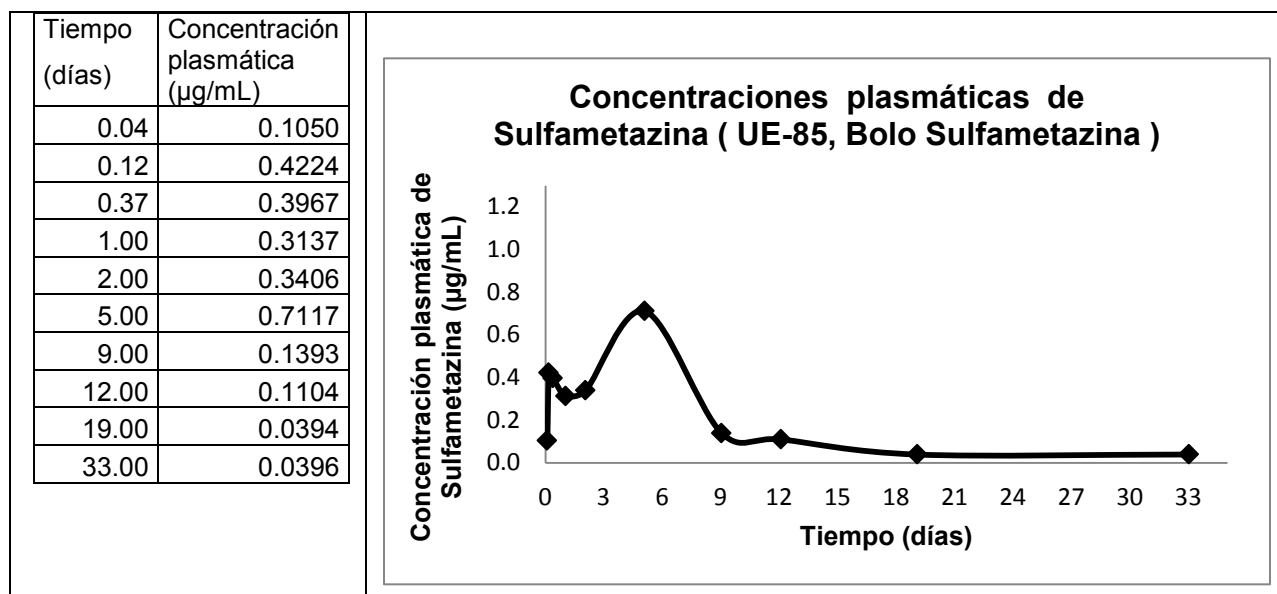


Figura 40. Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos.

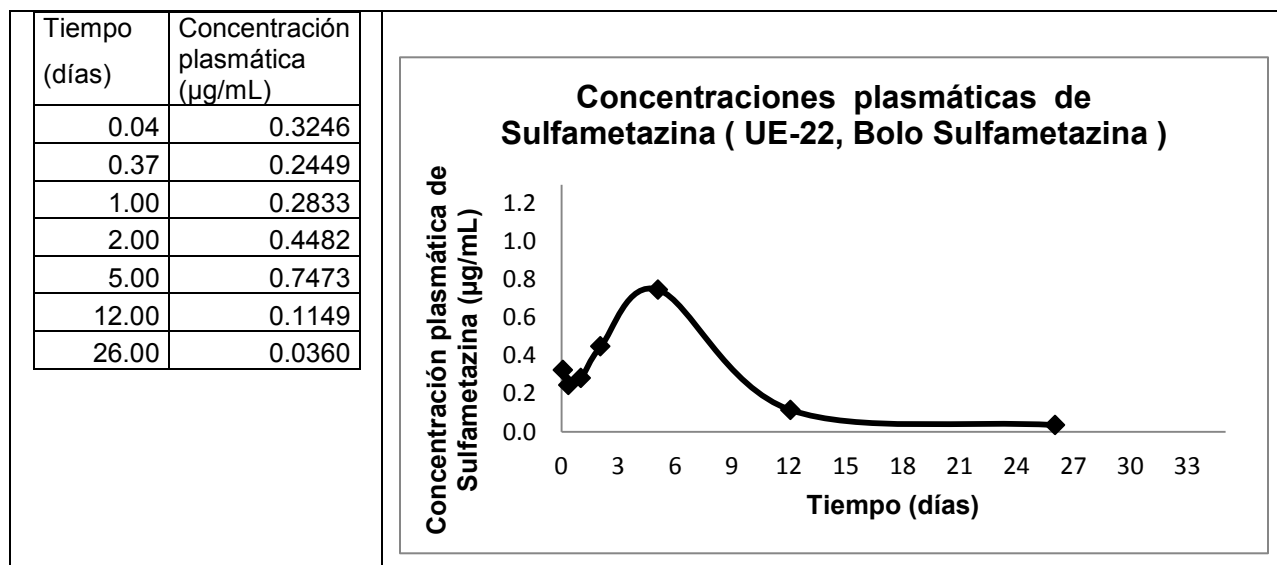


Figura 41. Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos.

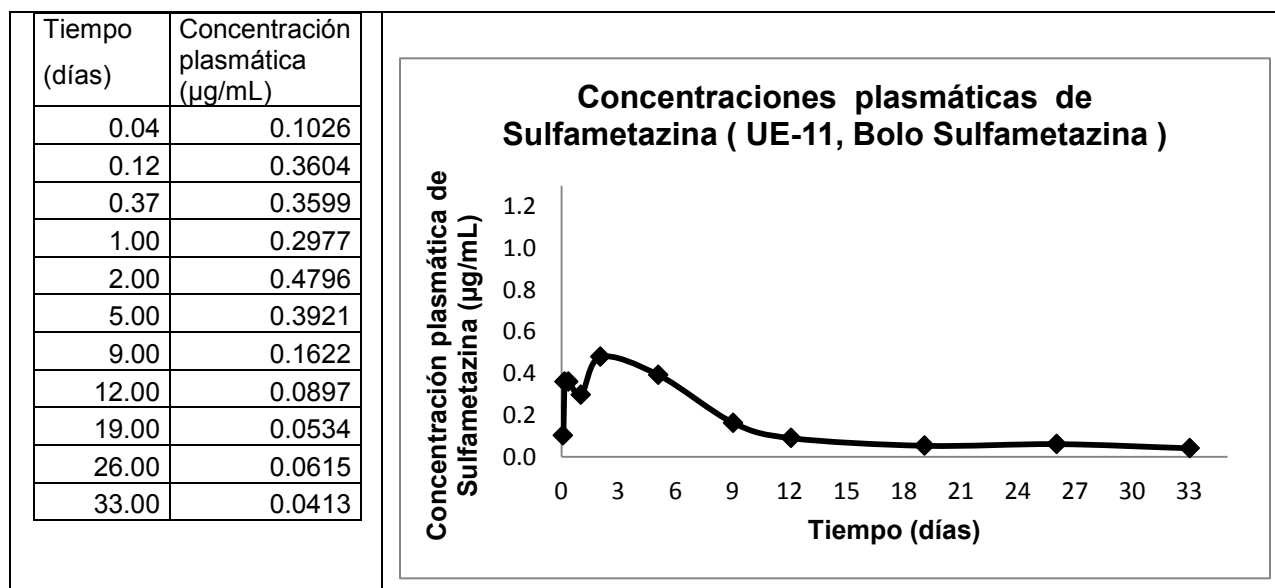


Figura 42. Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos.

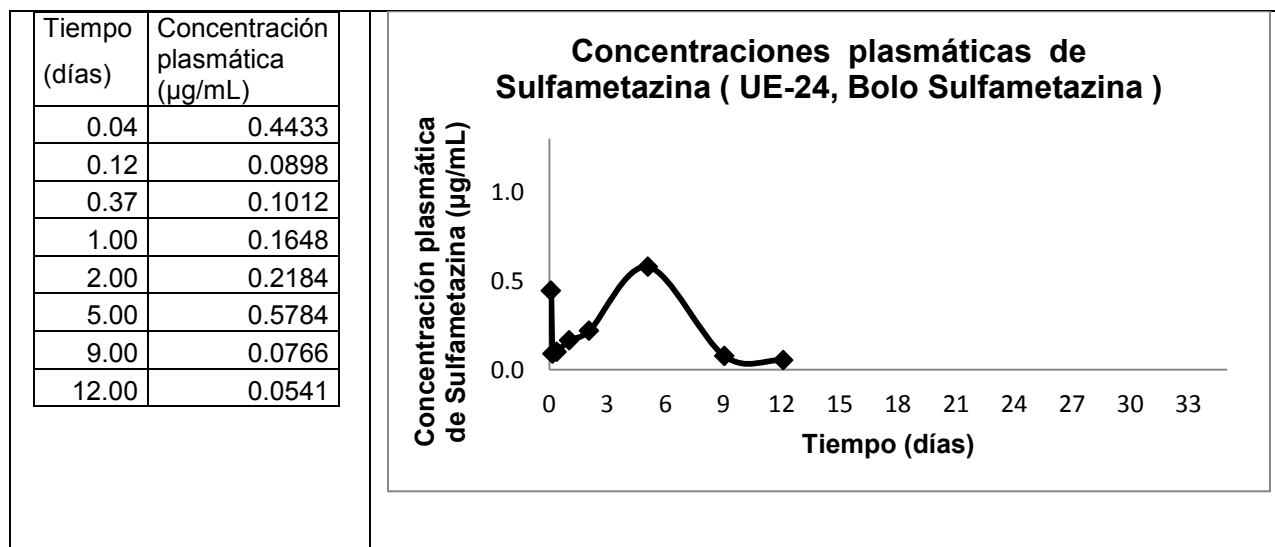


Figura 43. Representación de la disposición plasmática individual de sulfametazina administrada por vía oral en cabritos.