

TESIS

FARMACOCINETICA DE CEFOPERAZONA

EN EQUINOS

Por

ALEJANDRO L. SORACI

Director

JORGE O. ERRECALDE

1991

NOMINA DE AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
=====

PRESIDENTE : Dr. Angel Plastino

VICEPRESIDENTE: Lic. Angel Pablo Tello

SECRETARIO GENERAL Ing. Carlos Marcelo Rastelli

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS : Prof. Ural Amor Perez

SECRETARIO DE ASUNTOS JURIDICO LEGALES: Dra. Teresa Bengardini

SECRETARIO DE ASUNTOS ECONOMICO FINANCIEROS : Cr. Aldo H. Rossi

SECRETARIO DE EXT. CULTURAL Y DIFUSION : Dr. Marcelo Seghini

GUARDASELLOS : Ing. Andres Ringuelet

PROSECRETARIO GENERAL : Cra. Mercedes Molteni

SECRETARIO DE CIENCIA Y TECNICA : Dr. Osvaldo E. Ferrer

DIRECTOR DEL GABINETE DE ASESORES DEL PRESIDENTE :
Lic. Jorge Pouchou

DIRECTORA DEL H. CONSEJO SUPERIOR: Cecilia Galan

SECRETARIO DE COORDINACION INSTITUCIONAL DE LA PRESIDENCIA:
Lic. Julio C. Barandiaran

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
=====

DECANO : Méd. Vet. Alberto Ricardo Dibbern

VICEDECANO : Méd. Vet. Eduardo Rafael Pons

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS : Méd. Vet. Rogelio Bruniard

SECRETARIO DE EXTENSION UNIVERSITARIA : Bact. Sandra Arauz

SECRETARIO DE SUPERVISION ADMINISTRATIVA : Cr. Edgardo Silvera

SECRETARIA ADMINISTRATIVA : Nelly Mabel Erdmann

CARRERA DE CIENCIAS VETERINARIAS
=====

CATEDRAS

PROFESORES

Primer Año

Anatomía Descriptiva y T.
Histología y Embriología
Introducción a la Bioquímica
Introducción a la Biofísica

Dra. Cristina Alonso
Dr. Felix Moreno
Dr. Angel Catalá
Dr. Jesus Carroza

Segundo Año

Anatomía Comparada
Patología General
Fisiología
Microbiología
Genética y Biometría

Dra. Cristina Alonso
Dr. Alcides Martín
Dr. Eduardo Zaccardi
Dr. Juan Martino
Ing. Fernando Doulout

Tercer Año

Anatomía y Fisiología Patológica
Semiología y Propedeutica
Farmacología, Farmacotecnia y
Terapéutica
Medicina Operatoria
Parasitología y Enf. Parasitarias
Zootecnia Gral. y Agrostología

Dr. Alcides Martín
Dr. Jorge Andreatta

Dr. Jorge O. Errecalde
Dr. Pablo Videla
Dra. Lucila Venturini
Dra. Liliana Lagreca

Cuarto Año

Zootecnia Especial I parte (o,s,c)	Dr. Eduardo Marotta
Zootecnia Especial II parte (b,e)	Dr. Benjamín Rodríguez
Zootecnia Especial III parte (a,p)	Dr. Rodolfo Ferotti
Economía Agraria	Dr. Erico Panzoni
Enfermedades Infecciosas	Dr. Carlos Amasino
Patología Médica	Dr. Fortunato Iseas
Patología Quirúrgica y P.	Dr. Francisco Boc

Quinto Año

Tecnología y Sanidad de los Alimentos	Dr. Jorge Lasta
Higiene, Epidemiología y Salud Pública	Dr. Emilio Gimeno
Inmunología General y Aplicada	Dr. Enrique Pennipede
Reproducción Animal	Dr. Saúl Roldán
Clínica de Pequeños Animales	Dra. Lydia Fracca
Clínica de Grandes Animales	Med. Vet. Juan Renner

A mi Esposa e Hija

INDICE

1. CEFALOSPORINAS Y CEFOPERAZONA: generalidades.....	Pág.	1
1.1 Clasificación.....	Pág.	1
1.2 Características de la droga en estudio.....	Pág.	3
1.3 Mecanismo de acción.....	Pág.	5
1.4 Espectro antimicrobiano.....	Pág.	7
1.5 Estudio de sensibilidad.....	Pág.	9
1.6 Resistencia.....	Pág.	10
1.7 Interacciones.....	Pág.	11
1.8 Toxicidad.....	Pág.	12
1.9 Farmacocinética.....	Pág.	14
1.9.1 Absorción.....	Pág.	14
1.9.2 Unión a proteínas.....	Pág.	16
1.9.3 Distribución.....	Pág.	16
1.9.4 Metabolismo.....	Pág.	17
1.9.5 Excreción.....	Pág.	17
1.10 Indicaciones clínicas.....	Pág.	18
1.11 Seguridad y tolerancia.....	Pág.	20
2. ANATOMO-FISIOLOGIA DE LA ARTICULACION DEL CARPO.....	Pág.	21
2.1 Anatomía del carpo.....	Pág.	21
2.2 Características fisiológicas del líquido sinovial.....	Pág.	25
2.3 Paso del antibióticos al líquido sinovial.....	Pág.	27
3. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DEL HUESO.....	Pág.	32
3.1 Estructura.....	Pág.	32

3.2 Histología.....	Pág.	35
4. FUNDAMENTOS DEL METODO MICROBIOLOGICO PARA DETERMINAR CONCENTRACIONES DE ANTIMICROBIANO.....	Pág.	35
4.1 Introducción.....	Pág.	36
4.2 Medios de cultivo.....	Pág.	36
4.2.1 Agar y agentes gelificantes.....	Pág.	36
4.3 Crecimiento bacteriano en el medio de cultivo.....	Pág.	38
4.4 Método biológico para la determinación de concentraciones de antibiótico en muestras biológicas.....	Pág.	39
4.4.1 Selección del medio de cultivo.....	Pág.	39
4.4.2 Estandarización del inóculo.....	Pág.	39
4.4.3 Ensayo de los agentes antimicrobianos.....	Pág.	40
4.4.4 Difusión del antibiótico en el medio de cultivo.....	Pág.	41
4.4.5 Formación de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano.....	Pág.	41
4.4.5.1 Factores que influyen en la formación de los halos de inhibición.....	Pág.	42
5. FUNDAMENTOS DE FARMACOCINETICA.....	Pág.	44
5.1 Definición.....	Pág.	44
5.2 Análisis compartimental.....	Pág.	44
5.2.1 Modelos monocompartmentales.....	Pág.	45
5.2.2 Modelos bicompartimentales.....	Pág.	46
5.2.3 Discriminación de modelos farmacocinéticos.....	Pág.	48
5.3 Cálculos de parámetros farmacocinéticos.....	Pág.	50
5.3.1 Constantes reales de distribución.....	Pág.	54
5.3.2 Vida media.....	Pág.	55

5.3.2.1 Factores que influyen en la vida media de un fármaco.....	Pág.	55
5.3.3 Volumen aparente de distribución.....	Pág.	56
5.3.4 Aclarado corporal.....	Pág.	59
5.3.5 Biodisponibilidad biológica.....	Pág.	60
5.3.5.1 Factores que influyen en la biodisponibilidad.....	Pág.	61
 6. MATERIALES Y METODOS.....	Pág.	64
6.1 Muestreo sanguíneo posterior a la administración de cefoperazona por las vías intravenosa (IV) e intramuscular (IM) en equinos....	Pág.	64
6.1.1 Materiales.....	Pág.	64
6.1.2 Métodos.....	Pág.	64
6.1.2.1 Manejo de los animales previamente al estudio...	Pág.	64
6.1.2.2 Muestreo.....	Pág.	65
6.2 Muestreo de líquido sinovial posteriormente a la administración de cefoperazona por las vías intravenosa (IV) e intramuscular (IM) en equinos...	Pág.	65
6.2.1 Materiales.....	Pág.	65
6.2.2 Métodos.....	Pág.	66
6.2.2.1 Manejo de los animales previamente al estudio...	Pág.	66
6.2.2.2 Muestreo.....	Pág.	66
6.3 Muestreo de orina posteriormente a la administración de cefoperazona por las vías intravenosa (IV) e intramuscular (IM) en equinos...	Pág.	66
6.3.1 Materiales.....	Pág.	69
6.3.2 Métodos.....	Pág.	69
6.3.2.1 Manejo de los animales previamente al inicio de la prueba.....	Pág.	69
6.3.2.2 Muestreo.....	Pág.	69

6.4 Muestreo de esponja ósea luego de la administración intramuscular (IM) de cefoperazona en equinos.....	Pág.	70
6.4.1 Materiales.....	Pág.	70
6.4.2 Métodos.....	Pág.	70
6.4.2.1 Manejo de los animales previamente al estudio...	Pág.	71
6.4.2.2 Muestreo.....	Pág.	71
6.5 Diseño del plan terapéutico.....	Pág.	77
6.5.1 Materiales.....	Pág.	77
6.5.2 Métodos.....	Pág.	77
6.5.2.1 Cálculo de dosis.....	Pág.	77
6.5.3 Corroboración práctica.....	Pág.	78
6.6 Tratamiento de las muestras de suero, orina y esponja ósea previamente al dosaje de cefoperazona por método microbiológico.....	Pág.	79
6.6.1 Suero.....	Pág.	80
6.6.2 Orina.....	Pág.	80
6.6.3 Esponja ósea.....	Pág.	81
6.7 Determinación de cefoperazona en las muestras obtenidas.....	Pág.	81
6.7.1 Puesta a punto del método microbiológico.....	Pág.	81
6.7.1.1 Materiales.....	Pág.	82
6.7.2 Métodos.....	Pág.	82
6.7.2.1 Preparación del inóculo.....	Pág.	82
6.7.2.2 Preparación de las soluciones patrones.....	Pág.	83
6.7.2.3 Preparación de las placas.....	Pág.	83
6.7.2.4 Siembra.....	Pág.	84
7.RESULTADOS.....	Pág.	86

8. DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	Pág. 106
8.1 Estudio farmacocinético de cefoperazona luego de su administración intravenosa (IV) en equinos.....	Pág. 106
8.2 Estudio farmacocinético de cefoperazona luego de su administración intramuscular (IM) en equinos.....	Pág. 109
8.3 Estudio del comportamiento farmacocinético de cefoperazona en líquido sinovial luego de su administración intravenosa (IV) en equinos.....	Pág. 111
8.4 Estudio del comportamiento farmacocinético de cefoperazona en orina luego de su administración intravenosa (IV) en equinos.....	Pág. 113
8.5 Estudio del comportamiento farmacocinético de cefoperazona en esponja ósea luego de su administración intramuscular (IM) en equinos.....	Pág. 114
8.6 Estudio del comportamiento farmacocinético de cefoperazona en líquido sinovial luego de su administración intramuscular (IM) en equinos.....	Pág. 115
8.7 Estudio del comportamiento farmacocinético de cefoperazona en orina luego de su administración intramuscular (IM) en equinos.....	Pág. 116
8.8 Plan terapéutico para la vía (IM).....	Pág. 117
8.8.1 Corroboración práctica.....	Pág. 117
9. CONCLUSIONES GENERALES.....	Pág. 119
10. RESUMEN.....	Pág. 122
11. SUMMARY.....	Pág. 126
12. BIBLIOGRAFIA.....	Pág. 130
13. AGRADECIMIENTOS.....	Pág. 145

1. CEFALOSPORINAS Y CEFOPERAZONA: Generalidades

En el año 1948 Brotzu aisló e identificó el hongo *Cephalosporidium acremonium* (Garrod, 1981), que crecía en el mar, cerca de la desembocadura del alcantarillado de la costa de Cerdeña. La relación con la alcantarilla y Cerdeña, en la que es común la fiebre tifoidea, le sugirieron que el hongo podría elaborar un antibiótico (ATB) activo contra el bacilo de la tifoidea. En consecuencia, envió una muestra a Florey en Oxford en donde Abraham y Newton descubrieron que el compuesto contenía 3 ATB diferentes. Uno de ellos fue llamado cefalosporina N, otro cefalosporina P, activa solo contra microorganismos Gram(+) y el tercero se denominó cefalosporina C. Una propiedad importante de esta última cefalosporina era que poseía utilidad contra bacterias productoras de penicilinasas. (Turck, 1982).

Abraham y Newton aislaron con éxito el núcleo heterocíclico de la cefalosporina C que denominaron ácido 7-aminocefalosporánico (7-ACA) y demostraron que era posible elaborar nuevos ATB semisintéticos, las cefalosporinas (Garrod y cols 1981).

1.1 Clasificación

El grado de desarrollo de las cefalosporinas en estas últimas décadas llevó a clasificarlas en generaciones, en las cuales se tiene en cuenta el predominio de su actividad contra bacterias Gram(-) (Turck, 1982). A continuación se transcribe una

clasificación que incluye a todas las cefalosporinas usadas en terapéutica hasta la actualidad.

Primera generación

Cefalexina (oral)
cefalotina
cefazolina
cefapirina
cefaloridina
ceforanida

Segunda generación

Cefanona	Cefotaxime
Ceforanide	Ceftizoxime
Cefonicid	Cefuroxime
Cefamandol	Cefmenoxime

Tercera generación

Cefoperazona	Ceftriaxone
Cefpimizole	Ceftazidime

Cuarta generación

Cefmetazole

Cefazaflur

Moxalactam

Sin clasificar

Cefrotil (HR 580)

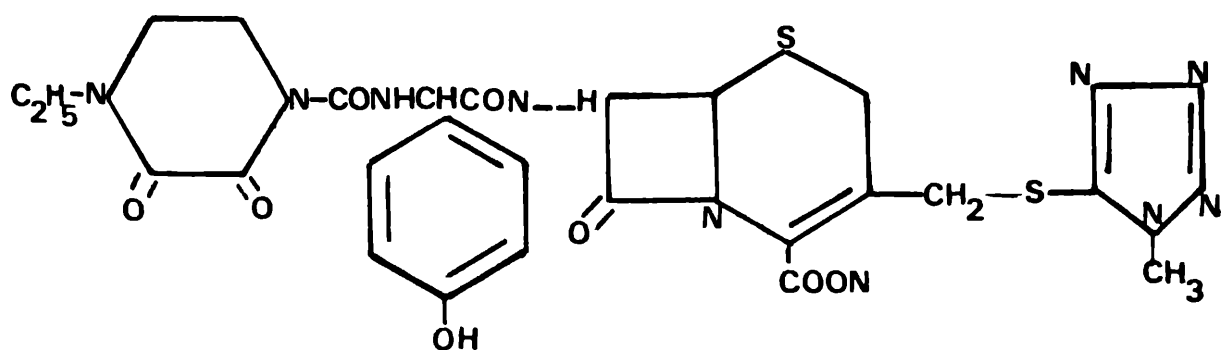
(Wielliams, 1987; Bergam, 1987)

Las cefalosporinas de primera generación son activas sobre Gram(+), y en menor grado sobre Gram (-), las de segunda generación sobre gram(-) y Gram(+). Las de tercera generación son activas sobre Gram(-), pero menos activas sobre Gram(+) que las de primera generación, mientras que las de cuarta generación tienen un importante espectro sobre Gram(-) y Gram (+). (Bergam, 1987)

1.2 Característica de la droga en estudio

La cefoperazona, es una cefalosporina de tercera generación semisintética (Neu, 1980), caracterizada por presentar un amplio espectro antimicrobiano tanto in vivo como in vitro (Mitsubishi, 1980) con una gran distribución tisular, lo que la hace de elección frente a otras del grupo.

Químicamente la cefoperazona es (6R,7R)-7[(R)-2-(4-
 etil-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxomido)-2-(p-hidroxifenil)
 acetamido)]3[[1-metil-1H-tetrazol-5-il)tio]metil]-8-oxo-5-tia-1-
 azabicyclo [4.2.0] octo-2-ene-2-carboxilato de sodio, lo que
 responde :



Peso molecular: 667,5

Aspecto: Polvo cristalino

Solubilidad: Fácilmente soluble en agua, difícilmente soluble en
 etanol e insoluble en etiléter, acetona, cloroformo y
 n-hexano

pH: 4.5 - 6.5 (solución al 25 W/V)

Actividad: Un gramo de cefoperazona es igual a 0.967 g de
 cefoperazona libre de ácido.

pka: 2.25 (molécula carboxilada)

Contenido de sodio: 34 mg/g (1.5 mEq)

Nombre del producto: CEFOBID

Nombre genérico: cefoperazona

Categoría: cefalosporina de tercera generación

1.3 Mecanismo de acción

Esta actualmente aceptado que las cefalosporinas tienen el mismo mecanismo de acción que las penicilinas (Busch, 1967; Gale, 1963; Garrod, 1981), actuando sobre la pared que está en crecimiento (Gale, 1963). La síntesis de la mureína o péptidoglicano que forma la pared se realiza en varias etapas:

I Transformación del aminoácido (AA) natural L-alanina en D-alanina por la enzima racemasa y posterior unión de dicho AA a otros para formar el pentapéptido del nucleótido de Park. Este último se sintetiza por la unión del citado péptido con la N-acetilglucosamina a través de ácido láctico por la enzima piruviltransferasa con el ácido uridinadifosfato.

II Unión del péptido de ácido N-acetilmurámico con la N-acetilglucosamina, ambas unidas a uridinadifosfato, que se desprende luego dando así una cadena de péptidoglicano. Todos estos procesos ocurren en el citoplasma (Bowman, 1980).

III A nivel de la membrana celular se encuentra el lípido transportador, que lleva los "ladrillos" de péptidoglicano lineal desde el citoplasma hasta fuera de la membrana hacia el sitio de formación de la pared. La uridinadifosfato se desprende cuando el péptidoglicano se une al transportador (Garrod, 1981), cada "ladrillo" es abandonado por el lípido transportador para ir en busca de otra molécula (Fig.1). A través de la unión de las cadenas lineales de péptidoglicano se forman polímeros,

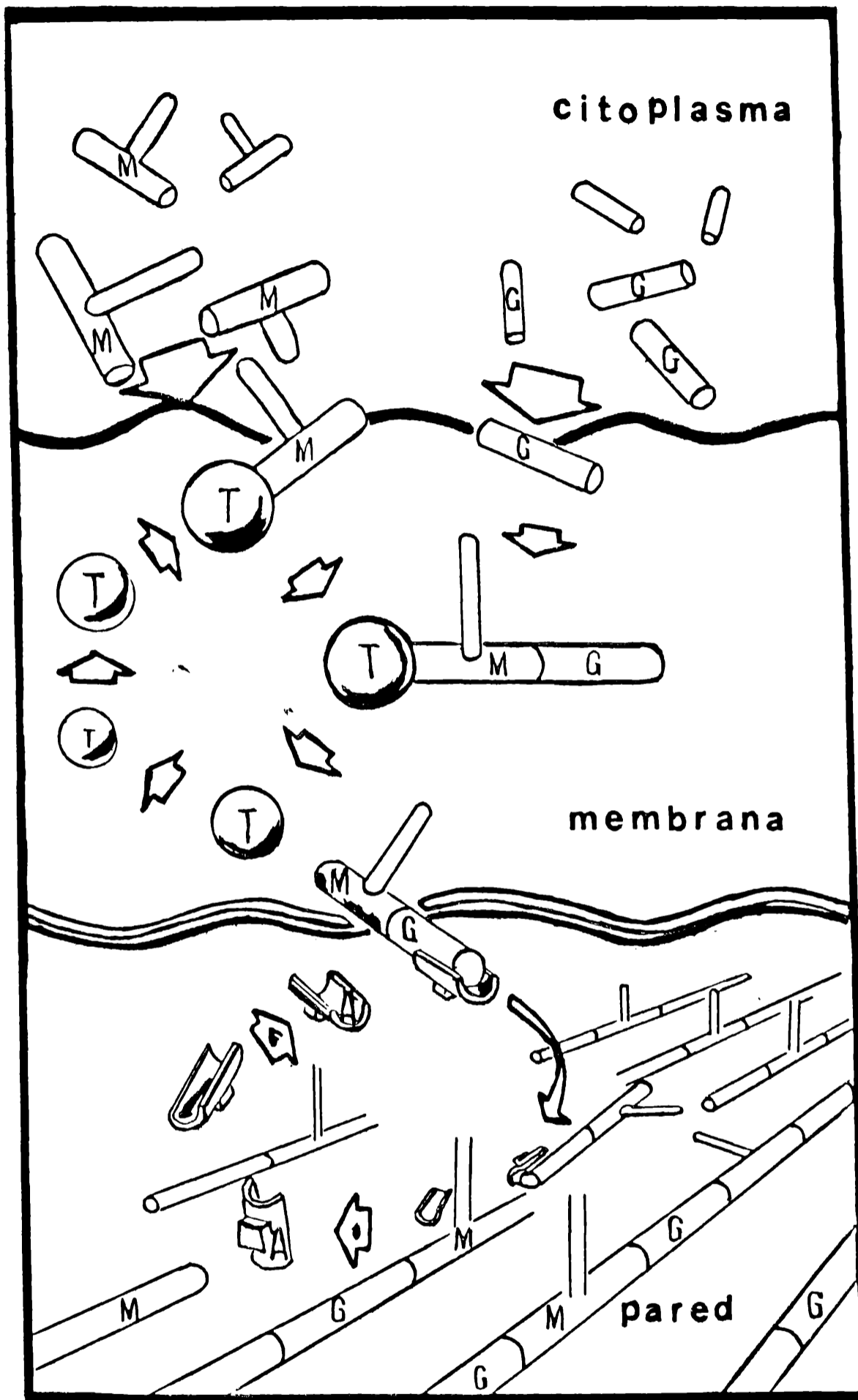


Figura 1: Esquematización de la formación de la pared bacterina
 M : N-acetilmurámico; G: N-acetilglucosamina; T: Lípido transportador; A: Aceptor (une M con G).

realizándose dicha unión por un proceso de transpeptidación en la cual participa la enzima transpeptidasa, con la pérdida de d-alanina, para dar lugar a enlaces peptídicos cruzados a través de puentes de pentaglicina. El resultado es la formación de una malla de mucopéptidos mureína o péptidoglicano polímero, macromolécula responsable de la rigidez normal de la pared bacteriana.

Las cefalosporinas inhiben selectivamente a la enzima transpeptidasa que como se ha dicho es la responsable del último paso de la síntesis de la pared. Debido al defecto de la pared celular la bacteria pierde rigidez y se vuelve osmóticamente muy sensible, en consecuencia puede penetrar líquido al interior de la célula bacteriana hasta que esta estalla (Gondoni, 1985) (Fig.2)

1.4 Espectro antibacteriano

La cefoperazona posee un amplio espectro antibacteriano. Su actividad "in vitro" es superior a la de otras cefalosporinas, derivados penicilínicos de espectro extendido y aminoglucósidos (Gibbs, 1987).

Su espectro comprende microorganismos habitualmente sensibles a las cefalosporinas clásicas, como así también *Proteus*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens* (Mitsuhashi, 1980).

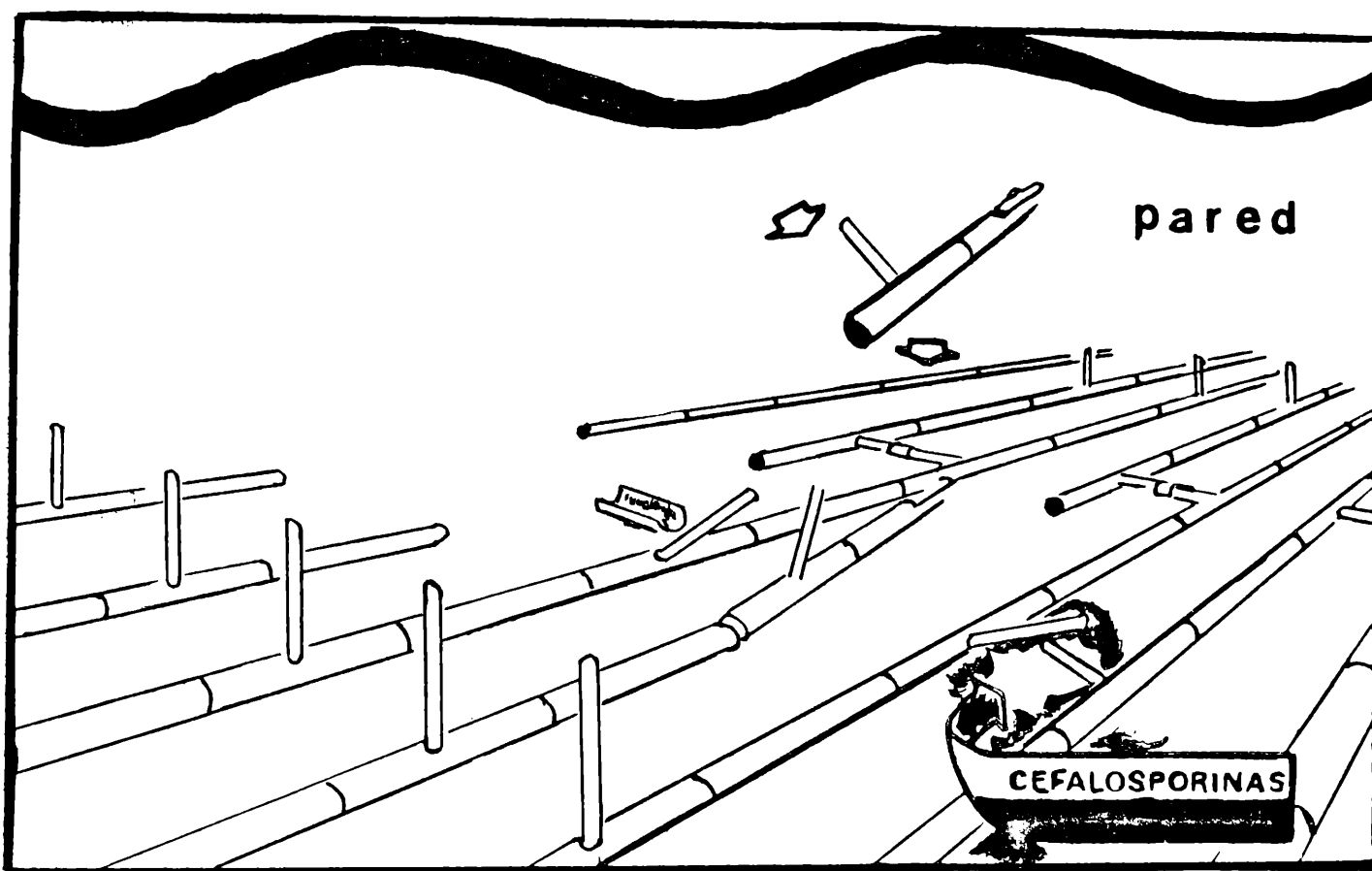


Figura 2: Esquematización del mecanismo de lisis de los puentes de pentaglicina por acción de las cefalosporinas.

La cefoperazona ha demostrado ser resistente a la degradación por acción de diversos tipos de beta lactamasas de bacilos Gram (-). Se ha demostrado que es entre 100 y 1000 veces más estable que la cefaloridina a la acción de las cefalosporinasas producidas por *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* y *Morganella morganii* (Mitshuhashi, 1980). También resultó ser más estable que la cefaloridina y 10 veces más estable que la penicilina G frente a penicilinasas plasmídicas y cromosómicas de distintos microorganismos.

Mitshuhashi y cols, determinaron la afinidad de la cefoperazona por las proteínas ligando de la penicilina (PBP), esta propiedad podría ser la responsable de la formación de largas bacterias filamentosas cuando se utilizan concentraciones subinhibitorias de antibiótico (ATB).

Las proteínas binding penicilinas (PBP) son constituyentes de la mureína cuando el microorganismo se está elongando antes de dividirse (Chabbert, 1980).

1.5 Estudio de sensibilidad

Utilizando técnicas de difusión de disco (método de Kirby, disco de cefoperazona 75 µg) o el método de dilución en agar, se puede medir la sensibilidad de los microorganismos al ATB. Los resultados se integran según los siguientes criterios:

Un microorganismo es considerado sensible cuando su crecimiento es inhibido por concentraciones de 16 µg/ml o menores. Es considerado moderadamente sensible cuando su crecimiento es inhibido por concentraciones de 17-63 µg/ml y considerado resistente cuando su crecimiento es inhibido por concentraciones de 64 µg/ml.

La concentración inhibitoria mínima para algunos microorganismos es presentada a continuación (Kayser, 1980)

	Concentración inhibitoria mínima (CIM µg/ml)
Escherichia coli	0.125-0.5
Staphylococcus aureus	1-4
Pseudomona aeruginosa	2-8
Bacteroides thetaiotromicon	16-32
Streptococcus fecalis	8-13

1.6 Resistencia

La inducción de la resistencia a sulfamidas, tetraciclinas, kanamicina, estreptomycin y cloranfenicol por transferencia de plásmidos, no alteró la sensibilidad del receptor de cefoperazona (Mitsubishi, 1980). No obstante se describió un leve aumento en la resistencia a cefoperazona cuando se transfirió resistencia a la penicilina a cepas de Escherichia coli (Yaginuma, 1973; Spratt, 1977).

Tanto *Staphylococcus aureus* como *Escherichia coli* permanecieron sensibles a cefoperazona después de 15 transferencias en un medio que contenía ATB (Chabbert, 1980), sin embargo, *Pseudomonas aeruginosa* desarrolló resistencia a cefoperazona y a carbenicilina durante las experiencias de transferencia (Kayser, 1980)

1.7 Interacciones

Las posibles interacciones entre cefalosporinas y otras drogas incluyen

1. Aminoglucósidos
2. Diuréticos
3. Probenecid
4. Antineoplásicos
5. Creatinina

La asociación de cefalosporinas y aminoglucósidos puede reducir el potencial nefrotóxico de éstos en los animales (Bloch, 1979), el mecanismo radica en que las cefalosporinas compiten por la reabsorción tubular de los aminoglucósidos (Norrby, 1987).

Barza (1978), propuso la posibilidad de que altas dosis de furosemida o ácido etacrínico incrementaran la nefrotoxicidad de la cefaloridina. El mecanismo propuesto sería una importante depleción de agua con aumento de la concentración

en el compartimiento central y en riñon (Norrby, 1987).

El probenecid interfiere con la excreción renal de muchas cefalosporinas puesto que ellas son excretadas por filtración y secreción renal (Welling, 1979; Buening, 1982)

Ueda y cols (1980), en estudios in vivo demostraron interacciones entre β lactámicos y drogas antineoplásicas existiendo antagonismo al combinarse con mitomicina, bleomicina, adriamicina.

Trabajos de investigación recientes, han determinado una interferencia entre los niveles de creatinina (parámetro de crucial importancia para determinar el grado de funcionamiento renal) y las cefalosporinas; esta interferencia lleva a establecer falsos incrementos en los niveles de creatinina en suero y por lo tanto a subdosificar el ATB (Nanji, 1987).

1.8 Toxicidad

-Reacciones alérgicas

Reacciones en piel, tales como urticaria, rash, exantema y prurito, son reportados con relativa frecuencia (1-3 % de los casos) durante el tratamiento con cefuroxime, ceftizoxime y moxalactam (Kannangara, 1982; Saito, 1980; Shimado, 1980 Saleh, 1974; Spruil, 1974; Ascher, 1986)

-Coagulopatias asociadas con hipoproteinemias

Cefamandol, cefotetan, moxalactam y cefoperazona, han sido reportadas como causantes de la prolongación del tiempo de protrombina (Clancy ,1983 ;Hooper , 1980; Joehl , 1983).

Los mecanismos propuestos son:

Disturbios de la síntesis de protrombina en el hígado o alteración de la flora fecal como consecuencia de una alta concentración de ATB en el intestino delgado, dando como resultado supresión de bacterias que intervienen en la síntesis de vitamina K, tales como *Escherichia coli* y bacteroides (Norrby, 1987)

-Nefrotoxicidad

Todas las cefalosporinas son potencialmente nefrotóxicas, pero sólo en altas dosis mantenidas durante un tiempo prolongado (Silverblat , 1987) Son capaces de provocar alteraciones de microvilli y vesiculaciones del citoplasma y mitocondrias en células del túbulo contorneado proximal (Silverblat , 1987 ; Norrby, 1987). La excepción serían, cefaloridina y cefaglicin que pueden ser nefrotóxicas a dosis terapéuticas. Tune y Fravet (1980) demostraron que la cefaloridina entraría a la célula por la parte superior del túbulo en forma contraluminal por difusión pasiva, pero no podría ser secretada al interior del túbulo por la membrana luminal (Alestig, 1984)

Burch y cols (1987) propusieron que el mecanismo de la nefrotoxicidad sería una inhibición renal de la gluconeogénesis. En condiciones normales el riñón aporta aproximadamente el 25 % de la glucosa hemática y el 50 % en estados patológicos, tales como diabetes mellitus (Kida, 1987). La cefaloridina altera competitivamente la entrada de sustratos para la gluconeogénesis en la célula tubular proximal, a la vez que inhibe enzimas mitocondriales (piruvato carboxilasa) y enzimas citoplasmáticas (fosfoenolpirúvico carboxiquinasa) (Burch ,1987; Gabriel, 1970)

Estudios toxicológicos sobre cefoperazona en ratas y perros muestran que con dosis de 50 mg/Kg/día durante 6 meses, se produjeron degeneraciones hialinas reversibles de las células epiteliales de los túbulos renales proximales.

Como en el caso de otras cefalosporinas, los cambios producidos experimentalmente en tejidos renales a través de la administración de cefoperazona fueron más severos en conejos que en otras especies.

1.9 Farmacocinética

1.9.1 Absorción.

En general los ATB β lactámicos se absorben muy poco al ser administrados por la vía oral, esto es debido a que se inactivan por el pH del estómago, tampoco son absorbidos significativamente cuando se los deposita en intestino a través

de un catéter (Bergam, 1987; Elks, 1987)

En una tentativa por lograr una mejor absorción se han desarrollado pro-drogas en las cuales el ATB es esterificado por la sustitución a nivel del grupo carboxi del C4 en el anillo dihidrotiazida, un ejemplo es el pivaloil, que se obtiene por esterificación de cefalexina, otro, el axetil cefuroxime que normalmente se absorbe entre 30-40 % por vía oral comparado con su congénere cefuroxime (Bergam, 1987; Williams, 1984) Ultimamente algunos trabajos de investigación han establecido que el intestino delgado puede transportar ATB β lactámicos con grupos amino en su cadena, como amoxicilina, ciclacilina, cefalexina, cefradina, cefradoxil, los cuales pueden ser transferidos por medio de un carrier dipéptido a través de la membrana intestinal (Tsuji, 1987; Sutter, 1980).

En general la vías de elección de las cefalosporinas son las parenterales, preferentemente endovenosa e intramuscular. También para estas vías se ha desarrollado prodrogas que son hidrolizadas rápidamente liberando el principio activo. Por ejemplo, a partir de nafate de cefamandol (formil éster de cefamandol) por hidrólisis (vida media 13 minutos) se obtiene cefamandol.

El inconveniente es el dolor en sitio de inoculación, lo cual puede disminuirse con el uso simultáneo de lidocaína (Bergam, 1987).

1.9.2 Unión a proteínas

Las cefalosporinas se unen a las albúminas en rangos que van entre 10 % para las cefalosporinas orales hasta 96-98 % para cefpiramida y cefonicid (Bergam, 1987). La fijación a las albúminas puede influir en la distribución y en el destino de estos fármacos dada su gran fijación, representando un pool de droga temporario de fácil disociación, lo que prolonga su vida media en sangre (Baggot, 1986, Decroix, 1988).

Si bien se ha descrito en humanos un binding para la cefoperazona de 90 % (Decroix, 1988), resultados obtenidos por Carli (1986) muestran sólo 44 % de binding en bovinos, lo que puede influenciar el volumen de distribución y la vida media de eliminación.

1.9.3 Distribución

La penetración en los diferentes sistemas biológicos está en relación en parte con la liposolubilidad de la droga. Las cefalosporinas presentan un pKa, que varía según el β lactámicos entre 2.5 y 5.2 (Barr, 1967), por lo tanto se encuentran ionizados a pH fisiológico (7.4), lo que repercute en una baja liposolubilidad y una pobre penetración en los tejidos. No obstante el pasaje a líquido intersticial es importante, como así también al fluido peritoneal, esputo y secreciones bronquiales (Finch, 1987; Matsuda, 1984; Tognoni, 1977)

Una significativa particularidad de las cefalosporinas de tercera generación es su penetración en el sistema nervioso central (Reed, 1983). Generalmente puede lograrse una elevada concentración de cefalosporinas en fluido cerebro espinal cuando existe inflamación meníngea debido a un incremento en la irrigación y a un elevado contenido de albúmina. Esto favorece a aquellos β lactámicos con elevado porcentaje de unión, tales como cefamandol, cefotaxime y moxalactam, representando un pool de droga en el sistema nervioso central (Bergam, 1987; Reed, 1983).

1.9.4 Metabolismo

Las cefalosporinas se metabolizan muy poco, sin embargo algunos β lactámicos (cefotaxime, cefotetan, cefapirina) son lábiles en solución acuosa, donde esterasas específicas hidrolizan el anillo de dihidrotiazina, actuando sobre los grupos acetoximetil disminuyendo su actividad bacteriana o produciendo lactonas inactivas (Bergam, 1987).

1.9.5 Excreción

Las principales formas de eliminación de las cefalosporinas son filtración y secreción tubular, lo que hace complicado utilizarlas en pacientes con diversos grados de falla renal, en estos casos por lo tanto, se deben establecer correcciones en las dosis, o en los intervalos de dosificación (Stoeckel, 1981; Brogard, 1984)

Existen un grupo de cefalosporinas (cefoperazona, ceforanida, ceftriaxone, moxalactam) donde el 80 % de su eliminación se realiza por excreción biliar, con la característica de no absorberse en el intestino y por lo tanto no formar parte de la circulación enterohepática. Esto origina una elevada concentración de droga en el lumen intestinal con influencia sobre la microflora normal pudiéndose manifestar clínicamente por diarreas (Bergam, 1987; Gentry, 1987).

1.10 Indicaciones clínicas

Las cefalosporinas son ampliamente utilizadas en medicina humana, mientras que en medicina veterinaria no han alcanzado tal popularidad, siendo tal vez un factor limitante su costo, como así también, el uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro o de asociaciones de antimicrobianos.

La cefoperazona ha sido utilizada en seres humanos en diferentes países tales como Canada, EEUU, Japón, Argentina, para el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio, infecciones en piel y tejidos blandos, infecciones ginecológicas e intraabdominales y otras sepsis. La eficacia clínica promedio para todas las infecciones fue del 93 %. El promedio de curación fue del 96 % en infecciones del tracto respiratorio, 95 % en infecciones de piel y tejidos blandos y el 88 % para las demás sepsis. La eficacia bacteriológica promedio fue del 91 % (Shibata,1980)

Las cefalosporinas y en especial cefoperazona se presentan como una importante opción en diferentes situaciones clínicas, las cuales pueden ser extendidas a la práctica equina, estando indicada en infecciones del tracto respiratorio inferior y superior, infecciones de heridas, infecciones ginecológicas, infecciones hepáticas, septicemias e infecciones del tracto urinario causadas por una variedad de patógenos aerobios y anaerobios

-Infecciones del tracto respiratorio

Cefoperazona esta indicada en el hombre para el tratamiento de neumonía, bronquitis, abscesos pulmonares causados por cepas sensibles al *Streptococcus Pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *streptococcus β hemolítico*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium sp*, *Pasteurella*, *Stafilococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiela*, *Proteus mirabilis* y variedad de enterobacter.

-Infecciones de heridas quirúrgicas y traumáticas

Cefoperazona esta indicada en infecciones de heridas causadas por *Staphylococcus aureus* (penicilinas + y -) *Streptococcus pyogenes* y *Pseudomonas aeruginosa* (Shibata, 1980; Gibbs, 1987)

-Infecciones ginecológicas (tales como enfermedades inflamatorias

pélvicas y endometritis)

Cefoperazona está indicada en infecciones causadas por *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis* cocos Gram (+) y anaerobios (Gibbs, 1987).

-Septicemias bacterianas

Cefoperazona ha demostrado eficacia en el tratamiento de sepsis causadas por cepas sensibles de *Streptococcus Pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella*.

-Infecciones del tracto urinario

Cefoperazona está indicada para el tratamiento de infecciones del tracto urinario causadas por *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, enterococo y *Proteus indol* positivos (Gibbs, 1987).

1.11 Seguridad y tolerancia

Se han realizado estudios para evaluar la seguridad y tolerancia de la cefoperazona en diversos modelos animales. En estos estudios, cefoperazona indujo menos alteraciones renales que la cefaloridina, fue semejante a cefazolin y algunos cambios mayores que la cefaloridina (Bergam, 1987).

En ratas y en perros los cambios renales observados

consistieron en degeneraciones hialinas reversibles de células epiteliales de los túbulos renales proximales. No se observaron lesiones renales macroscópicas cuando dichos animales recibieron 10 veces las dosis máximas habituales de 50 mg/Kg/día durante 6 meses (Norrby, 1987).

Se observó que la administración diaria de cefoperazona a ratas en dosis subcutánea de hasta 1000 mg/Kg antes y durante la preñez, y de 400 a 1000 mg/Kg intravenosos administrados a ratas, ratones y monos durante el período de organogénesis no causó alteraciones en la fertilidad, acción reproductora general, peso fetal, ni produjo malformaciones externas viscerales o esqueléticas (Norrby, 1987).

2. ANATOMO-FISIOLOGIA DE LA ARTICULACION DEL CARPO

2.1 Anatomía del carpo

Esta articulación, considerada en conjunto la articulación del carpo, llamada vulgarmente en los animales "articulación de la rodilla", consta de 3 articulaciones diferentes que son :

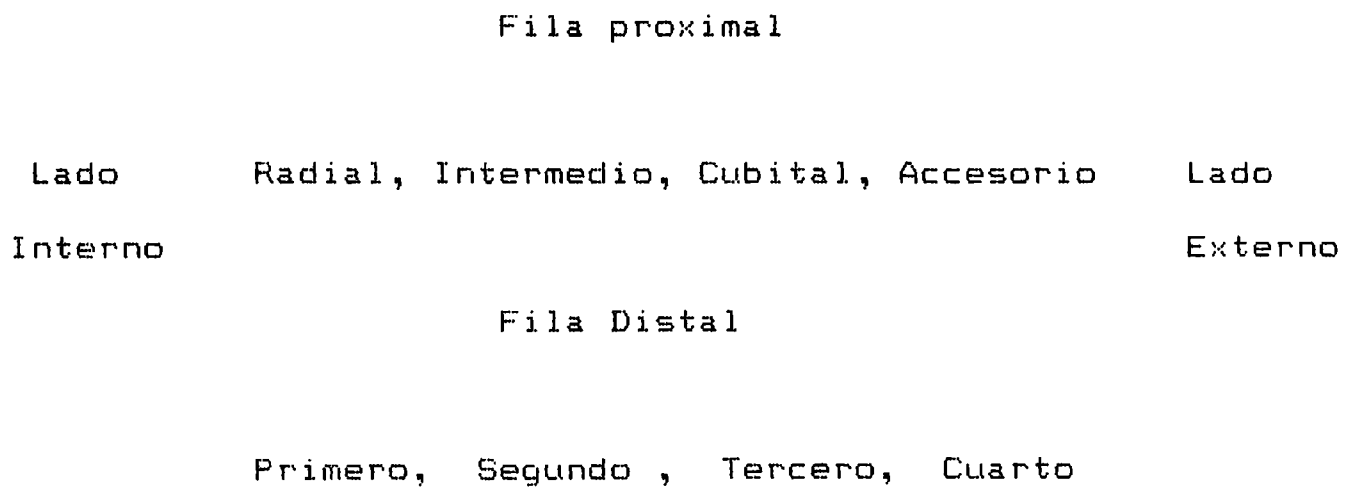
1. Articulación radiocarpiana formada por el extremo del radio y fila proximal del carpo.

2. Articulación intercapiana formada por las filas proximal y distal del carpo.

3. La articulación carpometacarpiana, formada por la fila distal del carpo y los extremos proximales de los metacarpianos (Fig 3) (Sisson, 1979).

Las articulación proximal y central pueden ser consideradas como gínglimos , todos éstos juntos constituyen una articulación compuesta y con numerosos ligamentos.

Los nombres y las posiciones relativas de los huesos del carpo (lado izquierdo) están indicadas en el siguiente esquema:



Cápsula articular

Se inserta cerca del borde de la cara articular cerca del radio por arriba y del metacarpo por abajo, posee 2 capas, una externa o estrato fibroso y otra interna o estrato sinovial. Entre ambas puede encontrarse una capa desplazable de tejido conectivo y adiposo de manera que el estrato sinovial puede desplazarse sobre la fibrosa (Van Pelt, (b) 1962).

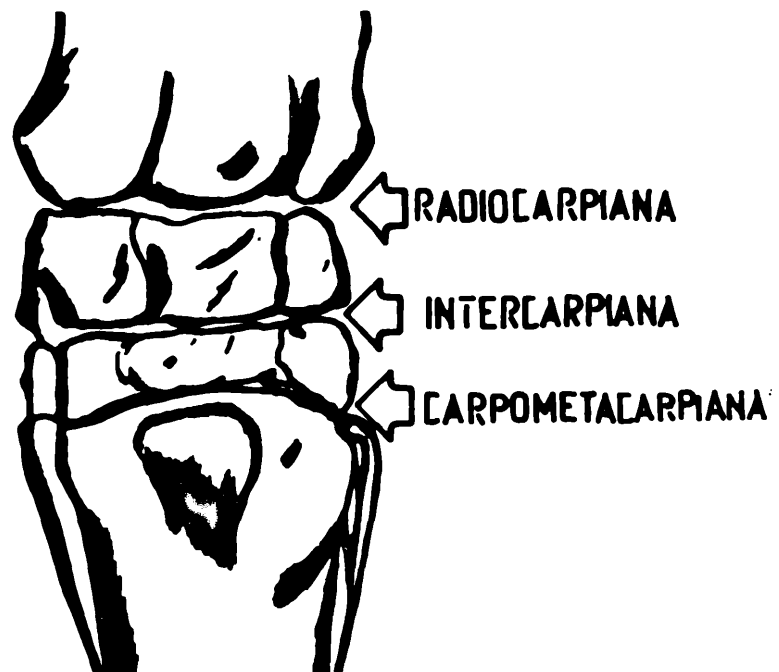


Figura 3: Vista anatómica del carpo (Miembro izquierdo, cara anterior)

El estrato fibroso aparece como continuación del periostio, es tenso y elástico. El estrato sinovial que reviste la cara interna de la cápsula articular presenta pliegues que desaparecen al dilatarse, tiene un color gris blanquecino, apareciendo una rica vascularización subsinovial con abundante tejido, nervios y corpúsculos de Paccini (Sisson, 1979).

El estrato sinovial comienza en el límite situado entre el cartílago articular y la cápsula. Los procesos metabólicos que mantienen la función articular los realiza la sinovia (Bocker, 1965).

La membrana sinovial forma 3 sacos que comprenden a las 3 articulaciones.

1. Saco radiocarpiano, formado por el hueso accesorio del carpo y huesos proximales del carpo.

2. Saco intercapiano, que envía prolongaciones hacia arriba y abajo entre los huesos de las 2 filas hasta alcanzar el ligamento interóseo entre el tercero y cuarto carpianos y comunica con el saco carpometacarpiano. Este último es de extensión muy limitada y está íntimamente aplicado contra el hueso, engloba la articulación carpometacarpiana y lubrica también las porciones inferiores de las articulaciones entre los huesos distales del carpo y las articulaciones intercarpianas. (Sisson, 1979)

Cartílago articular

Las superficies articulares de los huesos están recubiertas de cartílago hialino, los bordes articulares del cartílago se continúan con el estrato sinovial que recubre el hueso. La nutrición del tejido cartilaginoso que es avascular, se realiza por difusión desde el líquido sinovial. La distribución de sustancias en el cartílago no mineralizado se ve favorecida por la expresión (durante la carga) y toma de agua (durante la descarga) que se realiza durante el movimiento. Por eso, la nutrición del cartílago está dificultada en la inmovilización por falta de "masaje" y por edad avanzada, al disminuir la cantidad de líquido (Adams, 1982).

2.2 Características fisiológicas del líquido sinovial

El líquido sinovial es un dializado protéico del plasma sanguíneo, transparente, amarillo pálido y viscoso, cuya formación tiene lugar en la membrana interna de la cápsula articular conocida como membrana sinovial (Sisson, 1979).

La sinovia de la articulación del carpo en el caballo suele exhibir un contenido de leucocitos comprendido entre 50 y 100 células/mm³ (Backer, 1965). El pH es más alcalino que el plasma y oscila entre 7.7 y 8.3. El contenido protéico fluctúa entre 0.5 y 2.2 % (media 1.2 %), estas proteínas son removidas vía linfática. La mucina es otro componente importante del líquido sinovial que le da una viscosidad 3-7 veces mayor que el

agua. Probablemente se forme en las cercanías del tejido conectivo o por el cartílago. El ácido hialurónico segregado por las células sinoviales es el que le imparte su carácter lubricante (Van Pelt,(a) 1967; Hollander, 1961). La viscosidad es mayor durante los movimientos lentos y decrece a medida que aumenta la velocidad de estos, reduciendo la resistencia al movimiento y asegurando una adecuada lubricación. La falta de ésta puede ser comparable a andar un automóvil sin aceite (Van Pelt,(b) 1962; Persson, 1971).

El líquido sinovial no coagula a temperatura ambiente, pero ante una lesión, el fibrinógeno, normalmente ausente, ingresa al líquido sinovial impartiendo a éste la propiedad de coagular (Adams,1982 ;Persson, 1971 ;Dintefas,1963).

Las principales funciones del líquido sinovial se detallan seguidamente:

1. Capacidad constante de soportar una carga.
2. Lubricar o humectar superficies.
3. Buena conductibilidad del calor y elasticidad.
4. Capacidad para solidificar instantáneamente ante un impacto, lo cual impide su eliminación de entre las superficies articulares (Adams,1982 ;Persson,1971.; Hickman, 1964).

En trastornos articulares, existe un incremento progresivo en el porcentaje de fagocitos. Estos contienen un

fermento triptico en cantidades suficientes como para producir la destrucción del cartilago articular. Para prevenir dicha destrucción el cartilago articular presenta una sustancia antitriptica derivada del plasma. Cuando la concentración de leucocitos es importante se autolizan y liberan su fermento en cantidades que no pueden ser neutralizadas, con el resultado de la destrucción de la articulación. (Persson, 1971). Esto ocurre con 25000 células/mm³ de fluido sinovial (Adams, 1982).

2.3 Paso de antimicrobianos al líquido sinovial

No existen demasidos trabajos que determinen el paso de antibióticos al líquido sinovial en equinos, y los pocos reportes indican que pequeñas moléculas introducidas en la cavidad articular, como aminoglucósidos sulfonamidas y cloranfenicol son reabsorbidos rápidamente siendo sólo eficaces durante un tiempo relativamente escaso (Firth, 1980; Brow, 1986; Firth, 1988). También se ha reportado que la administración local de fármacos acídicos, tales como los antibióticos β lactámicos, puede provocar sinovitis (Firth, 1988). Considerando a lo expuesto anteriormente, en la actualidad es empírico el tratamiento local con antimicrobianos, indicándose la administración sistémica de los mismos (Firth, 1988). Por lo tanto es de crucial importancia conocer los factores que intervienen en los mecanismos de pasaje de fármacos a través de las membranas biológicas presentes en las articulaciones.

La mayoría de los fármacos son ácidos o bases débiles

que pueden estar en solución tanto en forma no ionizada como ionizada. Las moléculas no ionizadas suelen ser liposolubles y atraviesan fácilmente las membranas biológicas para alcanzar idénticas concentraciones a ambos lados de la misma. Las moléculas ionizadas ven virtualmente impedida su difusión a través de la membrana (Fig 4). El paso de un electrolito a través de una membrana biológica depende del pH del medio y de la constante de disociación del fármaco, lo cual es evidenciado en la ecuación de Henderson Hasselbalch (Baggot, 1986)

Para un ácido

$$pka: pH + \log \frac{[\text{no ionizado}]}{[\text{ionizado}]}$$

Para una base

$$pka': pH + \log \frac{[\text{ionizado}]}{[\text{no ionizado}]}$$

En estas ecuaciones, la constante de disociación tanto de ácidos como de bases viene expresada como pka, que es el logaritmo negativo de la constante de disociación de un ácido. Cuando son iguales los valores de pH y pka, el 50 % del fármaco está ionizado y el 50% está no ionizado. En el caso de un ácido, al elevar el pH de la solución aumenta el grado de ionización y al reducir el pH desciende el grado de ionización. El hecho inverso es cierto para las bases.

Como difusión es el mecanismo más importante para el

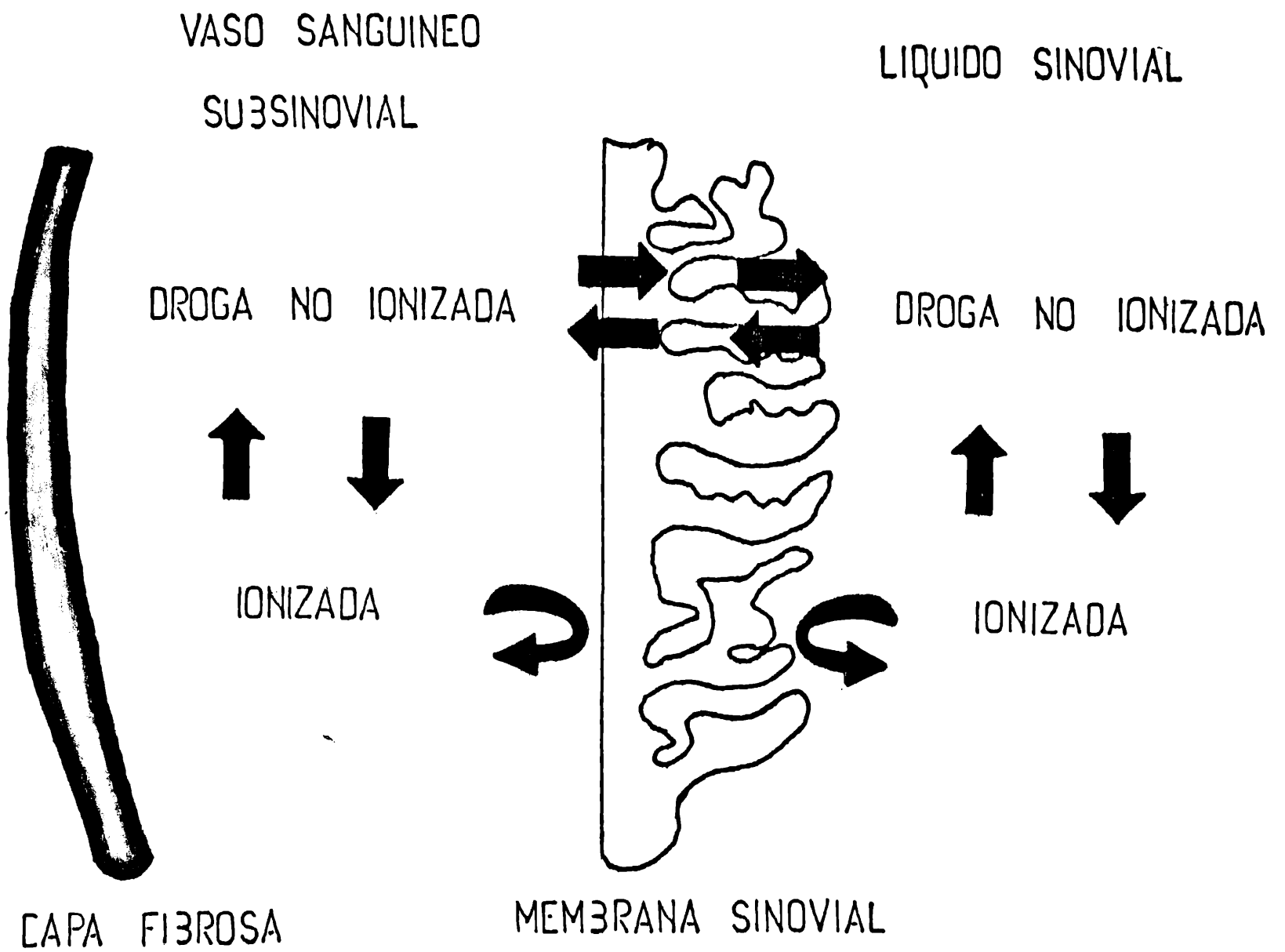


Figura 4: Representación esquemática del paso de antimicrobianos al líquido sinovial

pasaje de fármacos a través de las membranas biológicas, cabría esperar que no se produjere ningún movimiento posterior a través de la membrana, cuando las concentraciones de fármaco no ionizado e ionizado son idénticas a ambos lados de la misma. Sin embargo cuando existe un gradiente de pH a través de la membrana, se alcanzarán concentraciones desiguales (no ionizadas-ionizadas) del fármaco a cada lado ; en equilibrio, existirá mayor concentración total del fármaco en el lado de la membrana donde sea mayor el grado de ionización. Este mecanismo se conoce como captación iónica.

En nuestro caso, cefoperazona, droga ácida alcanzará concentraciones mayores en los fluidos más alcalinos. Mientras que los fármacos básicos tienden a concentrarse en fluidos más ácidos.

El cociente de concentraciones en equilibrio teórico (R_x/y) de un fármaco en los lados opuestos de una membrana biológica puede calcularse, sobre la base del grado de ionización del electrolito, según la ecuación de Jacobs (1940).

Para fármacos ácidos

$$R_x/y = \frac{(1 + \text{antilog } pH_x - pka)}{(1 + \text{antilog } pH_y - pka)} \quad (A)$$

Para fármacos básicos

$$R_x/y \frac{(1 + \text{antilog } pka - pH \ x)}{(1 + \text{antilog } pka - pH \ y)} \quad (B)$$

(Baggot, 1986)

Si consideramos que en nuestro caso se trata de un fármaco ácido, el cociente en estado de equilibrio teórico entre el plasma y líquido sinovial utilizando la expresión (A) y considerando:

- x: pH del líquido sinovial : 8
- y: pH del plasma 7.4
- pka: para cefoperazona: 2.55

será:

$$R_x/y \frac{(1 + \text{antilog } 8 - 2.55)}{(1 + \text{antilog } 7.4 - 2.55)}$$

$$R_x/y \frac{(1 + \text{antilog } 5.45)}{(1 + \text{antilog } 4.85)}$$

$$R_x/y \frac{(1 + 281838)}{(1 + 70795)}$$

$$R_x/y \frac{281839 \text{ moléculas en sinovia}}{70795 \text{ moléculas en plasma}}$$

Por lo tanto cefoperazona quedará atrapada en líquido sinovial en

una relación de 4:1 al ser administrada sistémicamente.

3. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DEL HUESO

3.1 Estructura

El hueso consta principalmente de tejido óseo, pero considerado como órgano, presenta además una membrana envolvente, denominada periostio, la medula ósea, los vasos y los nervios.

La arquitectura de los huesos puede estudiarse por medio de secciones longitudinales o transversales de ejemplares que hayan sido macerados a fin de quitarles la mayor parte de sustancia orgánica. Estas secciones muestran que el hueso consta de una vaina externa de sustancia compacta, densa, dentro de la cual se halla dispuesta una sustancia menos densa. En los huesos largos existe una zona hueca central que forma la cavidad medular (Sisson, 1979).

El espesor de la sustancia compacta difiere en las distintas partes del hueso según la diversidad e intensidad de los esfuerzos a que están sometidas. Se encuentran engrosamientos circunscriptos a los lugares sujetos a mayor presión o tracción. (Sisson, 1979).

Sustancia esponjosa

Está formada por finas laminillas óseas y espículas que se entrecruzan en distintas direcciones. Su disposición depende en último término de exigencias mecánicas, de modo que pueden reconocerse sistemas de compresión y de tracción dependientes respectivamente de las líneas de compresión y de las de tracción ejercidas por los tendones y ligamentos. Los espacios existentes entre las laminillas están ocupados por médula y se denominan espacios medulares. La sustancia esponjosa forma la masa de los huesos cortos y de las extremidades de los huesos largos (Adams, 1982).

Periostio

Es una membrana que reviste la superficie externa de los huesos, consta de una capa externa de tejido fibroso de protección y otra interna de células osteogénicas. Durante el crecimiento activo la capa osteogénica está bien desarrollada, pero después se reduce de modo extraordinario. La capa varía considerablemente de espesor, siendo en general más gruesa en los sitios más expuestos. La adherencia del periostio al hueso difiere en las distintas regiones, en general en los sitios cubiertos con abundante tejido muscular parece muy tenue y muy fácil de despegar. El grado de vascularización está en relación con la actividad del periostio (Sisson, 1979).

Endostio

Es una fina membrana fibrosa que limita la cavidad medular y canales de Havers más anchos (Sisson, 1979).

Médula

Ocupa los intersticios de los huesos esponjosos y la cavidad medular de los huesos largos. En los animales adultos hay 2 variedades de médula, roja y amarilla. En los animales jóvenes sólo hay médula roja, pero con el avance de la edad es reemplazada por médula amarilla.

La médula roja contiene varios tipos de células características, mientras la amarilla está constituida casi totalmente por tejido adiposo (Sisson, 1979).

Vasos y nervios

Se distinguen habitualmente 2 clases de arterias las periósticas y las medulares. Las primeras se ramifican en el periostio, emitiendo innumerables ramas muy finas que penetran en pequeños orificios (canales de Volkman) situados en la superficie y alcanzan los canales de Havers de la sustancia compacta. Otras ramas penetran en las extremidades, irrigando el tejido esponjoso y médula en el contenida.

Las venas del tejido óseo esponjoso no acompañan como regla general a las arterias sino que salen del hueso principalmente, en la proximidades de las superficies articulares.

Los nervios están generalmente distribuidos a lo largo de los vasos sanguíneos. Existen corpúsculos especializados llamados de Vater-Paccini localizados en el periostio y cuya función es participar como receptores de presión profunda (Sisson, 1979)

3.2 Histología

El hueso histológicamente, está constituido por fibras colágenas organizadas en laminillas de 3 a 7 μ de espesor que quedan paralelas unas a otras o se disponen en capas concéntricas en torno a canales con vasos, formando los sistemas de Havers. Entre las laminillas se forma con frecuencia acúmulos de glicoproteínas que reciben el nombre de sustancia cementante. Cada sistema de Havers está constituido por un cilindro largo, hueco, a veces bifurcado, paralelo a la diáfisis y formado por 4-20 laminillas óseas concéntricas. En el centro de este cilindro óseo existe un canal o conducto de Havers que contiene vasos, nervios y tejido conectivo laxo. Los conductos se comunican entre sí ,con la cavidad medular y con la superficie externa del hueso, por medio de canales transversales u oblicuos, los conductos de Volkman (Sisson,1979; Hickman 1964).

4. FUNDAMENTOS DEL METODO MICROBIOLOGICO PARA DETERMINAR CONCENTRACIONES DE ANTIMICROBIANOS

4.1 Introducción

Actualmente existen diversos métodos que permiten determinar las concentraciones de antimicrobianos presentes en una muestra biológica. Muchos de ellos son sumamente sofisticados, tales como cromatografía gaseosa, espectrometría de masa, cromatografía líquida de alta presión (HPLC) (Brisson, 1981). Otras menos complejas, pero no por ello menos sensibles, como la fluorometría o el método biológico (Ward, 1987).

La determinación microbiológica de antibióticos es un método simple, económico, que no necesita de aparatología sofisticada, con una sensibilidad comparable con otras metodologías altamente técnicas. Es por estas características que el método biológico sigue siendo muy utilizado (Ward, 1987).

Este método consiste en enfrentar concentraciones conocidas del antibiótico a determinar (concentraciones patrones), en un medio estandarizado con una cepa sensible al antimicrobiano. Con los halos de inhibición del crecimiento bacteriano, se traza una curva patrón, en la que se interpolan los halos de inhibición producidos al enfrentar una muestra de concentración desconocida, con el mismo cultivo. Las concentraciones de antibiótico presentes en la muestra serán obtenidas por extrapolación desde la curva patrón.

4.2 Medios de cultivos

4.2.1 Agar y agentes gelificantes

El agar es una sustancia de origen natural, obtenida de algas del género Rodophyceae. Químicamente es un polisacárido complejo, constituido por agarosa y agaropeptina (Kunin, 1968), que gelifica a temperatura menos de 30°C permaneciendo en forma de gel sólido, pero para pasar nuevamente al estado líquido debe ser llevado a 100 °C.

La calidad del agar puede verse influenciada por distintos factores, como el ambiente en el cual desarrolló, método de extracción del alga y por la constitución de la misma.

El agar contiene grupos ácidos y sulfatos en los polisacáridos (Hanus, 1967), los cuales son responsables de sus cargas negativas. A estas cargas negativas se une una gran variedad de cationes. Estos y otros elementos presentes en el agar deben ser removidos con importantes volúmenes de agua (Hanus, 1967) o por diálisis, debido a que pueden estimular o inhibir el crecimiento bacteriano o alterar la actividad de los agentes antimicrobianos.

Los agentes gelificantes son sustancias químicamente definidas, de origen sintético que no modifican el crecimiento bacteriano, ni la actividad de los agentes antimicrobianos (Newton, 1953) Entre ellos se puede citar

- Polímero de polioxietileno, es un polímero sintético, inerte, ópticamente claro y estable que no es afectado por temperaturas extremas (Lorian, 1966).

- Separan NP 10, es un polímero de alto peso molecular, producido por polimerización de acrilamida. No reemplaza al agar sino que sólo permite disminuir la cantidad del mismo. Se adiciona en una solución al 0.5 % de agar (Lorian, 1966).

4.3 Crecimiento bacteriano en el medio de cultivo

El crecimiento bacteriano en un medio de cultivo se realiza a expensas de los nutrientes solubles en el mismo, los cuales ingresan al interior del soma bacteriano, para ser utilizados como materia prima en procesos de crecimiento y multiplicación, lo que es evidenciado macroscópicamente por la presencia de colonias.

La distribución de los materiales nutritivos en el medio juega un rol preponderante, siendo gobernadas por las leyes físicas de difusión. Estos materiales disueltos, tienden a difundir desde áreas más concentradas hacia las menos concentradas del medio, tratando de mantenerse en equilibrio.

El desarrollo microbiano se prolongará de acuerdo a la concentración de nutrientes en el medio adyacente, mientras que los productos extracelulares del metabolismo bacteriano serán liberados al medio, difundiendo hacia afuera del área de crecimiento microbiano. De esta manera se establece un cambio dinámico por difusión, entre productos metabólicos hacia el exterior de la zona de crecimiento bacteriano y una difusión de

nutrientes desde el exterior hacia el interior de la misma.

4.4 Método biológico para la determinación de concentraciones de antibióticos en muestras biológicas.

4.4.1 Selección del medio de cultivo

El agar Mueller-Hinton, por carecer de sustancias que puedan interferir con los antibióticos β lactámicos y por permitir un crecimiento bacteriano óptimo, fue elegido como medio de cultivo para la determinación "in vitro" de las concentraciones de estos antibióticos.

4.4.2 Estandarización del inóculo

Este punto es tal vez una de las más importantes variables a considerar en el resultado del test.

Existen diversos métodos para estandarizar un inóculo, se puede emplear el método fotocolorimétrico, midiendo su transmitancia, trabajando en cultivos frescos (24 h) en base a una transmitancia definida. Debe tenerse en cuenta que dicho método sólo considera cuerpos bacterianos que pueden pertenecer a bacterias vivas o no. Otro método es el conteo viable, donde se mide la concentración del inóculo madre, el cual será sometido a diluciones seriadas hasta conseguir una que permita un crecimiento óptimo. Este método es seguro y exacto, a su vez el inóculo puede envasarse y ser mantenido en freezer o liofilizado.

Debe ser diluido hasta concentración deseada antes de utilizarse.

4.4.3 Ensayo de los agentes antimicrobianos

Los agentes antimicrobianos o las muestras biológicas pueden ser ensayadas por diferentes métodos:

- Técnica cilindro-placa

Las muestras a dosar son colocadas en cantidades perfectamente medidas en el interior de cilindros de acero inoxidable o vidrio localizados sobre la superficie del medio de cultivo inoculado con la cepa de referencia (Davis, 1976) Este método fue utilizado para la determinación de cefoperazona.

- Técnica de disco de papel de filtro

Se utilizan discos de papel de filtro embebidos en droga y colocados sobre la superficie del medio de cultivo previamente inoculado. El volumen de saturación del disco puede variar dependiendo de la calidad del mismo, por lo tanto no es un método seguro (Davis, 1976).

- Técnica del pocillo

Esta técnica se realiza con el empleo de un sacabocado, se realizan pequeños pocillos en el medio de cultivo inoculado con la cepa de referencia, los cuales son llenados en

cantidades medidas con la muestra a testear. Es de difícil realización y se necesitan 2 medios de cultivo diferentes, uno superficial y otro profundo con diferente cantidad de agar (Davis, 1976)

4.4.4 Difusión del antibiótico en el medio de cultivo

La difusión del agente antimicrobiano a través del medio de cultivo inicialmente será tridimensional (con la excepción de la técnica del pocillo) que posteriormente se tornará bidimensional. La velocidad de difusión está en relación directa con la concentración de la droga presente en el recipiente (Davis, 1976).

A medida que se lleva a cabo la difusión se va formando una zona que contiene antibiótico que rodea al cilindro, es circular y crece con el tiempo. La concentración inicial del antibiótico en la zona limitante con el reservorio es relativamente elevada y decrece a medida que se aleja del mismo (Hotte, 1967). Consecuentemente la velocidad de difusión se tornará más lenta, llegando a completarse totalmente a las 8 - 10 horas (Davis, 1976). Esta velocidad de difusión puede ser influenciada por una serie de factores tales como el tamaño y forma molecular de la droga, carga iónica, viscosidad y temperatura del medio, contenido iónico (Kunin, 1968).

4.4.5 Formación de halos de inhibición del crecimiento bacteriano

El halo de inhibición se forma como consecuencia del encuentro de una concentración adecuada de antibiótico como para no permitir el crecimiento bacteriano.

El diámetro del halo depende de la distancia a la cual la concentración crítica inhibitoria pueda difundir dentro del medio de cultivo, antes de que la concentración de células bacterianas supere su poder de inhibición.

4.4.5.1 Factores que influyen en la formación de halos de inhibición

- Tamaño del inóculo

El tamaño del inóculo es tal vez uno de los factores cruciales en la formación de halos de inhibición, debido a que si se trata de inóculos débiles, se necesitará un tiempo mayor para obtener un crecimiento óptimo, por lo tanto el antimicrobiano puede difundir más de lo normal resultando zonas de inhibición mayores. En caso contrario, si se trata de inóculos muy concentrados, las zonas de inhibición serán más pequeñas (Davis 1976). En relación a lo expuesto anteriormente es de vital importancia, para mantener la misma concentración bacteriana, la estandarización del inóculo.

-Espesor del medio de cultivo

Variaciones en el espesor del medio de cultivo pueden

modificar la formación de los halos de inhibición. El medio debe poseer siempre una profundidad uniforme de aproximadamente 2-3 mm (Barry, 1972, 1973,1982), para que ello ocurra se debe dejar solidificar sobre una superficie nivelada.

-Composición del medio de cultivo

La presencia de ciertos componentes como cationes, diferencias de pH, concentración de agar, concentración iónica y viscosidad pueden influir en la difusión del antibiótico afectando el tamaño del halo.

-Cepa test

La cepa test a utilizar debe ser de rápido crecimiento, ya que de no ser así también afectará el tamaño del halo de inhibición.

-Temperatura de incubación

La temperatura de incubación no debería ser menor a 35°C , debido a que cuanto menor sea esta, menor será la velocidad de crecimiento bacteriano, permitiendo una mayor difusión del antibiótico, obteniéndose en consecuencia halos de inhibición mayores. Al respecto otros autores opinan que las variaciones de temperatura afectarían principalmente la viscosidad del medio modificando la difusión del antibiótico y consecuentemente el diámetro de dicho halo.

-Tiempo de incubación

El tiempo de incubación es tal vez otro factor de suma importancia, si es corto el antibiótico no habrá difundido completamente dando en consecuencia halos de inhibición pequeños. De la misma manera, si el tiempo es largo, las zonas de inhibición parcial continuarán su crecimiento y el halo de inhibición disminuirá de tamaño. Por lo tanto el tiempo estándar de incubación sería de 16-18 horas.

5. FARMACOCINETICA

5.1 Definición

Se define a la farmacocinética como la disciplina que describe la cinética a que obedecen los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción de los medicamentos, sustancias tóxicas y algunos compuestos endógenos. Su objetivo es estudiar el tránsito de los medicamentos en el organismo en función del tiempo a través de la medición de sus concentraciones en el cuerpo y en las excreta, así como elaborar modelos cinéticos aplicables a la interpretación de los datos obtenidos. (Plá Delfina, 1974).

5.2 Análisis compartimental

El mejor procedimiento que puede seguirse para abordar lógicamente el proceso global farmacocinético (absorción,

distribución, metabolismo y excreción) consiste en agrupar, por afinidad, las distintas zonas anatomofisiológicas del organismo, considerándolas como compartimientos abiertos, es decir como sectores del organismo en los cuales existe una concentración determinada de medicamento (variable en función del tiempo) y de los cuales sale determinada cantidad del mismo por unidad de tiempo, sea para dirigirse a otro compartimiento o para eliminarse. (Plá Defina, 1974).

Un compartimiento así entendido, tiene más entidad fisicoquímica que fisiológica o anatómica. Se trataría, de hecho, de una fracción de material biológico en la que el medicamento se halla uniformemente repartido (Plá Defina, 1974; Baggot, 1986).

El organismo se considera dividido en un número mayor o menor de compartimientos, separados por barreras fisicoquímicas, que el medicamento irá atravesando hasta alcanzar el equilibrio de concentraciones en todo el volumen orgánico que es capaz de ocupar. Resulta obvio que el número de compartimientos en que habrá que considerar dividido al organismo dependerá, en cada caso, de las propiedades fisicoquímicas del medicamento, que condicionarán su velocidad de penetración a través de las membranas y su acceso a los distintos sectores. (Plá Delfina, 1974)

5.2.1 Modelo monocompartimental

Es el modelo más sencillo, considerará al organismo como

un compartimiento único o como una unidad homogénea (Baggot, 1986), donde el medicamento se supone uniformemente distribuido en todo el volumen hídrico que ocupa, y que, siendo el plasma una parte alícuota de este volumen, la concentración plasmática es la misma que la que existe en todo el compartimiento (Levy, 1986, Morselli, 1977; Plá Delfina, 1974) (Fig 5)

5.2.2 Modelo bicompartimental

En los modelos bicompartimentales, el plasma, los fluidos intersticiales y tejidos bien irrigados, formarán un compartimiento muy bien caracterizado cinéticamente, denominado compartimiento central (Compartimiento 1). Por definición, la distribución del medicamento en todos sus elementos sería instantánea y su concentración uniforme e igual a la existente en el plasma (Plá Delfina, 1974; Levy, 1986).

Los tejidos poco vascularizados y los depósitos no acuosos (proteínas, ácidos nucleicos y lípidos intracelulares) se agruparían en un compartimiento periférico (compartimiento 2), al que el medicamento accedería más lentamente desde el plasma, de modo que transcurriría un tiempo variable antes del establecimiento del equilibrio de concentraciones del medicamento en el total del organismo (Plá Delfina, 1974).

En el seno del compartimiento central se materializan los procesos de eliminación del medicamento por metabolismo y excreción, regidos por una constante de eliminación que en el

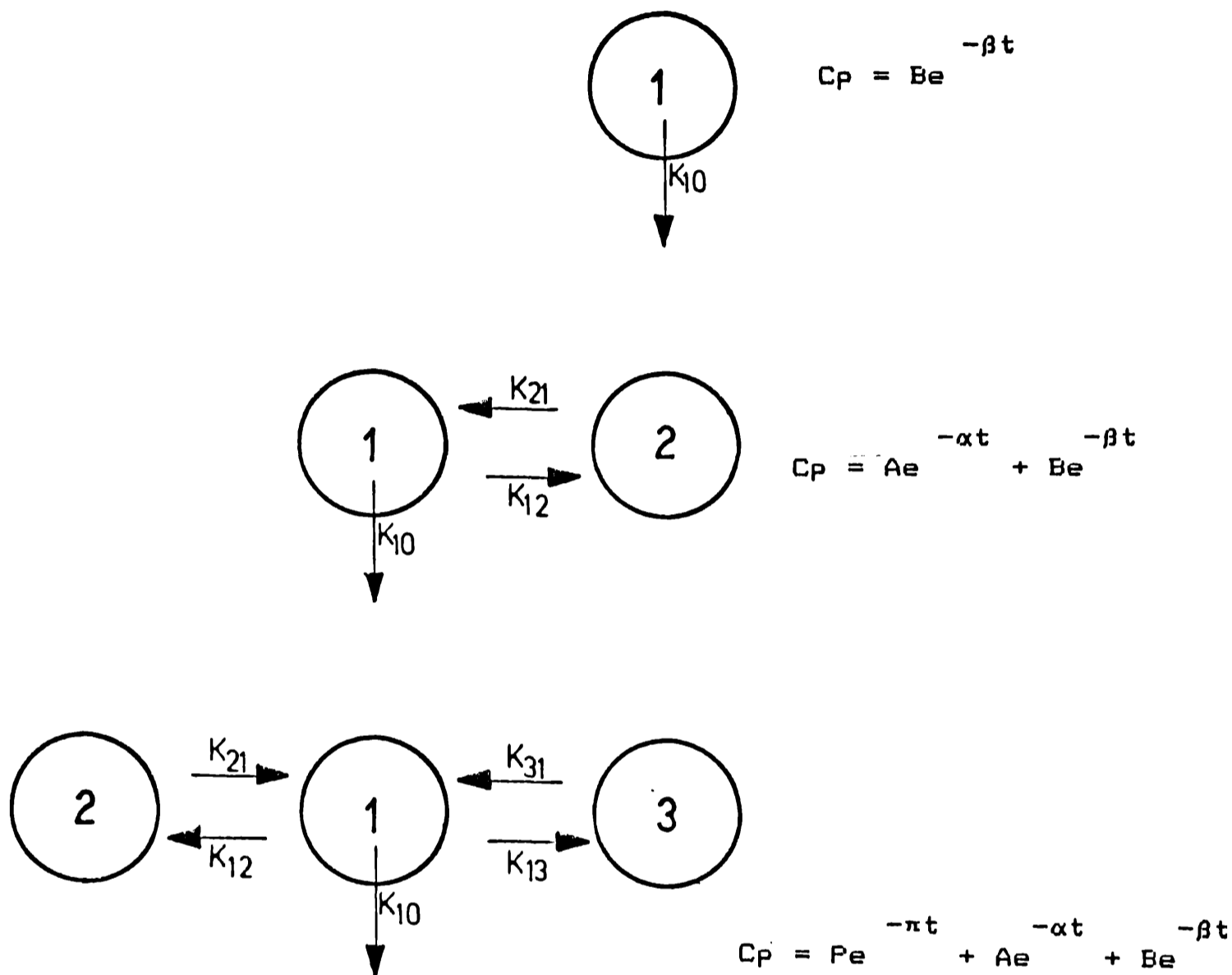


Figura 5

Diagrama esquemático de los diferentes modelos farmacocinéticos utilizados para el estudio de fármacos.

modelo se representa como K13 (Fig 5). Este compartimiento canalizaría además el proceso de distribución del medicamento que se presenta como K12 (Fig 5) (Baggot,1986).

En el compartimiento periférico, desprovisto de mecanismos metabólicos y excretores de importancia, el medicamento permanece depositado y su retorno a plasma (seguido por la constante de retorno K21) depende del grado de eliminación desde el compartimiento central y de la afinidad que el medicamento presente hacia los depósitos no acuosos (Plá Delfina,1974).

Existen otros modelos mucho más complicados (modelos tri y tetra compartimentales), no obstante, la mayoría de las drogas se adaptan a los modelos más simples descriptos (Levy, 1986)

5.2.3 Discriminación de modelos farmacocinéticos

La discriminación del modelo más apropiado a nuestros datos experimentales es tal vez, el mayor problema farmacocinético (Errecalde, 1988). Para ello, existen diferentes formas o métodos de discriminación:

- Por observación directa de la curva concentración tiempo, considerando los últimos valores de la grafica.

- Por suma de los cuadrados de las residuales entre los datos experimentales y los estimados por el modelo, método que generalmente tiende a favorecer a los modelos más complejos.

- Por empleo del test F, propuesto por Boxenbaun.
(Boxenbaun, 1974)

- Por análisis de regresión lineal entre las concentraciones experimentales y teóricas obtenidas por el uso de modelos mono, bi y tricompartmentales.

- Por el empleo del test MAICE (Minimum Akaike Information Criterion Estimation), que permite discriminar modelos con similares suma de cuadrados (Yamahoka, 1978). Es el método más utilizado en la discriminación de modelos farmacocinéticos. Castiga a los modelos más complejos y utiliza el criterio de información de Akaike (Akaike, 1976), el cual fue adaptado por Yamaoka (1978) originando el test MAICE.

El método de Akaike es definido por la siguiente expresión

$$AIC : N \ln R_e + 2p$$

Donde N es el número de datos, p el número de parámetros y $\ln R_e$, es el logaritmo natural de la suma de cuadrados de las residuales obtenidas entre las concentraciones experimentales y teóricas, expresadas por

$$Re = \sum_{i=1}^n W_i (C_{est\ i} - C_{exp\ i})^2$$

Donde $C_{est\ i}$, es la concentración estimada, $C_{exp\ i}$, es la concentración experimental y W_i es el factor de pesada para cada dato.

El menor valor obtenido como resultado de la aplicación del test MAICE luego del estudio de un juego de datos, con diversos modelos, nos indica el mejor modelo, para su descripción farmacocinética.

5.3 Cálculos de parámetros farmacocinéticos

El modelo abierto de dos compartimientos, describe adecuadamente la disposición de muchos fármacos en el hombre y en los animales (Baggot, 1986). En consecuencia, lo tomaremos como ejemplo para definir los parámetros farmacocinéticos.

La farmacocinética estudia, entre otras cosas, la variación que experimenta con el tiempo la concentración de los fármacos, particularmente en el plasma o suero sanguíneo. El método más simple de administración de fármaco para su análisis farmacocinético es la inyección rápida de una dosis única directamente en la corriente sanguínea. Suponiendo que la distribución es instantánea por todo el compartimiento central, la tasa de descenso de la concentración del fármaco en el plasma puede describirse a través de la siguiente ecuación

biexponencial

$$C_p : A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t}$$

Siendo C_p la concentración del fármaco en el tiempo t , A y B son términos de intercepción con dimensiones correspondientes a concentración ($\mu\text{g/ml}$), α y β son las constantes de las tasas de distribución y eliminación respectivamente, que son expresadas en unidades de tiempo recíproco ($1/\text{min}$) y e representa la base de los logaritmos naturales (Baggot, 1986)

Esta expresión matemática describe, frecuentemente el trazado semilogarítmico del descenso que experimenta la concentración del fármaco en el plasma, en función del tiempo transcurrido después de la administración IV de una dosis única (Fig 6). El fuerte descenso inicial de concentración del fármaco en el plasma (tramo cóncavo) se debe principalmente a la distribución del fármaco desde el compartimiento central al periférico (tejidos), como así también a la eliminación desde el compartimiento central.

Una vez establecido el equilibrio aparente de distribución, disminuye la velocidad con que desciende la concentración de fármaco en el plasma (tramo recto), que está determinada, principalmente, por la eliminación irreversible de fármaco desde el compartimiento central, denominada fase beta o de eliminación. La porción lineal de la

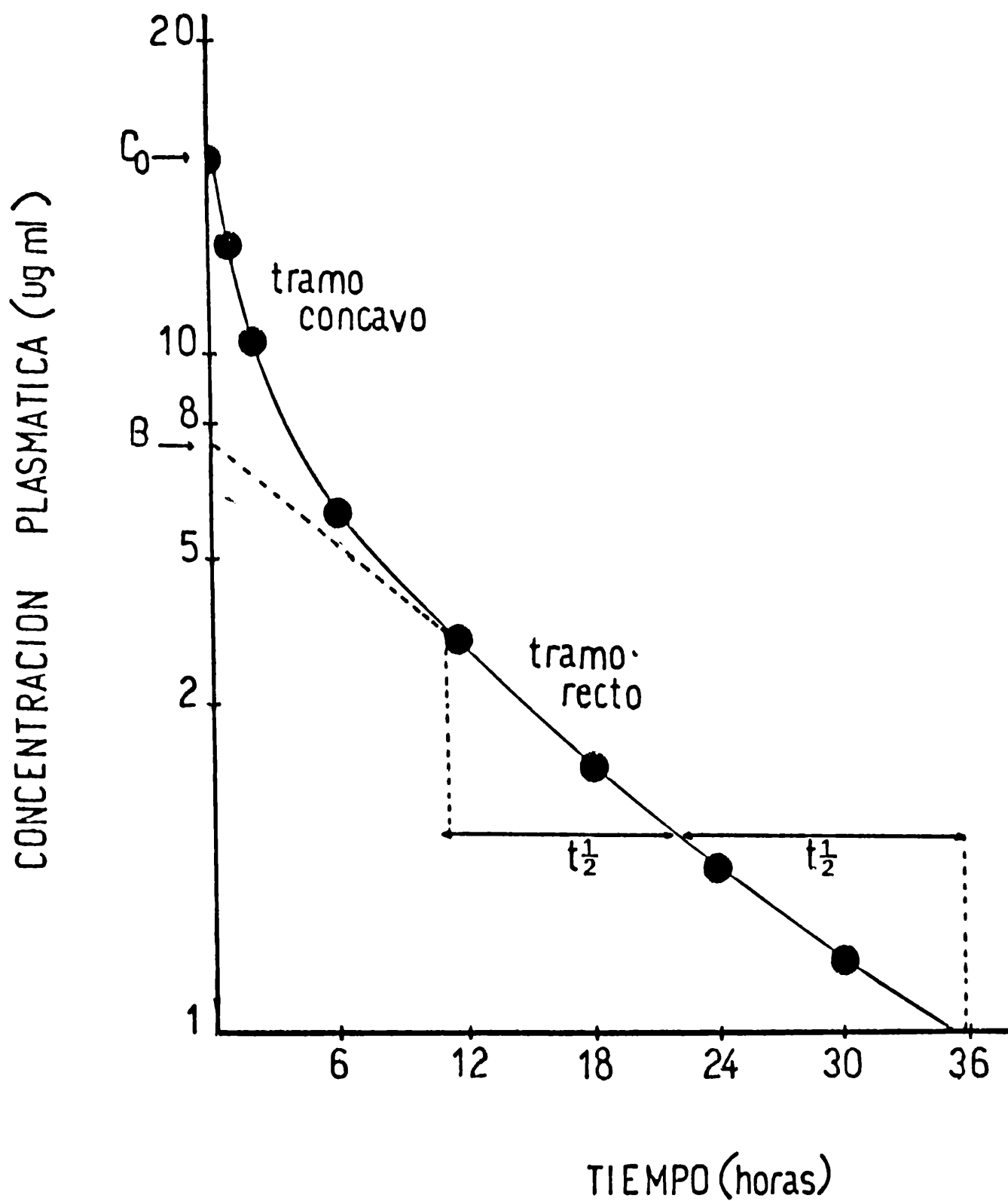


Figura 6: Representación gráfica de la curva de disposición de fármaco en plasma luego de su administración IV. Tramo concavo representa los procesos simultáneos de distribución y de eliminación. Tramo recto: representa el proceso puro de eliminación

curva tiene una pendiente que puede ser definida $-\beta/2.303$, donde β es la constante de la tasa de eliminación y 2.303 el logaritmo en base 10 y una intercepción extrapolada a tiempo cero, B expresada en unidades de concentración. Al descomponer la curva biexponencial de disposición del fármaco en sus dos componentes por el método de las residuales (Gibaldi, 1969) se obtiene un segmento lineal, llamado fase alfa o de distribución, con una pendiente igual a $-\alpha/2.303$, donde α es la constante de la tasa de distribución y 2.303 el logaritmo en base 10 y una intercepción a tiempo cero de A (Gibaldi, 1969). Si la ordenada del trazado semilogarítmico fuese en logaritmos naturales (base e) las pendientes de los 2 componentes exponenciales de la curva de disposición serían simplemente $-\alpha$ y β . La suma de A y B da la concentración en plasma inmediatamente después de la inyección intravenosa (C_p). El volumen aparente del compartimiento central (V_c) se calcula mediante la siguiente expresión

$$V_c = \frac{\text{Dosis IV}}{C_p}$$

En los distintos estudios sobre la disposición de fármacos en el organismo se calculan los coeficientes A y B y las constantes de velocidad α y β mediante los datos de concentración de drogas en plasma-tiempo. Estas constantes experimentales son parámetros farmacocinéticos híbridos (Baggot, 1986).

Se utilizan líneas de regresión para derivar los

valores para B y β que mejor se acomoden a la fase exponencial terminal de la curva de disposición. Los valores para A y α que describen el componente de distribución de la curva de disposición se obtendrán calculando una línea de regresión de cuadrados mínimos para las concentraciones residuales obtenidas de la porción inicial del trazado semilogarítmico por el método de "peeling" (Gibaldi 1982). Los puntos residuales, que representan la fase de distribución, se obtienen restando la porción extrapolada de la fase β de los datos experimentales (Baggot, 1986).

5.3.1 Constantes reales de distribución

En los estudios de disposición de drogas en el organismo las constantes experimentales (A, B, α y β) son usadas para calcular las microconstantes farmacocinéticas asociadas con el modelo abierto de doble compartimiento (K_{12} , K_{21} , K_{el}), como se presenta a continuación

$$K_{12} = \frac{A \beta + B \alpha}{A + B}$$

$$K_{21} = \alpha + \beta - K_{12} - K_{el}$$

$$K_{el} = \frac{\alpha \cdot \beta}{K_{21}}$$

La determinación de las microconstantes permite valorar la contribución relativa de los procesos de distribución y eliminación en el perfil concentración versus tiempo de un fármaco (Plá Delfina, 1974).

5.3.2 Vida media

La vida media es una medida de la velocidad de eliminación, siendo el tiempo que tarda la concentración de un fármaco en plasma o suero para disminuir 50 % durante la fase de eliminación de la curva de disposición.

La vida media guarda relación inversa con la constante de la tasa de eliminación total, y el valor calculado basándose en β ($T_{1/2} = 0.693/\beta$) es más exacto (Baggot, 1986).

5.3.2.1 Factores que influyen en la vida media de un fármaco

Todos los factores que, de un modo u otro, puedan influir en la distribución, metabolismo y excreción de los distintos medicamentos, pueden influenciar la vida media de los mismos en las diversas especies animales y en el hombre. Entre los principales factores que afectan la vida media biológica se encuentran la edad, raza, sexo, dieta y sobre todo, al estado de salud (Plá Delfina, 1974).

Las características de distribución tienen también su influencia en la vida media biológica. Un medicamento que posea

una importante constante de afinidad a las proteínas plasmáticas o constituyentes celulares de los tejidos, tendrá una vida media más larga que otro medicamento que permanezca libre, y , de este modo será más fácilmente biotransformado y excretado (Baggot,1986).

Para la mayoría de los medicamentos de uso humano y veterinario, los valores de vida media son independientes de la dosis administrada ya que obedecen a una cinética de orden uno, es decir que la velocidad del proceso de eliminación es dependiente de la concentración de droga presente en el plasma. En los procesos de orden cero, en cambio, la velocidad de eliminación es independiente de la concentración plasmática del fármaco, en consecuencia la vida media aumenta en relación a la dosis administrada. (Levy, 1986).

5.3.3 Volumen aparente de distribución

El volumen aparente de distribución (V_d) es un concepto importante en la caracterización farmacocinética de los fármacos. Puede definirse como el volumen de fluido que sería necesario para contener la dosis total administrada en el organismo si estuviese uniformemente distribuido con una concentración igual a la del plasma.

Se presupone que el organismo se comporta como un compartimiento único y homogéneo con respecto al fármaco. El volumen aparente de distribución no representa un volumen real,

es decir, no deberá ser considerado como un espacio fisiológico particular del organismo. El valor de V_d sirve como una constante de proporcionalidad que relaciona la concentración en plasma con la cantidad total de droga en el organismo, en cualquier momento después que se haya alcanzado el equilibrio de distribución (Levy, 1986; Baggot, 1986).

El volumen de distribución de los medicamentos, sustancias fisiológicas y compuestos exógenos en general pueden determinarse mediante los siguientes procedimientos :

Si los datos se representan mejor por medio de un modelo abierto de compartimiento único, el método más adecuado sería el de extrapolación

$$V_d : \frac{\text{Dosis}}{B}$$

Cuando un modelo abierto de 2 compartimientos describe la cinética de disposición de un fármaco, la constante de proporcionalidad que relaciona la concentración de fármaco en el plasma con la cantidad total en el organismo en cualquier momento después de alcanzar el equilibrio de pseudodistribución puede obtenerse por:

Método de área

$$V_d : \frac{\text{Dosis}}{\text{AUC} \cdot \beta}$$

Donde AUC: Área bajo la curva concentración concentración versus tiempo

$$\text{Método de Pseudoequilibrio} \quad V_d \quad : \quad \frac{K_{el} \quad V_c}{\beta} \\ \text{(B)}$$

$$\text{Método de estado estacionario} \quad V_d \quad : \quad \frac{K_{12} + K_{21}}{K_{21}} \quad V_C \\ \text{(ss)}$$

(Gibaldi, 1969)

El volumen aparente de distribución de un fármaco da una idea de la amplitud o magnitud de su distribución, aunque no proporciona, ninguna clave sobre si la distribución del fármaco es uniforme o limitada a ciertos tejidos.

Un amplio volumen aparente de distribución supone una distribución extensa o una notable fijación a las proteínas de los tejidos, o ambos hechos. Las bases orgánicas liposolubles aparecen ampliamente distribuidas en los fluidos y tejidos corporales y sus volúmenes de distribución son tan grandes que superan el volumen real del organismo (más de 1 l/Kg) (Baggot,1986).

El volumen de distribución de un fármaco puede coincidir numéricamente con el volumen del líquido extracelular del organismo, aunque esta coincidencia no se interpretará en el sentido de que el fármaco se encuentra distribuido uniformemente en

el líquido extracelular, ni que incluso se limita a este compartimiento fisiológico. Los ácidos y bases fuertes aparecen ionizados en el plasma teniendo en consecuencia escaso Vd (menor a 0.25 l/Kg). Los ácidos débiles aparecen en forma ionizada y no ionizada en el plasma y atraviesan las membranas con relativa facilidad y sus Vd pueden ser considerados como intermedios (0.3-0.8 l/Kg). Las bases débiles se encuentran en forma predominantemente molecular a pH fisiológico y se distribuyen ampliamente en los fluidos y tejidos corporales presentando un Vd mayor a 1 l/kg (Baggot, 1986).

5.3.4 Aclarado corporal

El aclarado corporal (CLB) de un fármaco, se define como el volumen de sangre libre de fármaco por diversos procesos de eliminación (biotransformación y excreción) por unidad de tiempo. Es un concepto farmacocinético de considerable importancia. El aclarado corporal (total) es el producto del volumen aparente de distribución por la constante de la tasa de eliminación

$$CL = \frac{K_{el} \cdot V_c}{B}$$

El aclarado corporal es una expresión de la velocidad de remoción de la droga desde el organismo que no está en relación a la vida media biológica de la droga, es decir que una vida media corta no equivale necesariamente a un aclarado corporal elevado, ya que el parámetro aclarado incluye un volumen

y un componente de velocidad (Plá, Delfina, 1974)

El aclaramiento sirve como medida de la capacidad funcional para que una sustancia sea eliminada por los órganos de eliminación, es la suma de todos los procesos de aclaramiento en el organismo, también el aclaramiento de ciertas sustancias puede servir como índice del funcionamiento renal (inulina, I 125, iotalamato : GFR para-aminohipurato, I 131 yodohipurato : ERPF) o de la función hepática (bromosulfaleína o BSP).

La interpretación de los valores obtenidos se debe hacer con sumo cuidado ya que el aclaramiento de la sustancia a determinar puede verse influenciado por funcionamiento anormal del órgano, competencia con portadores o enzimas, estados febriles, etc (Baggot, 1986).

5.3.5 Biodisponibilidad biológica

Según Plá Delfina, biodisponibilidad biológica es la fracción o porcentaje de dosis de medicamento administrada que el organismo absorbe en la forma de dosificación en la que esta formulado (Plá Delfina, 1974). Gibaldi, por su parte, la define como la fracción o porcentaje de la dosis que la forma de administración pone a disposición del organismo en condiciones de óptima absorción (Gibaldi, 1969, 1982).

La disponibilidad biológica hace referencia tanto a la rapidez con que es absorbido un fármaco como a la magnitud

(totalidad) de la absorción. Por magnitud de la absorción se entiende la fracción (F) de la forma de dosificación oral o intramuscular que llega intacta a la circulación sistémica. Para determinar la magnitud de la absorción (es decir, fracción disponible sistémicamente), debe realizarse también un estudio farmacocinético intravenoso. El producto de la fracción disponible sistémicamente y de la dosis administrada (F.D) es llamada dosis absorbida.

La disponibilidad biológica es con mucho el primero de los múltiples factores que determinan la relación entre las dosis de un fármaco y la intensidad de su acción (Baggot, 1986).

Para la mayoría de los estudios sobre disponibilidad biológica, es suficiente determinar 3 índices sobre una gráfica, la concentración máxima que el fármaco alcanza en plasma (C_{max}), el tiempo que tarda en alcanzar esa concentración máxima (T_{max}) y el área bajo la curva concentración versus tiempo (AUC) (Fig 7) (Baggot, 1986).

El método usual para calcular la magnitud de la absorción (F) impone la comparación de áreas totales bajo las curvas concentración versus tiempo obtenidas después de la administración oral (u otra vía extravasal) e intravenosa de dosis iguales de fármaco a los mismos animales. El área se calcula mediante un proceso de integración numérica apropiado, y se expresa como el producto de la concentración y del tiempo.

5.3.5.1 Factores que influyen en la biodisponibilidad

- Características fisicoquímicas del fármaco

Siendo la difusión el mecanismo mas frecuentemente utilizado por los medicamentos para atravesar membranas biológicas, la liposolubilidad y el grado de ionización son de extraordinaria significación para la biodisponibilidad.

- Forma farmacéutica

La biodisponibilidad de un principio activo determinado puede sufrir variaciones en su cuantía dependientes de la forma galénica utilizada para su administración, ya que el excipiente o vehículo puede modular o facilitar la absorción de un fármaco (Errecalde, 1990; Kiechel, 1980).

- Efecto de primer pasaje

Se define como efecto de primer pasaje al efecto enzimático a que es sometido un fármaco en su paso a través de diferentes membranas o estructuras biológicas como mucosa intestinal, hígado, piel, pulmón (Wiechers, 1989,1990) (Jackman, 1981) (Balant, 1982), que se interponen entre el sitio de administración y el plasma y pueden llegar a incidir sobre el porcentaje de dosis administrada que llega al torrente circulatorio.

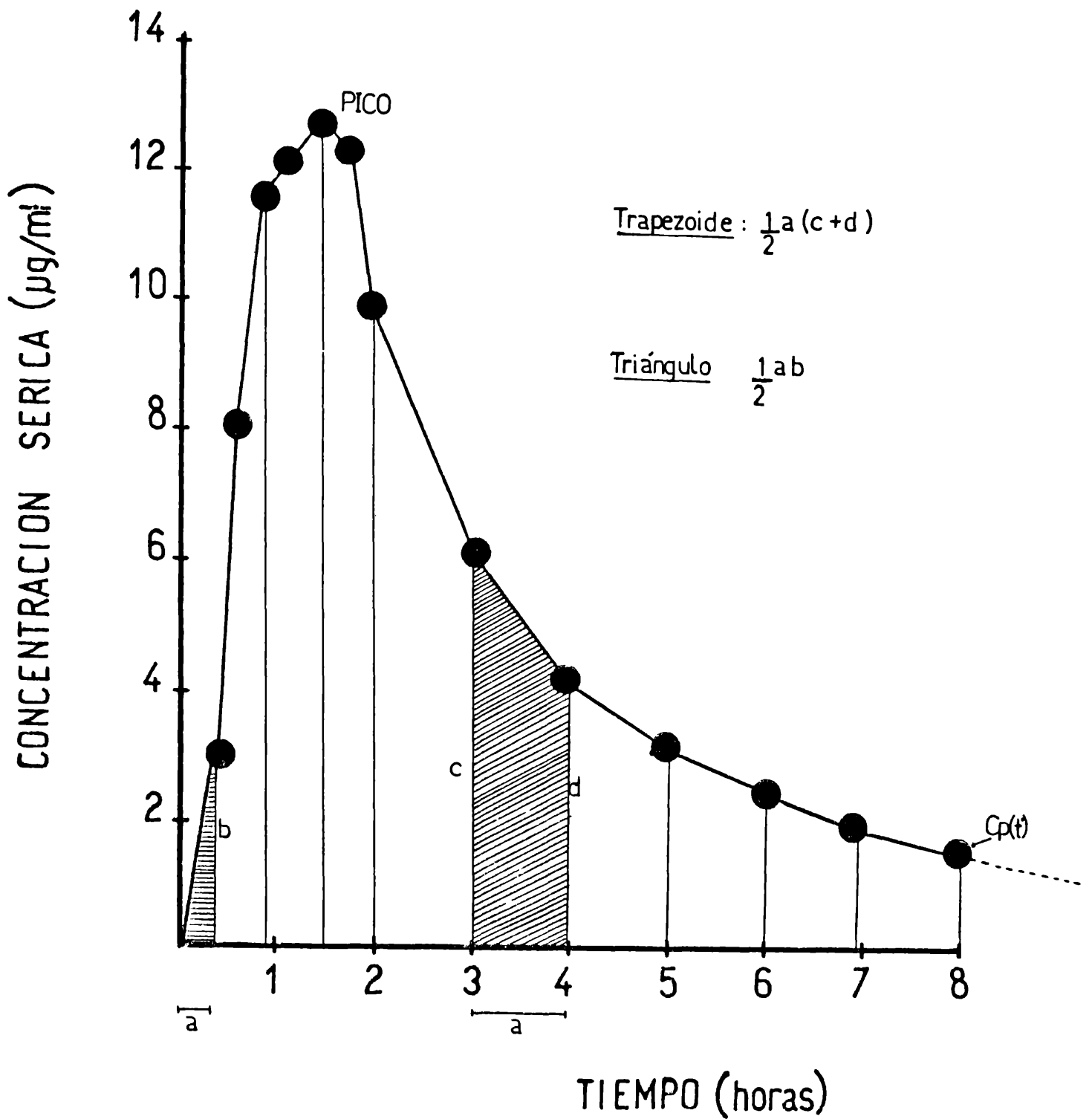


Figura 7:

Método de los trapezoides para la estimación del área bajo la curva (AUC), la cual está expresada como producto de la concentración y tiempo.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1 Muestreo sanguíneo posterior a la administración de cefoperazona por la vía intravenosa (IV) e intramuscular (IM) en equinos

6.1.1 Materiales

- 6 equinos hembras, mestizas, adultas
- Bozales, maneas
- Balanza para grandes animales
- Cefoperazona sódica (Cefobid, Pfizer, Argentina)
- Cronómetro
- Afeitadora
- Jabón
- Alcohol
- Agujas descartables 30/10
- Jeringas descartables de 10 ml
- Tubos de centrifuga estériles
- Tubos de hemólisis estériles
- Pipetas Pasteur estériles
- Centrifuga
- Freezer

6.1.2. Métodos

6.1.2.1 Manejo de los animales previamente al estudio

Previamente al estudio los animales fueron pesados (Peso promedio 405 ± 80 Kg) y desparasitados con ivermectina (Equalan, Merk) a razón de $200 \mu\text{g}/\text{Kg}$ y sometidos a controles hematológicos para determinar su óptimo estado de salud. Las regiones yugulares fueron rasuradas, lavadas y desinfectadas antes de efectuar la administración de la droga y extracción de las muestras.

6.1.2.2 Muestreo

La droga fue administrada a la dosis de $30 \text{ mg}/\text{kg}$ en la vena yugular derecha y en la zona isquiotibial, para las vías IV e IM respectivamente. Las muestras fueron tomadas de la vena yugular izquierda a los siguientes tiempos post-administración: 0, 5, 10, 15, 20, 30 y 40 minutos 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, y 12 horas, para la vía IV, y a los: 0, 5, 10, 20, 30 y 40 minutos 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 y 12 horas para la administración IM. Las muestras obtenidas se colocaron en estufa a 37°C para provocar la retracción del coágulo, el suero fue separado por centrifugación (3000 r.p.m durante 10 min) y almacenado en freezer (-20) hasta ensayo.

6.2 Muestreo de líquido sinovial posteriormente a la administración de cefoperazona por la vía intravenosa (IV) e intramuscular (IM) en equinos

6.2.1 Materiales

Se utilizaron los mismos materiales descritos en el punto 6.1.1, con el agregado de agujas y jeringas de tuberculina descartables.

6.2.2 Métodos

6.2.2.1 Manejo de los animales previamente a la prueba

Se siguieron las mismas pautas que en el punto 6.1.2.1 Las muestras fueron tomadas de la articulación del carpo , para ello la zona fue rasurada y desinfectada con iodopovidona (foto 1 y Fig 8)

6.2.2.2 Muestreo

Para la extracción de líquido sinovial se utilizó jeringas y agujas de tuberculina en razón de evitar hemorragias iatrogénicas con la posterior contaminación de la muestra (foto 2) Se tomó una muestra antes de la administración de la droga y posteriormente a los siguientes tiempos: 30 minutos 1, 2, 3, 4, 6, 8 y 12 horas para la vía IV y a los 30 minutos, 1, 2, 3, 4, 5, 8 y 10 hs para la vía IM. Las muestras recogidas fueron centrifugadas y almacenadas en freezer hasta ensayo

6.3 Muestreo de orina posterior a la administración de cefoperazona por la vía IV e IM en equinos.



Figura 8: Lugares de extracción del líquido sinovial. A: articulación radiocarpiana; B: articulación intercarpiana.

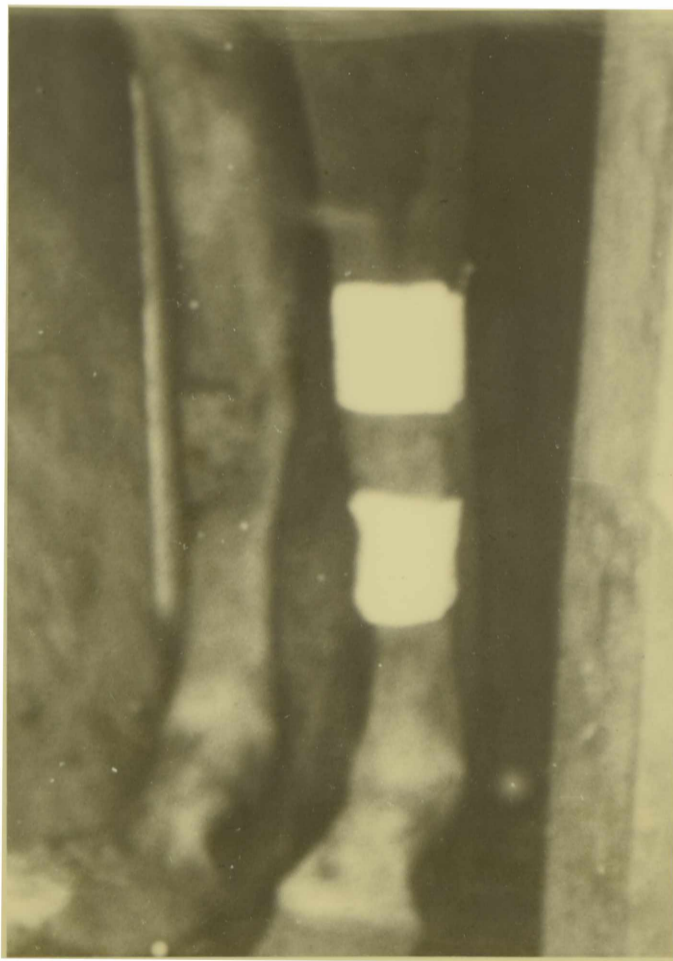


Foto 1: Vista lateral del carpo



Foto 2: Técnica de extracción de líquido sinovial

6.3.1 Materiales

Se emplearon los mismos materiales que en el punto 6.1.1 , más el agregado de sondas Foley y un vaginoscopio para grandes animales

6.3.2 Métodos

6.3.2.1 Manejo de los animales previamente al inicio de la prueba

Los animales utilizados fueron los mismos que para las pruebas IV e IM.

Previamente a la administración de la droga , la zona perianal fue lavada con jabón y desinfectada con iodopovidona. Se colocó una venda alrededor de la cola con el fin de evitar el contacto de los pelos con la zona a muestrear. Posteriormente el vaginoscopio fue untado con lidocaína viscosa (xilocaína viscosa (r) Astra) y colocado en vagina para facilitar la identificación del meato urinario .Una sonda Foley con xilocaína jalea se introdujo con la ayuda de un mandril hasta llegar a vejiga (una vez logrado esto, el animal generalmente evacúa el contenido vesical), se insufló el manguito de la sonda para asegurar su fijación

6.3.2.2 Muestreo

Se tomó una muestra de orina antes de la administración IV y posteriormente a los siguientes tiempos: 30 minutos, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 y 12 horas.

También se tomó una muestra de orina antes de la administración IM y posteriormente a los siguientes tiempos: 30 y 40 minutos, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 y 12 horas.

Durante las 12 horas de muestreo fue medida la producción total de orina para cada animal.

Las muestras obtenidas para las 2 vías fueron centrifugadas y el sobrenadante recogido con pipetas Pasteur estériles y almacenado en tubos de hemólisis en freezer (-20 °C) hasta ensayo.

6.4 Muestreo de esponja ósea luego de la administración IM de cefoperazona a equinos

6.4.1 Materiales

Se emplearon los mismos materiales que en el punto 6.2.1, con el agregado de instrumental de cirugía menor, legra curva, escoplo y martillo, gasa estéril, material de sutura no reabsorbible, recipientes estériles para la recolección de las muestras y cera de abeja.

6.4.2 Métodos

6.4.2.1 Manejo de los animales previamente al estudio

Se utilizó la tuberosidad coxal como lugar blanco para la toma de muestra de tejido óseo.

Se trabajó con el animal de pie en una manga (con puertas de apertura lateral) . Se identificó la tuberosidad coxal, fácilmente palpable por la ausencia de tejido muscular (Fig 9). Identificada la misma se rasuró y se desinfectó la zona (foto 3), realizándose una infiltración en abanico con lidocaína al 2 % (xilocina 2 % (r) Astra). Se colocó el campo operatorio y se efectuó una incisión de 3-4 cm con bisturí a través de piel, celular subcutáneo y periostio (Fotos 4 y 5), se legró el mismo y se delimitó un área cuadrada con escoplo y martillo (Fig 10), extrayéndose la primera muestra de cortical y tejido esponjoso (Fig 11) (Fotos 6 y 7). Se rellenó el orificio con gasa estéril y se cerró piel con clamp. El orificio óseo fue finalmente sellado con cera de abeja y la sutura de celular subcutáneo y piel realizada con material no reabsorbible (Foto 8).

6.4.2.2 Muestreo

Las muestras de tejido óseo fueron tomadas previamente a la administración de cefoperazona por la vía IM y a los siguientes tiempos post-administración 30 minutos 1,2,4,6,8, 10 y 12 hs.

Las muestras de aproximadamente 1 g fueron recogidas en frascos estériles y almacenadas en freezer hasta ensayo (Foto 9).



Figura 9: Sitio de abordaje quirúrgico sobre la tuberosidad coxal

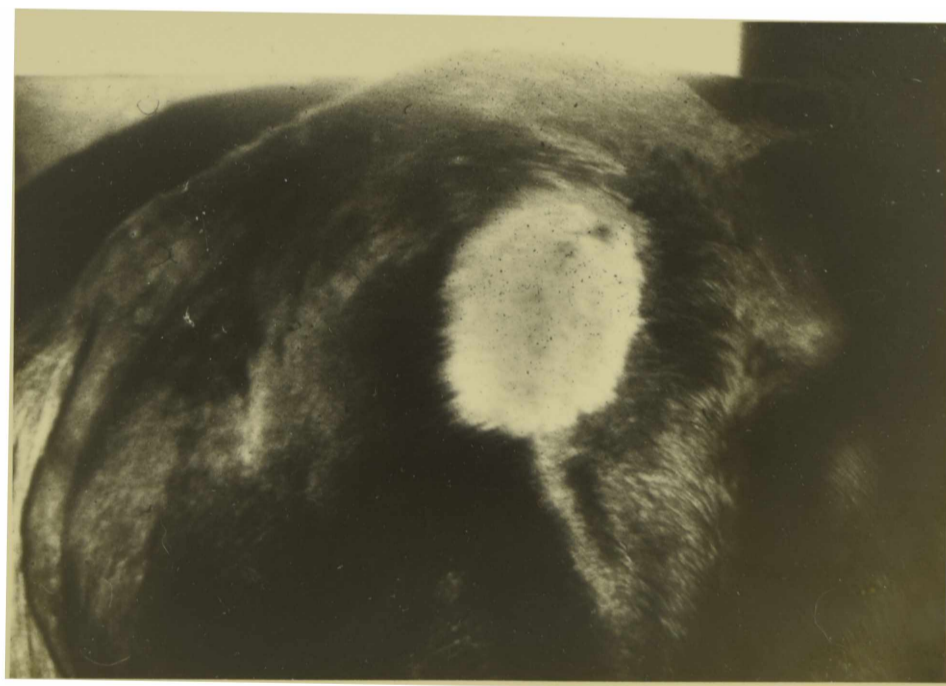
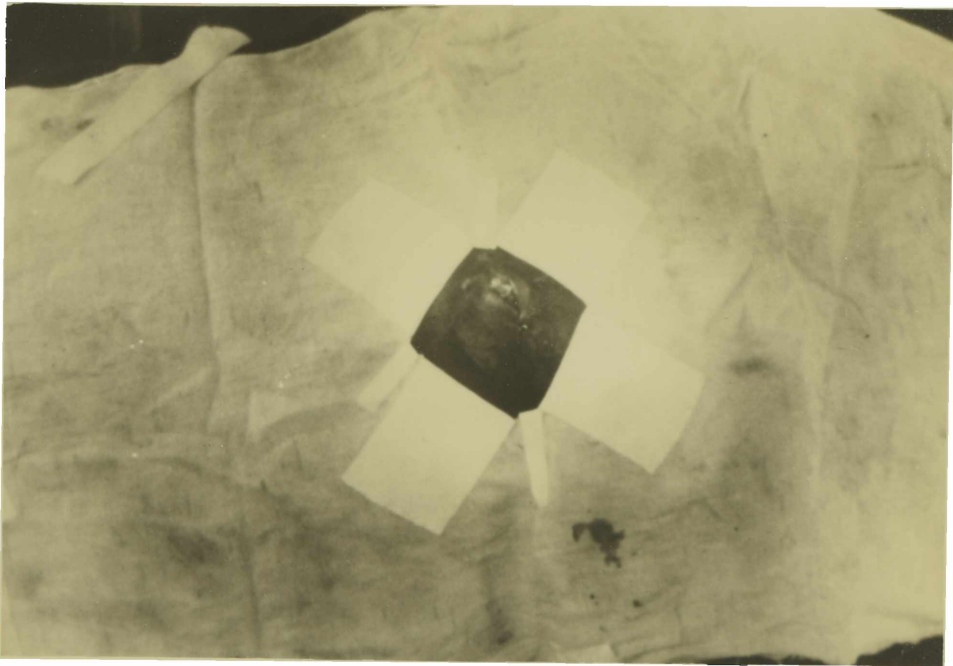


Foto 3: Vista de la zona de incisión



Fotos 4 y 5: Incisión de piel, tejido celular subcutáneo y periostio.

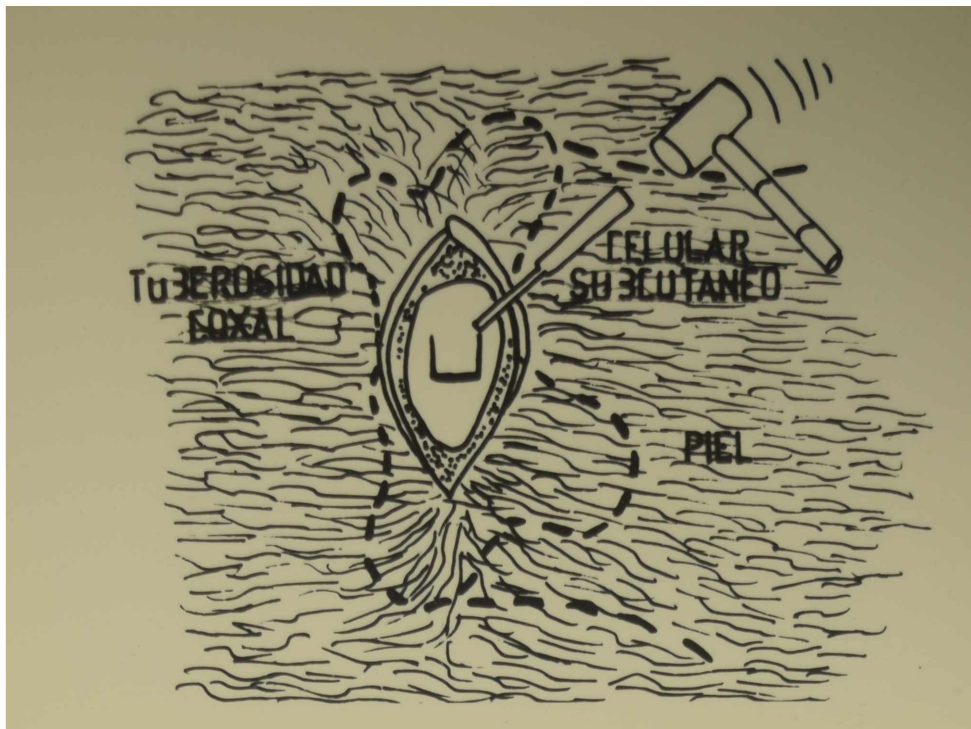


Figura 10: Apertura de la "ventana" ósea sobre la tuberosidad coxal

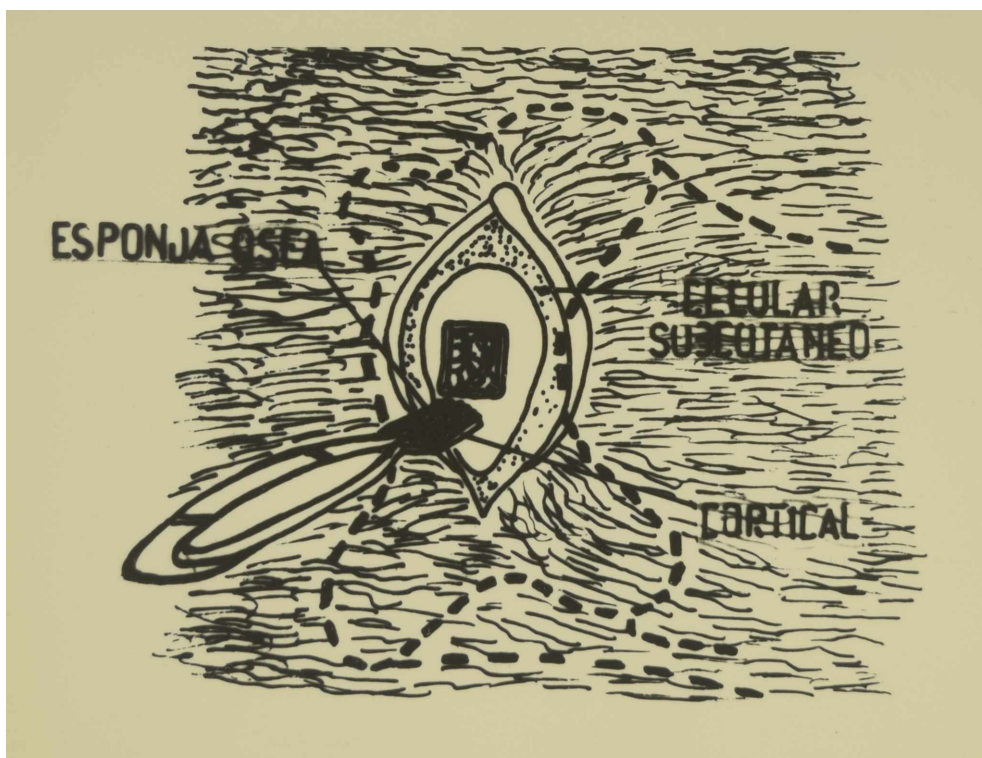
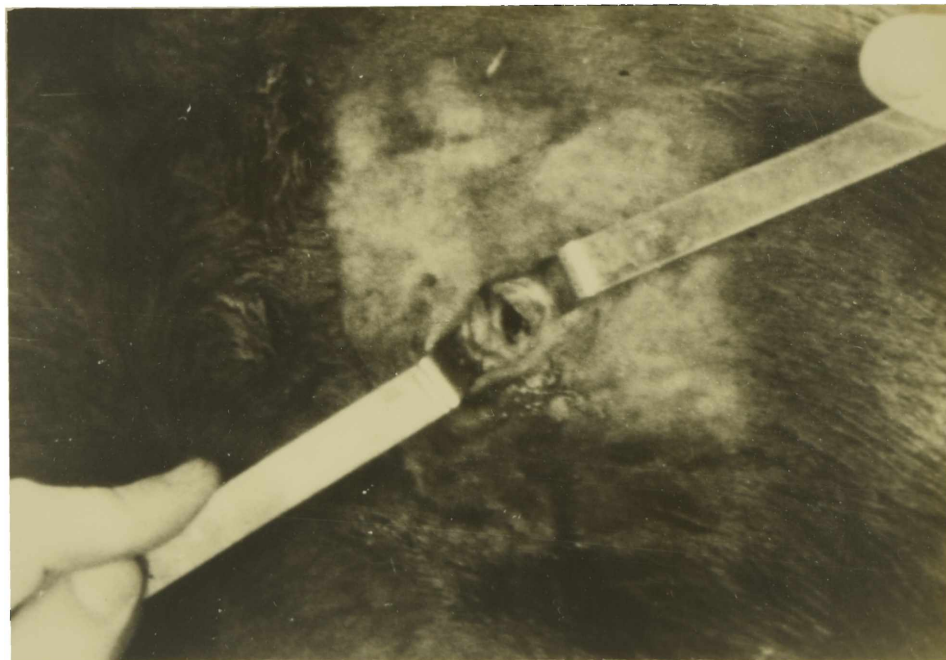
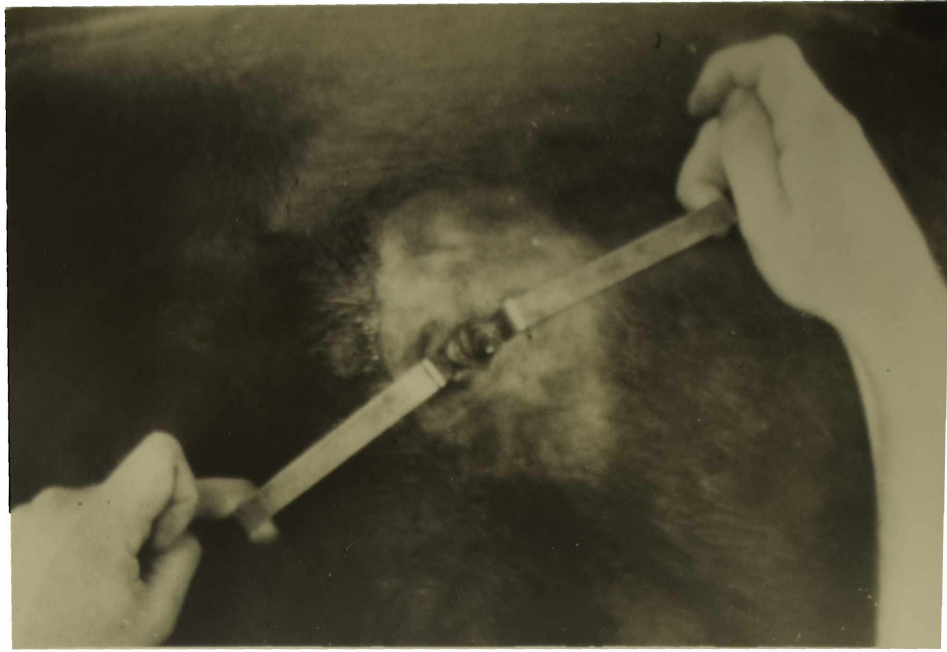


Figura 11 Extracción de cortical y esponja ósea



Fotos 6 y 7: Orificio sobre la tuberosidad coxal luego de la extracción de la muestra.

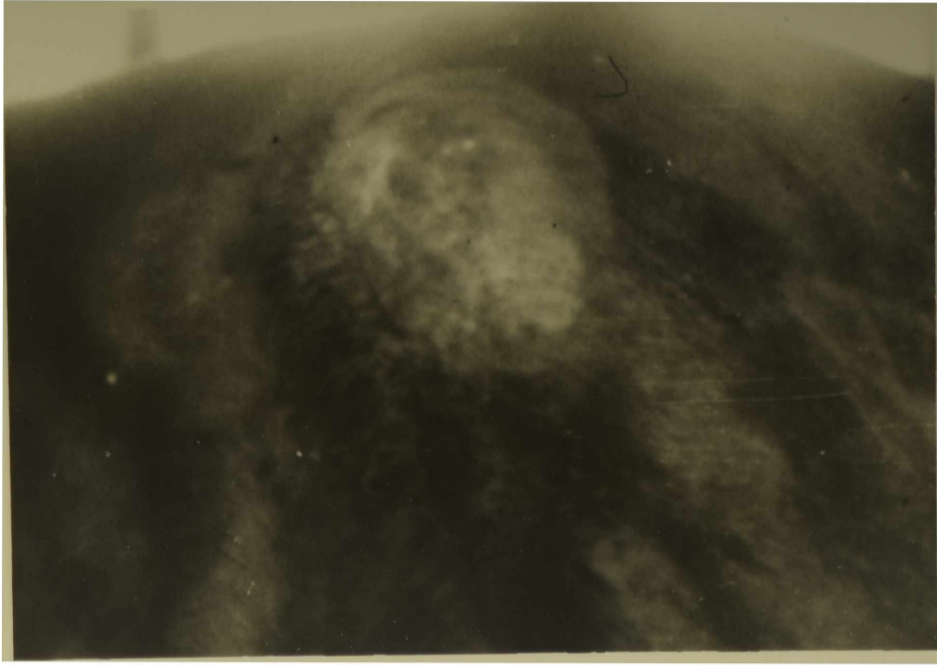


Foto 8: Area quirúrgica suturada



Foto 9: Colocación de la muestra en frasco estéril.

6.5 Diseño del plan terapéutico

6.5.1 Materiales

3 equinos hembras clínicamente sanos

Jeringas y agujas descartables

Cefoperazona sódica (Cefobid (r) Pfizer Argentina)

Tubos de centrifuga estériles

Pipetas Pasteur

Centrífuga

Equipamiento para la determinación de concentraciones por método microbiológico (ver Punto 6.7)

Cronómetro

6.5.2 Métodos

6.5.2.1 Cálculo de la dosis

En base a los resultados obtenidos en el análisis farmacocinético se procedió al cálculo del régimen de dosificación más adecuado para cefoperazona por la vía IM.

Este cálculo se realizó teniendo como objetivo mantener en el tiempo de duración de dicho tratamiento, concentraciones plasmáticas por encima de 0.4 µg/ml (CIM para la mayoría de los gérmenes sensibles al antibiótico).

La ecuación utilizada para calcular la dosis de mantenimiento (Dm) fue la siguiente:

$$D_m = C_p (\min) \frac{V_d}{B} (e^{+\beta t} - 1)$$

Donde

Dm: dosis de mantenimiento en mg.Kg⁻¹

Cp: mínima concentración plasmática deseada

Vd: Volumen de distribución obtenido por método de extrapolación (ml. Kg⁻¹)

e: Base de los logaritmos naturales

β: Constante de la tasa de eliminación (h⁻¹)

t: Intervalo de dosis deseada (horas)

La ecuación usada para calcular la dosis de ataque fue la siguiente:

$$D_a = D_m (1 / (1 - e^{-\beta t}))$$

Donde

Da: Dosis de ataque (mg. Kg⁻¹)

Dm: Dosis de mantenimiento (mg. Kg⁻¹)

6.5.3 Corroboración práctica

Luego de obtenida la D_a y D_m para la vía IM, se procedió a la corroboración práctica del régimen de dosificación antes calculado.

Se eligió como modelo para la comprobación la administración de cefoperazona por la vía IM, por considerar a esta vía como de mayor practicidad en medicina veterinaria.

Esta comprobación práctica se realizó en 3 equinos hembras, clínicamente sanos, que recibieron 4 dosis de cefoperazona cada 8 horas (1 D_a y 3 D_m), por la vía IM en la región isquiotibial. Las mismas se hicieron a razón de 14.21 mg/Kg para D_a y 13.76 mg/Kg para D_m .

Se extrajeron muestras sanguíneas a los siguientes tiempos 1,2,4,5 y 8 horas después de cada administración de antibiótico. La concentración correspondiente a las 8 horas fue obtenida por extrapolación no lineal, utilizandose para tal fin el programa ADAPT.

El suero obtenido fue ensayado por método microbiológico (ver punto 6.7)

6.6 Tratamiento de las muestras de suero, orina y esponja ósea previamente al dosaje de cefoperazona por método microbiológico

6.6.1 Suero

Las muestras de suero obtenidas luego de la administración IV fueron diluidas en suero normal equino libre de inhibidores del crecimiento bacteriano de la siguiente manera:

Muestra	Dilución
1	1/4
2	1/4
3	1/4
4	1/3
5	1/3
6	1/2
7	1/2
8	1/2

6.6.2 Orina

Las muestras de orina obtenidas luego de la administración IV e IM fueron diluidas en orina normal equina libre de inhibidores del crecimiento bacteriano de la siguiente manera:

Muestra IV	Dilución	Muestra IM	Dilución
1	1/4	1	1/3
2	1/4	2	1/3
3	1/4	3	1/2
4	1/3	4	1/2
5	1/3	5	1/2

6	1/2	6	1/2
7	1/2	7	1/2
8	1/2	8	1/2

6.6.3 Esponja ósea

Las muestras se trabajaron bajo campana de flujo laminar. El primer paso consistió en separar cuidadosamente la esponja ósea de la cortical, utilizando para tal fin una pinza de disección y bisturí. Una vez separada de la cortical, la esponja ósea se pesó en balanza analítica y se colocó en tubos de vidrio adicionándole buffer fosfato pH 7 en una relación 1/3. Se trituró la muestra con mortero dejando así el preparado durante 22 horas hasta alcanzar el equilibrio final entre las fases (líquida y sólida). Posteriormente, la fase líquida se utilizó para la siembra en placa (Wittman, 1982).

A las concentraciones obtenidas por dicho método se les restó un 2 % debido a la contaminación de la muestra con sangre y por restos de sangre dentro de la misma (Wittman, 1982)

6.7 Determinación de cefoperazona sódica en las muestras obtenidas

6.7.1 Puesta a punto del método microbiológico

6.7.1.1 Materiales

- Medio de cultivo Mueller Hinton
- Cefoperazona sódica (Cefobid (r) Pfizer, Argentina)
- Cilindros de acero inoxidable de 8 mm de diámetro externo y 5.4 de diámetro interno (estériles)
- Pipetas automáticas
- Suero equino libre de antibiótico
- Placas de vidrio de 25 x 25 cm y 2.5 cm de altura (estériles)
- Bacillus subtilis ATCC 6633
- Planilla para la ubicación de los cilindros en la placa
- Marcadores al solvente
- Vernier
- Estufa de cultivo (37 °C)
- Ansa de platino
- Material de vidrio estándar

6.7.2 Métodos

6.7.2.1 Preparación del inóculo

El microorganismo que se utilizó para la determinación de cefoperazona en suero, orina, líquido sinovial y esponja ósea fue la cepa ATCC 6633 del Bacillus subtilis. Este se obtuvo del

cepario nacional (Instituto Malbran Bs As)

Se realizó una suspensión madre de 1 ml en 100 ml de solución fisiológica estéril obteniéndose una dilución 10^{-4} . Antes de usar se diluye 1/10 y a partir de esta solución se prepara una suspensión con 50 % de transmitancia al fotocolorímetro. 1 ml se inocula en el medio de cultivo cuyo volumen es de 120 ml.

6.7.2.2 Preparación de las soluciones patrones

Se pesaron 10 mg de droga pura (cefoperazona sódica, potencia 905 mg/g), esta cantidad fue disuelta en 10 ml de buffer fosfato Ph 7 dando como resultado una solución de 1 mg /ml de cefoperazona.

A partir de esta solución madre se prepararon diluciones de 100 µg/ml, 10 µ/ml, 5 µg/ml, 3.75 µg/ml, 1.875 µg/ml, 1.25 µg/ml y 0.625 µg/ml utilizando como disolvente suero equino, orina o líquido sinovial libre de antibiótico según las muestras a testear.

6.7.2.3 Preparación de las placas

Para la preparación de la placa se pesaron 4.44 g de medio Mueller Hinton cuya formula es

Infusión de carne	0.3
Hidrolizado de caseína	2.4
Almidón	1.0
Agar	13

y se diluyen en 100 ml de agua destilada, se agitó constantemente hasta que el medio estuvo completamente disuelto y se calentó a ebullición aproximadamente 1 minuto. A continuación se llevó al autoclave a 120 °C y una atmósfera de presión durante 20 minutos, una vez retirado del autoclave fue colocado en baño maria a 50 °C. A esta temperatura 1 ml del inóculo de *Bacillus subtilis* fue colocado agitando levemente con el fin de asegurar una distribución adecuada del inóculo en el medio de cultivo.

Se colocó la placa de vidrio estéril previamente termostatizada sobre una superficie perfectamente nivelada (la cual poseía en su base externa los números correspondientes a cada cilindro). Se volcó en su interior el medio de cultivo inoculado, se esperó la solidificación y se colocaron sobre la superficie del medio los cilindros de acero inoxidable.

6.7.2.4 Siembra

Con pipeta automática de 100 µl se sembraron en los cilindros las diluciones de la droga patrón y las muestras, anotándose el número de cilindro que recibió cada muestra en la

planilla. Estas muestras fueron sembradas por cuadruplicado.

Las placas así sembradas fueron llevadas a estufa de cultivo a 37 °C por 18 horas.

Una vez transcurrido el período de incubación, los halos de inhibición obtenidos fueron medidos por medio de un vernier. Los diámetros de los halos de inhibición fueron promediados y con esos valores se trazó una línea de regresión, considerando diámetro del halo en relación a la concentración y obteniéndose de esta manera, coeficiente de correlación (r), pendiente y ordenada en el origen.

7. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos luego del estudio farmacocinético de cefoperazona en suero, líquido sinovial y orina después de la administración IV, y los resultados obtenidos luego del estudio en suero, líquido sinovial, esponja ósea y orina después de su administración IM en equinos.

En las tablas I y II se presentan las concentraciones séricas individuales y promedios de cefoperazona sódica en función del tiempo luego de su administración IV e IM

En las tablas III y IV se presentan los parámetros farmacocinéticos individuales y promedios obtenidos luego de la administración de 30 mg/Kg de cefoperazona sódica por las vías IV e IM respectivamente

En las tablas V y VI se pueden observar las concentraciones individuales y promedios de cefoperazona en función del tiempo en líquido sinovial y orina luego de su administración IV

En las tablas VII, VIII y IX se presentan las concentraciones individuales y promedios de cefoperazona en función del tiempo en líquido sinovial, esponja ósea y orina luego de su administración IM

En la tabla X se pueden observar los valores de concentraciones séricas de cefoperazona en diferentes tiempos tras la administración de una dosis de ataque (Da) de 14.21 mg/Kg

y 3 dosis de mantenimiento (Dm) de 13.76 en equinos cada 8 horas

En la figura 12 se presenta la curva que representa las concentraciones séricas de cefoperazona en función del tiempo luego de la administración IV.

En la figura 13 se representa la evolución de las concentraciones en función del tiempo en líquido sinovial luego de la administración IV de 30 mg/Kg de cefoperazona sódica

En la figura 14 se representa la evolución de las concentraciones urinarias promedio de cefoperazona en función del tiempo luego de su administración IV.

En la figura 15 se representa la curva concentración vs tiempo en suero luego de la administración IM de cefoperazona sódica en equinos

En la figura 16 y 17 se observan la evolución de las concentraciones de cefoperazona en líquido sinovial y esponja ósea luego de su administración IM

En la figura 18 se representa la evolución de las concentraciones urinarias promedio de cefoperazona luego de su administración IM

En la figura 19 se representan los cambios de concentraciones séricas en función del tiempo tras la administración de 14.21 mg/Kg como dosis de ataque y 13.76 mg/Kg como dosis de mantenimiento con un intervalo entre dosis de 8 horas y 4 administraciones consecutivas.

Tabla I: Concentraciones séricas individuales y promedios de cefoperazona sódica luego de la administración IV a razón de 30 mg/kg en equinos.

TIEMPO	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESVID
0.083	63.39	50.63	61.50	49.24	43.00	52.00	53.29	7.75
0.166	47.29	31.10	44.60	35.61	32.00	38.00	38.10	6.62
0.250	40.45	28.72	37.36	32.70	29.00	26.50	32.45	5.47
0.333	34.70	19.76	25.80	22.55	20.00	23.00	24.30	5.55
0.500	30.00	16.00	20.80	19.21	18.00	16.50	20.08	5.16
0.666	25.00	14.00	15.00	15.05	10.30	15.00	15.72	4.90
1.000	16.00	9.30	10.00	10.00	8.20	10.00	10.58	2.74
1.500	11.00	6.00	7.00	7.10	6.03	7.70	7.47	1.84
2.000	7.10	5.00	5.20	5.12	4.50	6.20	5.52	0.95
2.500	5.50	3.80	4.00	-----	-----	4.50	4.45	0.76
3.000	4.30	3.30	3.30	3.00	2.50	3.30	3.28	0.59
4.000	3.20	2.20	2.20	2.00	1.30	-----	2.18	0.68

Tabla II: Concentraciones séricas individuales y promedios de cefoperazona sódica luego de la administración IM a razón de 30 mg/kg en equinos.

TIEMPO	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESVIO
0.083	6.23	3.79	5.82	5.78	6.40	8.00	6.00	1.35
0.166	7.97	5.70	6.25	6.85	7.20	8.50	7.08	1.05
0.333	7.76	7.12	5.92	7.15	7.29	8.50	7.29	0.85
0.500	6.96	5.52	5.45	6.26	6.76	8.00	6.49	0.96
0.666	6.23	5.21	5.26	5.78	5.80	7.00	5.88	0.67
1.000	5.23	4.72	4.60	5.19	5.00	6.20	5.16	0.56
1.500	4.20	3.92	3.80	4.00	3.65	5.00	4.09	0.48
2.000	3.50	3.18	3.10	3.40	2.94	4.00	3.35	0.38
3.000	2.40	2.13	2.10	2.30	-----	2.80	2.35	0.28
4.000	1.67	1.40	1.40	1.50	1.10	2.10	1.53	0.34
5.000	1.10	-----	1.00	1.10	-----	-----	1.07	0.06

Tabla III: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedios obtenidos luego de la administración IV de 30 mg/kg de cefoperazona sódica en equinos.

PARAMETRO	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESVIO
Cp ug/ml	95.34	81.28	83.43	64.98	54.77	78.06	76.31	14.37
A ug/ml	50.26	59.38	65.40	44.53	42.11	58.16	53.31	9.15
α 1/h	10.26	8.46	4.78	5.02	3.92	6.72	6.53	2.44
T 1/2 α min	4.05	4.91	8.70	8.29	10.61	6.18	7.12	2.50
B ug/ml	45.08	21.89	18.03	20.45	12.66	19.90	23.00	11.28
β 1/h	0.90	0.75	0.59	0.67	0.54	0.60	0.67	0.13
T 1/2 β h	0.77	0.92	1.17	1.03	1.28	1.15	1.05	0.19
K12 1/h	4.10	4.14	1.98	2.00	1.54	3.26	2.84	1.15
K21 1/h	5.33	2.82	1.50	2.03	1.31	2.17	2.53	1.47
Ke1 1/h	1.75	2.23	1.91	1.66	1.56	1.90	1.83	0.24
Vc l/kg	0.31	0.37	0.36	0.46	0.56	0.38	0.41	0.09
Vd(area) l/kg	0.61	1.10	1.14	1.13	1.62	1.19	1.13	0.32
Vd(B) l/kg	0.60	1.10	1.16	1.14	1.62	1.20	1.14	0.32
Cl(B) l.h/kg	0.54	0.82	0.68	0.76	0.88	0.72	0.73	0.12
AUC ug.h/ml	49.37	31.05	35.97	33.42	28.12	31.48	34.90	7.55
MRT h	1.89	1.25	1.14	1.18	1.15	1.02	1.27	0.31

Tabla IV: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedios obtenidos luego de la administración IM de 30 mg/kg de cefoperazona sódica en equinos.

PARAMETRO	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESVIO
Ka 1/h	17.55	11.32	27.32	17.29	17.77	24.69	19.32	5.77
T 1/2 abs min	2.37	3.67	1.52	2.40	2.34	1.68	2.33	0.76
B ug/ml	8.72	7.03	6.72	7.86	8.60	9.48	8.07	1.06
Kel 1/h	0.45	0.40	0.38	0.42	0.54	0.41	0.43	0.06
T 1/2 el h	1.54	1.73	1.82	1.65	1.28	1.69	1.62	0.19
AUC ug.h/ml	17.65	13.63	14.67	16.17	13.86	18.16	15.69	1.94
F %	69.50	82.20	63.30	77.10	49.27	83.80	70.86	13.12
MRT h	1.86	1.64	1.88	1.87	1.51	1.61	1.73	0.16
Cmax ug/ml	7.97	7.12	6.25	7.15	7.29	8.50	7.38	0.78
Tmax min	10.00	15.00	10.00	20.00	20.00	10.00	14.17	4.92
Lagtime min	6.23	3.79	5.82	5.78	6.40	8.00	6.00	1.35

Tabla V: Concentraciones individuales y promedios de cefoperazona sódica en función del tiempo en líquido sinovial luego de la administración IV a razón de 30 mg/kg en equinos.

TIEMPO	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESVID
0.500	4.21	4.60	4.89	4.06	6.67	4.08	4.75	0.99
1.000	5.70	5.45	5.63	5.35	7.35	5.05	5.75	0.81
2.000	6.28	5.30	6.18	3.51	6.05	5.80	5.52	1.04
3.000	-----	4.00	3.16	2.59	4.84	4.11	3.74	0.88
4.000	3.99	3.46	1.68	2.13	1.83	3.28	2.72	0.97
6.000	0.13	2.36	-----	1.68	1.00	2.10	1.45	0.90
8.000	-----	0.80	0.60	1.00	0.60	1.00	0.80	0.20

Tabla VI: Concentraciones individuales y promedios de cefoperazona sódica en función del tiempo en orina luego de la administración IV a razón de 30 mg/kg en equinos.

TIEMPO	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESVID
0.500	38.80	23.94	50.20	44.96	80.16	47.66	47.62	18.50
1.000	44.51	57.29	67.34	47.44	81.44	54.98	58.83	13.68
1.500	47.01	60.75	67.00	53.22	83.37	57.76	61.52	12.66
2.000	39.50	51.22	53.16	49.17	65.41	45.40	50.64	8.70
3.000	36.39	53.75	52.69	45.57	44.34	38.93	45.28	7.03
4.000	24.81	38.20	37.39	31.60	29.78	28.14	31.65	5.26
5.000	4.02	33.40	36.50	28.96	27.47	25.71	26.01	11.48
6.000	4.17	14.00	30.29	24.66	22.27	21.62	19.50	9.17
8.000	3.74	13.34	20.15	9.04	10.00	9.60	10.97	5.45
10.000	-----	12.16	9.26	8.45	9.22	7.09	9.24	1.86
12.000	2.00	11.32	6.61	6.62	8.10	5.69	6.72	3.05

Tabla VII: Concentraciones individuales y promedios de cefoperazona sódica en función del tiempo en líquido sinovial luego de la administración IM a razón de 30 mg/kg en equinos.

TIEMPO	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESVIDO
0.500	1.00	1.00	0.85	1.00	0.90	1.00	0.95	0.06
1.000	3.77	1.87	2.80	2.75	3.70	2.00	2.81	0.80
2.000	3.30	1.40	4.00	3.60	2.69	2.45	2.91	0.93
3.000	2.80	1.20	2.90	3.00	2.20	1.70	2.30	0.73
4.000	2.00	1.00	2.10	2.10	2.00	1.00	1.70	0.54
5.000	1.50	0.70	1.60	1.55	1.45	0.80	1.27	0.40

Tabla VIII: Concentraciones individuales y promedios de cefoperazona sódica en función del tiempo en esponja ósea luego de la administración IM a razón de 30 mg/kg en equinos.

TIEMPO	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESUDIO
0.500	1.48	1.75	-----	1.30	5.53	5.52	3.12	2.20
1.000	3.54	4.21	4.32	4.00	6.68	6.15	4.82	1.28
2.000	-----	6.07	5.52	5.50	4.32	6.37	5.56	0.78
4.000	-----	3.57	3.14	3.20	3.14	4.32	3.47	0.51
6.000	1.88	1.75	1.96	1.60	1.95	3.14	2.05	0.55
8.000	1.46	-----	1.45	-----	0.98	1.95	1.46	0.40

Tabla IX: Concentraciones individuales y promedios de cefoperazona sódica en función del tiempo en orina luego de la administración IM a razón de 30 mg/kg en equinos.

TIEMPO	ANIMAL 1	ANIMAL 2	ANIMAL 3	ANIMAL 4	ANIMAL 5	ANIMAL 6	MEDIA	DESVIDO
0.500	50.00	44.00	69.70	-----	48.00	15.00	45.34	19.65
0.666	69.00	52.00	70.00	54.00	54.00	22.00	53.50	17.36
1.000	53.00	35.00	55.00	-----	52.00	24.00	43.80	13.66
2.000	51.00	30.00	52.00	45.00	49.00	24.50	41.92	11.74
3.000	43.00	28.00	50.00	44.00	41.00	37.50	40.58	7.40
4.000	42.00	25.00	47.00	-----	40.00	30.00	36.80	9.04
5.000	40.00	24.00	45.00	-----	36.00	27.00	34.40	8.79
6.000	38.00	22.00	42.00	34.20	30.00	25.40	31.93	7.59
8.000	27.00	15.50	27.00	22.00	25.00	17.30	22.30	4.96
12.000	10.00	10.00	12.00	9.70	11.00	9.40	10.35	0.97

Tabla X : Se presentan los valores de concentraciones séricas de cefoperazona en diferentes tiempos, tras la administración de 4 dosis cada 8 horas por vía IM a razón de 14.21 mg/kg (Da) y 13.76 mg/kg (Dm). Estos valores son promedios de las concentraciones obtenidas en los 3 equinos utilizados para la corroboración práctica del régimen teórico elegido. (La concentración correspondiente a las 8 horas fué obtenida por extrapolación a través del empleo de programas de iteración no lineal (ADAPT)).

Nro Dosis	Tiempo de Muestreo	Conc. Séricas de Cefoperazona ug/ml
1ra (Da)	1 h	3.50 ± 1.50
	2 h	2.10 ± 0.90
	4 h	0.91 ± 0.10
	5 h	0.61 ± 0.09
	8 h	0.42 ± 0.01
2da (Dm)	1 h	3.60 ± 1.00
	2 h	2.00 ± 0.80
	4 h	1.00 ± 0.50
	5 h	0.65 ± 0.07
	8 h	0.45 ± 0.09
3ra (Dm)	1 h	3.50 ± 1.10
	2 h	1.90 ± 0.20
	4 h	0.91 ± 0.10
	5 h	0.59 ± 0.08
	8 h	0.43 ± 0.03
4ta (Dm)	1 h	3.45 ± 1.20
	2 h	2.50 ± 0.80
	4 h	1.10 ± 0.50
	5 h	0.62 ± 0.08
	8 h	0.45 ± 0.03

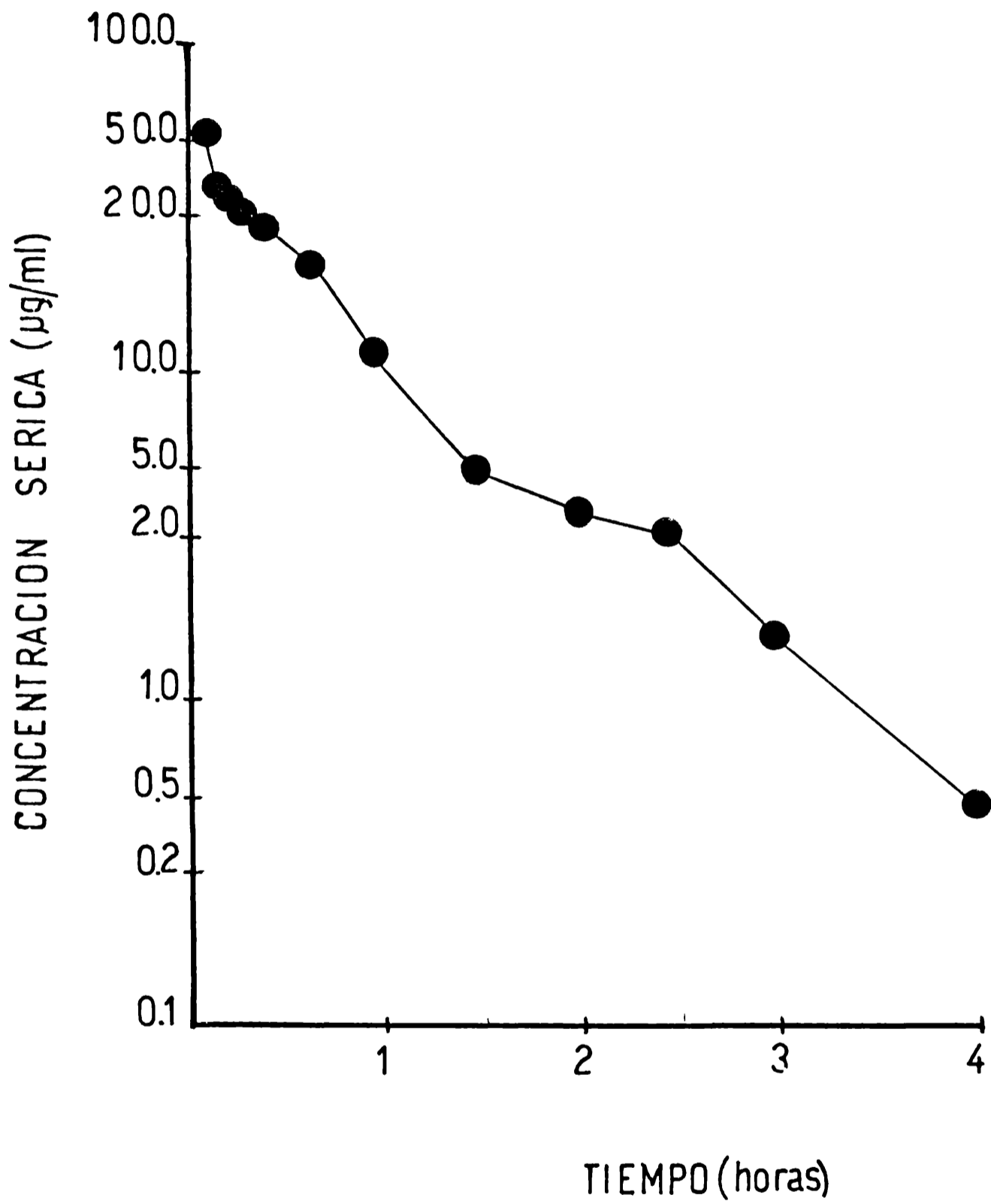


Figura 12: Gráfica de las concentraciones séricas promedio de cefoperazona en función del tiempo tras ser administrada por la vía IV en equinos a la dosis de 30 mg/Kg

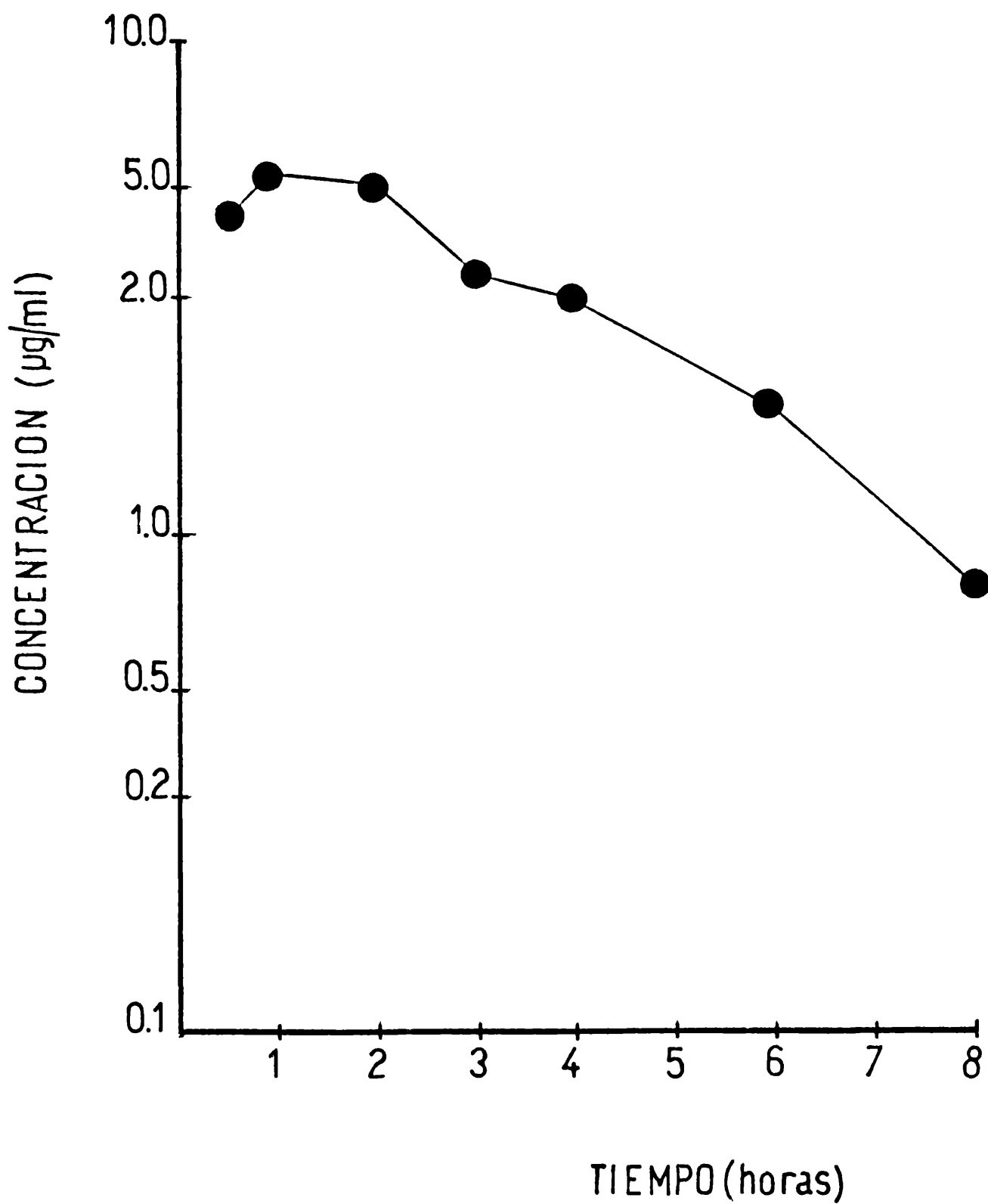


Figura 13: Gráfica de las concentraciones sinoviales promedio de cefoperazona en función del tiempo tras ser administrada por la vía IV en equinos a la dosis de 30 mg/Kg

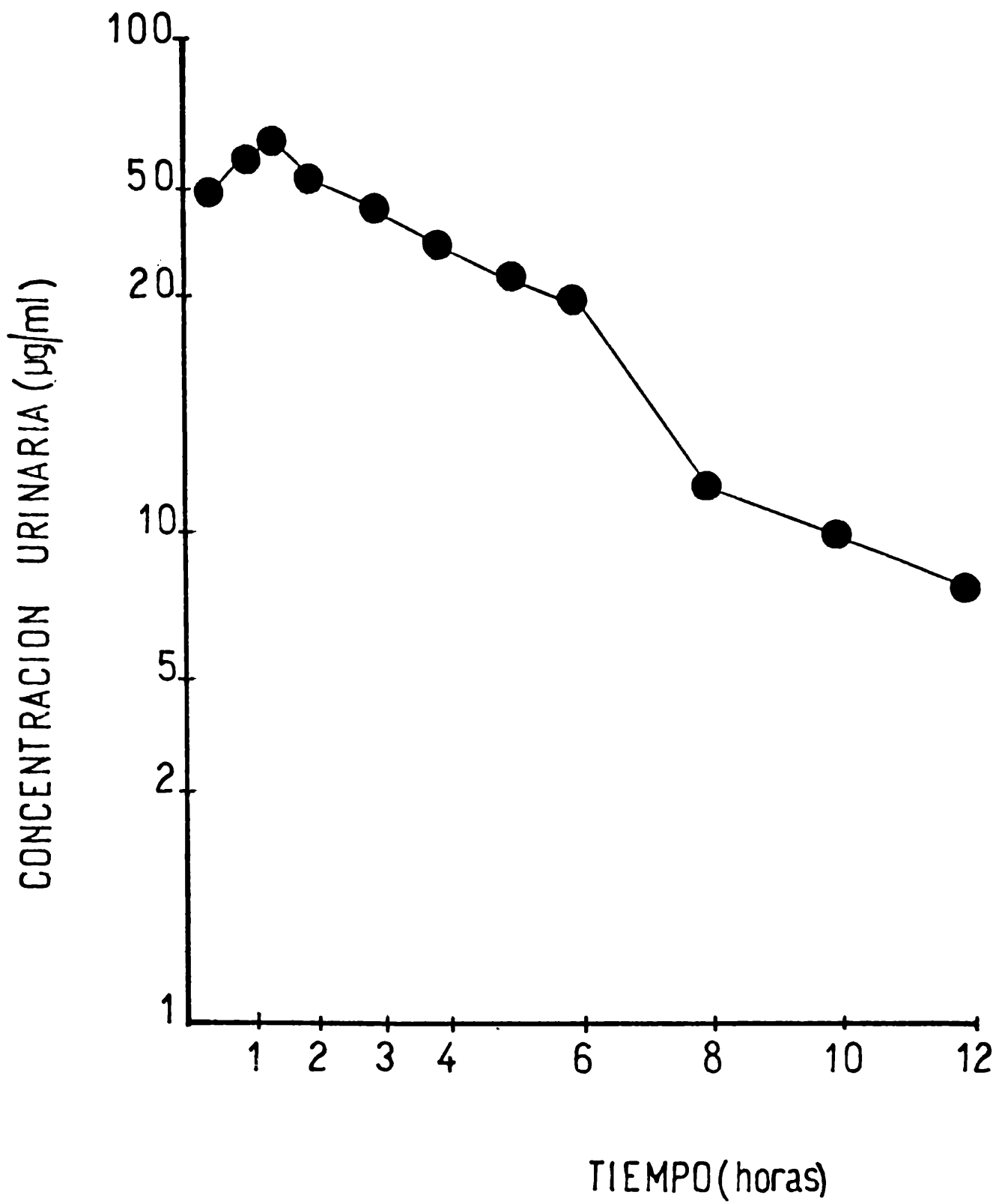


Figura 14: Gráfica de las concentraciones urinarias promedio de cefoperazona en función del tiempo tras ser administrada por la vía IV en equinos a la dosis de 30 mg/Kg

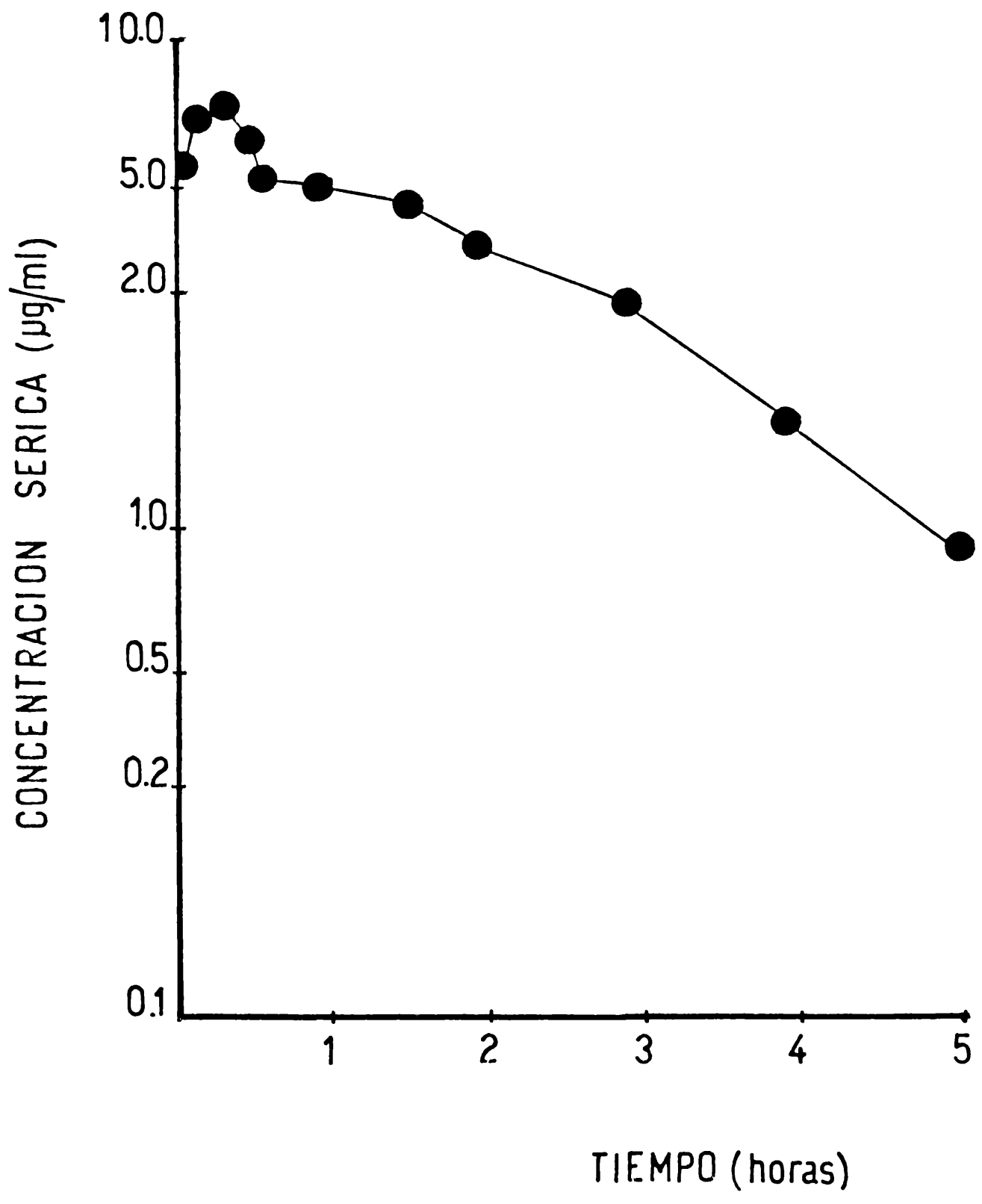


Figura 15: Gráfica de las concentraciones séricas promedio de cefoperazona en función del tiempo tras ser administrada por la vía IM en equinos a la dosis de 30 mg/Kg

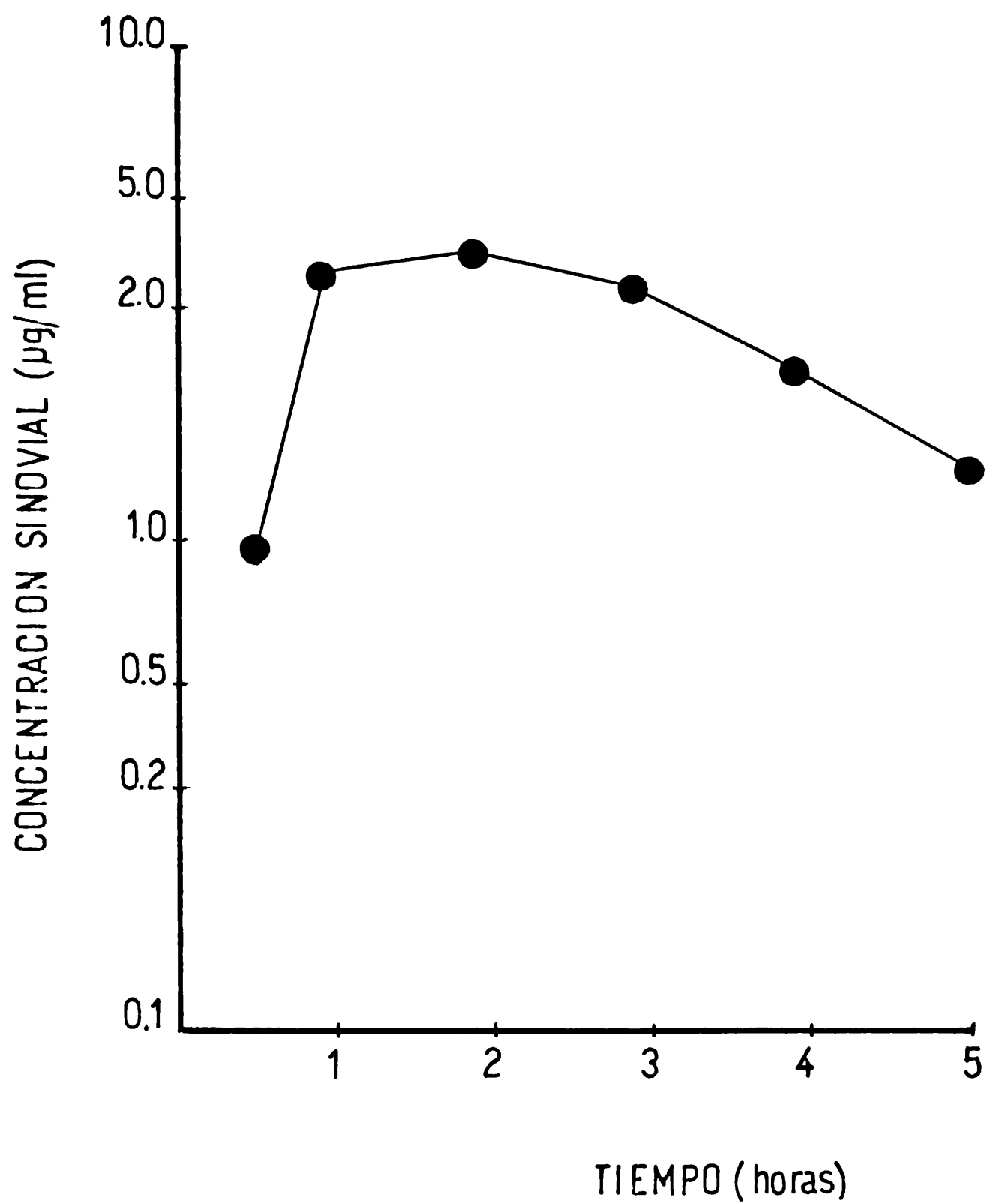


Figura 16: Gráfica de las concentraciones sinoviales promedio de cefoperazona en función del tiempo tras ser administrada por la vía IM en equinos a la dosis de 30 mg/Kg

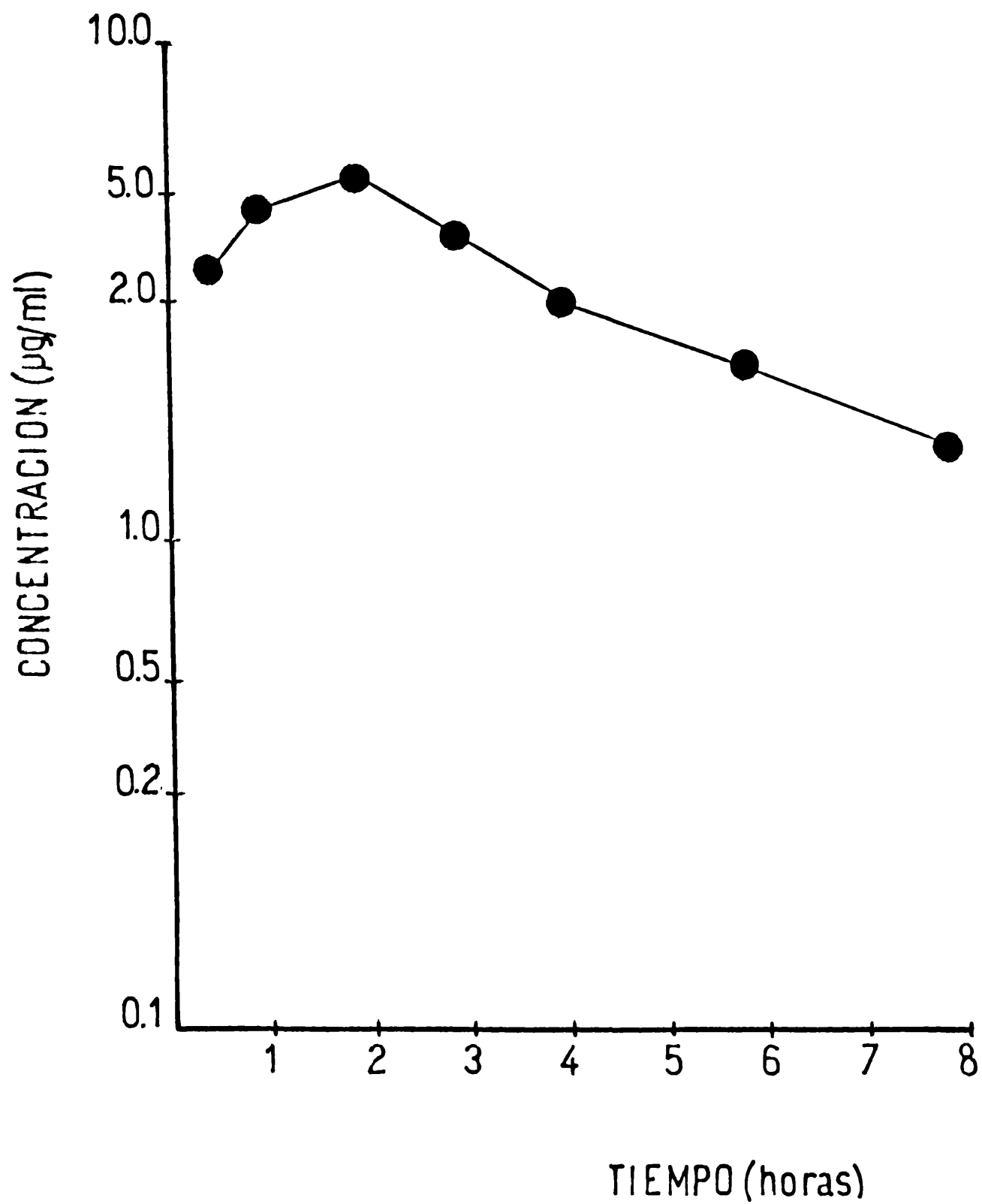


Figura 17: Gráfica de las concentraciones en esponja ósea promedio de cefoperazona en función del tiempo tras ser administrada por la vía IM en equinos a la dosis de 30 mg/Kg

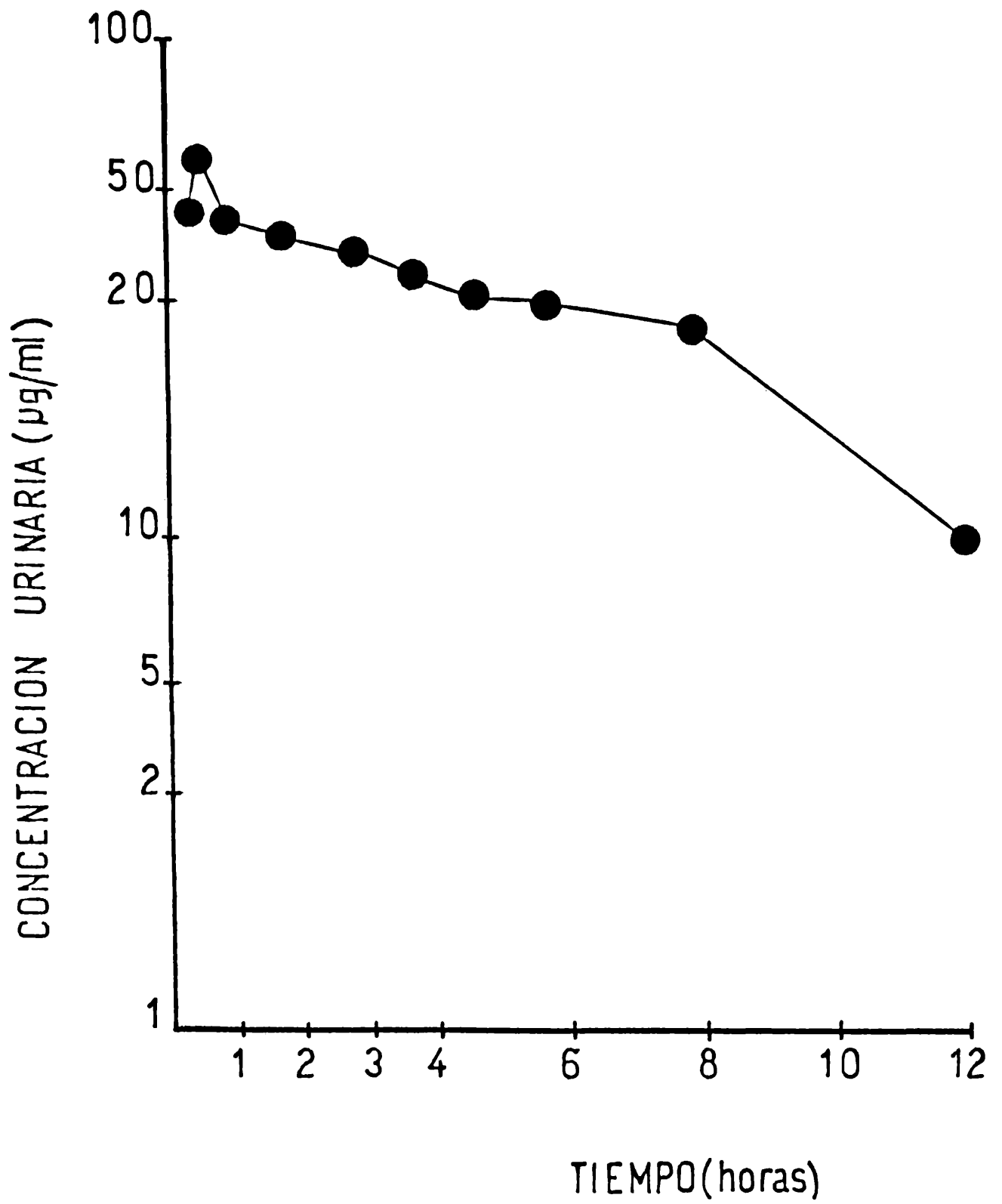


Figura 18: Gráfica de las concentraciones urinarias promedio de cefoperazona en función del tiempo tras ser administrada por la vía IM en equinos a la dosis de 30 mg/Kg

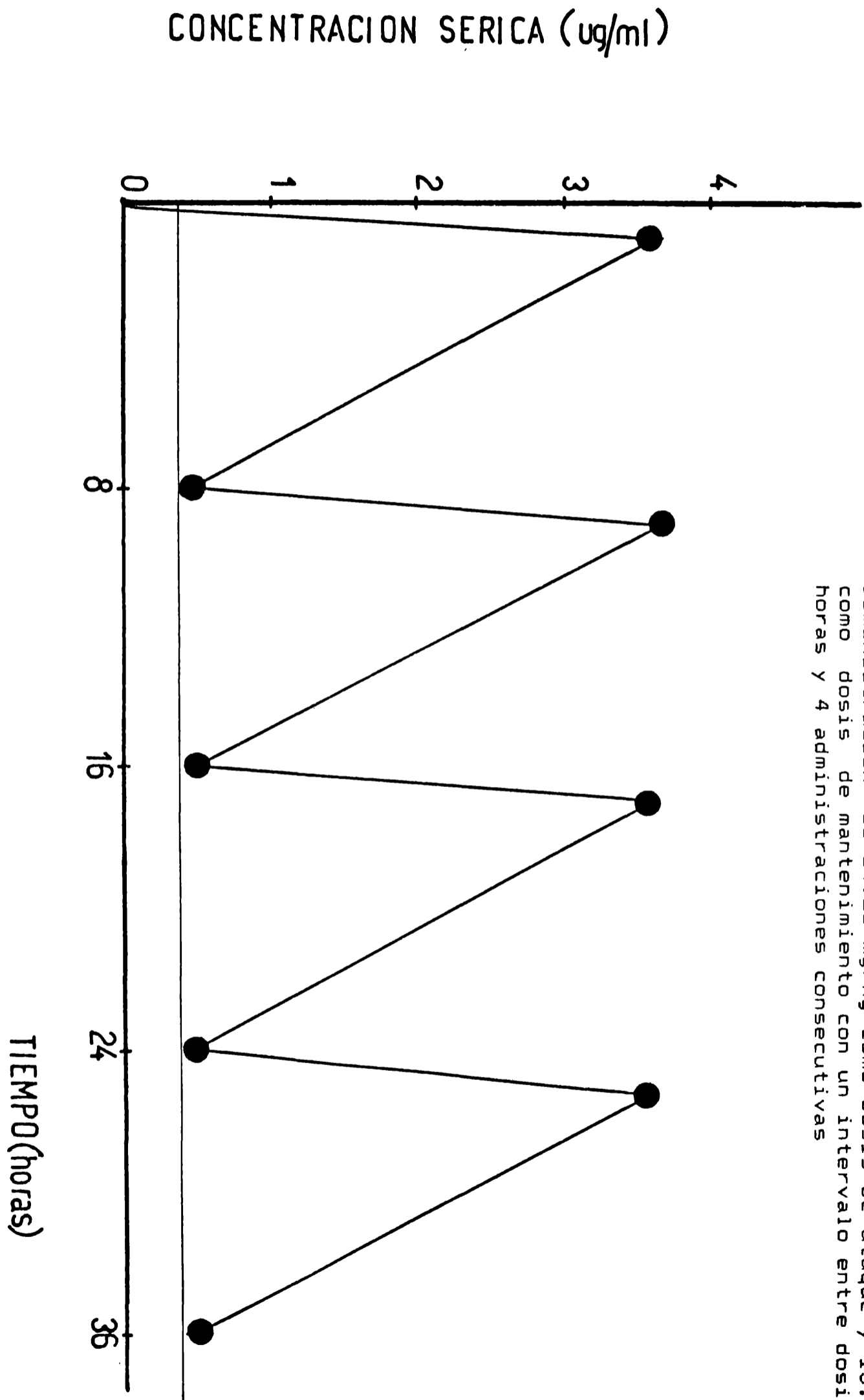


Figura 19: Gráfica de los cambios de concentraciones séricas promedio de cefoperazona en función del tiempo tras la administración de 14.21 mg/Kg como dosis de ataque y 13.76 mg/Kg como dosis de mantenimiento con un intervalo entre dosis de 8 horas y 4 administraciones consecutivas

8. DISCUSION Y CONCLUSIONES

8.1. Estudio farmacocinético de cefoperazona luego de su administración intravenosa (IV) en equinos.

Por la aplicación del test MAICE a la curva de disposición de cefoperazona luego de su administración IV, se discriminó un modelo abierto bicompartimental como el más adecuado para describir los datos. Esto concuerda con la mayoría de los estudios de esta droga en diferentes especies animales y en el hombre (Naber, 1980; Shimizu, 1982; Guerini, 1985; Carli, 1986; Bergam, 1987; Mariño, 1987; Caprile, 1988; Voezeh, 1988; Siakawa, 1979). La excepción estaría representada por un reporte de Lode (1980) donde se cita un modelo tricompartmental, aunque en estos casos no se indica el método de discriminación empleado.

La distribución de la droga desde el compartimiento central fue rápida con un $T_{1/2\alpha}$ 7.12 ± 2.50 min, representando un valor intermedio entre los reportados para cefoperazona en bovinos ($T_{1/2\alpha}$: 12.48 min), y para conejos y humanos (4 y 5.5 minutos respectivamente) (Shimizu, 1982; Mariño, 1987).

La relación de las constantes reales de distribución K_{12}/K_{21} fue mayor a 1, lo que evidencia un rápido pasaje de la droga desde el compartimiento central al periférico (representado por los tejidos menos irrigados). A su vez el valor de K_{el} es

menor con respecto a K_{12} es decir que la droga se distribuye a mayor velocidad que la que emplea para eliminarse (Del compartimiento central), por lo tanto tiene mayores posibilidades de acceder las regiones farmacocinéticamente periféricas del organismo

Estos resultados no coinciden con los determinados para otros β lactámicos en equinos como amoxicilina (Bowman, 1986) con un valor de K_{el} y K_{12} (1.69 y 0.27 1/h respectivamente), ni tampoco con los citados para cefoperazona en ovinos (Guerini, 1985), en este último, el valor de K_{el} (4.41 h/1) es mayor al valor de K_{12} (3.56 1/h), esto causaría una rápida eliminación del compartimiento central con menor distribución al periférico. Si bien estos datos son difíciles de discutir, las diferencias podrían deberse, en el primer caso a que se trata de una de las droga más liposolubles dentro del grupo de los β lactámicos y en el segundo caso no encontramos razones claras mas allá de la diferencia entre especies y una posible mayor habilidad del riñon ovino para eliminar la droga

El volumen del compartimiento central fue de 0.41 ± 0.09 l , mayor que el reportado para cefoperazona en bovinos (Carli, 1986).

En la determinación del volumen de distribución utilizamos 2 métodos, el del área (V_d) y el de extrapolación (área)

(Vd) , obteniéndose los siguientes resultados: Vd : 1.13 l/Kg
(B) (área)

Vd : 1.14 l/Kg, estos volúmenes son considerados altos (Baggot,
(B)

1986), lo que evidencia una elevada distribución en el organismo. Los valores obtenidos son mayores que los determinados para otras cefalosporinas ensayadas en equinos (Ball, 1978; Barza, 1978; Barry, 1982; Barriere, 1984; Caprile, 1988). Este volumen de distribución elevado, permite a la cefoperazona, cubrir un bache muy importante de todos los β lactámicos que es su escasa distribución tisular.

Cefoperazona presentó una vida media de eliminación ($T_{1/2 \beta}$) de 1.05 ± 0.19 h, lo que significa lenta eliminación con respecto a otros viejos miembros de esta familia de antibióticos, donde el tiempo medio en equinos oscila entre 15 y 50 minutos (Caprile, 1988). El valor de vida media determinado por nosotros, no difiere demasiado de los reportados para cefoperazona en bovinos y ovinos (Carli, 1986; Guerini, 1985) con 55.19 y 44.4 minutos respectivamente. Valores de $T_{1/2}$ mayores son citados por Bergam (1987) y Voezeh (1988) en humanos, con un $T_{1/2 \beta} : 2$ h.

El tiempo máximo de inhibición bacteriana de cefoperazona sódica luego de su administración IV fue de 4 horas, valor similar al reportado por Mariño (1987), Carli (1986) y Guerini (1985), tomando como CIM (concentración inhibitoria mínima) un valor ubicado entre 0.1- 0.4 $\mu\text{g/ml}$ para los patógenos más comunes en medicina veterinaria (Carli, 1986;

Gibbs, 1987); Stover, 1981)

En base a estos resultados , fundamentalmente su lenta eliminación, amplia distribución tisular y gran espectro de acción que la diferencia marcadamente de otros β lactámicos, podemos concluir que la cefoperazona administrada por la vía IV en equinos, podría ser de utilidad para el tratamiento de infecciones severas causadas por gérmenes susceptibles.

8.2 Estudio farmacocinético de cefoperazona luego de su administración intramuscular (IM) en equinos.

Por la aplicación del test MAICE a la curva de disposición de cefoperazona luego de su administración IM, se discriminó un modelo abierto de compartimiento único con una absorción de primer orden, como el capaz de hacer una mejor descripción del conjunto de datos. Concuerda con lo reportado por Carli (1986) para cefoperazona sódica en bovinos luego de su administración IM.

Tras su administración IM la cefoperazona presentó concentraciones iniciales de 6.0 ± 1.35 $\mu\text{g/ml}$ a los 5 minutos, estas concentraciones fueron aumentando rápidamente hasta alcanzar una concentración máxima (C_{max}) de 7.38 ± 0.78 $\mu\text{g/ml}$ a un tiempo (T_{max}) 14.17 ± 4.92 minutos post administración. Estos resultados marcan una importante diferencia con los reportes de Carli en bovinos (1986), con una C_{max} y T_{max} de 18.44 $\mu\text{g/ml}$ y

43.83 min respectivamente y Shimizu (1982) en humanos donde se cita una C_{max} de 21.8 $\mu\text{g/ml}$ a la hora post-administración.

La tasa de absorción fue rápida $T_{1/2\text{ abs}}$ 2.33 ± 0.76 min, mayor que la reportada por Carli en bovinos (1986), lo que aparece lógico frente a los valores de T_{max} comentados antes.

La biodisponibilidad (F) fue $F: 70.86 \pm 13.12 \%$, un valor que consideramos elevado. Existen diferencias al respecto con los resultados obtenidos por Carli (1986) en bovinos, evidenciando a igual dosis una liberación lenta de la droga desde el sitio de inyección y una absorción incompleta, siendo su disponibilidad biológica de sólo 47 %.

La vida media biológica tuvo un valor de 1.62 ± 0.19 h, mayor que para cualquier otra cefalosporina ensayada hasta el momento en equinos (Caprile, 1988; Barriere, 1984; Ball, 1978). Esta diferencia aparece como razonable al pensar que las cefalosporinas de primera y segunda generación son drogas con una importante hidrosolubilidad, pobre distribución tisular, fácilmente eliminadas desde el compartimiento central. No existen reportes sobre cefalosporinas de tercera generación en equinos que podamos utilizar como patrón comparativo.

Las concentraciones séricas se mantuvieron por encima de la CIM por más de 5 h para la mayoría de las bacterias implicadas en diferentes sépsis que comúnmente afectan a los equinos.

La administración IM de 30 mg/Kg de cefoperazona sódica proporciona rápidos y elevados niveles terapéuticos que hacen aparecer a la droga como opción superior frente a las cefalosporinas de uso tradicional.

8.3 Estudio del comportamiento farmacocinético de cefoperazona en líquido sinovial luego de su administración (IV) en equinos.

La técnica de extracción de líquido sinovial demostró ser la más adecuada a estos estudios permitiendo obtener un volumen por muestra de aproximadamente 1 ml

Se utilizó la articulación del carpo como lugar blanco para la extracción de líquido sinovial, debido a que previos reportes (Firth, 1988; Bowman, 1986), marcan diferencias significativas de antimicrobianos entre las distintas articulaciones.

La droga llega rápidamente a líquido sinovial (30 minutos) en concentraciones elevadas 4.75 µg/ml. La concentración máxima (C_{max}) fue de 5.75 µg/ml y la última concentración dosable tuvo un valor de 0.80 µg/ml a las 8 h post-administración. Hasta el momento no existen reportes de estudios de cefalosporinas de tercera generación en líquido sinovial de equinos como para hacer comparaciones. Se podría, sin embargo, comparar nuestros resultados con otros estudios de β lactámicos en sinovia de

equinos (Brow, 1986), en los que se cita para cefapirina una C_{max} de 4.6 $\mu\text{g/ml}$, similar a la reportada por Martin (1980) para cloxacilina, con una C_{max} de 4 $\mu\text{g/ml}$.

La vida media biológica de cefoperazona en líquido sinovial fue de 1.19 h, acercándose a su vida media sérica de 1.05 h.

La mayor permanencia de la droga en líquido sinovial nos hace pensar que puede existir secuestro articular. Si consideramos que se trata de una droga de naturaleza ácida que aparece parcialmente ionizada a pH plasmático (7.4), al difundir a través de la membrana sinovial y encontrar un pH más alto (pH 8), podría experimentar disociación, dificultándose su pasaje de vuelta al plasma.

La concentración de droga en líquido sinovial puede verse incrementada significativamente en procesos articulares infecciosos como consecuencia de un aumento en la perfusión y permeabilidad tisular (Stover, 1981; Brow, 1986; Firth, 1983, 1988) favoreciendo la resolución terapéutica del proceso.

En líquido sinovial de articulaciones clínicamente sanas, las concentraciones de cefoperazona se mantuvieron por más de 8 h por encima de la CIM para agentes patógenos aislados de articulaciones infectadas de equinos, siendo los más frecuentes: *Streptococcus* spp, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Actinobacillus* spp, *Bacteroides* spp y *Staphylococcus aureus*

(Bowman, 1986). Si tomamos en cuenta que el tratamiento local de la articulación no se recomienda (Firth, 1988) y que algunos autores lo contraindican (Mc Ilwraith, 1983), la administración sistémica de cefoperazona aparecería como una solución para el tratamiento de las patologías sépticas articulares de los equinos.

8.4 Estudio del comportamiento farmacocinético de cefoperazona en orina luego de su administración (IV) en equinos

La cefoperazona fue eliminada lentamente por orina, alcanzando una C_{max} de $61.52 \pm 12.66 \mu\text{g/ml}$ a las 1.5 h; la última concentración dosable tuvo un valor de $6.72 \pm 3.05 \mu\text{g/ml}$ a las 12 h post-administración.

Las cefalosporinas son antimicrobianos que no se metabolizan en el organismo, no obstante se citan en equinos algunos procesos de desacetilación (Caprile, 1988). La vía principal de eliminación es el riñon , a través de procesos de filtración y secreción tubular (Lee, 1980; Ruoff, 1985). Para las nuevas cefalosporinas de tercera generación se citan en humanos, bovinos y ovinos eliminación biliar como vía principal de eliminación (Shimizu, 1982; Carli, 1986; Guerini, 1985; Caprile, 1988).

El total de orina recuperado durante las 12 h de muestreo fue de 5 litros y el porcentaje de dosis recogida en la misma fue del 15.2 %. Este resultado se acerca al citado por

Lode (1980) en humanos donde el total de dosis eliminada fue del 20 % Se deduce, que al igual que en humano (Lode, 1980), bovinos y ovinos (Carli, 1986; Guerini, 1985), la droga sería eliminada por vía extrarenal, posiblemente hepática.

La cefoperazona presentó un clearance elevado 0.73 ± 0.12 l.h/Kg, mayor que los reportados por Guerini (1985) en ovinos (0.17 l.h/Kg) y por Bundtzen (1980) en humanos (0.10 l.h/Kg).

8.5 Estudio del comportamiento farmacocinético de cefoperazona en esponja ósea luego de su administración (IM) en equinos

La técnica utilizada por nosotros permitió la extracción de 1 g de tejido óseo por muestra, demostrando además ser simple y rápida, sin la necesidad de anestesia general, trabajando el animal de pie y no requiriendo de material de cirugía sofisticado. El abordaje quirúrgico no implica resección de tejido muscular y la hemorragia es mínima. El animal se recupera rápidamente sin manifestar dolor alguno. Por lo tanto podemos concluir que la biopsia ósea sobre la tuberosidad coxal se presenta como una excelente alternativa, para los estudios de disposición de fármacos en el organismo

La droga llega rápidamente a esponja ósea y en concentraciones elevadas (30 minutos, 3.12 $\mu\text{g/ml}$), alcanzando una C_{max} de 5.56 ± 0.78 $\mu\text{g/ml}$ a las 2 h post-administración. La última concentración dosada fue de 1.46 ± 0.40 $\mu\text{g/ml}$ a las 8 h.

No existen reportes de concentraciones de cefalosporinas modernas en esponja ósea de equinos como para hacer una comparación, sin embargo Caprile (1988), cita para las cefalosporinas de primera generación una penetración adecuada. En medicina humana, la cefoperazona es la cefalosporina de mayor penetración en tejido óseo (Wittman, 1982). En este estudio no se determinó la llegada de la droga a cortical ósea, dado que el tejido inorgánico no sirve de sustrato nutritivo para las bacterias, y por ende, pierde interés terapéutico (Wittman, 1982).

Por lo expuesto anteriormente podemos concluir que la cefoperazona sódica alcanza niveles superiores a la CIM por un tiempo no menor a las 8 h en esponja ósea de equinos. Esto lo transforma en un antibiótico de gran utilidad para el tratamiento de las patologías osteoarticulares de origen infeccioso.

8.6 Estudio del comportamiento farmacocinético de cefoperazona en líquido sinovial luego de su administración (IM) en equinos

Las concentraciones de cefoperazona en líquido sinovial fueron menores que las halladas en el mismo, luego de la administración IV y en esponja ósea, siendo su C_{max} $2.91 \pm 0.93 \mu\text{g/ml}$ a las 2 h post-administración. La última concentración determinada fue de $1.27 \pm 0.40 \mu\text{g/ml}$ a las 5 h luego de su administración.

Estas concentraciones son similares a las determinadas para cefapirina en equinos (Brow,1986), donde se cita una C_{max}

de $2.9 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ a las 2 h luego de la administración IM de 400 mg/Kg ; pero la CIM para este antimicrobiano es muy elevada y a esta concentración sólo estaría indicado en el tratamiento de infecciones causadas por *S.aureus* (CIM : $0.1 \mu\text{g/ml}$) (Brow, 1986).

Cefoperazona mantuvo, luego de la administración IM, concentraciones que estuvieron por encima de la CIM por más de 5 h para la mayoría de la bacterias aisladas de líquido sinovial. En consecuencia, de la misma forma que para la vía IV, la administración IM de cefoperazona estaría indicada para el tratamiento de las patologías sépticas articulares en los equinos

8.7 Estudio del comportamiento farmacocinético de cefoperazona en orina luego de su administración (IM) en equinos

La eliminación renal de cefoperazona es lenta, con una C_{max} de 53.50 ± 17.36 a los 40 minutos post-administración. La última concentración fue de $10.35 \pm 0.97 \mu\text{g/ml}$ a las 12 h. El total de droga recuperada durante 12 h de muestreo fue el 11 % de la dosis promedio administrada ($12.4 \pm 2.28 \text{ g}$). Este porcentaje es similar al obtenido en humanos ,donde la recuperación urinaria de la droga luego de su administración IM fue del 15 % (Shimizu, 1982). Por lo tanto podemos concluir que luego de su administración IM en equinos la cefoperazona, sufriría una importante eliminación extrarenal, posiblemente hepática, de la misma manera que la reportada para otras especies (bovinos, ovinos y hombre) (Caprile, 1988).

8.8 Plan terapéutico para la vía intramuscular

Los valores cinéticos para cefoperazona, luego de la administración que nos interesan en el diseño de planes de administración son: K_e (0.43) y $V_d(B)$ (1.14 l/Kg). En base a las ecuaciones descriptas en el punto 6.5.2.1 se presentan en el siguiente cuadro las distintas dosis de mantenimiento (D_m) de acuerdo a los diferentes intervalos de dosis (ID). Considerando una CIM promedio de 0.4 $\mu\text{g/ml}$ para las bacterias menos sensibles a cefoperazona tenemos:

ID (horas)	D_m (mg/Kg)
6	5.56
8	13.76 *

$$D_m = 0.4 \cdot 1140 \cdot \left(e^{+0.43 \cdot 8} - 1 \right) = 13.76 \text{ mg/Kg}$$

La administración cada 8 horas de $D_m = 13.76 \text{ mg/Kg}$ es la más correcta, porque al aumentar el intervalo sólo en 4 horas, las dosis se elevan en gran proporción. Para dicho intervalo corresponde una dosis de ataque como se calcula a continuación:

$$D_a = 13.76 \cdot \frac{1}{1 - e^{-0.43 \cdot 8}} = 14.21 \text{ mg/Kg}$$

8.8.1 Corroboración práctica

En la tabla X se presentan los valores de concentraciones séricas de cefoperazona en diferentes tiempos, tras la administración de 4 dosis cada 8 horas por vía intramuscular a razón de (Da) 14.21 mg/Kg y 13.76 mg/Kg como dosis de mantenimiento. Dichos valores son promedio de las concentraciones obtenidas en los 3 equinos utilizados para la corroboración. Los cambios de concentraciones séricas en función del tiempo para dicho plan se representan en la Fig 17.

9. CONCLUSIONES GENERALES

- El comportamiento farmacocinético de cefoperazona sódica luego de su administración IV en equinos se ajustó a un modelo abierto bicompartimental.
- Luego de su administración IV presentó un tiempo medio de distribución ($T_{1/2\alpha}$) rápido de 7.12 ± 2.50 min y una vida media biológica larga ($T_{1/2\beta}$) 1.05 ± 0.19 horas comparadas con otras cefalosporinas.
- La relación entre las constantes reales de distribución (K_{12}/K_{21}) dio una relación mayor de 1, lo que indica un rápido pasaje de la droga del compartimiento central al periférico.
- El volumen de distribución de V_d (área) y V_d (B) fue de 1.13 y 1.14 l/Kg respectivamente, indicando una amplia distribución tisular, que la diferencia marcadamente de otros β lactámicos.
- Por la aplicación del test MAICE a la curva de disposición de cefoperazona luego de la administración por la vía IM, el modelo farmacocinético que mejor se adaptó fue un modelo abierto monocompartimental con una constante de absorción de primer orden.
- La concentración sérica máxima (C_{max}) luego de la administración IM fue 7.38 ± 0.78 $\mu\text{g/ml}$ alcanzada a los $14.17 \pm$

4.92 min . Esto indica rápida absorción en magnitud elevada

- Tras la administración IM de cefoperazona sódica la vida de eliminación fue de 1.62 ± 0.19 horas , valor relativamente largo comparado con otras cefalosporinas y β lactámicos ensayados en equinos.

- La disponibilidad biológica tuvo un valor de 70.86 % para la vía IM por lo que se puede decir que hay una buena absorción.

- Las técnicas utilizadas para la extracción de líquido sinovial y esponja ósea dieron excelentes resultados y son recomendadas para la realización de este tipo de estudio

- Luego de la administración IV. La cefoperazona llega rápidamente al líquido sinovial (30 min) alcanzando una concentración máxima (Cmax) de 5.75 ± 0.81 una hora luego de la administración.

- Luego de la administración IM, la Cmax en líquido sinovial fue de 2.91 ± 0.93 $\mu\text{g/ml}$ a las 2 horas post administración sugiriendo rápida penetración.

- Las concentraciones obtenidas en esponja ósea tras la administración IM de cefoperazona fueron elevadas, presentando una concentración máxima (Cmax) y un tiempo máximo (Tmax) de 5.56 ± 0.78 $\mu\text{g/ml}$ y 2 horas respectivamente.

- Las concentraciones en líquido sinovial y esponja ósea para las 2 vías se mantuvieron por encima de la CIM promedio (0.4 µg/ml) por más de 5 y 8 h respectivamente para los patógenos de común aparición en los equinos.

- Luego de la administración IV e IM la recuperación urinaria de la dosis fue de 15 y 11 % respectivamente, lo que indica una importante eliminación extrarenal.

- El diseño del plan terapéutico dió como resultado una dosis de ataque (Da): 14.21 mg/Kg y una dosis de mantenimiento (Dm) de 13.76 mg/Kg cada 8 h, lo que aparece interesante ya que el solvente utilizado fue solamente agua para inyectar

- Finalmente podemos concluir que la administración de cefoperazona sódica por las vías IV e IM presentan una vida media prolongada y una amplia distribución tisular, con concentraciones séricas, sinoviales, óseas y urinarias para las 2 vía por encima de la CIM (0.4 µg/ml) para las bacterias de frecuente aparición clínica. En consecuencia, cefoperazona aparecería como un nuevo antimicrobiano de gran utilidad práctica en medicina veterinaria, especialmente si se la formula en preparados que alarguen los periodos entre dosis

10. RESUMEN

Los principales objetivos de este trabajo fueron:

- Determinar las características farmacocinéticas de cefoperazona en suero , líquido sinovial y orina luego de su administración IV.
- Determinar las características farmacocinéticas de cefoperazona en suero , líquido sinovial , esponja ósea y orina luego de su administración IM.
- Determinar un plan terapéutico apropiado.

En estos experimentos se trabajó con 6 equinos hembras de un peso aproximado 405 ± 80 Kg, que recibieron cefoperazona a razón de 30 mg/Kg. El cronograma de extracción de las diversas muestras se presentan en la tabla XI.

Las concentraciones de cefoperazona en suero, líquido sinovial, esponja ósea y orina fueron determinados microbiológicamente por el empleo de *Bacillus subtilis* ATCC como microorganismo test.

El análisis farmacocinéticos de cefoperazona tras su administración IV e IM fue realizado a través de programas de iteración no lineal. El cálculo de las áreas bajo la curva concentración tiempo fue realizado por el método de los

Tabla XI: Tiempos de muestreo post aplicación de cefoperazona a razón de 30 mg/Kg en equinos.

VIA	MUESTRA	MINUTOS						HORAS											
		5	10	15	20	30	40	1	1.5	2	2.5	3	4	5	6	8	10	12	
IV	SANGRE	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	LIQ.SINOVIAL					X		X		X		X	X		X	X			X
	ORINA					X		X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X
IM	SANGRE	X	X		X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X
	LIQ.SINOVIAL					X		X		X		X	X	X		X	X		
	ESPONJA OSEA					X		X		X			X		X	X	X	X	X
	ORINA					X	X	X		X		X	X	X	X	X	X	X	X

trapezoides. La biodisponibilidad fue calculada por el método de superposición de áreas bajo la curva (AUC). La discriminación del modelo farmacocinético que mejor adaptación tuvo a la curva de disposición del fármaco en el organismo se realizó por el empleo del test MAICE (Minimun Akaike Information Criterion Estimation). El análisis farmacocinético por la vía IV se realizó siguiendo un modelo abierto bicompartimental.

Cefoperazona demostró tener una rápida distribución ($T_{1/2 \alpha}$: 7.12 ± 2.50 min). El volumen de distribución fue 1.13 l/Kg. La velocidad de pasaje intercompartimental K_{12}/K_{21} dió un valor mayor a 1, indicando un rápido pasaje de la droga del compartimineto central al periférico. La vida media de eliminación fue larga comparada con otros β lactámicos ($T_{1/2 \beta}$: 1.05 ± 0.19 h).

En el estudio farmacocinético de cefoperazona luego de su administración IM, se siguió un modelo abierto de compartimiento único con una constante de absorción de primer orden. La biodisponibilidad biológica fue elevada $F = 70.86 \%$. Una tasa de absorción rápida ($T_{1/2}$ de absorción 2.33 ± 0.76 min), una concentración máxima (C_{max}) y el tiempo a que esta se alcanza (T_{max}) de 7.38 ± 0.78 $\mu\text{g/ml}$ y 14.17 ± 4.92 min respectivamente, permitiendo inferir que óptimos niveles terapéuticos son alcanzados en corto tiempo. La vida media biológica fue de 1.62 h, mayor que para otras cefalosporinas ensayadas en equinos.

La eliminación renal es lenta y el total de droga recuperada en orina luego de 12 horas de muestreo para las vías (IV e IM) fue de 15 y 11 % respectivamente de la dosis promedio administrada (12.4 ± 2.28 g totales), lo que nos lleva a deducir que una importante eliminación extrarenal, posiblemente hepática tiene lugar.

Las concentraciones de cefoperazona en líquido sinovial fueron elevadas, alcanzando una Cmax luego de administración IV e IM de 5.75 y 2.91 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente.

Las concentraciones de cefoperazona en esponja ósea alcanzaron una Cmax de 5.56 $\mu\text{g/ml}$ a las 2 hs post administración IM.

El diseño del plan terapéutico dio como resultado una dosis de ataque de 14.21 mg/Kg y una dosis de mantenimiento de 13.76 mg/Kg.

En base a estos resultados podemos concluir que luego de la administración IV e IM de cefoperazona a razón de 30 mg/Kg se obtienen rápidos y óptimos niveles terapéuticos en suero, líquido sinovial, esponja ósea y orina superiores a la CIM (0.4 $\mu\text{g/ml}$) para las bacterias de frecuente aparición en patologías infecciosas de los equinos durante un tiempo mínimo de 4 h.

11. SUMMARY

The aims of the present study were:

To know the pharmacokinetic behavior of cefoperazone in serum, synovial fluid and urine after its intravenous administration.

- To know the pharmacokinetic behavior of cefoperazone in serum, synovial fluid, sponge bone and urine after intramuscular administration.

- To determine appropriate therapeutic plan

Experimental animals were 6 male horse (weighing 405 ± 80 Kg). Each horse was given a single dose of 30 mg/Kg by IV route

Blood samples were taken immediately before intravenous injection (control sample) and post-injection: 5, 10, 15, 20, 30, and 40 minutes 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, and 12 hours

Synovial fluid were taken carpus articulation after intravenous administration 30 minutes 1, 2, 3, 4, 6, 8 and 12 hours.

Blood samples were taken immediately before intramuscular injection (control sample) and post-injection :5,10,15,20,30 y 40 minutes 1,1.5,2,3,4,5,6,8,10 and 12 hours.

Synovial fluid were taken carpus articulation after intramuscular administration 30 minutes 1,2,3,4,5,8 and 10 hours.

Sponge bone were taken coxal tuberosity after intramuscular administration 30 minutes 1,2,4,6,8,10 y 12 hours

Urine samples were taken after intramuscular administration 30 and 40 minutes 1,2,3,4,5,6,8,10 and 12.

cefoperazone concentrations were determined microbiologically by employment the test organism of *Bacillus Subtilis* ATCC 6633.

The pharmacokinetic parameters were estimated for each animal by means of non linear regression program. The systemic availability the cefoperazone after IM administration was determined by method of corresponding area under curve was calculated by trapezoidal rule.

The pharmacokinetic model that best fits the cefoperazone serum profiles was discriminated by means of the MAICE (Minimum Akaike Information criterion Test).

The pharmacokinetic serum profile for cefoperazone after IV administration, was best described by a compartmental model defined by the following expression:

$$C_p: (Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t})$$

Distribution of cefoperazone was rapid ($T_{1/2} \alpha 7.12 \pm 2.50$). The mean apparent volume of distribution obtained by the area method was 1.13 l/Kg. The elimination half life of 1.05 ± 0.19 h indicates that the horses eliminates cefoperazone slowly.

The application of the MAICE Test showed that the monocompartmental model with first order absorption fits best the IM data sets.

Cefoperazone administrate by IM route was absorbed rapidly and with a good bioavailability. The mean half life of absorption was 2.33 ± 0.76 minutes. Bioavailability of cefoperazone was 70.86 ± 13.12 %.

The elimination half life was 1.62 ± 0.19 h. Synovial liquid concentration fater IV-IM administration were high in all of them and values higher than the minimal inhibitory concentration (0.1-0.4 $\mu\text{g/ml}$).

Spongy bone maxim concentration concentration were of 5.56 ± 0.78 $\mu\text{g/ml}$ 2 hours after IM administration.

The renal elimination was slow after IV-IM administration. The drug percentage urine recovered after IV-IM administrations were 15 and 11 % respectively.

We are designing dosage regimens consisting of the IM administration of 14.21 mg/Kg as ataque dose and 13.76 mg/Kg as maintenance dose at 8 h intervals that we expect willbe able to maintain serum cefoperazone levels within the therapeutic range.

In conclusion cefoperazone demonstrated to be a slow elimination with high bioavailability maintaining concentration higher than MIC in serum, synovial fluid, sponge bone and urine whit may be effective against organisms present in different equine septic pathology

12. BILIOGRAFIA

Adams, O.R. (1982) Enfermedades quirúrgicas de los miembros del caballo. Lea and Febiger. Philadelphia, EEUU. Copyright Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur.

Akaike, H. (1976). An information criterion (AIC) mathematical science, 14, 5-9.

Alestig, K (1984). Ceftadizime and renal function. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 13: 117-178.

Ascher, H. (1986). Langdragma exantem hos barn vid behandling med cefaklor. Lakartidningen 83:441.

Backer, G.B. (1965). Microscopic evaluation of frozen synovial fluid. Arthritis Rheum, 8 : 429-450.

Baggot, D. (1986). Principles of drug disposition in domestic animals. The Basis of Veterinary Clinical Pharmacology 147-195.

Balant, L. (1982). L'Absorption digestive des médicaments. Med. Hyg. 90:1000-1013.

Ball, A.P; Gray, M. (1978). Cephalosporins and cephamycin in antibacterial drugs today. 3rd edn pp-60-65 Adis Health Sciences Pres Australia.

Barriere, S.L; Flahert, Y. (1984). Third generation cephalosporins. A critical evaluation. *Clinical Pharmacy* 3:351-373.

Barr, W; Grahan, R. (1967). Placental Transmission of cephaloridine. *Postgraduate Medical Journal* 93 (Suppl) 101-104.

Barry, A.L.; Fay, G.D. (1973). The amount of agar in antimicrobial disc susceptibility test plates. *Amer. J. Clin. Pathol* 59:196-197.

Barry, A.L.; Jones, R.N.; Sommers, H.M.(1982). Ceftizoxime collaborative multi-phase in vitro evaluation including tentative interpretive standards for disc susceptibility tests, β -lactamase stability and inhibition. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 10 (Suppl) 25-44.

Barry, A. P.; Benner, E.J.(1972). Use of tablet top computer for antimicrobial assays. *Appl Microbiol.* 24:296-297.

Barza, M.(1978). Nephrotoxicity of newer cephalosporins: An overview. *Journal of Infectious Diseases* 137, (suppl) 560-573.

Bergam, T. (1987). Pharmacokinetic properties of the cephalosporins. *Drugs* 34 (Suppl 2) 89-104.

Bloch, R.; Luft, F.; Rankin, L.I.; Sloan, R.S.; Yun, M.N and Maxivell, O.R. (1979). Nephrotoxicity by cephalotin and carbenicillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 15:46.

Bocker, G.B.(1965). Microscopic evaluation of frozen synovial fluid. *Arthritis Rheum.* 8:429-430.

Bowman, K.F.; Dix, P.;Riviere, J.E.(1986). Prediction of pharmacokinetic profiles of ampicillin sodium, gentamicin sulfate in serum and synovia of healthy horse. *Am.J.Vet.Res.* Vol 47.No 47.

Bowman, W.C. and Ran, M.J. (1980). *Textbook of Pharmacology* Blackwell Scientific Publications. London.

Boxenbaun, H.; Riegelman, S.; Elashoff, R. (1974). Statistical estimations in pharmacokinetic. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 2 123-148.

Brisson, A.M.; Fourtillan, A .(1981). Determination of cephalosporins in biological material by reversed-phase liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 223: 393-399.

Brogard, J.M.; Arnaud, J.P.; Timmler, R. (1984). Biliary excretion of ceftizoxime *Human Chemotherapy* 30:221-222.

Brow, M.; Gronwall, R.; Houston, B.A. (1986). Pharmacokinetic and body fluid endometrial concentrations of cefaphirin in mares. *Am.J.Vet.Res* Vol 47. No 4.

Buening, M.K.;Wold,J.S.(1982). Ethanol-moxalactam interactions in vivo. Reviews of Infections Diseases. 4. (Suppl) S 555-S 5563.

Bundtzen, R.; Craig, W.; Toothaker, R.; Brodey, M.; Welling, P.(1980). Cefoperazone: single dose pharmacokinetics (Abst 112) 20 Th Interscience Conference on Antimicrobial Agentes and Chemotherapy New Orleans, Louisiana 22-24 September.

Busch, H.; Lane ,M.(1967). Chemotherapy and Introductory Text. Year Book Medical Pubushers. Inc Chicago.

Burch, H.B.; Narins, R.G.; Chu, C.; Faglioli, S.; Choi, S. (1987). Distribution along the rat nephron on three enzimes of gluconeogenesis in acidosis and starvation. Amer. J. Physiol. 235, F 246 E 253.

Caprile, K.A.(1988). The cephalosporin antimicrobial agents a comprehensive review. J.Vet.Pharmacol. Therap. 11: 1-32.

Carli, S.; Motesissa, C.; Sonzogni, O.; Madonna, M. (1986). Pharmacokinetic of sodium cefoperazone in calves. Pharmacological Research Communications Vol 18. No 5.

Chabbert, Y.A. (1980) Comparative activity of cefoperazone against selected cephalosporins producin enteric bacteria. Clinical Therapeutic Vol3 Special Issue

Clancy, C.M.; Glew, R.H. (1983). Hipoprothrombinaemia and bleeding associated with cefamandole. Lancet 1:250.

D'Argenio, D.; Schumitzky, A. (1979). A program package for simulation and parameter estimation: In Pharmacokinetic Systems. Computer Programs in Biomedicine, 9 115-134.

Davis, W.; Stout, T.R. (1976). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I factors influencing variability and error. Appl. Microbiol. 22:659-665.

Decroix, M.O. (1988). Cefazolin serum protein binding and its inhibition by bilirubin, fatty acids and other drugs. Biochen Pharmacology. Vol 37 No 14 2807-2814.

Dintefas, L. (1963) Lubrication in synovial joints: A theoretical analysis. Bone Joint Surg. 45-A (6) 1241-1256.

Elks, J. (1987). Structural formulae and nomenclature of cephalosporin antibiotics. Drugs 34 (Suppl 2) :240.

Errecalde, J.O.; Mariño, E.L. (1990) A Discriminatory study of a pharmacokinetic model for intramuscular gentamicin in sheep. Veterinary Research Comunications, 14 (53-58)

Errecalde, J.O. (1988) Bioequivalencia. Ensayos de farmacos "in vitro" e "in vivo". Boletin del centro de estudios para el desarrollo de la industria química farmacéutica No 29 pp 5-10.

Finch, R. (1987) Treatment of respiratory tract infections with cephalosporin antibiotics. *Drugs (Suppl 2)* :180.

Firth, F.C. (1983) Current concepts of infectious polyarthrititis in foals. *Equine Veterinary Journal* 15 (1) 5-9.

Firth, F.C. (1980) Polyarthrititis and bone infection in foals. *Zbl. Vet.Med. B*,27, 102-124.

Firth, F.C. (1988) Effect of induced synovial inflammation on pharmacokinetics and synovial concentration of sodium ampicillin and kanamycin sulfate after systemic administration in ponies. *J.Vet. Pharmacol.Therap* 11. 56-62.

Gabriel, R.; Food, R.D.; Joeckes, A.M. (1970) Reversible encephalopathy and acute renal failure after cephaloridine. *British Medical Journal* 4:283.

Gale, E.F. (1963) Mechanisms of antibiotic action. *Pharmacol. Rev.* 15-481.

Garrod, L.P.; Lambert, H.P.; O'Grady, F. (1981). *Antibiotic and chemotherapy* 5 Th Ed. Churchill Livingstone London.

Gentry, L.O. (1987). Cephalosporins in urinary tract infection *Drugs* (34) (Sppl 2) 154.

Gibaldi, M.; Nagashima, R.; Levy, G. (1964) Relationship between drug concentration in plasma or serum and amount of drug in the body. J. Pharm.Sci. 58: 193-197.

Gibaldi, M.; Perrier, D.(1982). Farmacocinética. Ed Reverte, Barcelona, España.

Gibbs, D.L. (1987) Worldwide study of cefoperazone susceptibility. Clinical Therapeutics, Vol 9 No 2 193:198.

Gondoni, G. (1985). Rasegna medica Gondoni. Monografi il Meccanismo D'Azione Degli Antibiotici.

Guerini, V.H.; Filippicch, J.; Cao, G.R.; English, P.B. (1985) Pharmacokinetics of ceforanide, ceftriaxone and cefoperazone in sheep. J. Vet. Pharmacol. Therap. 8, 120-127.

Hanus, F.J.; Sands, J.G. (1967) Antibiotic activity in presence of agar. Appl. Microbiol.15:31-34.

Hickman, J. (1964) Veterinary Orthopaedics, Philadelphia J.B.Lippincott CO.

Hoette, I.; Struyck, A.P.(1967).A modified method for evaluation of clinical usefulness of antibiotics.

Hollander, J.L.; Jessar, R.A. (1961) Synovial analysis : A aid in arthritis Diagnosis. Bull Rheumat. Dis 12. 263-264.

Hooper, C.A.; Haney, B.B. and Stone, H.H. (1980) Gastrointestinal bleeding due to vitamin K deficiency in patients on parenteral cefamandole. The Lancet. 1:39.

Jackman, G.P.; Mc Lean, A.J.; Jennigs, G.L. (1981) No stereoselective first-pass hepatic extraction of propranolol. Clin. Pharmacol. Ther. 30:291-296.

Jacobs, M.H. (1940) Some aspects of cell permeability to weak electrolytes cold spring harbor symp. Quand. Biol. 8:30-39.

Joehl, R.J.; Rasbach, A.A.; Balard, J.O.; Weittkamp, M.R. and Sattler, F.R. (1983) Moxalactam evaluation of clinical bleedings in patients with abdominal infection. Archives of Surgery HB:1259-1262

Kannangara, D.W.; Smith, B. (1982) Exfoliative dermatitis during cefoxitin therapy. Archives of International Medicine 142: 1031.

Kaysen, F.H (1980) Microbiological studies on cefoperazone
Cinical Therapeutics Vol 13 Special Issue

Kida, K.; Nakajo, S. And Nakagawa , H. (1987) Renal net glucose realese in vivo and its contribution blood glucose in rats.

J.Clin Invert. 62, 721-726

Kiechel, J.R. (1980) Interactions medicamenteuses . En la pharmacocinetique: ses modifications et consequences therapeutiques. Les Cahiers Sandoz 35 183-218.

Kunin, L.M.; Edmonson, W.P. (1968) Inhibits of antibiotic in bacteriologic agar. Proc Soc. Exp. Biol.Med 129: 118-122

Lee, F.H.; Pfeffer, M.; Van Harken, D.R. (1980) Comparative pharmacokinetics of ceforanide (BL-S78GR) an cefozolin in laboratory animals and humans. Antimicrobial agents and chemotherapy 17, 188-192.

Levy, R. And Bauer, L (1986) Review: Basic Pharmacokinetics Therapeutic Drug Monitoring 8 :47-58.

Lode, H.; Kemmerich, B.; Belmega, D.; Jendroschek, H. (1980) Comparative pharmacokinetics of cefoperazone and cefotaxime. Clinical Therapeutics Vol 3 Special Issue.

Lorian, V; Straurs, L (1966) Increased bacterial density at the edge of antibiotic zones of inhibition. J. Bacteriol. 92 1256-1257.

Mariño, E.L.; Fernandez Lastra, C.; Gonzalez Alonso, I.; Dominguez Gil, A. (1987) Disposition and excretion of

cefoperazone in rabbits. *Arzneim-Forsch. Drug. Res* 37 (1) 3, 345-349

Martin, I.C.A.; Love, D.N.; Rose, R.J. (1980) Levels of the isoxazolyl penicillins, cloxacillin and flucloxacillin, in serum and synovia of horses. *J. Vet Pharmacol. Therap* 3, 21-27.

Matsuda, S. (1984) Transfer antibiotics into milk *Biological Research in pregnancy and Perinatology* 5: 57.

Mc Ilwraith, C.W (1983) Treatment of infectious arthritis. *Veterinary Clinics of North America* 5, 363-379.

Mitsubishi, S. ; Minami, S.; Kurasige, S. (1980) In vitro and vivo antibacterial activity of cefoperazone (T-1551), a comparative. *Clin. Ther* 3 (Special Issue) 1-13.

Morselli, P.L. (1977) Drug disposition during development New York. Spectrum Publications.

Naber, K.; Adam, K.; Schalkhauser, F (1980) Pharmacokinetics of cefoperazone in geriatric patients and concentrations in different tissues of the urine tract. *Clinical Therapeutics Vol 3 (Special Issue)*. Boston EEUJ.

Nanji, A.A (1987). Interference By cephalosporins With Creatinine measurement by desk-top analyser. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 33:

427-429

New, H. (1980) Clin Therap (Special Issue) 60-79.

Newton, B.A. (1953) Reversal of antibacterial activity of polimixym by divalent cations. Nature 172: 160-161.

Norrby, S.R (1987) side effects of cephalosporins Drugs 34 (Suppl 2): 105-120.

Pla Delfina, J.M.; Pozo Djeda, A. (1974) Manual de iniciación a la biofarmacia. Fac. Farmacia de Barcelona. Barcelona. España. Romargraf S.A.

Persson, L. (1971) On the synovia in horses. Acta .Vet. Scand. Suppl 35.

Reed, M.D.; Rekate, H.L. Blumer, J.L. (1983) Single-dose plasma and cerebrospinal of ceftriaxone in infants and children. Clinical Pharmacy 2:558.

Ruoff, W.W.; Sans, R.A. (1985) Pharmacokinetics and bioavailability of cephalotin in horse mares. Am.J.Vet 46 2085-2090.

Saito, A.T.(1980) The clinical safety of cefoperazone in Japan. Clinical Therapeutics Vol 3, 232-240.

Saleh, Y.; Tischer, E. (1974) Severe anaphylactic reaction to intravenous cephaloridine in a pregnant patient. Medical Journal of Australia 2:490.

Shibata, K (1980) Clinical trials in the field of surgery in Japan. Clinical Therapeutics 3 (Special Issue) 173

Shimado, K.; Sato, K (1980). Evaluation on cefoperazone Chemotherapy 28 (Suppl 6) 425-430.

Shimizu, K (1982) Cefoperazone: Absorption, excretion, distribution and metabolism. Sixth International Cefoperazone Symposium. Tokio, Japan, April 30, May 1.

Siakawa, I. (1979) History and development, In New Drugs Symposium, I:T-1551 (cefoperazone). 27 th General Congress of Japan Society of Chemotherapy, June 1979 pp 1-16.

Sisson, S.; Grossman, J.D. (1979) Anatomia de los animales domésticos. Salvat Editores, S.A. Mallorca MB, Barcelona, España.

Siverblatt, F.; Bulger, R (1987) Nefrotoxicity due to cephaloridine: A light and electro-microscopic study in rabbits. Journal of infectious diseases 122:193.

Spratt, B.G. (1977) Properties of the penicillin-binding proteins of Escherichia coli K12. Eur. J. Biochem. 72-341.

Spruil, F.G.; Mirette, L.J.; Sturner, W.Q. (1974) Two surgical deaths associated with cephalotin. Journal of the American Medical Association 299:440.

Stoekel, K.; Ziegler, W.H (1981) Effects of concentration depend plasma protein binding on ceftriaxone kinetics. Clin Pharmacol and Therapeutics. 29:650.

Stover, S.M.; Brown, M.P.; Farver, T.B.(1981). Aqueous procaine penicillin G in horse, serum, synovial, peritoneal and urine concentration after single dose intramuscular administrations. Am.J.Vet.Res. Vol 42. No 4.

Sutter, J.W. (1980) Dilution susceptibility test agar and macrobroth dilution procedures. In Tenette ED ; Manual Microbiology 3er edition Washington D.C. American Society for Microbiology.

Tognoni, G. (1977) Antibiotics: in Morselli (Ed) Drug Disposition During Development pp 123 (Spectrum, New York)

Tsuji, A.B. (1987). Lactam antibiotics and transport via the dipeptide carrier system across the intestinal brush-border membrane. Biochemical Pharmacology. Vol 36 No 4 pp 565-567.

Tune, B.H.; Fravet, D. (1980) Mechanisms of cephalosporin nephrotoxicity A comparasion of cephaloridine and cephaloglycin. Kindney International. 18 :591.

- Turck, M. (1982) Cephalosporins and related antibiotics : An overview . Rev. Infect. Dis 4 (Suppl) 5281-5286.
- Ueda, Y.; Saito,A.; Siba,K (1980).Clinical studies on cefoperazone in the field of internal medicine. In Nelson and Grassi (Eds)> Current Chemotherapy and Infections Disease. pp 165.(American Society for Microbiology. Washington D C.
- Van Pelt, R.W (1962,b) Characteristic of normal equine tarsal synovial fluid. Can.J.Comp.Med 31-342.
- Van Pelt, R.W. (1962, a) Properties of equine synovial fluid. J.Am.Vet.Med.Ass. 141-1051.
- Voezeh, S.; Schmidlin,O.;Taeschner, W (1988) Pharmacokinetic drug data clinical. Pharmacokinetic 254-282.
- Ward, J.B.; Harper, P.B. (1987) Appendix III Cephalosporin assays. Drugs 34 Suppl 2 253-258.
- Welling, P.G.; Wise, R. (1979) Probenecid nad unexplained effect on cephalosporin pharmacology. British Journal of Clinical Pharmacology. 8:491.
- Wiechers, J.W.(1989) The barrier function of skin in relation to percutaneous absorption of drugs.Pharm. Weekbl. Sci. 11 (6): 185-198.

Wiechers, J.W. (1990) Transdermal drug delivery efficacy and potential applications of the penetration enhancer azone. Drug Desing and Delevery, Vol 6 pp 87-100.

Wielliams, J.D. (1987) Clasification of cephalosporins. Drugs 34 (Suppl 2) :15.

Williams, P.E.O.; Harding, S.M. (1984) The absolute bioavailability of oral cefuroxime axetil in nale and female volunturs after farting and food. J. Antim.Chemoth. 13:191.

Wittman, D. (1982) Bone concentrations of cefoperazone compared with other new cephalosporins. Six International cefoperazone Symposium, Program and abstracts. April-may 1982, Tokyo, 1982, p 9.

Yaginuma, S.; Savai, T.; Ono, H. (1973) Biochemical properties of a cephalosporins β lactamase from Pseudomona aeruginosa. Jpn. J. Microbiol. 17-149.

Yamahoka, K.; Nakagawa, T.; Uno, T. (1978). Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evualation of linear pharmacokinetic equations. Journal of pharmacokinetic and Biopharmaceutics, 6 165-175.

13. AGRADECIMIENTOS

A mi director y amigo, el Prof Dr. Jorge O. Errecalde, por su continua e ilimitada asistencia, interés y estímulo en favor de mi formación científico-académica.

A la Dra. Monica Alt, por su crucial colaboración técnica, optimismo y contagiosa alegría.

A la Dra. María Fabiana Landoni por su ayuda cotidiana, participación activa y valiosas contribuciones.

Al Sr. Francisco Expósito, por su amistad, incondicional ayuda y consejos de incalculable valor

A mis amigos Martin Iturralde y Gastón Nomdedeu por su colaboración irrenunciable durante todos los muestreos.

A la Dra. Nora Mestorino , por su colaboración en la confección de los borradores del manuscrito.

A la Dra. Estela Bonzo por su ayuda en la realización de las tablas.

A mi amigo, el Dr. Miguel Novarini y a todos los integrantes de la cátedra de farmacología de la facultad de Ciencias Veterinarias de la Plata

ARTICULO 11.- La Facultad no se hace solidaria de las opiniones
vertidas en una tesis.