

ESTUDIO FARMACOCINETICO DEL TIANFENICOL EN VACAS

LECHERAS HOLANDO ARGENTINO

Tesista: Méd. Vet. Olga Nora Mestorino

Director: Prof. Dr. Jorge O. Errecalde

Cátedra de Farmacología, Farmacotecnia y Terapéutica
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de La Plata

1993

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

PRESIDENTE : Ing. Luis Lima

VICEPRESIDENTE : Lic. Angel Tello

SECRETARIO GENERAL : Abog. Claudio Contreras

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS : Méd. Vet. Rogelio Bruniard

SECRETARIO DE CIENCIA Y TECNICA : Dra. Carlota Sempé

SECRETARIO DE EXT. CULTURAL Y DIFUSION : Lic. Pedro G. Cortina

SECRETARIO DE ASUNTOS ECONOMICOS-FINANCIEROS : Cdr. Ruben Torre

PROSECRETARIO GENERAL : Dra. Mercedes Molteni

GUARASELLOS : Dr. Carlos Alconada Aramburú

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

DECANO : Méd. Vet. Luis Alberto Dibbern

VICEDECANO : Méd. Vet. Eduardo Pons

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS : Méd. Vet. Alicia Antonini

SECRETARIO DE EXTENSION UNIVERSITARIA : Bact. Sandra Arauz

SECRETARIO DE POSTGRADO : Dra. María E. Echeverrigaray

SECRETARIO DE CIENCIA Y TECNICA : Dr. Carlos Perfumo

SECRETARIO DE SUPERVISION ADMINISTRATIVA : Cdr. Edgardo Silvera

CARRERA DE CIENCIAS VETERINARIAS
=====

CATEDRAS

PROFESORES

Primer año

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

Dra. Cristina Alonso
Dr. Félix Moreno
Dr. Jesús Carroza
Dr. Angel Catalá

Segundo año

Anatomía Comparada
Patología General
Fisiología
Microbiología
Genética y Biometría

Dra. Cristina Alonso
Dr. Eduardo Gimeno
Dr. Eduardo Zaccardi
Dr. N. O. Stanchi
Dr. Fernando Dulout

Tercer año

Semiología y Propedéutica
Anatomía y Fisiología Patológica
Farmacología, Farmacotecnia y
Terapéutica
Medicina Operatoria
Parasitología y Enf. Parasitarias

Dr. Jorge Andreatta
Dr. Julio Idiart
Dr. Jorge O. Errecalde
Dr. Pablo Videla
Dra. Lucía M. Venturini

Zootecnia General y Agrostología

Dra. Liliana Lagreca

Cuarto año

Zootecnia Especial I parte (o,s,c)
Zootecnia Especial II parte (b,e)
Zootecnia Especial III parte (a,p)
Economía Agraria
Enfermedades Infecciosas
Patología Médica
Patología Quirúrgica y Podología
Patología de Aves y Pilíferos

Dr. Eduardo Marota
Dr. Benjamin Rodriguez
Dra. Virginia Grillo
Dr. Gustavo De La Arena
Dr. Carlos Amasino
Dr. Fortunato Iseas
Dr. Francisco Boccia
Dr. Néstor Menendez

Quinto Año

Tecnología y Sanidad de los Alimentos
Higiene, Epidemiología y Salud P.
Inmunología Veterinaria
Reproducción animal
Clínica de Pequeños animales
Clínica de Grandes Animales

Dr. Jorge Lasta
Dr. Emilio Gimeno
Dr. Enrique Pennimpede
Méd. Vet. Angel Russo
Dr. Francisco Boccia
Méd. Vet. Juan Renner

A mi esposo.
A mis hijas.
A mi madre.

INDICE

1.- INTRODUCCION.....	pag. 1
1.1.- TIANFENICOL Y CLORANFENICOL.....	pag. 1
1.1.1.- Origen.....	pag. 1
1.1.2.- Estructura química.....	pag. 2
1.1.3.- Mecanismo de acción.....	pag. 5
1.1.4.- Espectro antimicrobiano.....	pag. 7
1.1.5.- Resistencia microbiana.....	pag. 8
1.1.6.- Interacciones medicamentosas.....	pag. 10
1.1.7.- Farmacocinética.....	pag. 12
1.1.7.1.- Absorción.....	pag. 12
1.1.7.2.- Distribución.....	pag. 18
1.1.7.3.- Metabolismo y excreción.....	pag. 20
1.1.8.- Toxicidad.....	pag. 22
1.2.- GLANDULA MAMARIA.....	pag. 30
1.2.1.- Estructura anatómica del sistema mamario.....	pag. 30
1.2.2.- Estructura histológica del tejido glandular.....	pag. 31
1.2.3.- Irrigación.....	pag. 32
1.2.4.- Fisiología de la producción láctea.....	pag. 33
1.2.5.- Características de la leche.....	pag. 35
1.2.6.- Mastitis.....	pag. 37
1.3.- PRESENCIA DE ANTIMICROBIANOS EN LECHE.....	pag. 43
1.3.1.- Tratamiento parenteral.....	pag. 44
1.3.2.- Tratamiento intramamario.....	pag. 47
1.3.3.- Residuos de antibióticos en leche.....	pag. 61
1.4.- CONCEPTOS DE FARMACOCINETICA.....	pag. 64

1.4.1.-	Introducción.....	pag. 64
1.4.2.-	Discriminación de modelo.....	pag. 67
1.4.3.-	Cálculo de parámetros farmacocinéticos.....	pag. 68
1.4.3.1.-	Análisis de la curva de disposición plasmática.....	pag. 68
1.4.3.2.-	Cálculo de microconstantes.....	pag. 72
1.4.3.3.-	Vida media de eliminación.....	pag. 73
1.4.3.4.-	Volúmenes de distribución.....	pag. 75
1.4.3.4.1.-	Unión del fármaco a las proteínas plasmáticas.....	pag. 79
1.4.3.5.-	Clearance corporal.....	pag. 84
1.4.3.6.-	Biodisponibilidad.....	pag. 86
1.4.3.7.-	Diseño de regímenes de dosificación.....	pag. 90
2.-	ADMINISTRACION, TOMA DE MUESTRAS SERICAS Y DE LECHE.....	pag. 93
2.1.-	Materiales.....	pag. 93
2.2.-	Métodos.....	pag. 94
2.2.1.-	Manejo de los animales.....	pag. 94
2.2.2.-	Preparación de la droga.....	pag. 94
2.2.3.-	Administración de la droga.....	pag. 94
2.2.3.1.-	Administración intravenosa.....	pag. 95
2.2.3.2.-	Administración intramuscular.....	pag. 95
2.2.3.3.-	Administración subcutánea.....	pag. 95
2.2.3.4.-	Administración oral.....	pag. 96
2.2.3.5.-	Administración intracisternal en los cuatro cuartos mamarios.....	pag. 96
2.2.3.6.-	Administración intracisternal en un solo cuarto mamario.....	pag. 96
2.2.4.-	Obtención de muestras sanguíneas.....	pag. 96
2.2.5.-	Obtención de muestras de leche.....	pag. 98
3.-	DOSAJE DE TIANFENICOL POR METODO MICROBIOLOGICO.....	pag. 99
3.1.-	Fundamentos del método biológico.....	pag. 99
3.2.-	Puesta a punto del método.....	pag. 99
3.2.1.-	Materiales.....	pag. 99
3.2.2.-	Métodos.....	pag. 101
3.2.2.1.-	Preparación del inóculo.....	pag. 101
3.2.2.2.-	Preparación de las soluciones	

patrones de tianfenicol.....pag.	101
3.2.2.3.- Preparación de las placas.....pag.	102
3.2.2.4.- Siembra de las placas.....pag.	103
3.2.2.5.- Lectura y análisis de los datos.....pag.	103
3.3.- Dosaje de tianfenicol en las muestras séricas y lácteas por método biológico.....pag.	104
3.3.1.- Materiales.....pag.	104
3.3.2.- Métodos.....pag.	104
3.3.2.1.- Determinación de halos de inhibición por método biológico.....pag.	104
3.3.2.2.- Determinación de las concentraciones de antibiótico.....pag.	105
4.- ANALISIS DE LOS DATOS.....pag.	107
4.1.- Discriminación de modelo.....pag.	107
4.1.1.- Regresión lineal.....pag.	107
4.1.1.1.- monocompartmental.....pag.	107
4.1.1.2.- bicompartimental.....pag.	108
4.1.1.3.- tricompartmental.....pag.	109
4.1.2.- Test MAICE.....pag.	110
4.2.- Determinación del grado de unión del tianfenicol a las proteínas plasmáticas.....pag.	111
4.2.1.- Materiales.....pag.	111
4.2.2.- Métodos.....pag.	111
4.3.- Determinación de los niveles de ionización teórica del tianfenicol en plasma.....pag.	112
4.4.- Cálculo del secuestro mamario del tianfenicol.....pag.	113
4.5.- Estudio farmacocinético.....pag.	114
4.5.1.- Administración IV, análisis de las concentraciones séricas.....pag.	114
4.5.2.- Administración extravasal, análisis de las concentraciones séricas.....pag.	115
4.5.3.- Análisis de las concentraciones de tianfenicol en leche.....pag.	115

5.- DISEÑO DE PLANES DE DOSIFICACION.....	pag. 117
5.1.- Materiales.....	pag. 117
5.2.- Métodos.....	pag. 117
5.2.1.- Cálculo de dosis.....	pag. 117
5.2.2.- Corroboración práctica.....	pag. 118
6.- RESULTADOS.....	pag. 120
7.- DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	pag. 170
7.1.- Discriminación.....	pag. 170
7.2.- Unión a proteínas plasmáticas.....	pag. 172
7.3.- Administración intravenosa.....	pag. 175
7.4.- Administración intramuscular.....	pag. 183
7.5.- Administración oral.....	pag. 189
7.6.- Administración subcutánea.....	pag. 191
7.7.- Administración intracisternal en un solo cuarto mamario.....	pag. 194
7.8.- Administración intracisternal en los cuatro cuartos mamarios.....	pag. 201
7.9.- Plan de dosificación.....	pag. 202
8.- CONCLUSIONES GENERALES.....	pag. 205
9.- RESUMEN.....	pag. 210
10.- SUMMARY.....	pag. 215
11.- BIBLIOGRAFIA.....	pag. 219
<i>Gloario</i>	
12.- AGRADECIMIENTOS.....	pag. 242
13.- <i>Agradec.</i>	244

1.-INTRODUCCION

1.1.-TIANFENICOL Y CLORANFENICOL

1.1.1.- Origen

El cloranfenicol (CAP) fue aislado en 1947 por Ehrlich y col, de una especie de actinomiceto hasta entonces desconocida, y posteriormente designada *Streptomyces venezuelae* (Woodward, 1958), por haberse hallado en terrenos próximos a Caracas. Se comprobó que los filtrados de cultivos líquidos de los microorganismos poseían marcada efectividad contra diversas bacterias Gram negativas y presentaban actividad antirickettsiana (Ehrlich, 1948). De estos filtrados se aisló una sustancia antibiótica cristalina (Bartz, 1948; Rebstock, 1949) a la que se llamó Cloromicetina porque contenía cloro y era producida por actinomicetos (Bartz, 1948).

Poco después se consiguió sintetizar una sustancia idéntica, uno de cuyos isómeros posee todas las propiedades del antibiótico obtenido biológicamente (Otten, 1975), desde esa época se lo prepara sintéticamente (Garrod, 1981; Martin, 1977).

En 1958 se evidenció que el CAP podía causar discrasias sanguíneas serias y fatales en el hombre. Sin embargo dos eventos en la década del 70 aumentaron su uso: la aparición de cepas ampicilino-resistentes de *Haemóphilus influenzae* y el mayor conocimiento de bacterias anaerobias, especialmente *Bacillus fragilis*, como patógenos importantes (Goodman 1991).

El tianfenicol (TAP), se sintetizó a partir del CAP en 1952, y más tarde se lo comenzó a utilizar con éxito en la fiebre tifoidea (Bergoglio,1970; El Ramli 1950; Herzog, 1976).

Si bien ambas drogas tienen características farmacocinéticas y de espectro antibacteriano en común, el tianfenicol tendría un mayor margen terapéutico.

1.1.2.- Estructura química

Químicamente, el CAP es el d-(-)-treo-1-(p-nitrofenil)-2-dicloroacetamido-1,3-propanodiol (Brock, 1961; Goodman, 1991; Litter, 1986;). Probablemente las acciones tóxicas se deban al grupo nitrobenzeno y las propiedades antimicrobianas a la cadena lateral, derivada del propanodiol que posee el grupo dicloroacetamida (White, 1971).

El TAP químicamente es el D-(+)-treo-2-dicloroacetamido-1-(p-metilsulfonilfenil)-1,3-propanodiol, es decir que el núcleo nitrobenzeno del CAP, es reemplazado en el TAP por un radical metilsulfona (Bergoglio,1970; Garrod, 1981), empleándose dicho antibiótico como tal y como su éster soluble tianfenicol glicinato (Duval,1980) usado como clorhidrato (Urfamycin R) (Fig.1.1.2). Existe un derivado del TAP, el florfenicol, en el cual el grupo hidroxilo del carbono 3 es reemplazado por un radical fluorado, que está siendo evaluado en medicina veterinaria (Powers 1988).

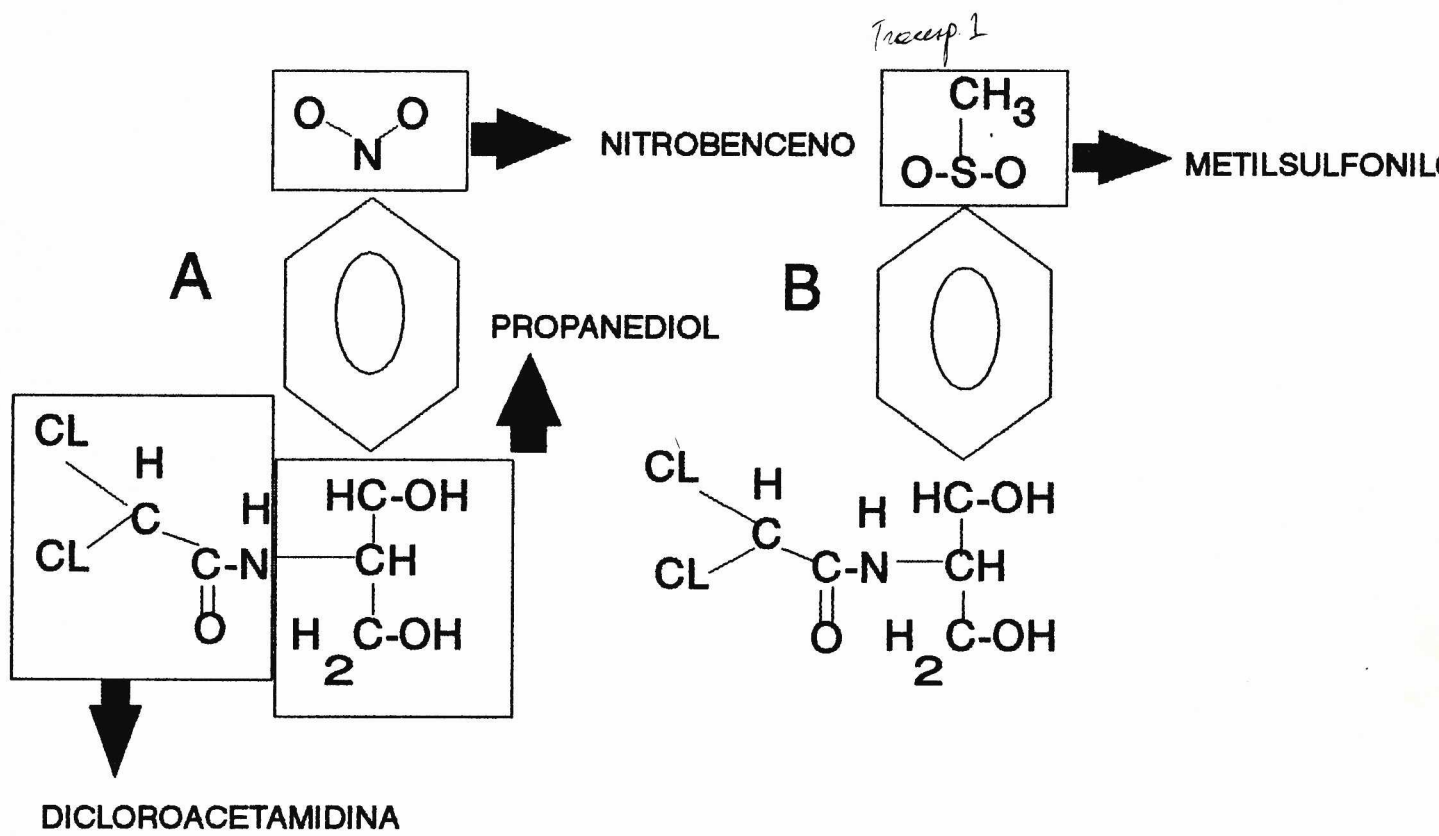


Fig.1.1.2 : Estructura química del cloranfenicol (A) y del tiamfenicol (B)

Ambas drogas tienen dos átomos asimétricos de carbono, en consecuencia hay cuatro posibles estereoisómeros (Garrod, 1981). Solo el D (-) treoisómero (con la configuración del aminoácido treonina) tiene actividad antimicrobiana (Bowman, 1984; Duval, 1980; Litter, 1986), siendo prácticamente inactivos los demás isómeros (Garrod, 1981; Martin, 1977).

Los estudios de estructura muestran que para que sean activos, el anillo aromático debe ser resonante y el grupo para-nitro sólo puede ser sustituido por otros grupos electronegativos, por ejemplo el del tianfenicol. La supresión del grupo dicloroacetamida le hace perder su actividad, pero esta se restablece si es reemplazado por otros grupos electronegativos (Bowman, 1984).

Físicamente, se trata de sólidos blanquecinos de sabor amargo, estables a temperatura ambiente durante años, que forman cristales incoloros hasta blanco-amarillentos, en forma de láminas oblongas o agujas finas, inodoras, ópticamente activas y con un punto de fusión de 149.7 hasta 150.7°C (Barber, 1963; Bartz 1948; Bergoglio, 1970; Garrod, 1981; Goodman, 1991). Son extremadamente estables y activos a pH 2 a 9 (Bodhankar, 1988).

Son solubles en alcohol metílico, etílico y butílico, acetona, acetatos de etilo y amilo, propilenglicol y butilenglicol, poco solubles en ácidos, álcalis, cloroformo y éter, siendo insolubles, sin embargo, en aceite mineral, benceno y éter de petróleo. La solubilidad del CAP en agua es relativamente reducida, siendo de 0.25 % a 20°C (Barber, 1963;

Bartz, 1948), mientras que en orina y suero alcanza un 0.5 % (Busch, 1967; Gruhzt, 1949). Mientras que el TAP presenta una baja solubilidad en agua (0.5 % a temperatura ambiente) en alcohol su solubilidad es considerada buena (Otten, 1975), es una base débil (pKa 7.2) con buena liposolubilidad (Plomp 1979; Fuglesang, 1982).

El tianfenicol tiene un peso molecular (PM 356) más elevado que el cloranfenicol (PM 323), lo que explica su menor difusibilidad endobacteriana (Cutler, 1952).

1.1.3.- Mecanismo de acción

Diversos autores han aportado datos referentes al mecanismo de acción de estas drogas (Bowman, 1984; Busch, 1967; Gale, 1963; Garrod, 1981; Hash, 1972; Ingall, 1970; Jawetz, 1983; Weisberger, 1969; Willett, 1983).

Ambas actúan inhibiendo la síntesis protéica en el proceso de translocación a nivel bacteriano, y, en menor grado, en las células eucarióticas (Contreras, 1974; Yunis, 1988). Penetran fácilmente en las células bacterianas, probablemente por un proceso de difusión facilitada. Actúan principalmente ligándose en forma reversible a la subunidad ribosomal 50S (cerca del sitio de acción de los antibióticos macrólidos y de la clindamicina). Esto impide que el extremo que contiene aminoácidos del aminoacil RNAt se ligue a uno de los sitios de unión en el ribosoma (Hahn, 1975). Se reportó que estas drogas se unen específicamente al sitio aceptor o aminoacídico (el sitio inicial de unión del

aminoacil RNAt) (Brown, 1988; Johannes, 1983; Pratt, 1986; Werner, 1975).

También pueden inhibir la síntesis de proteínas mitocondriales en las células de los mamíferos (Wheeldon, 1966), quizás porque estos ribosomas mitocondriales se parecen a los ribosomas bacterianos (ambos 70S) más que a los ribosomas citoplasmáticos 80S de las células de los mamíferos. Sin embargo, esto no es absoluto y en células de mamíferos en activa proliferación como son las del sistema hematopoiético, son capaces de deprimir también la síntesis protéica (Weisberger, 1969).

En definitiva el cloranfenicol y su análogo se unen a la subunidad mayor (50S) del ribosoma e inhiben el alargamiento de la cadena peptídica y el movimiento de los ribosomas a lo largo del RNAt, probablemente impidiendo la reacción de la peptidiltransferasa (Bowman, 1984).

La inhibición de la síntesis protéica en los mamíferos se refleja en la capacidad del cloranfenicol para suprimir la síntesis de anticuerpos, por ejemplo, inhibe los mecanismos inmunes que intervienen en el rechazo de homoinjertos en el conejo, de manera que logra un aumento neto del tiempo de supervivencia del trasplante cutáneo (Goodman, 1991).

Según Bowman (1984) se comprobó que el C14-cloranfenicol está unido a la subunidad 50S del ribosoma, y a ningún otro componente de la célula bacteriana. Se fija aproximadamente una molécula de cloranfenicol por ribosoma (Litter, 1986).

La peptidil transferasa de los ribosomas mitocondriales bovinos, pero no de los ribosomas citoplasmáticos, es susceptible de ser inhibida por el cloranfenicol (Denslow, 1978). Las células eritropoieticas de los mamíferos parecen ser particularmente sensibles a la droga (Hara, 1978; Skinnider, 1976).

1.1.4.- Espectro antimicrobiano

Son antibióticos de amplio espectro (Finegold, 1984; Martin 1977) y el mismo es similar, aunque ligeramente menor al de las tetraciclinas. Son principalmente bacteriostáticos, aunque el CAP puede ser bactericida para ciertas especies como el *Haemophilus influenzae* (Pratt, 1986; Turk, 1977). El TAP tiene un espectro antimicrobiano idéntico al del CAP, pero es menos potente sobre los estreptococos, estafilococos y colibacilo (Duval, 1980).

La actividad "in vitro" de ambas drogas sobre *Salmonella typhi* es similar, aunque la concentración inhibitoria mínima del TAP es menor ($\geq 8 \mu\text{g/ml}$) (Chau, 1982). La acción contra *Salmonella typhi* del TAP es más lenta (Goto, 1966), lo que es importante a efectos de evitar una brusca liberación de endotoxinas (Reacción de Harisch-Herxheimer) (Chau, 1982; El Ramli, 1950; Goto, 1966).

Embriones de pollo infectados con *Chlamydia psittaci* sobrevivieron en mayor proporción al ser tratados con TAP que con CAP (Allegri 1982).

El espectro antimicrobiano de CAP y de TAP in vitro así como

las concentraciones inhibitorias mínimas para diferentes especies bacterianas se presentan en la tabla 1.1.4.

1.1.5.- Resistencia microbiana

Al igual que para las tetraciclinas y también en forma lenta como frente a ellas, los microorganismos son capaces de desarrollar resistencia al CAP y al TAP, especialmente "in vitro" (Garrod, 1981), aunque no es infrecuente su desarrollo "in vivo". Esta resistencia puede ser significativa para *Escherichia coli*, *Enterobacter aerógenes*, *Serratia marcescens* y *Haemophilus influenzae* (Doern 1988, Duval 1980, Garrod 1981). En cuanto al *Staphylococcus aureus*, dicha resistencia es baja (Duval 1980), pudiendo alcanzar un promedio del 20 % de las cepas aisladas, valor mucho menor que el correspondiente a las tetraciclinas (Duval 1980).

El TAP también es capaz de inducir resistencia microbiana en las mismas bacterias que el CAP (Fukui, 1987) y generalmente existe resistencia cruzada entre ambos antibióticos (Duval, 1980; Kayser, 1974; Litter 1986).

La resistencia de las bacterias Gram negativas a la droga se debe a la presencia de un factor específico de resistencia (R) adquirido por conjugación (Herzog, 1976). La resistencia de estas cepas al CAP y TAP se debe a la presencia de una acetiltransferasa específica (Shaw, 1971), que inactiva a las drogas utilizando Coenzima A como dador del grupo acetilo (Shaw, 1971; Shaw, 1991). Se han caracterizado no menos de tres tipos de

Tabla 1.1.4.: Espectro antimicrobiano "in vitro" del TAP y CAP
 Neu y Fu, 1980

MICROORGANISMO	: ANTIBIOTICO	: RANGO (ug/ml):	REFERENCIA
E. coli	: CAP	: 0.8-8	: Brown, 1988; Knifton, 1987
	: TAP	: 1.6-64	: Ravizzola, 1984
Klebsiella	: CAP	: 0.4-64	: Brown, 1988
	: TAP	: 6.3-64	: Ravizzola, 1984
Enterobacter	: CAP	: 3.1-64	: Brown, 1988
	: TAP	: 8-64	: Ravizzola, 1984
Citrobacter	: CAP	: 3.1-64	: Ravizzola, 1984
	: TAP	: 8-64	: Ravizzola, 1984
Proteus mirabilis	: CAP	: 12.5-25	: Ravizzola, 1984
	: TAP	: 8-64	: Ravizzola, 1984
Proteus (indol +)	: CAP	: 2.5-64	: Knifton, 1987
	: TAP	: 8-64	: Ravizzola, 1984
Serratia	: CAP	: >64	: Brown, 1988
	: TAP	: >64	: Brown, 1988
Shigella	: CAP	: 0.8->64	: Neu y Fu, 1980
	: TAP	: 0.8->64	: Neu y Fu, 1980
Salmonella	: CAP	: 0.5-10	: Knifton, 1987; Brown, 1988
	: TAP	: 8-64	: Ravizzola, 1984
Providencia	: CAP	: 12.5->64	: Neu y Fu, 1980
	: TAP	: 6.3->64	: Neu y Fu, 1980
Acinetobacter	: CAP	: 3.1->64	: Neu y Fu, 1980
	: TAP	: >64	: Neu y Fu, 1980
Pseudomonas aeruginosa	: CAP	: 12.5->64	: Brown, 1988; Knifton, 1987
	: TAP	: >64	: Neu y Fu, 1980
Bacteroides	: CAP	: 1-8	: Knifton, 1987
	: TAP	: 1.6-8	: Neu y Fu, 1980
Neisseria gonorrhoeae	: CAP	: 1.6-25	: Neu y Fu, 1980
	: TAP	: <1	: Furman, 1976; Tzanakaki, 1989
	:	:	: Ravizzola, 1984; Malgalhaes,
	:	:	: 1987
Chlamydia trachomatis	:	:	:
	: TAP	: 1	: Ridway, 1984
Bacillus anthracis:	CAP	: 2.5-5	: Knifton, 1987
Streptococcus pneumoniae	: CAP	: 1-4	: Fukui, 1987
	: TAP	: 12.4	: Neu y Fu, 1980
Pasteurella spp	: CAP	: 0.2-10	: Knifton, 1987
	: TAP	: 1.6	: Fukui, 1987
Vibrio anguillarum:	CAP	: 0.8	: Fukui, 1987
	: TAP	: 3.1	: Fukui, 1987

enzimas (Gaffney y Foster, 1978). Los derivados acetilados no se unen a los ribosomas bacterianos (Piffaretti, 1978).

La resistencia depende de genes en un plásmido, es decir, una porción circular de DNA en el citoplasma, independiente del cromosoma. Los plásmidos que contienen determinantes de resistencia se conocen como factores R. Estos son transferidos a otras bacterias a través de pilos del sexo por conjugación y también mediante fagos por transducción (Bowman, 1984). Los plásmidos pueden replicarse más rápidamente que el genoma, e independientemente del mismo (Klingereew Van, 1977).

1.1.6.- Interacciones medicamentosas

Se recurre a la asociación de antibióticos con fines terapéuticos a efectos de ampliar el espectro antibacteriano, mejorar las perspectivas de éxito cuando la situación de resistencia de los agentes patógenos es confusa, y, en casos especiales, evitar efectos secundarios específicos de algunos antibióticos mediante una reducción de la dosis de los mismos (Duval, 1980; Garrod, 1981; Jawetz, 1983; Laurence, 1980).

Se observa con frecuencia un sinergismo entre el cloranfenicol y las tetraciclinas (Jawetz, 1983).

Como cloranfenicol y tianfenicol son antibióticos bacteriostáticos (Garrod, 1981), pueden antagonizar la acción bactericida de las penicilinas (Hansten; 1979), por lo que no conviene asociarlos con ellas.

Ambas drogas decrecen la actividad enzimática de la kinurina hidrolasa, glucuronidasa y ácido ribonucleasa; aumentan por otra parte la actividad de la piridoxal fosfoquinasa. Pero sobre la kinurina aminotransferasa actúan de distinta manera, puesto que el cloranfenicol decrece y el tianfenicol aumenta su actividad (Akhnoukh; 1982; Daigenault, 1976; Liereman, 1976). Pueden, en definitiva inhibir las enzimas microsomales hepáticas (Adams, 1977) prolongando así la vida media de las drogas que son metabolizadas por este sistema y que incluyen dicumarol, fenitoína, clorpropamida y tolbutamida (Hansten, 1979) y, como consecuencia, se produce una elevación del nivel plasmático de estas drogas con el correspondiente aumento de riesgos de toxicidad a dosis terapéuticas (Brunov, 1977; Rose, 1977).

Por otra parte el efecto inhibitor del cloranfenicol sobre las enzimas hepáticas puede proteger al hígado de los efectos tóxicos del tetracloruro de carbono, pues el metabolismo es aparentemente necesario para convertir el tetracloruro de carbono en el verdadero producto tóxico, es decir en su metabolito, el radical triclorometilo (Castro, 1978; Dolci, 1978; Slater, 1982). Esta biotransformación está catalizada por una monooxigenasa dependiente del citocromo P450. Por lo tanto, los agentes como el cloranfenicol, que inhiben la actividad metabolizante de la droga disminuyen la hepatotoxicidad del tetracloruro de carbono (Castro, 1978; Dolci, 1978).

Debido a la depresión de la médula ósea que el cloranfenicol puede producir, es capaz de dificultar la acción de drogas como

el hierro, la vitamina B12 y el ácido fólico (Hansten, 1979).

Pueden deprimir el metabolismo de la ciclofosfamida, y como la actividad de ésta depende de sus metabolitos, se puede ver reducida la acción antineoplásica de la droga (Hansten, 1979).

A la inversa, otras drogas pueden alterar la eliminación del cloranfenicol. La administración crónica de fenobarbital abrevia la vida media del antibiótico, presumiblemente por inducción enzimática (Baggot, 1980; Hansten, 1979).

Los diuréticos parecen aumentar la excreción urinaria del cloranfenicol, disminuyendo su vida media (Schuck, 1978).

1.1.7.- Farmacocinética

La farmacocinética del CAP ha sido bien estudiada en el hombre y en la mayoría de los animales domésticos (Archimbault, 1980; Atef, 1991; Davis, 1972; Mercer, 1978; Pilloud, 1973; Sisodia, 1973b, 1980; Ziv, 1973a, 1975), por el contrario no existen muchos reportes acerca del comportamiento farmacocinético del TAP (Lavy, 1991; Signorini, 1986).

Ambos fármacos tienen características farmacocinéticas en común, fundamentalmente en absorción y distribución (Attili, 1962; Keen, 1979; Laplassotte, 1961; Signorini, 1986; Sisodia, 1980; Watson, 1972).

1.1.7.1.- Absorción

En general tanto en el hombre como en animales monogástricos, ambas se absorben completa y rápidamente por el tracto gastrointestinal (Knifton 1987), sobre todo en el duodeno (Kauffman, 1981).

En el hombre adulto, la absorción oral de CAP es buena. Se obtienen en suero, 2 a 3 horas después de la administración picos de 8 a 15 $\mu\text{g/ml}$ para una dosis de 7 mg/kg y 10 a 20 $\mu\text{g/ml}$ para una dosis de 15 mg/kg (Bartlett, 1982). La concentración activa de 5 $\mu\text{g/ml}$ es por lo tanto fácilmente alcanzada. En los niños, las concentraciones sanguíneas son muy variables y generalmente más elevadas debido al metabolismo más lento, lo que hace imprescindible el control de las concentraciones séricas luego de los tratamientos (Mc Cracken, 1987).

En el perro y en el gato, la vía oral puede ser de utilidad (Ling, 1978). Las dosis necesarias para obtener concentraciones terapéuticas son más elevadas que en el hombre (50 mg/kg cada 8 a 12 h) (Davis, 1972; Hird, 1986; Watson, 1972). El TAP en el perro es absorbido más lentamente que el CAP (Laplassotte, 1961).

En los porcinos, la administración de 50 mg/kg per os (English, 1961) no permite obtener una concentración sanguínea superior a los 3.5 $\mu\text{g/ml}$. Sin embargo Davis y col (1972) con 22 mg/kg obtuvieron niveles ligeramente más elevados y más prolongados.

En el caballo, Sisodia y col (1975) con 30 mg/kg y en el pony, Davis y col (1972) con 22 mg/kg per os no obtuvieron jamás niveles sanguíneos de 5 $\mu\text{g/ml}$.

En las aves, Clark y col (1982) con una posología de 8 mg/kg obtuvieron concentraciones plasmáticas relativamente elevadas en el canario (11.69 µg/ml al cabo de una hora), más bajas en la gallina (6.7 µg/ml a las 4 horas) y aún menores en la paloma (1.15 µg/ml después de una hora de administrar 100 mg/kg).

En la cabra, el cloranfenicol no pudo ser medido en el plasma luego de una dosis oral de 22 mg/kg (Davis, 1972). En los terneros se necesita una posología de 150 mg/kg para que las concentraciones terapéuticas sean alcanzadas (Sisodia, 1973a). De Backer y col (1979) postularon que esta dificultad en la absorción puede ser explicada en los ruminantes jóvenes por una dilución en los preestómagos y en los animales adultos por la destrucción de la droga por parte de la flora microbiana del rumen. Mediante la administración IV de vasopresina se induce el cierre de la gotera esofágica en bovinos y en cabras, favoreciendo de esta manera la absorción oral de CAP (Samuriwo, 1991).

La absorción por vía oral es muy variable de una especie a otra, permite obtener fácilmente concentraciones terapéuticas solo en el hombre, perro y rata.

La vía de administración intramuscular del cloranfenicol es muy discutida. Watson (1972) reportó que en el perro una suspensión acuosa de CAP inyectado cada 12 horas a razón de 33 mg/kg/día no permite alcanzar concentraciones plasmáticas más allá de los 3.5 µg/ml. Sisodia (1975) obtuvo un resultado análogo en el caballo con 50 mg/kg.

En los porcinos (English, 1961; Fabiansson, 1976) una inyección intramuscular de 50 mg/kg de CAP no produce concentraciones superiores de 1.5 µg/ml mientras que por la vía intraperitoneal da alrededor de la hora niveles del orden de 10 µg/ml.

En los bovinos, una dosis de 10 mg/kg produce concentraciones sanguíneas insuficientes (Sisodia, 1973a). Dosis de 20 a 30 mg/kg son recomendadas para obtener concentraciones superiores a la CIM (5 µg/ml) durante 6 a 10 horas.

Nouws y Ziv (1979) y Lamothe (1982) estudiaron la incidencia de la forma farmacéutica y el fraccionamiento de la dosis en los rumiantes (por lo menos en dos sitios diferentes). Obtuvieron biodisponibilidades comprendidas entre 50 y 80 %. Nouws y Ziv (1979), y Ziv (1973a) recomiendan una dosis terapéutica de 50 mg/kg/día y Lamothe (1982) 33 mg/kg tres veces al día.

En los ovinos dosis de 50 mg/kg de CAP por vía IM permiten obtener una concentración máxima (C_{máx}) de 10.94 µg/ml al cabo de 2 horas, descendiendo a menos de 5 µg/ml alrededor de las 7 horas (Akakp, 1989).

Tras la administración intramuscular de 0.5 g de TAP en el hombre, la concentración plasmática máxima (7.4-12.9 µg/ml), se alcanza más rápidamente que luego de la administración oral (Fuglesang 1982).

Para la vía subcutánea, si bien los estudios experimentales son limitados, la mayoría de los resultados muestran ventajas de

esta vía sobre la vía intramuscular. En los bovinos, una dosis de 16.5 mg/kg produce un nivel plasmático eficaz durante 12 horas y con 44 mg/kg este nivel se extiende a 24 h (Milhaud, 1985). En el perro los resultados son análogos a los obtenidos por la vía oral (Watson, 1972). En cambio en ovinos se reportó una concentración máxima menor (6.59 µg/ml) a las 2 horas, con un descenso por debajo de los 5 µg/ml alrededor de las 3 horas tras la administración subcutánea de igual dosis que por la vía oral (Akakpo, 1989).

La inyección intravenosa de CAP produce inmediatamente concentraciones elevadas. La disminución depende de la rapidez de difusión y de eliminación. Las diferencias son notables según las especies, como lo indica la Tabla 1.1.7.1.

Según Pilloud (1973) la vida media plasmática del CAP es de 3.5 h en los bovinos y 1 h en las cabras después de la administración de 20 mg/kg, mientras que Van Der Lee (1982) obtuvo tiempos netamente más cortos en las vacas lecheras

Clarenburg y Rao (1977) propusieron un tiempo medio de 55 minutos para los porcinos en lactancia después de haber recibido 22 mg/kg de CAP en propilenglicol, mientras que Mercer (1978) obtuvo tiempos definitivamente mayores en porcinos jóvenes ($2.6 \pm 1h$).

El tiempo medio de eliminación es igualmente muy variado para el caso de las aves: 26 min para la paloma, 110 min para el pavo y 150 min para la gallina (Clark, 1982).

Tabla 1.1.7.1 : Parámetros farmacocinéticos luego de la administración IV de 22 mg/kg de cloranfenicol (Davis, 1972)

ESPECIE	CONCENTRACION PLASMÁTICA AL TIEMPO CERO (ug/ml)	VIDA MEDIA PLASMÁTICA (h)	VOLUMEN DE DISTRIBUCION (l/kg)
Perro	12.4	4.2	1.77
Gato	9.3	5.1	2.36
Porcino	21.0	1.3	1.05
Equino	16.5	2.0	1.33
Pony	21.5	0.9	1.02

La absorción después de la administración intramamaria es muy importante y muy rápida. Van Der Lee (1982) halló una biodisponibilidad similar que para la vía intravenosa. La vida media de eliminación es aproximadamente 2.5 h. Nouws y Ziv (1982) reportaron que las concentraciones plasmáticas obtenidas después de la administración intramamaria de CAP son netamente superiores a las concentraciones plasmáticas obtenidas tras la inyección intramuscular de la misma dosis.

En resumen, las vidas medias de eliminación son breves, comprendidas entre 1 y 5 horas. En consecuencia, los intervalos interdosis serán de corta duración.

1.1.7.2.-Distribución

En los animales domésticos, el 30 al 46 % del CAP presente en la circulación sistémica se encuentra unido a las proteínas plasmáticas (Baggot 1980). La droga libre (forma activa) difunde bien a los líquidos corporales fuera del plasma (Sisodia, 1980; Hird 1986) y alcanza fácilmente concentraciones terapéuticas en el líquido cefalorraquídeo (Kohler, 1991), en el que ya al cabo de 3-4 h de la administración se alcanzan concentraciones equivalentes a un 50 % del nivel sérico (Hird 1986). Cuando las meninges se hallan inflamadas, el porcentaje es más alto y en determinadas circunstancias, equivalente a la concentración sanguínea. Luego de más de 24 horas de suspendido el tratamiento pueden determinarse concentraciones activas en el líquido cefalorraquídeo (Garrod, 1981; Meulemans, 1981; Nilsson-Ehle,

1979). Este antibiótico se concentra en el tejido encefálico (Kramer, 1969) probablemente debido a su elevada liposolubilidad.

En el hombre 2 horas después de administrar TAP, los niveles en líquido cefalorraquídeo son cercanos al 50 % del nivel sérico si las meninges están inflamadas. A diferencia del CAP este nivel es menor (20%) en meninges normales (Pfenninger, 1977).

Estos antibióticos también difunden a bilis y leche. Penetran con relativa facilidad en el humor acuoso después de la inyección por vía subconjuntival (Keen, 1979; Sugihara, 1978; Sisodia, 1980).

El CAP alcanza altos niveles en saliva. Luego de la administración subcutánea de 30 mg/kg, se obtiene una concentración máxima en saliva de 8 a 15 $\mu\text{g/ml}$ a los 8 minutos post administración (Dotter 1990).

Las concentraciones tisulares difieren en los diversos órganos, pero comprobándose en general para todas las especies, niveles particularmente elevados en los riñones y el hígado, siguiéndoles los pulmones, corazón, bazo, músculo y finalmente, el cerebro (Sisodia 1980). Alcanzan también concentraciones efectivas en fluidos pleural y peritoneal (Moss 1984). Tras su administración a animales gestantes la concentración en la sangre fetal es aproximadamente el 75 % de la maternal 2 horas después de la administración (Mercer 1980). El tianfenicol atraviesa la barrera placentaria, pasando al feto donde se acantona en el hígado produciendo una inhibición enzimática del 50 % a nivel mitocondrial. Lo dicho se observó en el primer trimestre del

embarazo en mujeres. Se comprobó que el TAP se hallaba en concentraciones superiores en tejidos embrionarios en relación a la madre, lo que hace pensar que la placenta cumple un rol importante en la difusión de la droga (Nau, 1981)

Ambos son muy liposolubles, difunden muy bien en todo el organismo. Penetran en el cerebro, glándula mamaria, útero grávido, etc (Bodhankar, 1988; Mercer, 1980; Nau, 1981). Tienen un volumen de distribución elevado, generalmente comprendido entre 1 y 2 l/kg (Davis, 1972; Nouws y Ziv, 1979; Signorini, 1986). Riñón, hígado y bilis concentran CAP por encima de las concentraciones en plasma.

El TAP se une en menor proporción a las proteínas plasmáticas (10-20 %) que el CAP (Otten, 1975).

1.1.7.3.- Metabolismo y excreción

El tianfenicol difiere del cloranfenicol en el hecho de no inducir los mecanismos enzimáticos de conjugación hepática, por carecer del núcleo nitrobencénico (Garrod, 1981; Yunis, 1988). Se encuentra en los diferentes órganos y líquidos biológicos, en forma químicamente inmodificada, es decir biológicamente activa, eliminándose de esta misma manera (Kunin, 1960; Laplassotte, 1961; Lodola, 1960).

El CAP se inactiva rápidamente en el hígado, para eliminarse en forma inactiva por orina, por lo tanto no está indicado en el tratamiento de infecciones urinarias (Laplassotte, 1961; Lodola,

1960). Aproximadamente el 80-90 % de una dosis oral es excretada por orina al cabo de 24 h, entre el 5 y el 10 % en forma biológicamente activa, mientras que el resto es inactivo consistiendo en productos de hidrólisis (con formación de aminas libres, arilaminas) (Glazco, 1966; Hammond, 1972) y conjugados con el ácido glucurónico (Garrod, 1981) en donde participa la glucuronil transferasa (Uesugi, 1974; Busch, 1967). Esta inactivación explica su poca eficacia en las infecciones hepatobiliares y renales. El antibiótico es eliminado esencialmente por filtración glomerular, mientras que los productos de degradación son eliminados por secreción tubular (Weinstein, 1975).

Los gatos son deficientes en enzimas metabolizadoras de CAP (glucuroniltransferasa) y aproximadamente el 25 % de la dosis es excretada por orina en forma inmodificada en comparación con 6 % en perros (Watson 1979a).

El TAP se elimina en forma biológicamente activa, en porcentajes altísimos (50-70 % de la dosis administrada) (Azzollini, 1970, 1972; Bonanomi, 1977; Cattebeni, 1974; Uesugi, 1974).

La eliminación biliar del TAP le adjudica relevancia para el tratamiento de la recaída tífica, colecistitis y portadores crónicos del bacilo de Eberth (*Salmonella typhi*) (Barba, 1964; Janbon, 1966; Sugihara, 1978). Esto se debe a que su eliminación se realiza en forma activa (a diferencia del CAP), por ejemplo, 16 horas después de una dosis oral de 50 mg/kg se han encontrado

concentraciones biliares de 30 µg/ml en el perro y de 52 a 74 µg/ml en el conejo.

La eliminación de estos antibióticos con la leche desempeña un papel importante en el aprovechamiento industrial de la misma, ya que tras la administración intramamaria, altas concentraciones de antibiótico pueden inhibir lactobacilos (Strom-Kruyswijk, 1983).

El CAP difunde muy bien en todo el organismo, lo que favorece su actividad, pero también favorece la presencia de residuos en todos los tejidos.

1.1.8.- Toxicidad

El cloranfenicol (CAP) presenta ciertas características toxicológicas, en particular: toxicidad hematológica, potencialidad carcinogénica, riesgos de orden microbiológico, efectos sobre los sistemas de biotransformación.

Esto indica que se tienen que tomar ciertas precauciones en su empleo (fundamentalmente en el gato, relativamente sensible) (Watson 1980), como así también vigilar en particular la presencia de residuos en animales para el consumo humano.

En los E.E.U.U. su uso no está permitido en los animales productores de alimentos, incluyendo el equino (Page, 1991 a y b) para evitar los riesgos de los residuos, mientras que en nuestro país aún se sigue usando cloranfenicol tanto en animales productores de carne como de leche y huevos.

1.1.8.1.- Toxicidad hematológica y hematopoiética

La acción tóxica del CAP sobre la médula ósea es muy común. Ejerce sobre la misma dos tipos de efectos bien distintos, tanto por la gravedad como por la modalidad de aparición (Bodhankar, 1988; Gardner, 1991; Mulhall, 1983; Penny, 1967; Yunis, 1969).

*A.- Aplasia medular: imprevisible, muy grave, no depende de la dosis administrada, más bien de una sensibilidad individual; y es de pronóstico fatal (Gardner, 1991; Kaltwasser 1974; Keiser 1972; Keiser 1974a y b; Mc Whae, 1992; Nijhof, 1978; Roussy, 1978; Yunis, 1981, 1988).

La frecuencia es de 1:50000 a 1:100000 tratamientos. El CAP es la causa más importante de anemias aplásicas de origen químico en el hombre (Krishna y col, 1981; Lery, 1978; Shu y col, 1987).

Datos reportados por Franceschinis (1981) sobre el uso clínico del CAP y TAP indican una tendencia a la utilización más frecuente del TAP; debido a que el riesgo de aparición de aplasia medular está íntimamente asociado al uso de CAP (Kaltwasser, 1974; Keiser, 1972; Lavy, 1991; Pazdemik, 1979; Roussy, 1978).

Este síndrome se traduce por una pancitopenia severa en relación con una hipoplasia o aplasia de la médula ósea sin transformación fibrosa o cancerosa. Esta anemia aplástica es de aparición tardía (semanas o meses post-tratamiento), afecta las tres líneas de células sanguíneas: hematíes, leucocitos y trombocitos. La trombocitopenia y la leucopenia preceden generalmente a la anemia.

La anemia aplásica producida por el CAP se atribuye al grupo nitro en posición "para" (Keiser, 1974; Kitch, 1981; Miller, 1978; Nijhof, 1978; Okubo, 1981; Yunis 1970, 1975, 1980 a y b, 1981) el cual interfiere con la síntesis de ADN en médula ósea.

Esta acción es debida al derivado nitroso del CAP (Gross, 1982; Yunis, 1980a, 1980b). La acción provocada por el metabolito nitroso es irreversible. Este metabolito nitroso se comporta como un agente alquilante; es capaz de combinarse con el ADN por sí mismo y de esta manera provocar la aplasia medular (Schmitt-Graff 1981); también puede producir leucemia.

Los derivados de la reducción del CAP, y en particular el nitroso-CAP son considerados metabolitos activos, responsables de la aplasia medular (Franceschinis, 1984; Jimenez, 1987; Yunis, 1987).

*B.- Eritroblastopenia o supresión medular: mucho menos grave, dosis dependiente y reversible, se observa tanto en el hombre como en los animales; es de aparición más frecuente que la aplasia medular.

Está ligada estrechamente a la concentración sanguínea de CAP, es decir a la dosis utilizada y a la duración del tratamiento; una disminución de la eliminación debida a una insuficiencia hepática o renal favorece la aparición de estos accidentes (Lery, 1978).

Este síndrome se traduce por una disminución del número de hematíes, una vacuolización de los eritroblastos y una elevación

del hierro sérico, con disminución del tenor de hemoglobina, leucopenia y trombocitopenia.

Según Lery (1978) y Nahata (1987) esta anemia se produce en el hombre cuando la tasa plasmática de CAP es superior a 35 µg/ml.

Los trastornos son reversibles al finalizar el tratamiento. Estos se observan tanto con el CAP como con el TAP. Aparece con una anemia con reticulocitopenia, puede estar asociada (o reemplazada) a otras modificaciones celulares: leucopenia, neutropenia, trombocitopenia.

El mecanismo de acción probablemente sea la inhibición de la síntesis protéica en las mitocondrias (Clark, 1978a y b; Keiser, 1974a y b; Nijhof, 1974, 1980; Yunis, 1973, 1975) (los ribosomas de las células animales son poco sensibles al CAP); esta acción explicaría la inhibición de la actividad de la ferroquelatasa (o hemosintetasa) en los eritroblastos, dando un bloqueo de la síntesis del núcleo hem. Esta inhibición de la ferroquelatasa se traduce por una modificación de la cinética del hierro, con un aumento de la tasa plasmática y una disminución de la fijación sobre los hematíes circulantes, esto se observa también con dosis moderadas de CAP.

Estudios experimentales, en el perro, gato (Watson, 1977, 1978), y canario (Rigdon, 1954), muestran que dosis muy elevadas de CAP (200 mg/kg/día durante 14 días) provocan una supresión medular transitoria y poco intensa.

Por un mecanismo análogo se explica la actividad antibacteriana del CAP, así como la acción atrófica sobre la mucosa del tubo digestivo (Al-Hussainy 1979) y la modificación de la morfología cromosómica (Kong-Do Goh, 1979). El CAP es capaz de inhibir el citocromo P450 (Halpert y Neal 1981), esto puede explicar la inhibición de la biotransformación de ciertos medicamentos (barbitúricos, hidantoínas, cumarinas. etc).

Estas inhibiciones de la biosíntesis protéica se deberían esencialmente a metabolitos formados por el catabolismo oxidativo (que implica el citocromo P450) y en particular al derivado ácido oxámico del CAP.

El TAP, en el que el grupo nitro (NO₂-) está reemplazado por un grupo metil sulfona (CH₃-SO₂-), tiene la misma acción reversible sobre la eritropoiesis, que puede ser explicada por reacciones análogas de oxidación.

Los trastornos hematológicos ocurridos en sujetos tratados con TAP, fueron en todos los casos dosis dependientes y se presentaron durante el tratamiento. Realizándose monitoreos durante el mismo, estas alteraciones pueden ser detectadas y revertidas al reducir la dosis o suprimir el antibiótico. El TAP no está asociado con la anemia aplásica dosis independiente producida por el CAP (Ferrari, 1984; Franceschinis, 1984; Najean, 1981).

***Otros trastornos hematológicos**

El CAP puede desencadenar una anemia hemolítica debido al

grupo nitrobenzeno en los hombres con déficit congénito de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD).

Hay una relación en medicina humana, entre los tratamientos con CAP y la aparición (rara) de leucemias, especialmente de leucemia mieloide aguda. En la mayoría de los casos, aparece después del desencadenamiento de la aplasia medular. El CAP es un antibiótico reconocido como carcinogénico (Montesano y col, 1977).

El TAP es embriotóxico en ratas, esta acción se debe a la inhibición de la síntesis protéica, lo cual provoca una reducida generación de ATP. Consecuentemente la cantidad de energía requerida para el rápido crecimiento embrionario y su desarrollo no está disponible, resultando un retardo reversible o inhibición irreversible del crecimiento de los embriones (embrioletalidad) (Bass 1975; Bass and Oerter 1977; Bass 1978a).

Estudios experimentales permiten poner en evidencia una acción inmunosupresiva del CAP y del TAP, la que se manifiesta por una reducción de la producción de anticuerpos y una prolongación de la semivida de los injertos en un hésped tratado (Weissberger, 1969).

La base de estas diversas acciones tóxicas reside probablemente en sus efectos antimitóticos y en la potencialidad mutágena (fracturas cromosómicas) (Quéinnec, 1975).

Su poder mutágeno se debe a la inhibición de la síntesis protéica (que es también el mecanismo de acción antibacteriano

del CAP). En efecto, el mantenimiento de la estructura de la fibra cromosómica está ligado a la presencia de proteínas específicas (histonas y no histonas). La acción del CAP sobre la síntesis protéica puede ser el factor responsable de la aparición de la fractura y de la desespiralización cromosómica (Kong-Do Goh, 1979).

La acción antimitótica afecta sobre todo las células en vía de multiplicación rápida (grupos celulares sanguíneos).

El TAP con dosis de 1g/día (en el hombre) induce en casos de enfermedades mieloproliferativas un 40 % de supresión de la eritropoiesis y una reducción de la cantidad de trombocitos en el mismo rango, incluso más rápidamente que con terapia citostática, disminuyendo el riesgo de hemorragias espontáneas o trombosis (Frohli, 1984).

1.1.8.2.- Otros efectos tóxicos o indeseables

*Colapsos cardiovasculares en caso de sobredosificación, administración a sujetos muy jóvenes con sistemas enzimáticos hepáticos inmaduros (Síndrome gris) (Biancaniello, 1981; Burns, 1959; Suarez, 1992; Watson, 1978)

*Intolerancia local (Watson, 1977)

*Accidentes alérgicos (Adams, 1975; Burgat-Sacaze, 1981; Woodward, 1991)

*Accidentes de orden microbiológico: Diversos tipos de trastornos, de gravedad y frecuencia muy variable, están

directamente relacionados con la acción antibacteriana del CAP (Adams, 1975; Keck, 1981; Finland, 1970). Puede producirse un shock endotóxico por lisis bacteriana con liberación masiva de endotoxinas, generalmente en el tratamiento de salmonelosis.

El CAP administrado por vía oral, puede perturbar considerablemente la ecología microbiana a nivel digestivo, al destruir los gérmenes sensibles y favorecer la proliferación de gérmenes resistentes (Staphylococcus, Clostridium, colibacilos). (Watson, 1977, 1978).

*Avitaminosis B y K: las modificaciones de la flora digestiva inducidas por el CAP, pueden desencadenar carencia de vitaminas sintetizadas por los microorganismos, fundamentalmente B y K (Keck, 1981).

La carencia de vitamina K puede conducir a una disminución de la tasa de protrombina y a perturbaciones de la hemostasis. En el hombre esto se observa cuando se administra CAP en forma prolongada. En medicina veterinaria, este riesgo existe sobre todo en aves que reciben una alimentación suplementada con CAP (Keck, 1981).

1.2.- GLANDULA MAMARIA

1.2.1.- Estructura anatómica del sistema mamario

El sistema mamario está formado por cuatro glándulas, cuartos o cuarterones (Getty, 1989; Torres Moreno, 1965) con sus respectivos pezones, cuyo conjunto se denomina "ubre". Esta se encuentra perfectamente dividida laterolateralmente en dos partes iguales (derecha e izquierda) por el ligamento suspensor medial que corre anteroposteriormente, en tanto que carece de división anatómica transversal que separe cuartos anteriores de posteriores. Los cuarterones posteriores producen aproximadamente el 60 % de la leche y los anteriores el 40 % restante (Schmidt 1976). En plena producción (primer ciclo de lactación) el peso promedio de las cuatro glándulas es 33 kg al que hay que añadir el peso correspondiente a la leche almacenada en las glándulas y el de la sangre. En definitiva el peso de la ubre de una vaca de alta producción junto con su contenido varía entre 45 y 113 kg.

Cada cuarto mamario posee un pezón con su conducto galáctoforo, su cisterna y su tejido glandular, que cumplen funciones específicas que se detallarán más adelante.

El pezón es de forma cilíndrica, su extremidad libre termina en forma de cono truncado, allí se encuentra el orificio galáctoforo externo (esfínter externo), al que sigue hacia arriba el canal galáctoforo. En la base del pezón, se localiza el orificio galáctoforo o esfínter interno, que junto con el externo son los encargados de impedir la salida continua de leche. Luego

sigue la cisterna del pezón, que se continúa y se confunde con la cisterna de la glándula, que es de forma irregular y con numerosas cavidades, allí desembocan los conductos galáctoforos mayores, cuya función es la de recibir y almacenar la leche que va siendo producida por el tejido glandular, el que se encuentra más arriba.

Los ligamentos suspensores están representados por dos laterales (derecho e izquierdo) y por uno medial. Los ligamentos suspensores laterales se originan a lo largo del tendón subpelviano (cara inferior de la sínfisis pubiana), continúan hacia abajo y adelante de la glándula respectiva, terminando por fibras que van a la cara lateral externa de la ubre y por fibras que se fijan a la piel, de donde se reflejan sobre la mama para dirigirse a la cara medial del muslo formando la capa superficial.

El ligamento suspensor medial se inicia en la línea blanca y se continúa hacia abajo, para terminar en fuerte abanico en la parte media de la base de la ubre.

1.2.2.- Estructura histológica del tejido glandular mamario

Es una glándula exócrina compuesta, de secreción apócrina (Maximow, 1960), es decir es una glándula intermedia entre la que sufre períodos de formación y de descarga sucesivos (glándula merócrina) y aquella en que sus productos se acumulan dentro del cuerpo de la célula, la que después de muerta es expulsada como

secreción de la glándula, y nuevas células que se forman repiten el mismo ciclo: glándulas holócrinas.

Cada cuarto mamario o glándula, está formado por un número indeterminado de lóbulos irregulares, separados entre sí por capas de tejido conjuntivo y adiposo; cada lóbulo tiene un conducto excretor recubierto en su parte interna de epitelio pavimentoso estratificado, que desemboca en los conductos galactóforos, y éstos a su vez lo hacen en la cisterna de cada cuarto mamario después de sufrir una dilatación local llamada seno galactóforo.

Las paredes de las porciones secretoras (los alvéolos y los conductos más finos) constan de una lámina basal, una capa de células mioepiteliales y, sobre la superficie interna de la glándula en descanso, una capa única de células (glandulares) epiteliales, en forma de columna baja. La forma de las células glandulares varía durante la lactación desde cilíndrica o cónica hasta plana.

1.2.3.- Irrigación

La irrigación arterial es aportada por dos arterias principales (pudenda externa), una para cada mitad de la ubre. Las arterias pudendas externas dan origen a las arterias mamarias cuando atraviesan el canal inguinal. Las arterias mamarias se dividen en ramas caudal y craneal, las que vuelven a ramificarse muchas veces y terminan formando pequeños capilares que rodean

cada uno de los alvéolos. La irrigación de los cuartos posteriores es mayor que la de los anteriores, puesto que a los mismos llega sangre desde la arteria pudenda externa, la cual a ese nivel tiene el máximo calibre para ir estrechándose hacia craneal (Fradson, 1966; Habel, 1970). Además los cuartos posteriores reciben sangre de la arteria perineal (rama de la pudenda interna) (Fradson, 1966).

Las venas, por las que la sangre abandona la ubre, son varias. Pero el desagüe sanguíneo se hace principalmente por dos pares de venas que resultan formadas por la conversión en un círculo venoso que existe en la base de la ubre. También intervienen la vena pudenda externa (mamaria media), abdominal subcutánea (mamaria anterior o vena de la leche) y la vena perineal.

1.2.4.- Fisiología de la producción láctea

Se puede dividir el desarrollo de la glándula mamaria durante la gestación en dos períodos: el primero, de activa proliferación de tejido alveolar, llamado de hiperplasia glandular. Este se presenta en la primera mitad o dos primeros tercios de la gestación, se caracteriza por el aumento de volumen de las células glandulares y por la repleción de alvéolos y conductos, producida por el producto segregado. Por lo tanto, en ese momento se considera finalizada la fase de desarrollo para iniciarse la fase secretora.

En esta fase de secreción interviene la porción anterior de

la hipófisis (Meitoe,1948) que produce la prolactina, segregando además una fracción hormonal (hormona tirotrófica) que actúa sobre la glándula tiroidea, y otra fracción que es la hormona adrenocorticotrófica.

La prolactina, también llamada mamotrofina, hormona lactógena, estimula el funcionamiento de los alvéolos para iniciar la producción de lo que al comienzo será el calostro y luego la leche.

Antes del parto la ubre se encuentra voluminosa, conteniendo en sus conductos y alvéolos el calostro, esto produce una inhibición de la prolactina, pero ni bien se ordeña la ubre, disminuye esta tensión y nuevamente se produce prolactina, que activa la nueva producción de calostro, el que se va convirtiendo en leche más rápido cuando más frecuentemente se ordeña. Por lo tanto, cuanto más frecuentemente se ordeña, se producirá un aumento normal de producción láctea por día.

La prolactina, además de ser un factor decisivo en la producción láctea (Leinati, 1948) interviene en el comportamiento o instinto maternal de las hembras.

La tiroxina es una hormona que además de producir junto con la prolactina, una estimulación en la producción de leche, produce un aumento del porcentaje de grasa en la misma (Torres Moreno, 1965a).

Para que se lleve a cabo la bajada o eyección de la leche, interviene la porción posterior de la hipófisis (Ely y Petersen,

1941), la que produce la hormona oxitócica u oxitocina; esta tiene como función hacer funcionar las células mioepiteliales que rodean a los alvéolos y entonces la leche sale de los conductos para llegar a la cisterna y al pezón.

Además, la neurohipófisis produce la vasopresina, esta actúa estimulando la contractilidad mioepitelial a nivel de los alvéolos.

Para que la neurohipófisis produzca oxitocina y vasopresina debe existir un estímulo sensorial sobre la ubre y fundamentalmente sobre los pezones.

1.2.5.- Características de la leche

La leche es una suspensión de pequeñas gotas de grasa en una fase acuosa en la que está disuelta lactosa, sales inorgánicas y proteínas, principalmente caseína.

Los componentes de la leche se producen directa o indirectamente a partir de la sangre. Aunque la presión osmótica es la misma para la leche y la sangre existe una marcada diferencia de composición entre ambos líquidos. la leche contiene cantidades mucho mayores de azúcar, lípidos, calcio, fósforo y potasio, pero menores de proteína, sodio y cloruro. Además, la proteína de la leche es fundamentalmente caseína (con pequeñas cantidades de albúmina y globulina), mientras que las proteínas del plasma sanguíneo son principalmente las albúminas y las globulinas. Cuantitativamente, la mayor parte de los lípidos de

la leche son triglicéridos, mientras que la porción principal de los lípidos sanguíneos son los fosfolípidos y el colesterol.

En las primeras semanas tras el parto, el porcentaje graso de la leche de vaca es alto; luego decrece durante 3 ó 4 meses, y posteriormente se incrementa gradualmente. La lactosa se eleva a un máximo aproximadamente el día 45, y después declina lentamente. El porcentaje de proteínas del suero lácteo es relativamente alto al principio y al final de la lactación.

También se debe tener en cuenta que el contenido graso de la leche que se retira de la ubre al final del ordeño es mayor que el de la que se obtuvo al principio.

En la leche hay muchas proteínas de menor importancia, por ejemplo algunas enzimas, que se encuentran en pequeña cantidad. También existen compuestos nitrogenados no protéicos, como urea, creatinina, ácido úrico y amoníaco. Algunos provienen de la sangre, y otros son productos de desecho o metabolitos de la glándula mamaria.

Todas las vitaminas conocidas pueden encontrarse en la leche, pero mientras algunas aparecen en abundancia, otras solo se presentan en cantidades relativamente pequeñas. Los microorganismos del rumen sintetizan el complejo vitamínico B; por lo tanto las cantidades de estas vitaminas en la leche de los rumiantes dependen menos de la dieta que en el caso de los no rumiantes. Lo dicho también es válido en el caso de la vitamina K, que no solo se sintetiza en el rumen, sino también en el intestino (Keck, 1981; Mc Elroy, 1941). Las vitaminas A, D y E no

son sintetizadas en el rumen, por lo que su cantidad en la leche refleja el aporte dietético (Keck, 1981; Riggs, 1940).

1.2.6.- Mastitis

La afección más frecuente y peligrosa que puede sufrir una vaca lechera es la mastitis. Esta es la inflamación del tejido glandular mamario, del tejido lobulillar y del interlobulillar, con frecuente formación de abscesos. Esta patología tiene lugar fundamentalmente, en los comienzos de la lactancia y cursa con alteraciones de diferente tipo e intensidad en la producción láctea. En algunos casos como manifestación local de diferentes enfermedades infecciosas generales y en otros, como estados infecciosos propios de la glándula, que pueden ser contagiosos o no y producidos por diferentes gérmenes patógenos.

Podemos decir, entonces, que la mastitis se caracteriza por alteraciones físicas, químicas y casi siempre bacteriológicas de la leche, y por modificaciones patológicas del tejido glandular. Entre las anomalías más importantes de la leche cabe mencionar cambios de color, presencia de coágulos y de gran número de leucocitos. También, en muchos casos, hay tumefacción, calor, dolor, e induración de la glándula mamaria. Debido al elevado número de casos subclínicos, el diagnóstico de mastitis depende actualmente, en gran medida, de pruebas indirectas basadas en el recuento de leucocitos en la leche.

Entre los agentes etiológicos, hay una gran variedad de microorganismos que pueden actuar por separado o asociados

(mastitis múltiple). Entre ellos los de mayor importancia económica y médica se presentan en la tabla 1.2.6.1. (Salam, A. 1987).

La mastitis puede ser clasificada por el tiempo de evolución en aguda o crónica; por la zona invadida puede ser focal o zonal (uno o dos cuartos) y difusa o general (toda la ubre); por la forma como se presenta puede ser: exudativa, serosa, fibrinosa, purulenta, hemorrágica, gangrenosa, etc; y finalmente, según la causa que la determina: infecciosa, o traumática (Torres Moreno, 1965b).

Hay una forma subclínica de mastitis, que económicamente es la más importante (Salam, 1987). Las enfermedades subclínicas de la ubre se caracterizan por su naturaleza inaparente: generalmente no vamos a distinguir exteriormente signos de enfermedad en la vaca afectada por este tipo de enfermedad. La vaca parece normal en su comportamiento, la ubre se ve normal y la leche que se ordeña también parece normal. Los principales gérmenes causantes son *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*.

Estas son enfermedades generalmente crónicas, es decir, de larga duración y que pueden afectar a la vaca en toda su vida productiva, si no se toman medidas efectivas para curarlas. A pesar de ser inaparentes o subclínicas, puede ocurrir que durante el período de lactancia, algunas de las vacas afectadas por este tipo de proceso evidencien signos propios de la mastitis clínica, esto es, inflamación en algún cuarto y cambios en la leche. Esta

Tabla 1.2.6.1.- MICROORGANISMOS PATOGENOS DE LA UBRE

- 1.- Causantes de mastitis infectocontagiosas (el contagio ocurre principalmente durante el tiempo de ordeño)

Staphylococcus aureus
Streptococcus agalactiae
Streptococcus dysgalactiae
Staphylococcus epidermidis
Corynebacterium bovis

- 2.- Causantes de mastitis infecciosa (el contagio ocurre principalmente en el tiempo que transcurre entre ordeños)

Escherichia coli
Enterobacter aerogenes
Citrobacter
Serratia
Streptococcus uberis
Klebsiella pneumoniae
Bacillus cereus
Pseudomonas aeruginosa
Corynebacterium pyogenes
Mycobacterium smegmatis; fortuitum; phlei
Levaduras: Cryptococcus sp.; Candida sp.; Trichosporum sp.
Algas: Prototheca
Hongos: Aspergillus

- 3.- Otros microorganismos causantes de mastitis

Mycoplasma: bovis; bovigenitalum; canadensis
Nocardia asteroides
Clostridium perfringens
Pasteurella multocida
Leptospira hardjo

- 4.- Microorganismos causantes de enfermedades que en forma secundaria, como secuela, pueden provocar mastitis:

Tuberculosis
Brucelosis
Listeriosis
Fiebre aftosa

mastitis sin embargo probablemente desaparezca por si sola y la enfermedad vuelva a su característica subclínica inaparente.

Desde el punto de vista epidemiológico, las enfermedades subclínicas son procesos infecto-contagiosos, teniendo como principal fuente de contagio a la ubre infectada; es decir, que en este tipo de enfermedades, la vaca infectada es directamente la causa del esparcimiento de la infección y esto ocurre durante el tiempo del ordeño. Cuando la leche infectada con los patógenos mencionados se pone en contacto (mediante las manos del ordeñador, la máquina ordeñadora o al salpicar gotas de esta leche) con la ubre o pezones de las vacas sanas, éstas están plenamente expuestas a la infección.

Las enfermedades subclínicas atacan generalmente un solo cuarto. En vacas viejas, con infección prolongada, se pueden encontrar 2 ó más cuartos infectados.

La curación espontánea (sin intervención del veterinario) es del 5 al 7 %, es decir, que no se debería confiar en esta alternativa y se deberían implementar programas de prevención y tratamiento de las vacas infectadas en el rodeo.

El principal daño, desde el punto de vista económico, que causan las enfermedades subclínicas, es la baja en la producción de la leche, en un 20% por lactancia por vaca infectada y, desde luego, causan una importante baja en la calidad de la leche, desde el punto de vista industrial y nutritivo, con serias implicancias en salud pública.

El deterioro que sufre la leche por las cargas bacterianas, se manifiesta con diferentes anomalías que se van presentando desde su obtención, hasta su elaboración, trayendo aparejado como dijimos, grandes pérdidas económicas (Ferrari, 1987).

Es fundamental realizar un perfecto plan de lucha contra la mastitis, el cual debe apuntar especialmente a la prevención de la misma. La mastitis en su forma clínica y subclínica, ocasiona serios trastornos al tejido glandular y provoca alteraciones en la secreción y composición de la leche, (Ver Tabla 1.2.6.2.).

Consideramos que para el tema mastitis, el plan de lucha debe basarse en prevenir nuevas infecciones intramamarias y controlar las ya existentes. Una de las formas de realizar ese control es midiendo la cantidad de células que se encuentran en la leche. Los niveles altos de las mismas, son motivados por el grado de lesión que sufre la ubre durante la lactancia y que la predispone para la implantación de bacterias patógenas.

Sin duda, la leche es un alimento esencial para el ser humano, por lo tanto es fundamental que cumpla con las siguientes características:

- *sabor suave, ligeramente dulce y algo salado,
- *bajo número bacteriano, unos pocos miles por ml en la leche fresca,
- *libre de patógenos,
- *bajo número de células somáticas,
- *actividad enzimática no significativa,
- *libre de sustancias extrañas, nocivas o tóxicas,

Tabla 1.2.6.2. : CAMBIOS EN LA CALIDAD DE LA LECHE OCASIONADOS
POR LAS ENFERMEDADES DE LA UBRE

COMPONENTE DE LA LECHE	EL CAMBIO EN COMPARACION CON LECHE NORMAL	CAUSA
Lactosa	Disminución	Menor actividad de síntesis
Grasa *	Disminución	"
Caseína (total)	Disminución	"
Proteínas del suero (leche)	Aumento	Infiltración sanguínea
Proteína (total)	Casi sin cambio	Relaciones sangre:leche
Cloruros	Aumento	Infiltración sanguínea
Sodio	"	"
pH	"	Productos alcalinos de la sangre
Corpúsculos, grumos	"	Factores sanguíneos de coagulación
Células somáticas	"	Quimiotaxia

* Puede también aumentar en casos de una baja en la producción de leche en la vaca enferma

*mantener todas sus propiedades nutritivas, funcionales y esenciales.

Aunque el plan de lucha contra la mastitis debe basarse en la prevención del contagio de vacas sanas, la curación de las vacas infectadas tiene importancia en el control de la enfermedad. Por intermedio del tratamiento antibiótico se puede eliminar la infección causada por diversos gérmenes.

Pero para aprovechar en su totalidad el potencial del tratamiento, este debe ser adecuado al tipo de infección y debe recordarse que el tratamiento es solamente uno de los eslabones en la larga cadena de control de la mastitis. No debemos olvidar que un mal manejo terapéutico también es perjudicial a nivel económico y de salud pública por la presencia de residuos, tema que se tratará luego.

1.3.- PRESENCIA DE ANTIMICROBIANOS EN LA LECHE

La terapia contra las mastitis se basa fundamentalmente en el uso de antibióticos. Estos pueden ser administrados por dos vías: la vía intramamaria, que es aceptada como de elección en el tratamiento de mastitis subclínicas o crónicas, y que en el caso de mastitis agudas, frecuentemente fracasa debido a la pobre y despareja distribución del medicamento a través del intenso crecimiento del parénquima mamario, o por el bloqueo que producen los productos inflamatorios. En estas circunstancias, se prefiere la terapia parenteral (Le talec, 1981; Ziv, 1980). El éxito de

la terapia parenteral depende del pasaje de las drogas desde la sangre a la leche.

1.3.1.- Tratamiento parenteral

Para un tratamiento eficaz, se debe escoger un antibiótico que responda a cuatro condiciones:

- 1) Ser activo sobre los gérmenes responsables de la mastitis,
- 2) Difundir bien en el organismo sin ser atrapado por otro órgano que no sea la glándula mamaria,
- 3) Pasar la barrera fisiológica de la ubre,
- 4) Mantenerse en la leche y en el tejido mamario en forma activa con una concentración mayor o igual a la CIM de la bacteria en cuestión por el tiempo necesario para eliminar los microorganismos patógenos.

La mayoría de los antibióticos atraviesan la barrera sangre-leche por difusión pasiva, la barrera (epitelio mamario) hace las veces de límite lipoideo-poroso que separa la sangre con un pH 7.4 de la leche, que tiene un pH con un valor algo inferior (6.5 a 6.8) en condiciones normales (Baggot, 1986). Los medicamentos penetran esta barrera por difusión a través de los lípidos de la membrana o pasando a través de los poros acuosos; este pasaje está determinado por la intensidad de la unión del antibiótico a la albúmina plasmática, por el pKa y por su grado de solubilidad en lípidos (Ziv, 1980). La mayoría de los antibióticos usados en el tratamiento de la mastitis son ácidos o bases orgánicas débiles. La fracción no ionizada es más liposoluble que la ionizada y puede difundir más fácilmente a

través de la membrana (Rasmussen, 1971).

La proporción de droga en forma no ionizada depende del logaritmo de la constante de disociación (pKa) de la droga y del pH del medio en el cual está disuelta.

La relación entre la concentración teórica del antibiótico en sangre y leche puede ser calculada según la ecuación de Jacobs. Para el caso de las bases débiles, que no están ionizadas en sangre:

La relación leche:suero=

$$1 + 10^{pKa - pH \text{ leche}} / 1 + 10^{pKa - pH \text{ suero}}$$

donde esta relación es superior o igual a 1 (Ziv y col, 1972; Ziv y col, 1974; Ziv y Sulman, 1973)

En cambio para los ácidos débiles la relación será:

$$1 + 10^{pH \text{ leche} - pKa} / 1 + 10^{pH \text{ suero} - pKa}$$

cuyo valor es inferior o igual a 1.

Los antibióticos anfóteros, como las tetraciclinas y los que no se ionizan, como el cloranfenicol, altamente lipófilos, producen relaciones leche:suero de 1 o valores ligeramente menores, tanto en leches normales como en mastíticas porque el grado de ionización de estas drogas no sufre cambios por las pequeñas diferencias de pH.

Se ha demostrado que solamente difunde a la leche la mitad

no ionizada y liposoluble de un electrólito orgánico presente en la fase acuosa del plasma sanguíneo (Rasmussen, 1966).

La duración de la excreción de un antibiótico en la leche se puede definir como el plazo que transcurre entre el tratamiento y el momento en el cual la concentración de residuos en la leche no puede ser dosada, aunque esto último depende de la sensibilidad del método de detección. Esta duración de excreción se expresa en horas (Bouchot, 1981).

Existen modelos farmacocinéticos bastante precisos que permiten calcular los parámetros farmacocinéticos de antibióticos en la leche, en función de la dosis y de las características químicas del medicamento (Ziv, 1980).

Hay tres parámetros principales a tener en cuenta:

1) La relación R de concentraciones máximas medidas en el suero y en la leche:

$$R = \frac{C_{\text{máx suero}}}{C_{\text{máx leche}}}$$

que para el caso del cloranfenicol es 2 tanto en la leche normal como en la infectada, siendo de 1 en el caso de los macrólidos.

2) El porcentaje de la dosis encontrada en la leche: esta fracción es de 0.1 para el cloranfenicol, también tanto en la leche sana como en la enferma.

3) La biodisponibilidad láctea (FLac): es la relación entre las áreas bajo la curva (AUC) concentración vs tiempo medidas en el

suero y en la leche. Este parámetro permite comparar la cantidad total de antibiótico que aparece en la leche y en el suero durante el tratamiento. Esta cantidad se calcula midiendo las AUC y permite apreciar la importancia del pasaje de antibióticos a la leche, y en el caso del cloranfenicol sería 2 en la ubre sana y en la enferma, mientras que para la penicilina G es de 20 en la ubre normal y 5 en la infectada y para la cloxacilina, 15 y 55 respectivamente.

Hay una serie de factores que influyen en la excreción de antibióticos por la leche tras su administración parenteral. Algunos de ellos serían: dosis administrada (Blobel, 1960), el excipiente empleado (Blobel, 1960), número de tratamientos efectuados (Wright, 1960) y el estado patológico de la glándula. En el caso de algunos antibióticos (penicilinas, aminoglucósidos y macrólidos) la presencia de una infección mamaria parece perturbar considerablemente la eliminación de los antibióticos por la leche luego de la administración intramuscular.

Por ejemplo, el pasaje de aminoglucósidos a la leche aumenta en caso de mastitis mientras que en el caso de los macrólidos, disminuye. La eliminación de cloranfenicol y de tetraciclinas no parece ser afectada por la infección mamaria.

1.3.2.- Tratamiento intramamario

La utilización de antibióticos por vía intramamaria, es particularmente importante en medicina veterinaria, por una parte, en función de tratarse del método más difundido para el

tratamiento de la mastitis y por otra parte, por sus connotaciones higiénicas debido a la permanencia de residuos de antibióticos en la leche. Hay dos puntos vitales a tener en cuenta ante la elección de drogas: la eficacia del tratamiento y las consecuencias desde el punto de vista de la salud pública (Burgat-Sacaze, 1983).

La excreción de antibióticos desde la leche está gobernada por la cantidad de leche producida, las características del medicamento y el estado de salud de la ubre (Mercer, 1976). Algunos antibióticos persisten en la leche más allá de 96 horas después de la administración. Se soluciona este problema usando bases que permitan la rápida excreción del antibiótico, pero altas dosis de droga probablemente deban ser usadas e intervalos más frecuentes de tratamiento para compensar el corto período de acción (Mercer, 1976).

La ubre bovina es un órgano poco favorable para realizar estudios cinéticos de drogas (Ziv, 1980). El procedimiento más común es medir la velocidad de excreción de las drogas en leche y el porcentaje de droga reencontrado en la misma.

La difusión de una sustancia administrada por vía intramamaria puede ser esquematizada en tres etapas (Fig.1.3.2.1.).

I. Fase biofarmacéutica

Correspondiente a la desintegración de la forma de liberación y consecuente solubilización del principio activo

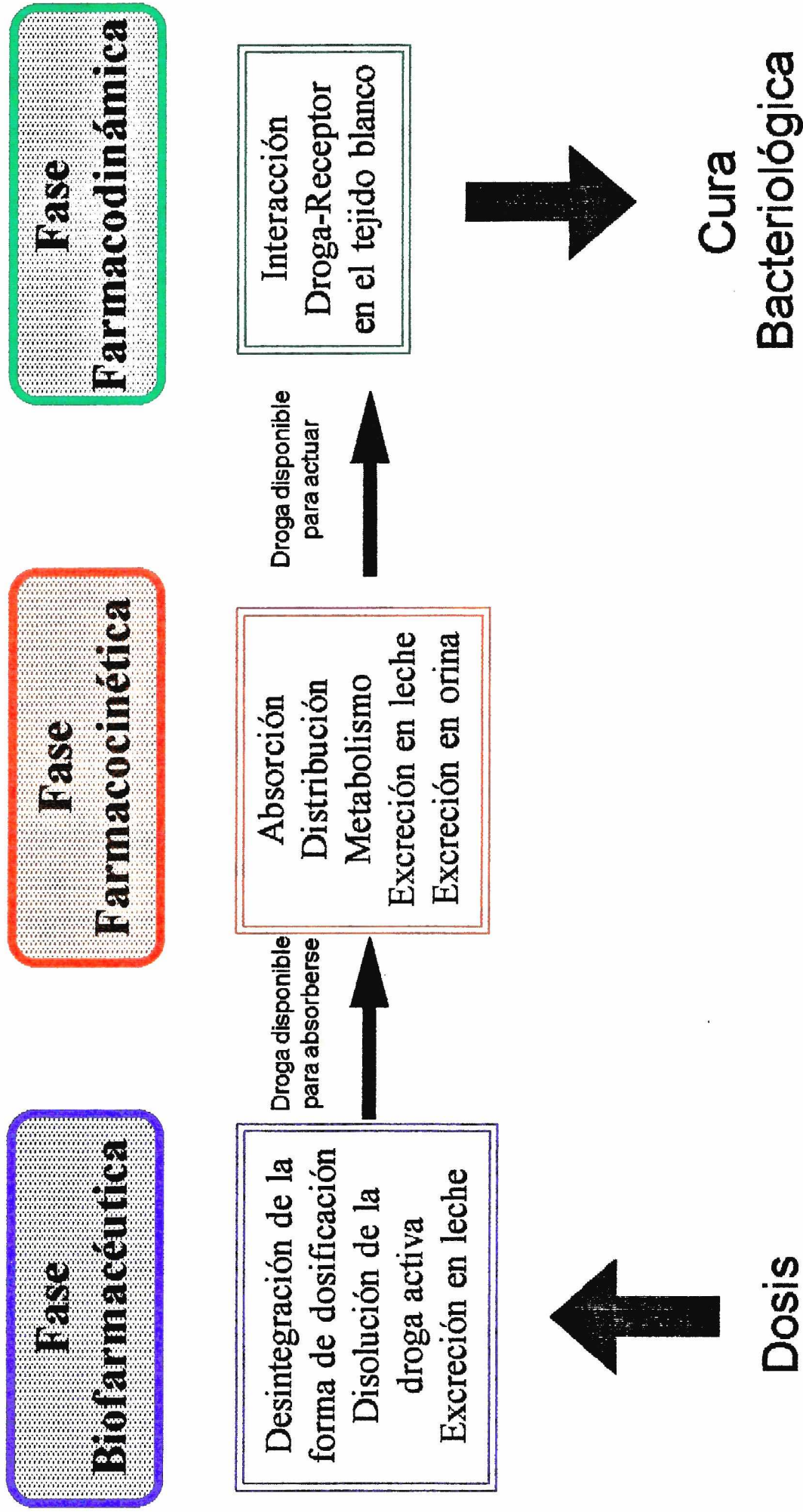


Figura 1.3.2.1: Representación esquemática de las fases que sigue un antibiótico tras su infusión intramamaria hasta alcanzar los microorganismos patógenos.

incluido en la presentación, dentro de la fracción acuosa u oleosa de la leche. También abarca la pérdida de droga debida a la inactivación que se produce antes que el principio activo se disperse a través de la leche en la cisterna y en los conductos, y la pérdida resultante del primer ordeño luego de la administración. Esta fase determina el inicio de la curva concentración versus tiempo de la droga en leche. Después del tratamiento con varias formulaciones de penicilina G y estreptomicina, 90 a 95 % de la dosis fue recobrada (Mercer, 1976); el porcentaje de droga reencontrada en leche, luego de la administración de formulaciones intramamarias que contenían lincomicina, cloranfenicol y novobiocina oscilaba entre 25 a 45 % (Ziv, 1980).

Todas las fases de la distribución son condicionadas por dos fenómenos previos: liberación del principio activo desde la forma farmacéutica y la disolución in situ. Los principios activos en solución difundirán más rápidamente y más intensamente que cuando están en emulsión o en suspensión.

Por otra parte diversas especialidades que parecen semejantes en cuanto al principio activo pero diferentes en su composición, pueden no ser bioequivalentes, estas diferencias pasan en general inadvertidas en cuanto a eficacia cuando no se controlan cuidadosamente resultados, pero es esencial tenerlas en cuenta para evitar la permanencia de residuos, ya que es imposible fijar un tiempo de espera a un principio activo que se encuentra incluido en una forma farmacéutica no precisa y aún en el caso contrario, si no es por medio de pruebas de disolución o,

directamente, de pruebas cinéticas.

Cualquier pequeña variación de las características químicas o físicas de estos principios activos, puede producir cambios cinéticos de magnitud. Una sustancia puede, según la forma en que ha sido incluida, existir bajo la forma amorfa o cristalina; las formas amorfas son frecuentemente más hidrosolubles.

También se debe tener en cuenta los vehículos empleados, las soluciones acuosas, o hidromiscibles, tendrán una difusión más fácil que las soluciones oleosas. Las primeras son fácilmente miscibles en el medio; en las segundas, la solubilización será más lenta.

Todo aumento de la viscosidad retarda la difusión, al igual que la presencia de adsorbentes, los cuales secuestran una parte del principio activo in situ (Ziv, 1980).

Otro factor que influye en la difusión y persistencia de residuos (en cantidad y duración) es la dosis administrada, así como el estado de salud de la glándula. Por el contrario, el número de tratamientos no parece tener una gran importancia (Burgat-Sacaze, 1983).

II.- Fase Farmacocinética

Esta fase comprende varios procesos que determinan la concentración primaria de droga libre en el compartimiento central de la ubre, es decir en leche o secreciones en la ubre seca, la cual influye enormemente en la concentración de droga en

el compartimiento tejido mamario. Estos procesos incluyen absorción, distribución, unión de la droga a la leche, secreciones en la ubre seca y componentes tisulares mamarios, metabolismo, y excreción (Barza, 1981; Ziv, 1980).

No puede haber difusión sin solubilización previa. Esta difusión es un fenómeno de tipo pasivo, se efectúa en función del gradiente de concentración en medios complejos (Fig.1.3.2.2), donde encontramos:

a.- Un sector hidrofílico: constituido por la leche o las secreciones mamarias más o menos modificadas y que llenan las estructuras de difusión naturales: cisternas del pezón y de la glándula, canales lobulares, conductos intralobulares y alvéolos. Este medio solubiliza preferentemente las sustancias hidrosolubles.

b.- Un sector lipofílico, que incluye todas las estructuras tisulares.

La transferencia se efectúa como un simple pasaje pasivo transmembrana. Los tejidos intersticiales o la circulación serán mejor alcanzados cuanto más liposoluble sea la sustancia, las formas ionizadas no podrán difundir.

La solubilidad de diversos antibióticos está relacionada a sus características estructurales y químicas, por ejemplo: las moléculas neutras, como el cloranfenicol y los nitrofuranos, tienen una difusión rápida y extensa. En el caso de electrólitos, ácidos o bases débiles, la solubilidad depende del pKa y del pH del medio (Keck, 1978). Estas moléculas tienen carácter hidrófilo

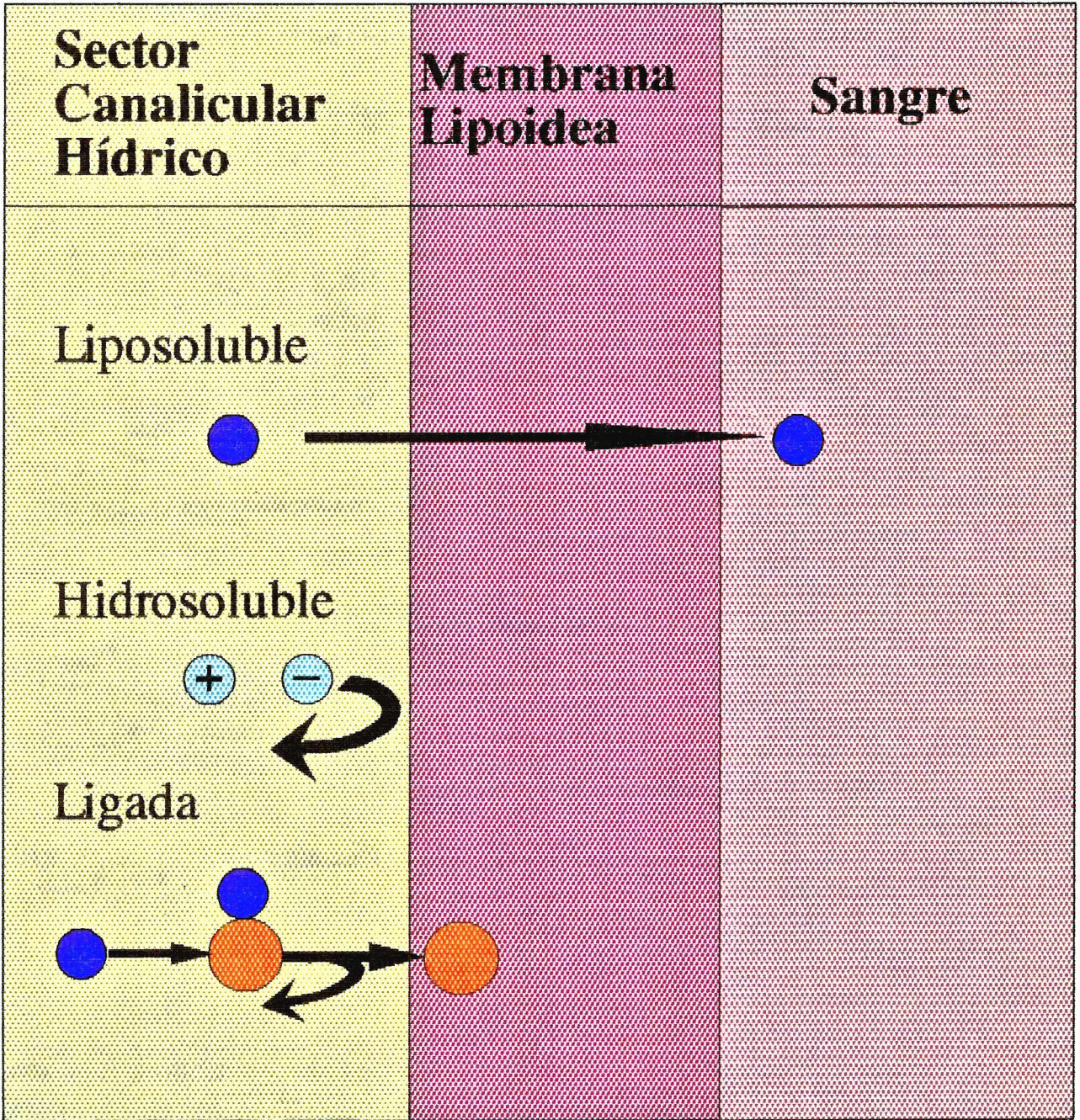


Figura 1. 3. 2. 2: Representación gráfica de la difusión de los antibióticos en la glándula mamaria

al estar ionizadas e hidrófobo cuando no lo están. Un ácido se disocia a pH alcalino y una base a pH ácido. Al pH normal de la leche (6.6-6.8) todos estos compuestos se encuentran parcialmente ionizados, por consiguiente con fracciones variables hidrosolubles; la diferencia tiene un porcentaje no ionizado que asegura la difusión en el sector lipófilo y aumenta la fuerza de difusión (Tabla 1.3.2.I).

Fijación a los constituyentes intramamarios

Este parámetro puede reducir la capacidad de difusión. La fijación protéica, depende de la estructura química del compuesto y varía según la familia del antibiótico considerado. Podemos decir, en general, que existen:

- Sustancias donde el grado de fijación es débil: cloranfenicol, nitrofuranos, tetraciclinas y beta-lactámicos.
- Productos donde la fijación es importante: espiramicina, aminoglucósidos y polimixinas.

La fijación a las proteínas de la leche es inferior a la de las secreciones encontradas después de un período de secado, muy abundante en albúmina.

El porcentaje de unión no es absoluto, este varía por ejemplo, con el tiempo en función de la concentración de antibiótico in situ. Además la fijación puede ser reversible o

Tabla 1.3.2.I : Variación de la difusión en función de los caracteres físico-químicos (Ziv, 1975, 1980)

	Compuesto	pKa	Fracción no ionizada (%) pH = 6.8	Liposolubil.	R
Neutro	Cloranfenicol		100	elevada	0.2
	Bencilpenicilina	2.8	0.01	muy débil	1.6
	Cloxacilina	2.8	0.01	elevada	0.8
Acido	Ampicilina	2.8-7.2	0.6	moderada	0.7
	Cefalexina	5.3-7.8	36	intermedia	0.2
Bases	Eritromicina	8.8	1.0	moderada	2.2
	espiramicina	7.6	13.7	moderada	6.8

no. En el primer caso, la fracción ligada representa una forma de reserva, en equilibrio con la forma libre; y libera progresivamente el antibiótico activo; este sería el caso de los aminoglucósidos y la espiramicina, donde la difusión es lenta, limitada, pero la duración de acción es prolongada. En el otro caso, la fijación secuestra al antibiótico, por ejemplo los betalactámicos (Ziv y Sulman, 1974; Ziv, 1976; Ziv, 1980).

Eliminación: Difusión generalizada. Eliminación por la leche del cuarto mamario medicado.

La cantidad de antibiótico eliminado es intensa durante las primeras horas que siguen al tratamiento, luego disminuye progresivamente.

La eliminación del antibiótico por la leche puede dejar residuos precoces o tardíos; los primeros pueden ser muy importantes cuantitativamente, por eso es importante determinar la fracción encontrada de la dosis administrada.

Los residuos tardíos son cuantitativamente menores pero pueden tener mucho mayor repercusión práctica.

Paso de antibióticos a los cuartos no tratados

Los antimicrobianos pasan a los cuartos en concentraciones netamente inferiores a las encontradas en el cuarto administrado, además para algunos antibióticos también la persistencia es menor.

Esta transferencia se efectúa según dos mecanismos (Archimbault, 1979; Ceryre, 1979; Siddique, 1965; Ziv y Gordin, 1974) (Fig.1.3.2.3).

-Por difusión local transeptal o por anastomosis vasculares; los antibióticos más liposolubles y los menos ligados son los más aptos para esta difusión pasiva transeptal, local. Esta modalidad es variable según los compuestos: cuando existen concentraciones en los cuartos homolaterales, éstas son superiores a las de los heterolaterales (cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina). En el caso de bencilpenicilina y dihidroestreptomicina, no se han descrito pautas generales de pasaje.

-El pasaje de antibióticos a la circulación general y la difusión a los cuartos no tratados es idéntica a la que existe después de la administración parenteral. Este fenómeno depende de la capacidad de transferencia del alvéolo hacia la circulación general. Toda alteración de la barrera alveolar, frecuente después de mastitis, acelera y amplifica este fenómeno. Y de la circulación general hacia la glándula, influirán los elementos encontrados después de la administración parenteral: las sustancias neutras se repartirán entre la sangre y la leche en forma más o menos igual, los ácidos difundirán en niveles bajos, pero las bases difundirán en cantidades más o menos grandes, lo que repercutirá en concentraciones lácteas mayores a las de la sangre. La lipofilia, el pKa, los pH de la sangre y de la leche son los elementos que rigen este sistema.

Circulación General

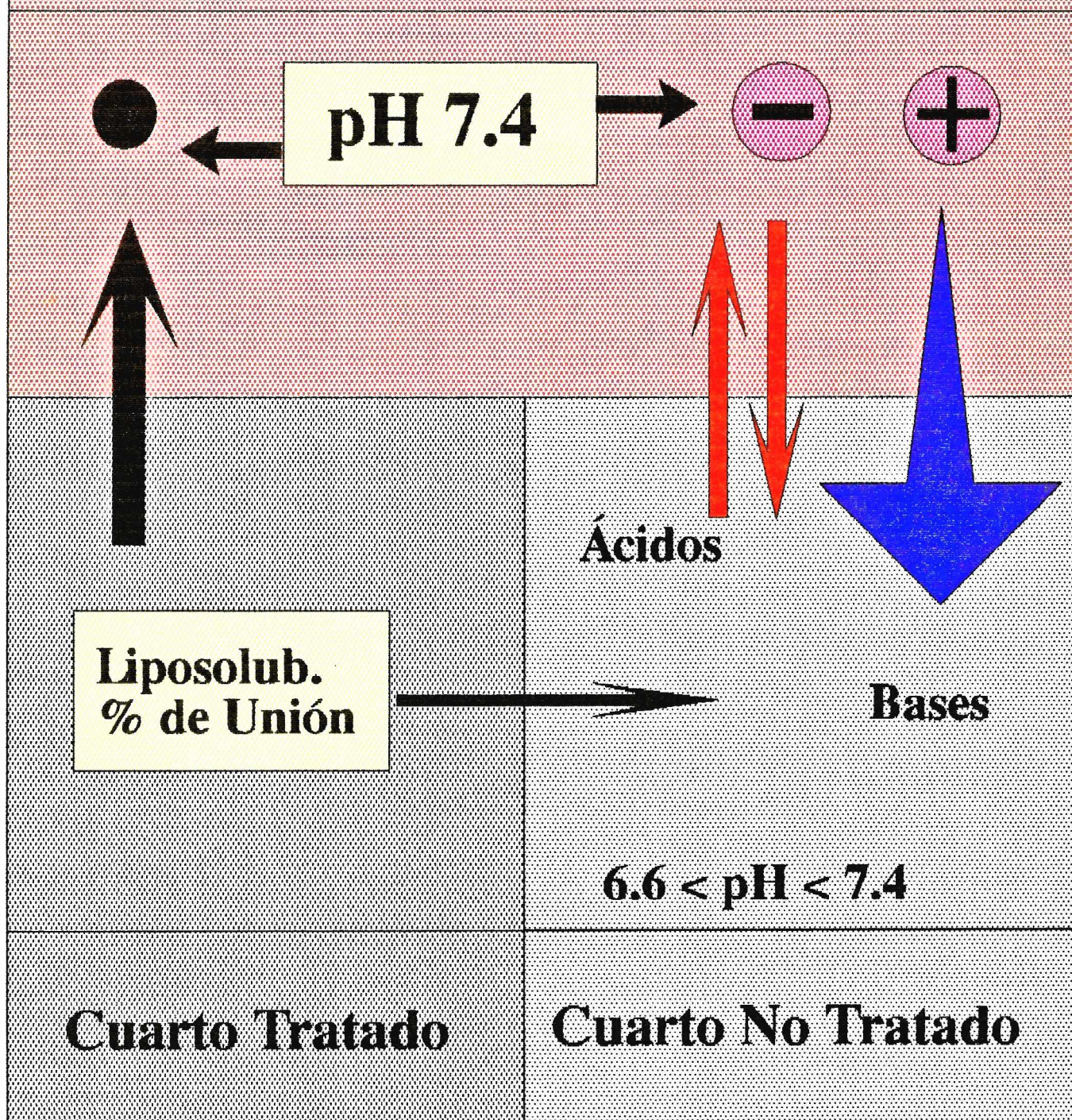


Figura 1. 3. 2. 3: Difusión de antibióticos hacia la leche de los cuartos no tratados.

Hay una serie de factores que influyen en la excreción de antibióticos por leche: entre ellos, el número de cuartos tratados, aunque Mercer y col (1976) no observaron ninguna variación en la duración de la excreción de penicilina procaínica inyectada en 2 ó 4 cuartos mamarios.

La repetición de la administración (3 a 12 horas de intervalo) no parece influir en el tiempo de eliminación de neomicina y cloxacilina, tanto en excipiente oleoso como en solución acuosa (Archimbault, 1978; Siddique, 1965). Lo mismo observó Ziv (1973) con cloranfenicol.

Otro factor importante es la producción lechera. En general las grandes productoras (más de 20 kg de leche/día) eliminan más velozmente las penicilinas y los aminoglucósidos por vía galactófora (Mercer, 1970). En cambio Siddique (1965) reportó que la producción lechera no influye en el tiempo de eliminación de neomicina y dihidroestreptomicina.

III.- Fase Farmacodinámica

Esta fase trata la interacción de la droga con los microorganismos patógenos situados en el compartimiento blanco. Una buena actividad antibacteriana en el sitio de la infección es requisito fundamental de los agentes antimicrobianos para el tratamiento de la mastitis. Algunas drogas antibacterianas con buenos efectos a nivel plasmático en infecciones diversas, muestran reducida actividad in vitro en leche, secreciones de la ubre seca y leche mastítica (Khan, 1963; Price, 1955-1966), lo que no hace sino confirmar que este es un sistema con

características propias. El modo de acción bactericida es de elección en la selección de antibióticos para ser usados en el período seco (Ziv, 1975).

Ziv (1980), hizo un listado de las características que deben tener los antibióticos para poder ser usados por vía intramamaria:

***Tratamiento durante la lactancia:**

- a.- Mínima irritación de la ubre,
- b.- Baja concentración inhibitoria mínima,
- c.- Bajo grado de unión a las proteínas de la leche y del tejido mamario,
- d.- Químicamente, ser una base débil, o estar altamente no ionizada en la ubre,
- e.- Suficientemente liposoluble,
- f.- Necesitar de períodos cortos de retirada

***Tratamiento durante el período de secado:**

- a.- Completamente no irritante para la ubre,
- b.- Baja concentración inhibitoria mínima con modo de acción bactericida,
- c.- Alto grado de fijación a las proteínas de la secreción de la ubre seca y tejidos mamarios,
- d.- Químicamente ácido o base fuerte,
- e.- Fuerte hidrofilia,
- f.- Peso molecular elevado,
- g.- Actividad antimicrobiana en la ubre por lo menos durante tres

semanas,

h.- Lenta velocidad de liberación del producto activo desde el ungüento, preferentemente siguiendo una cinética de orden cero.

1.3.3.- Residuos de antibióticos en leche

Además de solucionar el problema de las mastitis en sí, es necesario evitar la permanencia de residuos de antibióticos en leche, en particular tras la administración intramamaria (Le Talec, 1981; Ziv y Gordin, 1974), en un solo cuarto o en todos. No nos olvidemos que al tratar un solo cuarto mamario, el antibiótico también difunde hacia los cuartos no tratados (Ziv y Gordin, 1974). Para el caso del cloranfenicol, antibiótico que nos interesa por su similitud con el tianfenicol, la concentración en la leche del cuarto no tratado corresponde a la concentración sérica (Ceryre, 1979). Por lo tanto se debe tener presente que el tiempo de espera para el consumo de la leche de los cuartos no tratados debe ser semejante al del cuarto medicado (Archimbault, 1979).

Es fundamental evaluar los riesgos debidos a la presencia de residuos de cloranfenicol en leche, que además de problemas alérgicos, a dosis residuales es capaz de provocar aplasia medular en el hombre, lo que sería una toxicidad directa (Milhaud, 1981).

Aparte de los fenómenos de antibioticoresistencia y la acción sobre la flora digestiva, la mayoría de los antibióticos

son considerados como medicamentos que ofrecen un gran margen de seguridad. Sin embargo, con algunos de ellos esto no es así. A continuación se enumeran una serie de manifestaciones de toxicidad y las drogas responsables:

- Eritroblastopenia y aplasia medular por el cloranfenicol;
- Neurotoxicidad y reacciones de hipersensibilidad por los beta-lactámicos;
- Nefrotoxicidad, neurotoxicidad y acción curariforme por los aminoglucósidos;
- Nefrotoxicidad por acción de polipéptidos;
- Coloración de dientes, trastornos hepáticos y renales, fotosensibilización y alergia por las tetraciclinas;
- Trastornos hepáticos y sensibilidad alérgica por los macrólidos.

Pero estas manifestaciones tóxicas ocurren en los animales generalmente después de grandes dosis o de tratamientos prolongados (3 a 6 meses) por vía oral, con la excepción de la aplasia provocada por el cloranfenicol y las diversas manifestaciones alérgicas.

Muchos autores trataron de encontrar una correlación entre las dosis de cloranfenicol utilizadas y las manifestaciones de aplasia medular, y fueron coincidentes en admitir que esta afección es independiente de la dosis y de la duración del tratamiento.

Keck (1981) opina que es necesaria una bioactivación de la actividad médulo-tóxica del cloranfenicol, este metabolito activo actúa como hapteno, apareciendo solo en sujetos genéticamente

predispuestos. Para Yunis (1969) la sensibilidad individual es debida a un déficit bioquímico de la síntesis de ADN, el que así será más fácilmente inhibido por el cloranfenicol.

En la industria lechera también los residuos en leche ocasionan inconvenientes, para la fabricación de quesos y de leches fermentadas donde el *Streptococcus thermophilus* y el *Lactobacillus vulgaris* son utilizados. El *Streptococcus* actúa como productor de acidez mientras la mezcla de *Streptococcus* y *Lactobacillus* es necesaria para la obtención de una fermentación adecuada. Este equilibrio puede ser destruido por los residuos que provocan la disminución o detención de la acidificación de la leche (Mourot, 1981).

1.4.- CONCEPTOS DE FARMACOCINETICA

1.4.1.- Introducción

Wagner (1983) definió a la farmacocinética, como la disciplina matemático-biológica que describe la velocidad 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 y sus cantidades en el cuerpo y en la excreta, así como elaborar modelos matemáticos aplicables a la interpretación de los datos obtenidos . Para ello se utilizan modelos cinéticos sencillos y adecuados que representan un sistema de compartimientos en el organismo, y en los cuales se supone que se distribuye un fármaco, una vez que ingresó al mismo. Un compartimiento tiene entidad más fisicoquímica que fisiológica o anatómica. Se trataría de una fracción de material biológico en la que el medicamento se halla uniformemente repartido y en la que éste presenta las mismas propiedades.

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. Obviamente el número de compartimientos en que habrá que considerar dividido el organismo dependerá en cada caso, de las propiedades fisicoquímicas del medicamento, que consideraran su

velocidad de penetración a través de las membranas y su acceso a los distintos sectores.

En general el comportamiento de drogas se puede describir a través de modelos mono o multicompartimentales. El primero de estos asume una distribución homogénea e instantánea del fármaco en el organismo. Se lo emplea para el análisis farmacocinético de los datos de concentración en sangre y de excreción urinaria, de aquellos fármacos que después de su ingreso en la circulación sistémica se distribuyen rápidamente entre el plasma y tejidos (Gibaldi 1969) (Fig. 1.4.1.a).

En el caso de los modelos multicompartimentales se considera dividido al organismo en compartimientos, cuyo número dependerá de las características del fármaco. El modelo más comúnmente utilizado es el modelo abierto de dos compartimientos (Fig.1.4.1.b). Este modelo caracteriza a un medicamento que se distribuye homogénea y rápidamente en un compartimiento central (sangre y tejidos bien perfundidos) y que más tarde, se equilibra con un compartimiento periférico (el resto del organismo) que englobaría los tejidos de menor perfusión sanguínea (Baggot 1978a).

En el modelo tricompartmental el fármaco se distribuye en forma inmediata en el compartimiento central, el que se equilibra rápidamente con un compartimiento periférico superficial y más lentamente con un compartimiento periférico profundo, llevándose a cabo la eliminación a través del compartimiento central (Fig.1.4.1.c).

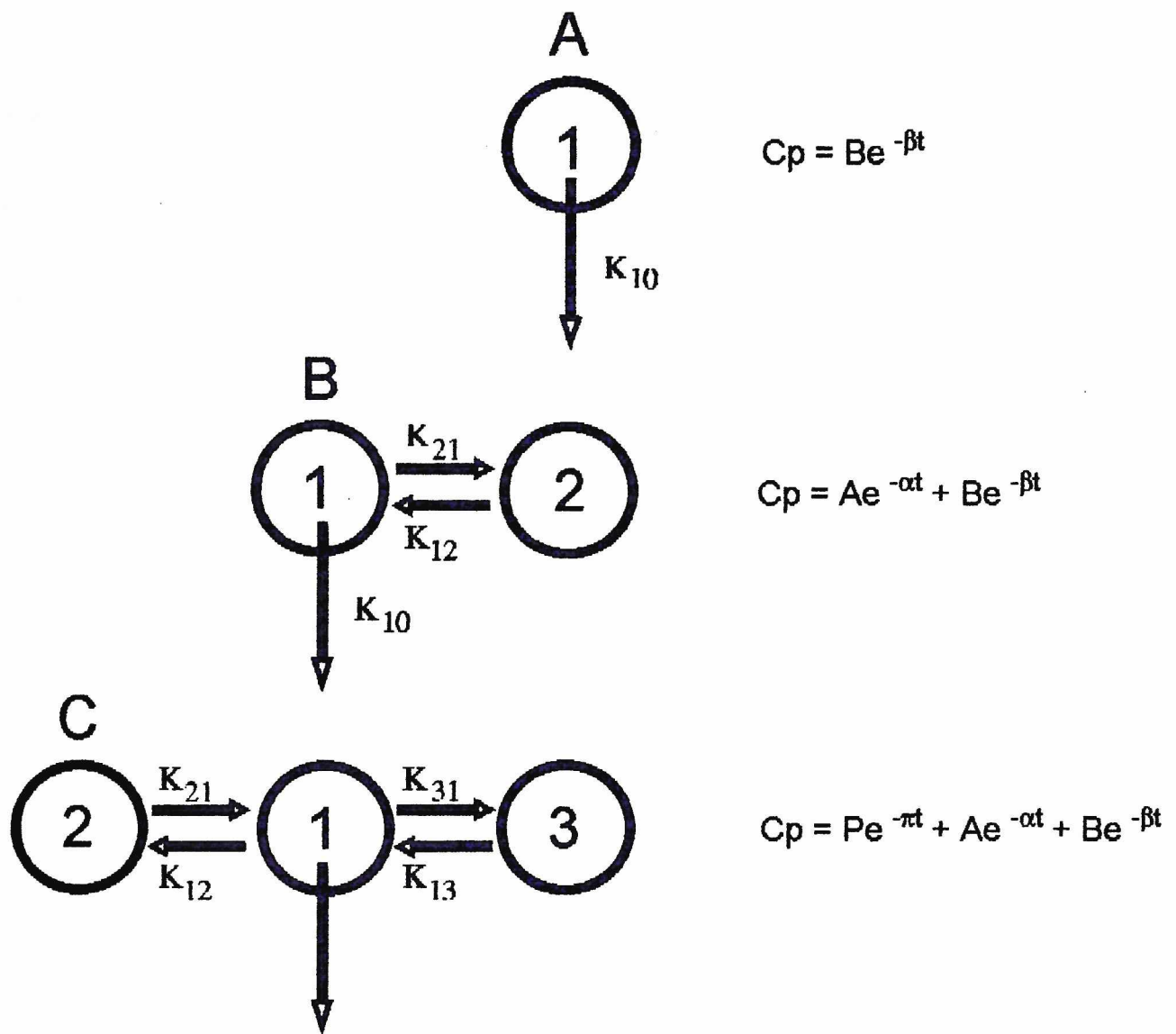


Figura 1. 4. 1: Diagrama esquemático de los diferentes modelos farmacocinéticos utilizados para el estudio de los fármacos.

1.4.2.- Discriminación de modelo

Entre los diferentes métodos de discriminación de modelo cinético encontramos:

- *1. Observación directa de la curva concentración sérica / plasmática en función del tiempo (Baggot 1977).
- *2. Correlación lineal: se correlacionan las concentraciones experimentales con estimadas para los mismos tiempos a partir de ecuaciones mono, bi y triexponenciales (Baggot 1977). De esta manera se establecen coeficientes de correlación (r), pendientes e intersecciones con los ejes "y". Los valores estimados que tengan una mejor correlación, pendiente más cercana a 1 y ordenada más próxima a 0, con los experimentales serán los correspondientes al modelo que mejor describa la cinética sérica ó plasmática del fármaco.
- *3. Test MAICE: este método utiliza el criterio de información de AKAIKE (AIC) (Akaike 1973a,1973b,1976) y su adaptación para discriminación de modelos hecha por Yamaoka y col (Yamaoka 1978), conformando el Test MAICE. Akaike definió su modelo a través de la siguiente expresión:

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

Donde:

N : número de datos

p : número de parámetros

Re: suma de los cuadrados de las residuales obtenidas entre las concentraciones experimentales y teóricas:

$$Re = \sum_{i=1}^n W_i (C_t - C_e)^2$$

Donde:

Ct : concentración teórica

Ce : concentración experimental

Wi : factor de pesada para cada dato

El modelo que como resultado arroje el menor AIC será el que mejor describa la cinética del fármaco. El Test MAICE se considera el método de elección para discriminar comportamiento farmacocinético, ya que penaliza los modelos complejos con gran cantidad de parámetros; jerarquizando a los modelos más simples.

1.4.3.- Cálculo de parámetros farmacocinéticos

1.4.3.1.- Análisis de la curva de disposición plasmática

El modelo bicompartimental es el que mejor representa a la mayoría de los fármacos en animales y humanos (Baggot 1977). Es el modelo de uso más difundido.

Cuando del análisis de la curva semilogarítmica concentración en función del tiempo surgen dos fases, se dice que la cinética de la droga en cuestión sigue un modelo abierto de dos compartimientos. Esta curva puede ser descripta matemáticamente por la siguiente ecuación biexponencial:

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

Donde:

- C_p : es la concentración plasmática/sérica de la droga al tiempo t
- A y B : son términos de intersección con el eje "y" correspondientes a concentraciones ($\mu\text{g/ml}$)
- α y β : son las constantes de tasa de distribución y eliminación respectivamente. Se expresan en unidades de tiempo recíproco (1/h, 1/min)
- e : base de los logaritmos naturales

En este tipo de curva se observa un rápido descenso de concentración plasmática o sérica inmediatamente después de la administración intravenosa, seguido de una declinación más lenta.

El tiempo al cual la primera fase se diferencia de la segunda indica que se ha establecido el pseudoequilibrio de distribución entre ambos compartimientos.

La rápida caída inicial de la concentración de fármaco en plasma, es el resultado de la distribución (mediante difusión)

del mismo desde el compartimiento central hacia el periférico y simultáneamente de la eliminación. Este segmento corresponde entonces a la fase α o de distribución. Una vez alcanzado el punto de pseudoequilibrio continúa el descenso de la concentración de la droga en función del tiempo en forma más suave, debido fundamentalmente al proceso de eliminación irreversible desde el compartimiento central (fase β o de eliminación) (Fig.1.4.3.1).

A partir del punto de pseudoequilibrio y hasta el valor de la última concentración medida, por regresión lineal se obtiene el coeficiente de correlación ($r \beta$), pendiente (β) y punto de intersección de la fase β con el eje "y", el que es designado B. De aquí obtendremos los parámetros de eliminación.

Se calculan residuales entre los valores de concentraciones reales, obtenidos antes del punto de pseudoequilibrio y los valores extrapolados de la regresión lineal antes mencionada para los mismos tiempos.

Mediante una segunda regresión lineal entre las concentraciones residuales obtenidas y sus correspondientes tiempos, se obtiene el coeficiente de correlación ($r \alpha$), pendiente (α) y el punto de intersección con el eje "y", en este caso denominado A. De aquí obtendremos los parámetros de distribución.

La suma de A y B da la concentración de fármaco en plasma inmediatamente después de la inyección intravenosa (C_p).

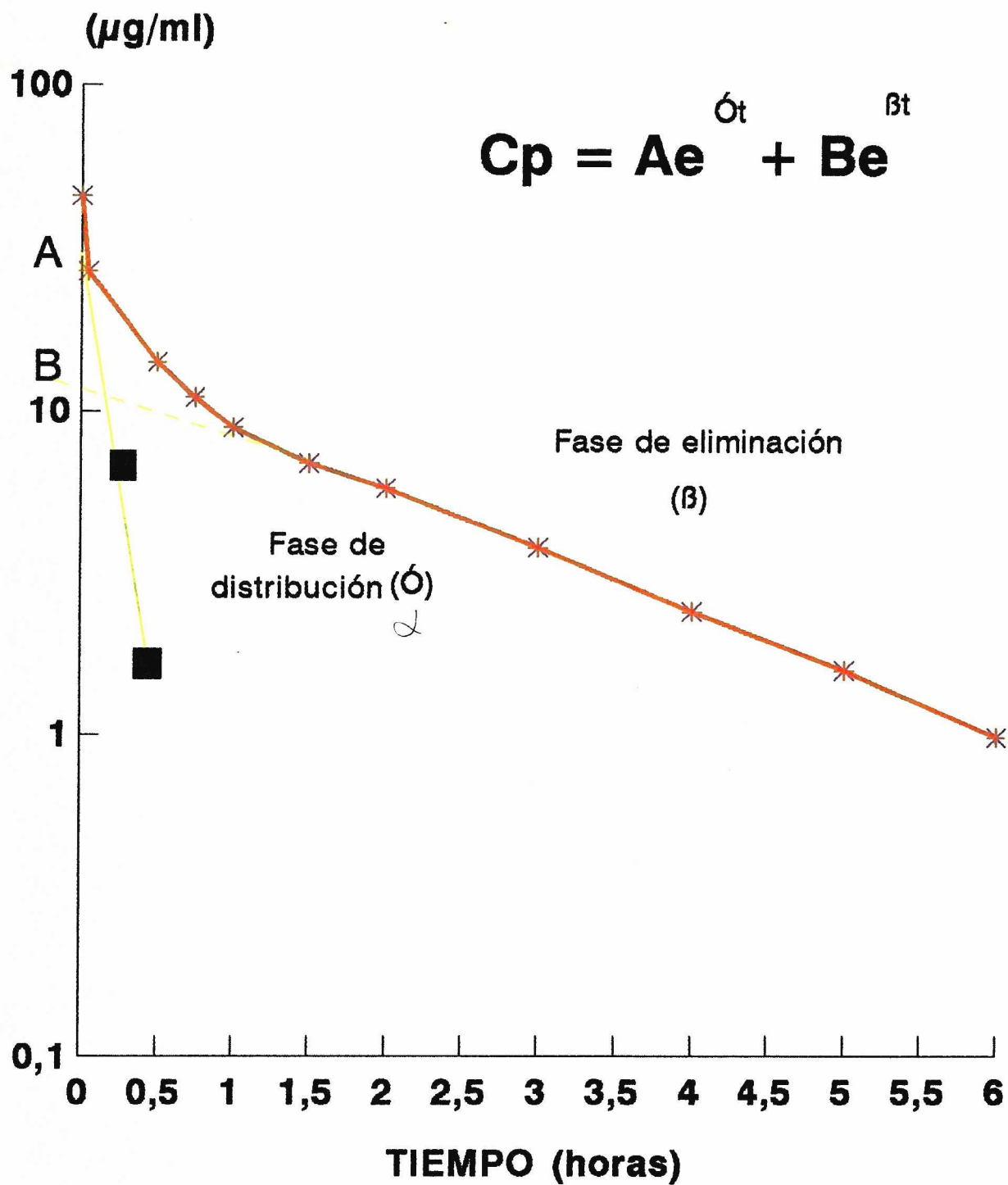


Fig. 1.4.3.1.: Gráfica semilogarítmica mostrando el curso seguido por el fármaco en suero en función del tiempo tras la administración intravenosa de una dosis única.

1.4.3.2.- Cálculo de microconstantes

Con las macroconstantes obtenidas (A,B, α y β) se puede calcular otro grupo de constantes de velocidad o microconstantes (Baggot 1977, Wagner 1983):

K₂₁ = constante de velocidad de pasaje del fármaco desde el compartimiento periférico al central:

$$K_{21} = \frac{A \cdot \beta + B \cdot \alpha}{A + B}$$

K_{el} = constante de velocidad de eliminación del fármaco desde el compartimiento central:

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

K₁₂ = constante de velocidad de pasaje del fármaco desde el compartimiento central al periférico:

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

La determinación de las microconstantes permite valorar la contribución relativa de los procesos de distribución y eliminación (que pueden verse alterados en casos de enfermedad) para el perfil concentración/tiempo de un fármaco.

1.4.3.3.- Vida media de eliminación

El concepto de vida media de eliminación o vida media biológica fue introducido por Dost en Farmacocinética el año 1949. Este parámetro da una idea muy concreta de la persistencia o fugacidad de los niveles de medicamento en plasma.

Se denomina vida media biológica de un medicamento al tiempo necesario para que su concentración en el plasma se reduzca a la mitad y se expresa en unidades directas de tiempo (minutos, horas, días) (Fig.1.4.3.3).

El valor de la vida media biológica puede calcularse conociendo el de la constante de eliminación β mediante la aplicación de la siguiente relación:

$$T_{1/2} \beta = \frac{\ln 2}{\beta}$$

La vida media biológica de un medicamento depende de su propia constitución, es decir de sus características fisicoquímicas, que condicionan sus caracteres de distribución, metabolismo y excreción. Así, un medicamento que se metabolice (e

FIGURA 1.4.3.3.

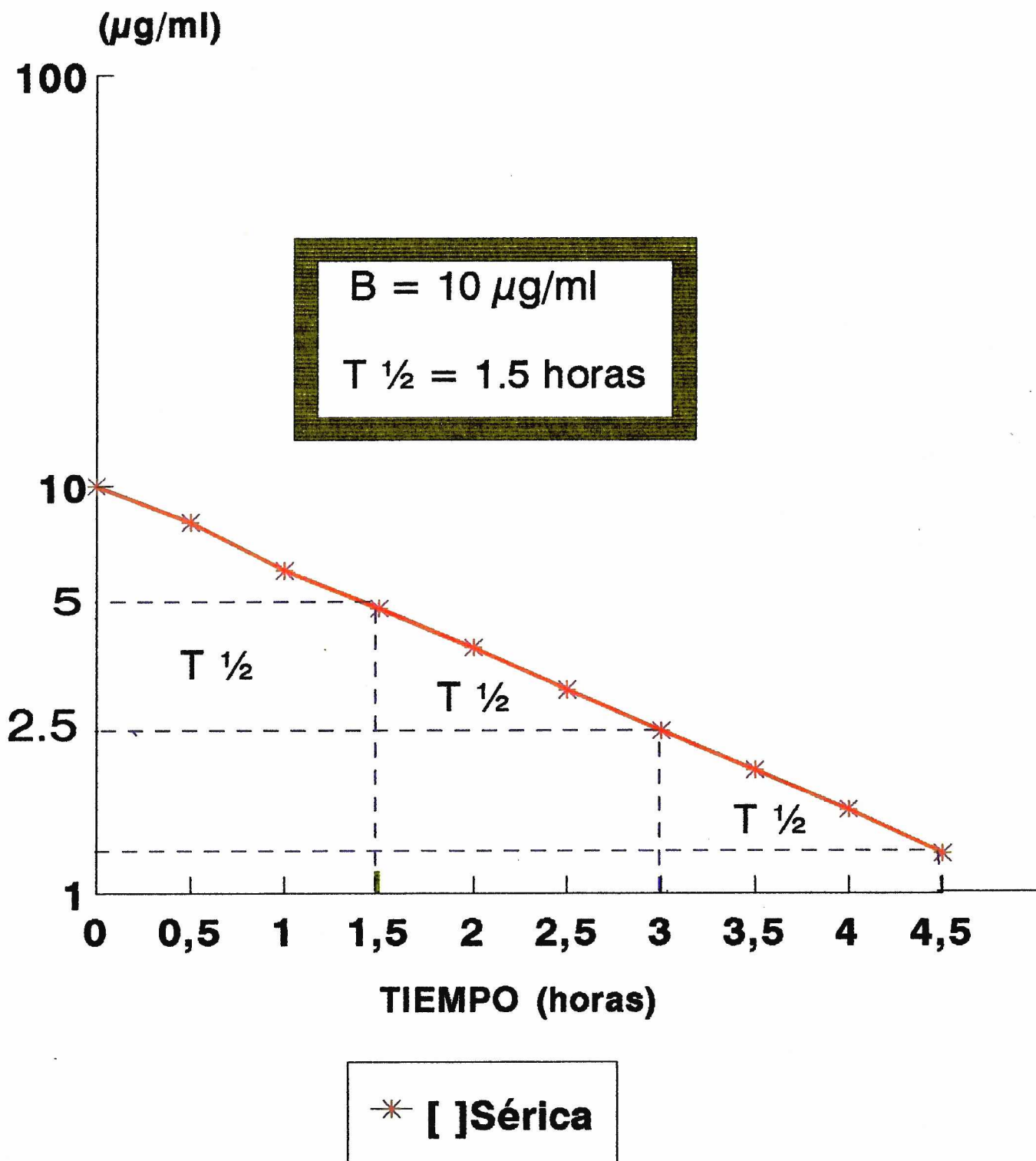


Fig. 1.4.3.3: Trazado semilogarítmico de la concentración de fármaco en suero en función del tiempo tras la administración de una dosis intravenosa única.

inactivo) rápidamente en el organismo, tendrá una vida media más corta que otro análogo, que, por su constitución, lo haga más lentamente o apenas sufra biotransformación.

Análogamente, un medicamento que se excrete por vía renal con gran facilidad y rapidez, poseerá una vida media más corta que otro relacionado que, por ser menos hidrófilo, se excrete con dificultad.

Los caracteres de distribución tienen asimismo su influencia en la vida media biológica: un medicamento que se una fuertemente a las proteínas circulantes del plasma sanguíneo o a los constituyentes celulares de los tejidos, podrá tener una vida media más larga que otro medicamento análogo que permanezca libre, y, de este modo, sea más asequible a las biotransformaciones metabólicas y a la excreción renal (Pilloud 1973).

El tiempo medio de eliminación ($T_{1/2}$) es un parámetro muy importante en el análisis farmacocinético de un fármaco que tiene especial trascendencia en el diseño de regímenes de dosificación.

1.4.3.4.- Volúmenes de distribución

El concepto de volumen de distribución no tiene significado real, se trata, en efecto, de un valor aparente, de una mera constante de proporcionalidad que permite relacionar la concentración plasmática de medicamento con la cantidad del mismo

que existe en el organismo en el mismo instante. Se puede definir como el volumen de fluido necesario para contener la cantidad total de fármaco presente en el organismo, si este estuviera uniformemente distribuido a la misma concentración que en el plasma. Los parámetros fisiológicos que determinan la distribución de los fármacos son la perfusión regional, las masas de los diversos órganos y tejidos en relación con el peso corporal y la reacción del pH de los líquidos corporales. Ciertas propiedades fisicoquímicas del fármaco, tales como grado de solubilidad en los lípidos, intensidad de ionización de los electrolitos orgánicos y tamaño molecular, junto con la afinidad para fijarse a las proteínas plasmáticas y componentes tisulares, regulan la pauta de distribución.

En el modelo bicompartimental deben considerarse dos volúmenes de distribución: el que el medicamento posee en el compartimiento central (V_c) y el que posee en el compartimiento periférico (V_p), cuya suma debe ser, lógicamente, el volumen de distribución total del medicamento en el organismo (V_d).

Volumen del compartimiento central

Se trata de la constante de proporcionalidad que permite relacionar la cantidad de medicamento existente en el compartimiento central con su concentración en plasma en el mismo instante. El medicamento se supone repartido uniformemente en todos los elementos del compartimiento central, del que forma parte el plasma. Por consiguiente, la concentración plasmática C

será, en este caso, un reflejo de la que existe en el compartimiento central en conjunto.

Para el cálculo de V_c se utiliza la siguiente expresión:

$$V_c = \frac{D}{C_0}$$

En la cual, D es la dosis inyectada intravenosamente y C_0 la concentración plasmática al tiempo cero.

Volumen total de distribución del medicamento

Para el cálculo del volumen de distribución global del medicamento en el organismo (V_d) se han propuesto varios procedimientos que aproximan más o menos la realidad, aunque nunca del todo (o, por lo menos, no para todo el tiempo durante el cual el medicamento permanece en el organismo) (Baggot 1978a).

Método de estado estacionario: fue introducido por Riggs en 1963 y se basa en el cálculo de este parámetro considerando el instante en que la cantidad de medicamento en el compartimiento periférico alcanza su máximo.

$$V_d(ss) = \frac{K_{12} + K_{21}}{K_{21}} \cdot V_c$$

Método de extrapolación: descrito por Riegelman y sus colaboradores en 1968, se basa en considerar solo la fase monoexponencial de la curva de nivel plasmático, regida por la constante de disposición β .

$$V_d = \frac{\text{Dosis}}{\beta}$$

Riegelman y sus colaboradores describieron asimismo un tercer procedimiento, de uso mucho más general, para el cálculo del volumen de distribución en el modelo bicompartimental clásico:

Método de área: utiliza mediante una adecuada relación, el área bajo la curva de nivel plasmático:

$$V_d = \frac{\text{Dosis}}{(\text{área}) \text{ AUC} \cdot \beta}$$

Método de pseudoequilibrio : o volumen de distribución en fase beta, preconizado por Gibaldi (1969), permite hallar el volumen de distribución en función del que posee el compartimiento central y de la verdadera constante de eliminación.

$$Vd = \frac{Kel \cdot Vc}{\beta}$$

1.4.3.4.1. Unión del fármaco a proteínas plasmáticas

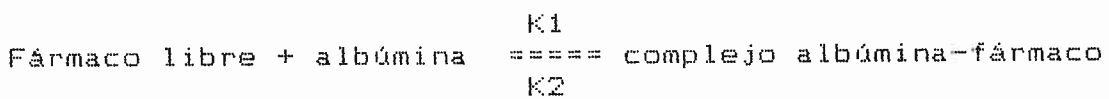
Los fármacos son transportados en la sangre por diversos mecanismos. Algunos se disuelven en el agua del plasma, y la mayoría se asocian con componentes de la sangre, como albúmina, globulinas, lipoproteínas y eritrocitos. La capacidad de los antimicrobianos de alcanzar y mantener concentraciones efectivas en el sitio de la infección, depende de algunas propiedades fisicoquímicas y farmacológicas, siendo la unión a las proteínas plasmáticas una de las más importantes determinantes (Baggot 1986, Craig 1978). La fijación a la albúmina es la interacción más importante para la mayoría de los medicamentos, y puede influir en la distribución y el destino de los fármacos que aparecen ampliamente unidos. Por lo tanto, esta unión puede actuar sobre la eficacia terapéutica de un fármaco, ya que solo el fármaco libre puede distribuirse fuera del sistema vascular y ejercer actividad antimicrobiana (Baggot 1986). Una vez alcanzado el equilibrio de distribución, la concentración de fármaco en los líquidos extracelulares será la misma que en el agua del plasma. Se sabe que únicamente la mitad liposoluble y no ionizada de un electrolito orgánico presente en la fase acuosa del plasma sanguíneo se difunde hacia la leche y líquidos transcelulares (líquido cefalorraquídeo y sinovial). Alcanzado el equilibrio, la

concentración de droga en el líquido transcelular, relativamente exento de proteína, alcanzará aproximadamente la concentración que tiene el fármaco libre en el plasma (Fig.1.4.3.4.1).

La unión droga-proteína es una interacción reversible entre una molécula pequeña y una macromolécula. Hay cuatro tipos de uniones no covalentes fuertes: iónica (electrostática), puentes hidrofóbicos, puentes de hidrógeno y uniones de Van der Waals (Klotz 1973).

Los fármacos también se unen a otros constituyentes tisulares: proteínas del fluido intersticial, membranas celulares, proteínas solubles intracelulares, etc.

La interacción de un fármaco con un punto de fijación sobre la albúmina puede ser considerada una reacción reversible que sigue la ley de acción de masas:



Donde k_1 y k_2 son las constantes de proporcionalidad de los procesos de asociación y disociación, siendo sus tiempos medios milisegundos. Como esta interacción es fácilmente reversible, el complejo albúmina-fármaco sirve como un reservorio circulante de la droga, proporcionando fármaco libre cuando disminuye la concentración de este en el plasma por los procesos de disposición.

Binding

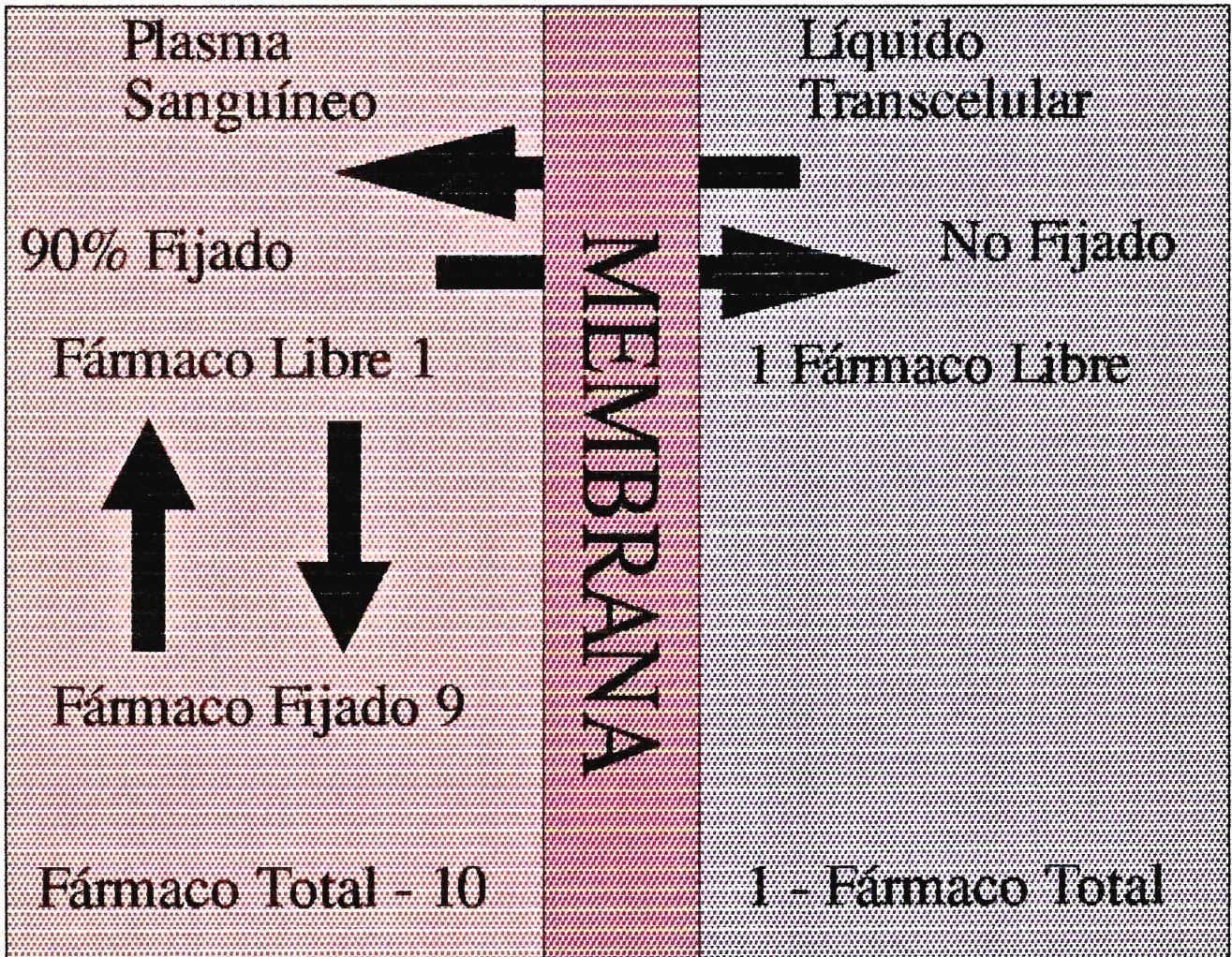


Figura 1.4.3.4.1 : Efecto de la fijación a las proteínas sobre la distribución de un fármaco entre el plasma sanguíneo y el líquido transcelular.

La afinidad entre una molécula con actividad farmacológica y sus puntos de fijación se expresa como el cociente de su concentración en forma ligada y el producto de las concentraciones de fármaco libre y albúmina:

$$\frac{(\text{complejo albúmina-fármaco})}{(\text{fármaco libre}) \cdot (\text{albúmina})} = \frac{K1}{K2} = K_a$$

Siendo K_a la constante de asociación, expresada en litros por mol. La afinidad se expresa más frecuentemente como la inversa de la constante de disociación (K_d), en moles por litro.

La capacidad total de fijación de las proteínas del plasma para un fármaco determinado es el producto del número de puntos de fijación por molécula de proteína y la concentración total de proteína.

El porcentaje de droga fijada a las proteínas se puede calcular por la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de unión} = 100 \cdot \frac{n P}{n P + \frac{1}{K_a} + iD_c} \quad \checkmark$$

Donde P es la concentración total de proteína y n es el número de sitios de unión para cada molécula protéica (Golstein

1949). Es decir que el porcentaje de droga unida depende de las concentraciones de droga y proteína, del número de sitios de unión y de la constante de asociación .

Para poder medir esta unión protéica uno de los métodos es realizar una separación física de las moléculas de fármaco no unidas a las moléculas protéicas y el complejo fármaco-proteínas. Conociendo las concentraciones de droga no unida y droga total se puede calcular la fracción unida a las proteínas por la siguiente ecuación :

$$\frac{(\text{droga total}) - (\text{droga no unida})}{(\text{droga total})} = \text{fracción ligada a proteínas}$$

Hay una serie de factores que afectan la unión protéica:

a.- **Concentración de droga:** Si bien la concentración de fármaco no afecta en forma importante el porcentaje de unión protéica en los casos de niveles plasmáticos normales, sí existe un efecto importante cuando las concentraciones superan un umbral de concentración de aproximadamente 100 µg/ml, en este caso los sitios de unión se podrían encontrar saturados (Rolinson 1965).

b.- **Concentración protéica:** La concentración protéica tiene una mayor importancia en la extensión de la unión a proteínas. Cuando esta concentración excede el rango fisiológico, el porcentaje de unión de drogas tenderá a estar linealmente relacionado con el

logaritmo de la concentración de albúmina. Este cambio significativo se observa cuando las variaciones en concentración protéica están cercanas al 50 % (en aumento o en disminución), normalmente los niveles de proteínas en los distintos individuos en diferentes tiempos presentan pequeñas variaciones, las cuales tienen un efecto despreciable en el porcentaje de unión (Anton 1971).

c.- Estados patológicos: Estos pueden alterar la unión a proteínas reduciendo su concentración sérica o bien a través de la acumulación de sustancias endógenas (ácidos grasos libres, bilirrubina, urea), lo cual afecta la interacción fármaco-proteína. Estas sustancias endógenas pueden ocupar los sitios de unión de los fármacos compitiendo con los mismos (Gollin 1969, Rudman 1971, Suh 1978), o modificando espacialmente la molécula de albúmina y consecuentemente, dificultando la unión (Baggot 1986).

La unión de los fármacos a las proteínas plasmáticas puede limitar el pasaje de los mismos a los tejidos, demorar la eliminación o interferir con la actividad biológica (Kunin 1965, Kunin 1966, Pien 1975, Reller 1977).

1.4.3.5.- Clearance corporal

La vida media es una función compleja para la mayoría de los medicamentos que encierra varios procesos farmacológicos distintos: distribución, biotransformación y excreción renal de

la droga. Cuando la vida media no es "pura", es decir, cuando la droga no se administra por la vía IV, también la absorción la puede influenciar. El aclaramiento permite, por otra parte, expresar las tasas de eliminación de fármaco del organismo de una forma independiente a estos procesos (Rowland y col 1973). A diferencia de β y $T_{1/2}$ que son parámetros híbridos dependientes de K_{12} , K_{21} y K_{el} , los cambios de aclaramiento corporal son exactamente proporcionales a K_{el} (Jusko y Gibaldi, 1972).

En la fase aguda de las infecciones sistémicas, cuando aparece la reacción febril, la penetración tisular de algunos agentes antimicrobianos puede verse aumentada (reflejada por un aumento en magnitud del parámetro volumen aparente de distribución) e incrementadas sus vidas medias (debido a que una fracción menor de la dosis aparece en el compartimiento central y está disponible para ser eliminada), por lo que no se observan cambios en sus valores de aclaramiento.

El aclaramiento corporal, que es una 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. El aclaramiento renal es la fracción de aclaramiento corporal atribuible a la excreción de fármaco sin modificar por los riñones.

La utilidad de la vida media (biológica) y del aclaramiento corporal como índices de la eliminación hepática para drogas que son metabolizadas en el hígado depende mucho de la farmacocinética de la molécula en particular. (Gibaldi y

Perrier, 1975). Para fármacos que confieren al organismo características multicompartimentales, la vida media biológica es función no sólo de la eliminación sino también de la distribución. De ahí que sea muy dudoso su valor como índice de eliminación hepática. El aclaramiento, por otra parte, es una medida directa de la eliminación hepática, con independencia del número de compartimientos en que se distribuya el fármaco en el organismo, siempre que exista un efecto mínimo de primer paso sobre la administración oral. No obstante, tras la administración oral de un fármaco, en cuyo caso debe atravesar el hígado antes de llegar a la circulación sistémica, los cambios en el aclaramiento hepático se reflejan cuantitativamente por medio de cambios en el área situada bajo la curva obtenida al relacionar la concentración en plasma con el tiempo (Gibaldi y Perrier, 1975).

El Clearance corporal total (ClB) de un fármaco es el volumen de plasma que debería perder toda la droga que contiene por unidad de tiempo para explicar la pérdida observada del compuesto por todas las vías de eliminación (excreción y eliminación metabólica); los valores se expresan generalmente en unidades de $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$. Su valor se obtiene a través de la siguiente expresión:

$$\text{ClB} = K_{el} \cdot V_c$$

1.4.3.6.- Biodisponibilidad

Algunos autores definen la disponibilidad como "la fracción

o porcentaje de dosis de medicamento administrada que el organismo absorbe en la forma de dosificación en que está formulado" (Gibaldi, 1982; Wagner, 1983). Otros, como "la fracción o porcentaje de dosis que la forma de administración pone a disposición del organismo en condiciones óptimas de absorción" (Baggot, 1977).

Por definición, la disponibilidad biológica de un medicamento administrado por vía intravenosa es del cien por ciento, puesto que por esta vía no existe absorción, es decir que el medicamento se introduce directamente en el torrente circulatorio y resulta aprovechable en su totalidad.

El análisis cinético de drogas administradas por vías distintas de la intravenosa, incluye el estudio de la biodisponibilidad (F). Esta es definida por Baggot (1972) y por Gibaldi (1977) como "la velocidad y extensión de la absorción de una droga desde el sitio de administración hasta el compartimiento central.

Un método utilizado para estimar la biodisponibilidad consiste en el cálculo de las áreas bajo las curvas concentración/tiempo (AUC) para las vías extravasales y la comparación con el AUC obtenida luego de la administración por la vía intravenosa para la misma molécula y a igual dosis:

$$F = \frac{AUC_x}{AUC_{iv}}$$

Donde:

F: es la biodisponibilidad

AUC_x: Área bajo la curva concentración plasmática/tiempo posteriormente a la administración del fármaco por una vía con absorción.

AUC_{iv}: Área bajo la curva concentración plasmática en función del tiempo luego de la administración intravenosa.

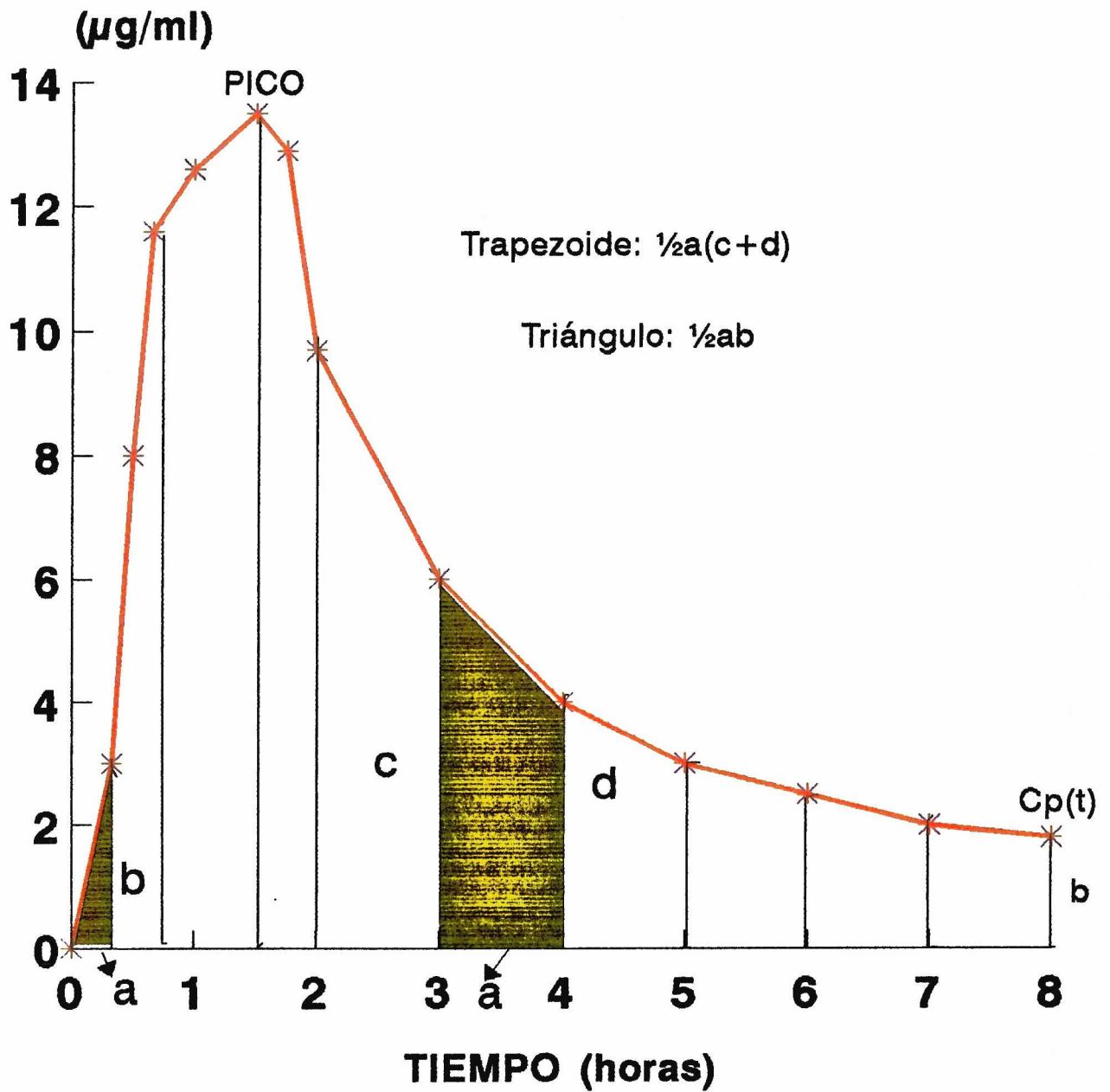
El área bajo la curva (AUC) se puede calcular mediante el método de los trapezoides (Baggot 1977). Se divide el área en trapezoides y un triángulo final en el caso del cálculo de área en una administración intravenosa y un triángulo inicial, trapezoides y un triángulo final para las otras vías (Baggot 1977, 1978a, Gibaldi 1982). (Fig. 1.4.3.6)

El triángulo final se extrapola al infinito por la división entre la última concentración medida (L_c) y la constante de tasa de eliminación (Baggot 1977):

$$\frac{L_c}{\beta}$$

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

FIGURA 1.4.3.6



* Series 1

Método de los trapezoides para la estimación del área bajo la curva (AUC), la cual está expresada como producto de la concentración y tiempo ($\mu\text{g.h/ml}$).

disponible sistémicamente), debe realizarse también un estudio de una dosis aplicada intravenosamente. El producto de la fracción disponible sistémicamente y de la dosis administrada (F.D) es la llamada "dosis absorbida". La disponibilidad biológica determina la relación entre la dosis de un fármaco y la intensidad de su acción. Para estudiar la disponibilidad biológica es suficiente determinar tres índices sobre una gráfica: la concentración máxima de fármaco alcanzada en el plasma; el tiempo que tarda en alcanzarse la concentración máxima; y el área bajo la curva concentración de fármaco en función del tiempo. El nivel máximo en plasma depende tanto de la magnitud como de la rapidez de absorción del fármaco. El tiempo que tarda en alcanzarse la concentración máxima de fármaco en plasma está relacionado íntimamente con la rapidez de la absorción.

La biotransformación mediante enzimas en la mucosa intestinal o en el hígado, o en ambos, previa a la penetración del fármaco en la circulación sistémica ("efecto de primer-paso") puede reducir significativamente la disponibilidad biológica de una forma de dosificación oral, a pesar de que sean favorables las propiedades de disolución y absorción.

1.4.3.7.- Diseño de regímenes de dosificación

El conocimiento de la vida media biológica de los medicamentos resulta imprescindible para el establecimiento de las pautas o regímenes de dosificación, el objetivo de los cuales

es mantener en el organismo (o mejor, en la biofase) niveles eficaces de medicamento sin que se produzcan efectos tóxicos, o por lo menos, de modo que éstos se reduzcan al mínimo.

Si la elección de un medicamento destinado a mejorar o curar una enfermedad supone el primer objetivo de la terapéutica, la prescripción de la posología, definiendo la dosis y la frecuencia de las tomas, constituye uno de los elementos base.

La obtención del efecto farmacológico y en consecuencia el efecto terapéutico, están ligados a la presencia de una concentración adecuada de fármaco en el lugar de acción (receptor farmacológico, biofase), durante el período de tratamiento.

Así, la farmacocinética, estudio cuantitativo de la disposición del fármaco en el organismo, nos permite describir matemáticamente el perfil, régimen, forma farmacéutica y vía de administración más adecuada para establecer una pauta de dosificación del medicamento que permita obtener la respuesta farmacológica deseada de acuerdo con la edad, sexo, talla, etc, del paciente.

Para el diseño de regímenes de dosificación, se calcula, primero, la dosis de mantenimiento. Baggot (1977), propone la siguiente expresión:

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

Donde:

- Dm: dosis de mantenimiento expresada en mg/kg
- Cp (min): mínima concentración plasmática deseada ($\mu\text{g/ml}$)
- VdB: volumen de distribución obtenido por método de extrapolación (ml/kg)
- e: base de los logaritmos naturales
- β : constante de la tasa de eliminación ($1/\beta$)
- τ : intervalo de dosis deseado (horas).

Una vez obtenida la dosis de mantenimiento, el cálculo de la dosis de ataque o choque, se basa en la siguiente expresión (Baggot, 1977):

$$D_a = D_m \left(\frac{1}{1 - e^{-\beta \tau}} \right)$$

Donde:

- D_a : dosis de ataque (mg/kg)
- D_m : dosis de mantenimiento (mg/kg)

2.- ADMINISTRACION, TOMA DE MUESTRAS SERICAS Y DE LECHE

2.1.- Materiales

- Seis vacas Holando Argentino en lactancia
- Jeringas descartables
- Agujas de 25/10 descartables
- Venocath Nº 16 (Abbot)
- Sonda galactéfora
- Tubos de centrifuga y de hemólisis estériles
- Pipetas Pasteur estériles
- Clorhidrato de tianfenicol glicinato (Montpellier)
- Buffer fosfato pH 6
- Xilocaina inyectable
- Solución heparinizada débil (5 UI.ml⁻¹)
- Algodón
- Alcohol
- Tela adhesiva
- Marcadores al solvente
- Cronómetro
- Centrífuga
- Estufa de cultivo
- Freezer
- Balanza para grandes animales
- Bozales, maneas, lazos
- Reactivos necesarios para realizar California Mastitis Test
- Guantes de goma estériles
- Cepillos para limpieza de ubres

2.2.- Métodos

2.2.1.- Manejo de los animales previo a la administración de tianfenicol (TAP)

Los animales fueron pesados, siendo el peso promedio 468.5 ± 54.05 kg.

Dos meses antes de iniciar el experimento se realizó una desparasitación con ivermectina (Ivomec (r)) a razón de 0.2 mg/kg y se efectuaron análisis hematológicos y control clínico para constatar el correcto estado de salud de los mismos. Se realizó, además California Mastitis Test a fin de descartar aquellos animales que presentaran alguna anomalía en la glándula mamaria.

2.2.2.- Preparación de la droga

Se diluyó el clorhidrato de tianfenicol glicinato con Buffer fosfato N°1 pH6, en una proporción de 40 g de sal en 150 cc de buffer estéril y libre de pirógenos, obteniéndose una concentración de 26.66% , en el momento previo a la administración.

2.2.3.- Administración de la droga

El tianfenicol fue inyectado a cada uno de los seis (6) animales para cada vía de administración enunciada en el plan de

trabajo. Se estimó un período de aclaramiento entre prueba y prueba de dos meses. Previamente a la aplicación del medicamento se procedió al ordeño completo de cada uno de los animales; obteniéndose muestras testigos de leche y sangre.

2.2.3.1.- Administración por la vía intravenosa

Previamente a la administración se procedió a rasurar y desinfectar la zona.

Las seis vacas recibieron 25 mg/kg de tianfenicol en la vena yugular izquierda, por medio de un catéter, a fin de asegurar la llegada a sangre de la totalidad del volumen inyectado.

2.2.3.2.- Administración por la vía intramuscular

Los mismos animales recibieron igual dosis de tianfenicol (25 mg/kg) a nivel de los músculos isquiotibiales. Esta administración se realizó con sumo cuidado y muy lentamente debido al gran volumen a inyectar.

2.2.3.3.- Administración por la vía subcutánea

Se inyectaron los mismos animales con igual dosis de tianfenicol que en las pruebas anteriores a nivel del tercio inferior de la tabla del cuello

2.2.3.4.- Administración oral de TAP

La administración oral se realizó mediante sondaje bucoesofágico a los mismos animales y a igual dosis.

2.2.3.5.- Administración intracisternal en los cuatro cuartos mamarios

Mediante el empleo de una sonda galactófora los animales recibieron una dosis equivalente por la vía intramamaria repartida en partes iguales en los cuatro cuartos. Previamente se procedió al ordeño completo de la glándula.

2.2.3.6.- Administración intracisternal en un solo cuarto mamario

La prueba anterior se repitió con la misma metodología, pero, administrando la droga solamente en el cuarto anterior izquierdo.

2.2.4.- Obtención de muestras séricas

Se canalizó la vena yugular derecha (opuesta al sitio de inyección) con un venocath Nº16 (Abbot), a través del cual se extrajeron las muestras. Se evitó la coagulación lavando periódicamente el catéter con una solución de heparina débil (5 UI.ml⁻¹), desechándose la sangre obtenida al principio de cada

muestra, para evitar la probable interferencia del anticoagulante con el antibiótico. A partir de la primer hora se retiró el catéter y se continuó la extracción por medio de jeringa y aguja. Se realizó en la zona de extracción un habón dérmico con xilocaína inyectable con el objeto de evitar el dolor debido a las sucesivas y reiteradas punciones y por lo tanto lograr una mejor inmovilización y disminución del estrés de los animales.

Las muestras se tomaron con jeringas individuales y fueron vertidas en tubos de centrifuga limpios, secos, estériles, sin anticoagulante y rotulados.

Se tomó una muestra previa a la aplicación del antibiótico a cada animal.

Se determinó como tiempo cero (0), el momento final de la administración de la droga; a partir del cual se extrajeron muestras a los 2.5; 5; 7.5; 10; 15; 20; 30 y 40 minutos; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 12; 24; 36; 48; 60 y 72 horas.

Se llevaron los tubos de centrifuga con la sangre perteneciente a cada una de las muestras a estufa a 37°C a fin de lograr la retracción del coágulo en el menor tiempo. Luego fueron centrifugados a 3000 rpm durante 15 minutos y posteriormente se procedió a la extracción del suero con pipetas Pasteur estériles (una para cada muestra).

Los sueros obtenidos fueron envasados en tubos de hemólisis (estériles, secos y rotulados) y mantenidos en freezer a -20°C hasta su ensayo.

2.2.5.- Obtención de muestras de leche

Para la extracción de las mismas se procedió al ordeño completo previamente a la prueba, de la leche obtenida se tomaron las muestras testigos.

Posteriormente a la administración del tianfenicol por las diferentes vías enunciadas se tomaron muestras de leche a los 15 30 y 40 minutos; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 3.5; 4; 5; 6; 8; 10; a las 12 horas se ordeñó el animal obteniéndose una nueva muestra; se siguió con ordeños y muestreos cada 12 horas hasta las 72 horas.

Las muestras se extrajeron directamente con una sonda galactófora colocada en la cisterna del pezón, a continuación de la correcta higiene de los cuartos. La leche se recogió en tubos de hemólisis perfectamente estériles, secos y rotulados.

Al igual que las muestras séricas se conservaron en freezer a -20°C hasta el momento del análisis.

3.- DOSAJE DE TIANFENICOL POR METODO BIOLOGICO

3.1.- Fundamentos del método biológico

El método biológico consiste en enfrentar concentraciones conocidas del antibiótico a testear (patrones), con un cultivo estandarizado de una cepa patrón de una bacteria sensible al mismo. A partir de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano, se traza una curva patrón, en la que se interpolarán los halos de inhibición de crecimiento bacteriano producidos al enfrentar una muestra de concentración desconocida con el mismo cultivo. Posteriormente las concentraciones de antibiótico presentes en la muestra serán obtenidas por extrapolación desde la curva patrón.

3.2.- Puesta a punto del método biológico

Se eligió la técnica de cilindro-placa (Grove and Randall, 1955), adaptada al tianfenicol y con varias modificaciones introducidas por nosotros. Esta técnica se basa en la colocación de cilindros con soluciones patrones de tianfenicol en placas de vidrio de 25 x 25 x 2.5 cm con medio de cultivo para ATB N92 (Difco) inoculado con *Sarcina lutea* ATCC 9341.

3.2.1.- Materiales

-*Sarcina lutea* ATCC 9341

- Solución fisiológica estéril
- Ánza de platino
- Clorhidrato de tianfenicol glicinato, pureza 78.5%
(Lab.Montpellier)
- Buffer fosfato Nº 1 pH 6
- Suero bovino libre de antibióticos
- Leche bovina libre de antibióticos
- Medio ATB Nº 2 (Difco)
- Medio de cultivo Mueller-Hinton
- Agua destilada
- Placas de vidrio de 25 x 25 cm y 2.5 cm de alto (estériles)
- Tubos de ensayo (estériles)
- Cilindros de acero inoxidable de 10 mm de longitud, 6 mm de diámetro interno y 8 mm de diámetro externo (estériles)
- Pipetas de 1 cc, 5cc y 10 cc (estériles)
- Micropipeta de 100 µl
- Pinza anatómica
- Planillas con la ubicación de las muestras en los cilindros
- Diagrama guía de la distribución de los cilindros en la placa
- Balanza de precisión Mettler H80
- Espectrofotómetro "Spectral 24" (Crudo-Caamaño)
- Baño termostático Vicking modelo Masson
- Estufa de cultivo
- Vernier
- Calculadora Texas TI 58

3.2.2.- Métodos

3.2.2.1.- Preparación del inóculo

Se obtuvo del Cepario Nacional (Instituto Malbrán, Buenos Aires) una ampolla de liofilizado de *Sarcina lutea* ATCC 9341, la que fue disuelta en 1 cc de solución fisiológica estéril, para luego sembrar una batería de picos de flauta con 4 cc de medio de cultivo Mueller-Hinton; los que se incubaron 48 horas a 37°C.

Transcurrido ese tiempo, a partir de esos picos de flauta se realizaron repiques (con el mismo medio y también en picos de flauta) de 24 horas de incubación para la preparación del inóculo del día de la siembra. Estos cultivos se lavaron con 1.5 cc de solución fisiológica estéril cada uno. El líquido obtenido fue diluido con solución fisiológica hasta alcanzar un 50% de transmisión (medida espectrofotométricamente). A partir de esta suspensión se tomó 1 cc para inocular el medio de cultivo para ATB Nº 2, cuyo volumen fue de 120 cc por placa.

3.2.2.2.- Preparación de los patrones de tianfenicol

El tianfenicol se encuentra en su forma de sal como glicinato clorhidrato con una pureza de 78.5%.

Para obtener una solución madre de 1000 µg/ml debió pesarse 12.7 mg de sal, la que se disolvió en 10 cc de Buffer fosfato Nº 1 pH 6 (solución que siendo mantenida en la heladera conserva su

potencia durante 1 ser 3.

A partir de esa solución madre se prepararon diluciones de 100, 30, 25, 20, 15, 10, 5 y 2.5 µg/ml; las que fueron utilizadas como soluciones patrones.

A partir de 100 µg/ml, se empleó como diluyente suero bovino normal libre de antibióticos o leche en idénticas condiciones.

3.2.2.3.- Preparación de las placas

Se utilizó medio antibiótico Nº 2 Difco, cuya fórmula es:

Extracto de carne _____	1.5 g
Extracto de levadura _____	3 g
Peptona _____	6 g
Agar _____	15 g

Se pesaron 3.06 g del mismo y se diluyeron en 120 cc de agua destilada (siendo 120 cc el volumen correspondiente para cada placa). Se agitó constantemente hasta que el medio estuviera completamente disuelto y luego fue calentado hasta ebullición. Posteriormente se llevó a autoclave a 120 °C y 1 atmósfera de presión durante 20 minutos.

Una vez retirado del autoclave fue colocado en el baño termostático a 49-50 °C, a esta temperatura se le adicionó 1 cc del inóculo de *Sarcina lutea* ATCC 9341 (50% de transmisión) por cada 120 ml de medio. Se mezcló bien para tener una correcta

distribución del inóculo en la totalidad del medio de cultivo, con la precaución de evitar la formación de burbujas.

La placa de vidrio (previamente numerada en la cara externa de la base para poder saber la ubicación de los cilindros), termostatzada, se ubicó sobre una superficie correctamente nivelada.

El medio de cultivo inoculado fue vertido en la placa, una vez solidificado se colocaron los cilindros de metal sobre los lugares seleccionados por el mapa guía, ejerciendo sobre los mismos una ligera presión para lograr la correcta coaptación entre éstos y la superficie del medio.

3.2.2.4.- Siembra de las placas

Se sembró por cuadruplicado 100 µl de cada solución patrón (preparada con buffer, suero o leche bovina) en cada cilindro colocando su ubicación en la planilla (Nº de cilindro que recibió determinada muestra).

Las placas fueron incubadas en estufa a 37°C, durante 18 horas.

3.2.2.5.- Lectura y análisis de los datos

Al cabo de las 18 horas de incubación se leyeron con vernier los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento

bacteriano.

Los valores obtenidos se promediaron, ya que como se mencionó en el punto 3.2.2.4. cada muestra se sembró por cuadruplicado.

A partir de ese valor promedio se trazó una línea de regresión con los diámetros de los halos y la concentración de tianfenicol que lo produjo, obteniéndose los valores de coeficiente de correlación (r), pendiente e intersección.

3.3.- Dosaje de tianfenicol en las muestras séricas y lácteas por método biológico

3.3.1.- Materiales

Son los mismos que los detallados en el apartado 3.2.1

3.3.2.- Métodos

Se aplica la misma metodología que la descrita para la puesta a punto del método biológico en el punto 3.2.2.

3.3.2.1.- Determinación de halos por método biológico

Los sueros y leches correspondientes a las diferentes muestras fueron sembrados por triplicado, en placas

independientes para cada animal, según la técnica detallada en 3.2.2. En cada placa diluciones se sembraron además patrones del antibiótico en estudio, realizados con suero o leche bovina.

Los valores de los halos de inhibición, obtenidos para cada muestra y dilución patrón, se registraron en planillas especiales, promediándose los resultados de cada uno de los tripletes.

3.3.2.2.- Determinación de las concentraciones de antibiótico

Con las soluciones patrones se realizó una línea de regresión para cada placa sembrada. Esta línea, grafica el diámetro de los halos de inhibición en función de las concentraciones del antibiótico.

La expresión matemática que representa a dicha línea es:

$$Y = a + b x$$

Siendo "x" la concentración en microgramos (es decir nuestra incógnita), la despejamos

$$x = \frac{y - a}{b}$$

Sabiendo que $a = y - b x$

y

$$b = \frac{\sum_{i=1}^N x_i y_i - G_x \cdot G_y}{\sum_{i=1}^N x_i^2 - G_x^2}$$

donde:

N: número de casos

$\sum xy$: sumatoria de los productos de las "x" por las "y"

G_x : gran total de "x"

G_y : gran total de "y"

Siendo por lo tanto "a" la ordenada en el origen y "b" la pendiente.

Así, interpolando en dicha línea de regresión el diámetro de un halo de inhibición, correspondiente a una muestra sérica o láctea problema, extrapolamos la concentración de antibiótico hallado en la misma.

4.- ANALISIS DE LOS DATOS

4.1.- Discriminación del modelo farmacocinético que mejor se ajusta al comportamiento del tianfenicol en vacas lecheras Holando Argentino tras su administración intravenosa

4.1.1.- Método de regresión lineal

4.1.1.1.- Estudio según un modelo monocompartmental abierto

Se realizó el análisis de los datos de acuerdo a la siguiente ecuación monoexponencial:

$$C_p = B e^{-\beta t} \quad (\text{ecuación 1})$$

Siendo C_p la concentración plasmática en el tiempo t , B la intersección con el eje "y"; β la constante de tasa de eliminación total, siendo el valor negativo de la pendiente de la línea, e es la base de los logaritmos naturales y t el tiempo.

Para llevar a cabo este estudio se realizó una regresión lineal con las concentraciones experimentales, obteniéndose coeficiente de correlación (r), pendiente β e intersección B . Con estos valores y la variable t , y aplicando la ecuación 1 se obtuvieron las diferentes concentraciones plasmáticas teóricas en función del tiempo. Posteriormente las concentraciones teóricas halladas fueron correlacionadas con las concentraciones experimentales para establecer el coeficiente de correlación (r),

la pendiente e intersección con el eje "y".

4.1.1.2.- Estudio según un modelo bicompartimental abierto

La expresión matemática que describe este modelo es biexponencial:

$$C_p = A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t} \quad (\text{ecuación 2})$$

En la que A y B son términos de intersección con el eje "y" correspondiendo a concentraciones ($\mu\text{g/ml}$); α y β son las constantes de las tasas de distribución y eliminación respectivamente (medidas en unidades de tiempo recíproco); C_p es la concentración plasmática al tiempo t y e es la base de los logaritmos naturales.

Para analizar los datos según esta ecuación, se buscó en la curva semilogarítmica concentración plasmática/tiempo el punto de pseudoequilibrio de distribución, es decir el momento en que se ha logrado el equilibrio entre el compartimiento central y el periférico, que se evidencia en la curva por un cambio brusco en la caída de la misma.

A partir del punto de pseudoequilibrio y hasta el valor de la última concentración medida se hace una regresión lineal. De esta se obtiene: coeficiente de correlación ($r\beta$); pendiente (β) y B que es la intersección de la fase β con el eje y.

Para extrapolar la fase α se calculan residuales entre los valores de concentraciones reales, obtenidos antes del punto de pseudoequilibrio y los valores extrapolados de la regresión lineal de la fase B. Se establece una segunda regresión lineal con las concentraciones residuales obtenidas y sus respectivos tiempos. Se obtiene coeficiente de correlación (r_α), pendiente (α) y el punto A.

Reemplazamos en la ecuación 2 con los datos obtenidos del análisis cinético de los valores experimentales para obtener las diferentes concentraciones teóricas en función de los diferentes tiempos.

Luego se traza una regresión lineal con las concentraciones teóricas obtenidas a partir de la ecuación biexponencial y las concentraciones experimentales para obtener el coeficiente de correlación (r), pendiente e intersección.

4.1.1.3.- Estudio según un modelo tricompartmental abierto

La expresión matemática que se utiliza para describir este modelo es:

$$C_p = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} + Pe^{-\pi t} \quad (\text{ecuación 3})$$

Donde tenemos A, B y P como términos de intersección; α , β y π como constantes de las tasas de distribución rápida, distribución lenta y eliminación respectivamente.

Para analizar los datos de acuerdo a esta tercera ecuación, se buscó en la curva semilogarítmica concentración plasmática/tiempo las 3 fases señaladas (una fase rápida correspondiente a α , una más lenta que sería π y por último una caída más suave correspondiente a la fase β).

El modelo se analiza del mismo modo que el bicompartimental, pero, obviamente, agregando un compartimiento y utilizando el método de las residuales por dos veces consecutivas sobre la primera regresión de la fase β .

Una vez obtenidos los valores estimados para los tres modelos, aquellos que tengan una mejor correlación, pendiente más cercana a 1 y ordenada más próxima a 0 cuando se los correlaciona con los experimentales, serán los correspondientes al modelo que mejor describa la cinética del antibiótico.

4.1.2.- Test MAICE

La discriminación se realizó usando el criterio de información de AKAIKE (AIC) (Akaike 1973a,1973b,1976) y su adaptación para discriminación de modelos hecha por Yamaoka y col (1978), conformando el Test MAICE.

El modelo que como resultado arroje el menor AIC será el que mejor describa la cinética del tianfenicol.

4.2.- Determinación del grado de unión del TAP a las proteínas plasmáticas

4.2.1.- Materiales

- Cámara de ultrafiltración
- Membrana UM2 semipermeable
- Nitrógeno líquido
- Tubos de hemólisis estériles
- Material de vidrio
- Suero de animales medicados con TAP
- Material para determinación de antibióticos por método microbiológico

4.2.2.- Método

Se utilizó para separar el tianfenicol libre el método de ultrafiltración, el cual consiste en colocar una muestra de suero, proveniente de los animales medicados, dentro de la cámara de ultrafiltración. Esta posee en la base una membrana UM2 semipermeable. La muestra fue presurizada, forzando el pasaje a través de la membrana, con nitrógeno líquido a alta presión. Luego se hallaron dos porciones de suero a ambos lados de la membrana, una superior en la cual se mantuvieron las moléculas de gran tamaño, las cuales no pudieron atravesarla y una inferior conteniendo las moléculas de bajo peso molecular. Por lo tanto el antibiótico de la muestra original quedó distribuido en dos

porciones, la conjugada con las proteínas plasmáticas que quedó retenida en el interior de la cámara y la porción libre que se hallaba en el ultrafiltrado recolectado.

Posteriormente ese ultrafiltrado fue sembrado y dosado por método biológico, junto con las muestras respectivas no sometidas a la separación física. De esta manera se realizó la comparación de los halos de inhibición producidos por las mismas. Para finalmente calcular el porcentaje de droga que se hallaba unido a las proteínas plasmáticas según la siguiente ecuación:

$$\text{Fracción ligada a proteínas} = \frac{(\text{droga total}) - (\text{droga no unida})}{(\text{droga total})} \times 100$$

4.3.- Determinación de los niveles de ionización teórica del tianfenicol en plasma

El tianfenicol es una base orgánica débil, que existe en solución tanto en forma no ionizada como ionizada. Las moléculas no ionizadas suelen ser liposolubles y atraviesan con facilidad las membranas. Las moléculas ionizadas por el contrario, ven impedida su difusión a través de la membrana. El paso de un electrolito orgánico a través de una membrana biológica depende del pH del medio y del logaritmo de la constante de disociación del fármaco, expresada como pKa. El tianfenicol, como dijimos es una base débil, con un pKa 7.2.

Para determinar el grado de ionización de una droga en plasma se aplica la ecuación de Henderson-Hasselbalch (Baggot 1986).

Droga alcalina:

$$pKa' = pH + \log \frac{\text{(concentración de la base ionizada)}}{\text{(concentración de la base no ionizada)}}$$

4.4.- Cálculo del secuestro teórico del tianfenicol en leche tras su administración por las diferentes vías

La penetración de agentes antimicrobianos a la leche desde la circulación sistémica indica que el epitelio de la glándula mamaria se comporta como una membrana lipoidea que separa la sangre con un pH 7.4, de la leche, que tiene un pH algo menor (6.5 a 6.8). El paso de cada fármaco a la leche está determinado por la intensidad de su unión a la albúmina del plasma, por el valor del pKa y por su grado de solubilidad en los lípidos.

El paso de la mayoría de los antibióticos de la circulación sistémica a la leche se efectúa de acuerdo con la hipótesis de reparto. Dado que los cocientes concentración en leche:concentración en plasma para ácidos y bases pueden predecirse mediante las ecuaciones (1) y (2) respectivamente, se deduce que un cambio en el pH de la sangre o de la leche influirá en el nivel de fármaco presente en esta última.

Para bases orgánicas débiles (como el tianfenicol) al

aumentar el pH de la leche descenderá el cociente de concentración leche : plasma del fármaco total. Por consiguiente, se alcanzarán niveles más bajos de drogas básicas en la leche de vacas que padezcan mastitis.

Ecuación (1) para un ácido:

$$R_{x/y} = \frac{1 + \text{antilog} (pH_x - pK_a)}{1 + \text{antilog} (pH_y - pK_a)}$$

Ecuación (2) para una base:

$$R_{x/y} = \frac{1 + \text{antilog} (pK_a - pH_x)}{1 + \text{antilog} (pK_a - pH_y)}$$

Se ha demostrado que solamente pasa a leche la fracción no ionizada y liposoluble de un electrolito orgánico presente en la fase acuosa del plasma (Rasmussen 1966).

4.5.- Estudio farmacocinético del comportamiento del tianfenicol en vacas Holando Argentino

4.5.1.- Administración intravenosa. Análisis de las concentraciones séricas.

El estudio farmacocinético de tianfenicol administrado por la vía intravenosa fue realizado por método lineal mediante un

programa de striping, conocido como Cstrip (Sedman, 1976) siguiendo un modelo bicompartimental abierto, según la ecuación biexponencial (2) enunciada en el punto 4.1.1.2.

4.5.2.- Administración extravasal. Análisis de las concentraciones séricas

Los datos séricos obtenidos luego de las administraciones extravasales (intramuscular, subcutánea, oral e intramamaria) fueron analizados siguiendo un modelo monocompartimental con absorción de primer orden.

$$C_p = B e^{-\beta t} - D e^{-k_{ab} t}$$

Los parámetros estudiados fueron: B , β , $r(\beta)$, $T_{1/2 \beta}$, K_{ab} (constante de tasa de absorción), $T_{1/2 ab}$ (tiempo medio de absorción), $C_{máx}$ (concentración sérica máxima), $T_{máx}$ (tiempo al que se presenta la concentración máxima), $Lag\ Obs$ (tiempo transcurrido hasta la aparición en suero de concentraciones medibles y F (disponibilidad biológica).

4.5.3.- Análisis de las concentraciones de tianfenicol en leche

El estudio del comportamiento cinético del tianfenicol en leche (por todas las vías ensayadas) se realizó siguiendo también una ecuación monoexponencial.

Los parámetros estudiados fueron: E (constante de tasa de eliminación por leche); $T_{1/2} E$ (Tiempo medio de eliminación por leche); K_p (constante de penetración en leche desde suero); $T_{1/2} P$ (tiempo medio de penetración en leche desde suero); $C_{m\acute{a}x}$; $T_{m\acute{a}x}$; Lag Obs; FLac (disponibilidad láctea); relación $C_{m\acute{a}x} S / C_{m\acute{a}x} L$; relación $AUC L / AUC S$ y tiempo de permanencia del tianfenicol en leche, según la siguiente expresión (Nouws 1978) modificada por nosotros:

$$T = \frac{T_{1/2} (\ln R \cdot C_{m\acute{a}x} - \ln C_{lim})}{\ln 2}$$

Donde $T_{1/2}$ es la vida media de eliminación; $C_{m\acute{a}x}$ el pico de concentración sérica de tianfenicol y R la relación de la concentración de tianfenicol en leche y suero en algún momento de la fase de eliminación. C_{lim} representa el límite de niveles residuales permitidos, que en nuestro caso es 100 ng/ml.

5.- DISEÑO DE PLANES DE DOSIFICACION

5.1.- Materiales

- Cuatro vacas Holando Argentino en lactancia, sanas de un peso de 442 ± 52.74 kg.
- Jeringas y agujas
- Clorhidrato de tianfenicol glicinato (Montpellier)
- Tubos de centrifuga y de hemólisis estériles
- Centrifuga
- Equipamiento para determinación de concentraciones por método microbiológico (ver punto 3.2.1)
- Papel milimetrado
- Calculadora Texas TI58

5.2.- Métodos

5.2.1.- Cálculo de dosis

De acuerdo a los datos obtenidos en el análisis farmacocinético se procedió al cálculo de los regímenes de dosificación más adecuados para tianfenicol por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea.

Este cálculo se realizó con el objeto de mantener concentraciones plasmáticas por encima de $5 \mu\text{g/ml}$ (concentración inhibitoria mínima para la mayoría de los microorganismos sensibles al antibiótico en estudio)

Se utilizaron las siguientes ecuaciones para calcular la dosis de mantenimiento (Dm) y dosis de ataque (Da) (Baggot 1986), siendo la usada en el caso de dosis de mantenimiento:

$$Dm = Cp (\text{min}) \cdot VdB (e^{+\beta t} - 1)$$

Donde:

Dm = dosis de mantenimiento en mg/kg

Cp (min) = mínima concentración deseada ($\mu\text{g/ml}$)

VdB = volumen de distribución obtenido por método de extrapolación (ml/kg)

e = base de los logaritmos naturales

β = constante de tasa de eliminación (1/h)

t = intervalo de dosis deseada (horas)

y la usada en el caso de dosis de ataque:

$$Da = Dm (1/1 - e^{-\beta t})$$

Donde:

Da = dosis de ataque (mg/kg)

Dm = dosis de mantenimiento (mg/kg)

5.2.2.- Corroboración práctica

Una vez obtenidas las distintas dosis para todas las vías estudiadas, se realizó la corroboración a campo del régimen de dosificación.

Se eligió como vía de administración para la comprobación práctica la administración de tianfenicol por la vía subcutánea, debido a razones de practicidad, buena vida media y por el gran volumen a inyectar.

Esta corroboración se realizó en cuatro vacas, sanas que recibieron 9 dosis de tianfenicol con intervalos de 8 horas (1 Da y 8 Dm), por la vía subcutánea a nivel del tercio inferior del cuello. Las mismas se hicieron a razón de 50 mg/kg para la Da y 45 mg/kg para la dosis de mantenimiento, de una solución de tianfenicol en Buffer fosfato pH6 al 26.66 %.

Se extrajeron muestras sanguíneas y de leche a los 5; 15; 30 y 45 minutos; 1 y 8 horas después de cada administración. Esta última muestra se extrajo 5 minutos antes de la aplicación de la dosis siguiente. Como siempre antes de comenzar se extrajeron muestras testigo de sangre y de leche.

El suero y la leche obtenidos se procesaron por método biológico para conocer los valores de concentración en los diferentes tiempos enunciados.

6.- RESULTADOS

6.1.- Discriminación de modelo

En la tabla 6.1.I se presentan los coeficientes de correlación entre las concentraciones teóricas para los modelos mono, bi y tricompartmentales y las concentraciones experimentales.

En la Tabla 6.1.II se exponen los valores de intersección con el eje Y; mientras que la Tabla 6.1.III presenta los valores de pendiente.

Por último en la Tabla 6.1.IV se presentan los resultados del Test MAICE para los modelos mono, bi y tricompartmentales correspondientes a cada animal.

La interpretación de esos resultados nos permite afirmar que el tianfenicol, luego de su administración iv sigue un modelo abierto de dos compartimientos. En todos los otros casos, se utilizó un modelo abierto de un compartimiento con absorción de 1º orden.

6.2.- Unión del tianfenicol a las proteínas plasmáticas

Se determinó por ultrafiltración 33.58 ± 2.73 % de tianfenicol unido a las proteínas plasmáticas.

6.3.- En la Fig 6.3.1. se esquematiza el grado de ionización teórico del tianfenicol en plasma, aplicando la ecuación de Henderson-Hasselbach. Mientras que en la Fig. 6.3.2. se presenta

la relación concentración leche:plasma de tianfenicol, tras la aplicación de la ecuación de Jacobs.

6.4.- Concentraciones de tianfenicol en suero y en leche

Los resultados expresados en $\mu\text{g/ml}$ de TAP en suero y en leche tras la administración IV, IM y SC se presentan en las tablas 6.4.I a 6.4.VI.

En las Tablas 6.4.VII a 6.4.XI se presentan las concentraciones de TAP en leche y en suero tras su administración por la vía intracisternal en un solo cuarto mamario.

En las Tablas 6.4.XII a 6.4.XV se exponen las concentraciones de TAP expresadas en $\mu\text{g/ml}$ en leche extraída de cada cuarto mamario tras la administración del antibiótico en los cuatro cuartos mamaros.

6.5.- Análisis farmacocinético

La ecuación que se usó para describir la concentración plasmática vs tiempo tras la administración intravenosa de TAP fue:

$$C_p = 65.41 e^{-6.09 t} + 22.87 e^{-0.40 t}$$

En la que 65.41 y 22.87 son los puntos de intersección (A y B respectivamente) con el eje Y correspondiendo a concentraciones ($\mu\text{g/ml}$); 6.09 y 0.40 son las constantes de distribución (α) y eliminación (β) respectivamente (medidas en unidades de tiempo

recíproco); C_p es la concentración plasmática al tiempo t y e es la base de los logaritmos naturales.

La ecuación que se usó para describir las curvas concentración plasmática vs tiempo tras la administración de TAP por las vías IM y SC; al igual que para el análisis de las concentraciones en leche en función del tiempo para todas las vías estudiadas fue la siguiente:

$$C = \frac{Be^{-\beta t} - De^{-K_{ab}t}}{s/1}$$

Las curvas semilogarítmicas de los promedios de concentraciones séricas y lácteas de TAP en función del tiempo tras su administración por las vías IV, IM y SC se grafican en las Fig. 6.5.1.; 6.5.2. y 6.5.3. respectivamente.

En la Fig. 6.5.4. se presentan las curvas semilogarítmicas de las concentraciones promedio de TAP en leche en función del tiempo luego de la aplicación intracisternal en un solo cuarto mamario, se observa la curva del cuarto tratado y las curvas de los cuartos no tratados y suero, a los cuales pasó el TAP.

Las curvas semilogarítmicas de concentraciones promedio en leche vs tiempo obtenidas luego de la administración de TAP en los cuatro cuartos mamarios se presentan en las Fig. 6.5.5.1.; 6.5.5.2.; 6.5.5.3.; y 6.5.5.4. respectivamente.

Las variables farmacocinéticas obtenidas de los datos de

concentraciones séricas/lácteas vs tiempo luego de la administración IV, IM y SC de TAP se presentan en las Tablas 6.5.I; 6.5.II y 6.5.III a y b respectivamente.

Los parámetros de eliminación calculados para la administración intracisternal en uno solo y en todos los cuartos mamarios se exponen en las Tablas 6.5.IV.1 a 6.5.IV.7 y 6.5.V.1 a 6.5.V.4 respectivamente.

6.6.- Plan terapéutico

En la Tabla 6.6.1. se presentan las diferentes dosis teóricas obtenidas para las vías IV, IM y SC.

Mientras que en las Tablas 6.6.2.1 y 6.6.2.2 se presentan las concentraciones en $\mu\text{g/ml}$ de TAP en suero y leche halladas en los diferentes tiempos de muestreo en la corroboración a campo del plan de dosificación por la vía SC. En la Fig. 6.6.2. se muestran las respectivas curvas concentración sérica/láctea vs tiempo.

TABLA 6.1.1: Coeficientes de correlación obtenidos por regresión lineal entre las concentraciones experimentales y teóricas.

ANIMAL No.	MONOCOMPARTIM.	BICOMPARTIMEN.	TRICOMPARTIMEN.
1	0.93378	0.99515	0.99611
2	0.94684	0.99179	0.99315
3	0.91250	0.99010	0.99860
4	0.85212	0.98679	0.98864
5	0.93167	0.98278	0.98488
6	0.79819	0.98798	0.98779
X	0.89585	0.98946	0.99153
SD	0.05330	0.00377	0.00483

TABLA 6.1.II: Intersecciones con el eje Y obtenidas del análisis por regresión lineal entre los valores experimentales y teóricos.

ANIMAL No	MONOCOMPARTIM.	BICOMPARTIMEN.	TRICOMPARTIMEN.
1	-7.52	-1.22	-0.41
2	-3.76	-0.53	-0.58
3	-4.24	-0.69	-0.32
4	-9.52	-0.25	-1.26
5	-3.89	-1.20	-0.98
6	-19.81	-0.41	-0.32
X	-8.12	-0.68	-0.64
SD	5.64	0.42	0.35

TABLA 6.1.III: Pendientes obtenidas del análisis por regresión lineal entre las concentraciones experimentales y teóricas.

ANIMAL No	MONOCOMPARTIMEN.	BICOMPARTIMENT.	TRICOMPARTIMEN.
1	1.41	1.01	1.01
2	1.19	1.02	1.00
3	1.27	1.03	1.00
4	1.56	1.00	1.02
5	1.18	1.03	1.04
6	1.95	1.02	1.01
X	1.43	1.02	1.01
SD	0.27	0.01	0.01

TABLA 6.1.IV: AIC obtenidos mediante el empleo del Test MAICE para los modelos mono, bi y tricompartmental para cada animal.

ANIMAL No.	MONOCOMPARTIMEN.	BICOMPARTIMENTAL	TRICOMPARTIMENT.
1	63.55	50.48	54.48
2	74.33	50.53	56.63
3	60.68	44.44	27.10
4	76.01	64.11	68.11
5	69.91	53.82	61.33
6	88.36	80.56	84.42
X	72.14	57.32	58.68
SD	9.06	11.95	17.21

pKa TAP 7.2
pH Sangre 7.4

$$\text{pK-pH} = \text{Log} \frac{\text{(Ionizado)}}{\text{(No Ionizado)}}$$

$$\frac{1}{1.58} = \frac{\text{(I)}}{\text{(No I)}}$$

Figura 6. 3. 1: Cálculo del grado de la ionización teórica del tianfenicol en el plasma utilizando la ecuación de Henderson-Hasselbach.

Leche pH 6.8 (X)
Sangre pH 7.4 (Y)

$$R^{X/y} = \frac{1 + \text{Antilog} (pK_a - pH_x)}{1 + \text{Antilog} (pK_a - pH_y)}$$

$$R^{X/y} = \frac{3.51}{1.63}$$

FIG. 6. 3. 2: Esquematización del secuestro mamario aplicado la ecuación de Jacobs.

Tabla 6.4.1: Concentraciones séricas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración intravenosa de 25 mg/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia.

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X	±	DS
0.042	75.31	45.62	S/M	65.53	68.06	118.53	74.61	±	24.06
0.083	67.47	37.48	44.05	60.23	49.16	111.91	61.85	±	24.44
0.125	57.50	37.22	34.31	59.23	47.27	67.76	50.55	±	12.06
0.166	S/M	35.48	30.61	S/M	46.37	50.22	40.67	±	7.93
0.250	S/M	32.11	29.02	29.43	43.00	38.33	34.38	±	5.45
0.333	38.00	31.59	S/M	25.32	35.98	S/M	32.72	±	4.86
0.500	19.40	23.12	19.81	18.03	S/M	22.22	20.52	±	1.88
0.666	18.52	22.06	18.24	12.58	18.91	15.31	17.74	±	3.19
1.000	14.44	19.18	13.06	11.56	S/M	12.25	14.10	±	2.72
1.500	10.91	12.98	11.02	10.73	S/M	10.18	11.16	±	0.95
2.000	5.82	11.40	S/M	7.18	11.52	8.91	8.97	±	2.26
2.500	4.69	11.05	7.15	6.89	10.52	6.83	7.86	±	2.23
3.000	3.47	10.44	6.87	6.84	7.80	S/M	7.08	±	2.23
4.000	ND	7.47	ND	ND	5.66	6.76	6.63	±	0.74

Tabla 6.4.II: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración intravenosa de 25mg/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia.

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X ± DS
0.250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
0.500	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
0.666	5.93	6.41	ND	ND	ND	8.86	7.07 ± 1.28
1.000	7.75	8.80	ND	10.72	ND	SM	9.09 ± 1.23
1.500	16.27	16.88	12.50	12.37	ND	9.75	13.55 ± 2.66
2.000	27.82	19.27	12.89	15.50	21.90	10.64	18.00 ± 5.77
2.500	18.70	22.86	22.14	15.95	26.22	21.04	21.15 ± 3.23
3.000	16.57	21.36	21.76	18.48	22.83	SM	20.20 ± 2.32
3.500	14.75	20.77	21.36	17.89	20.36	12.13	17.88 ± 3.40
4.000	13.78	19.57	17.90	14.90	19.13	9.16	15.74 ± 3.62
5.000	13.53	14.48	14.82	14.31	18.51	7.97	13.94 ± 3.11
6.000	SM	13.89	SM	10.87	13.27	SM	12.68 ± 1.30
8.000	5.93	8.80	ND	9.83	4.64	SM	7.30 ± 2.10

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.III: Concentraciones séricas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración intramuscular de 25 mg/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia.

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X ± DS
0.042	SM	14.79	19.06	10.77	18.82	22.01	17.09 ± 3.91
0.083	26.06	22.19	SM	13.51	23.55	32.99	23.66 ± 6.29
0.125	27.72	26.07	22.88	14.14	25.56	34.62	25.17 ± 6.11
0.166	28.50	27.78	25.76	14.99	26.90	36.15	26.68 ± 6.21
0.250	29.05	28.39	SM	17.58	29.55	41.42	29.20 ± 7.55
0.333	29.55	29.20	28.40	16.09	26.85	33.35	27.24 ± 5.36
0.500	23.46	29.80	25.08	14.15	26.18	27.83	24.42 ± 5.01
0.666	21.00	28.59	23.95	13.49	24.84	27.31	23.15 ± 4.93
1.000	14.79	28.09	21.16	13.32	22.66	18.85	19.81 ± 4.95
1.500	10.79	22.94	19.15	12.61	19.66	SM	17.03 ± 4.58
2.000	SM	20.82	16.27	10.28	17.98	15.59	16.19 ± 3.46
2.500	6.96	19.31	13.03	SM	16.31	13.15	13.75 ± 4.11
3.000	6.79	15.68	10.02	8.04	15.22	SM	11.15 ± 3.66
4.000	3.63	14.16	9.80	7.87	11.46	11.65	9.76 ± 3.34
5.000	3.63	ND	ND	ND	8.53	10.43	7.53 ± 2.86
6.000	3.29	ND	ND	ND	ND	ND	3.29

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.IV: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración intramuscular de 25 mg/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia.

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	\bar{X}	\pm	DS
0.250	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
0.500	6.21	ND	ND	ND	ND	7.55	6.88	\pm	0.67
0.666	6.39	ND	ND	7.35	ND	8.90	7.55	\pm	1.03
1.000	7.13	5.62	13.46	8.98	7.82	8.90	8.65	\pm	2.43
1.500	8.43	9.29	14.30	11.42	9.70	9.80	10.49	\pm	1.92
2.000	9.17	9.66	15.47	12.09	10.40	10.48	11.21	\pm	2.11
2.500	10.47	16.14	15.65	14.23	12.03	12.50	13.50	\pm	2.02
3.000	11.21	SM	18.32	16.97	13.44	13.10	14.62	\pm	2.62
3.500	12.87	20.30	17.23	19.78	16.71	14.30	16.87	\pm	2.68
4.000	11.48	16.39	16.98	16.24	15.76	10.25	14.52	\pm	2.63
5.000	10.47	9.17	12.29	13.57	15.31	8.90	11.62	\pm	2.33
6.000	6.02	7.58	9.95	7.02	7.59	7.10	7.54	\pm	1.20
8.000	5.84	6.85	6.93	5.92	ND	6.88	6.48	\pm	0.49

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.V: Concentraciones séricas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración subcutánea de 25 mg/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia.

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X	±	DS
0.042	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
0.083	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
0.125	5.58	ND	6.44	ND	6.61	ND	6.21	±	0.45
0.166	7.49	7.16	7.47	6.53	9.78	8.12	7.76	±	1.02
0.250	13.52	10.96	10.62	9.13	13.98	11.45	11.61	±	1.68
0.333	13.81	14.42	11.40	11.23	17.07	14.02	13.66	±	1.97
0.500	22.98	15.04	12.03	12.74	19.05	17.48	16.69	±	3.88
0.666	25.16	17.69	15.81	13.66	21.75	19.65	18.95	±	3.79
1.000	S/M	15.92	21.08	13.07	21.35	18.02	17.89	±	3.14
1.500	21.28	9.06	19.51	11.90	17.79	14.79	15.72	±	4.27
2.000	S/M	13.27	17.46	10.22	S/M	11.67	13.16	±	2.71
2.500	12.67	13.09	12.27	8.54	12.71	8.13	11.24	±	2.07
3.000	10.68	10.96	9.28	7.12	9.76	8.02	9.30	±	1.37
4.000	6.90	6.80	7.20	6.61	6.46	7.80	6.96	±	0.44
5.000	5.48	6.53	6.80	5.52	5.89	7.58	6.30	±	0.75

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.VI: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración subcutánea de 25 mg/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia.

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X	±	DS
0.250	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
0.500	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
0.666	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
1.000	ND	ND	7.35	ND	ND	8.18	7.77	±	0.41
1.500	ND	5.10	8.14	10.13	7.95	9.85	8.23	±	1.80
2.000	8.61	7.12	8.71	10.86	8.83	10.44	9.10	±	1.24
2.500	9.18	8.92	9.19	10.95	9.86	10.93	9.84	±	0.83
3.000	18.80	9.24	9.19	11.32	SM	12.44	12.20	±	3.53
3.500	20.54	13.28	9.67	12.05	11.15	11.03	12.95	±	3.56
4.000	18.89	9.03	9.38	11.32	10.72	10.83	11.70	±	3.32
5.000	17.70	6.69	9.19	10.41	8.30	9.65	10.32	±	3.50
6.000	13.94	4.88	8.43	10.41	7.50	9.36	9.09	±	2.77
8.000	8.89	ND	7.76	ND	ND	8.87	8.51	±	0.53

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.VII: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia. Cuarto medicado (ANTERIOR IZQUIERDO).

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X	±	DS
0.250	939.00	558.89	824.70	774.21	935.55	919.85	825.37	±	133.92
0.500	SM	443.46	793.52	618.49	796.80	885.34	707.52	±	157.89
0.750	754.20	375.24	634.45	587.95	646.95	719.61	619.73	±	122.34
1.000	594.50	318.78	544.67	485.98	631.10	650.24	537.55	±	112.00
1.500	490.00	297.00	473.85	420.28	497.89	526.94	450.99	±	76.01
2.000	SM	272.40	451.04	361.72	495.51	444.96	405.13	±	79.20
2.500	372.20	249.35	403.60	341.72	327.17	272.84	327.81	±	53.36
3.000	296.60	184.15	306.55	261.10	297.19	189.82	255.90	±	50.77
3.500	287.00	181.53	290.30	252.96	285.50	160.49	242.96	±	52.70
4.000	190.10	114.90	212.63	172.58	226.26	148.30	177.46	±	37.78
6.000	182.10	114.83	204.36	167.09	180.10	123.75	162.04	±	32.25
8.000	90.70	56.30	99.76	82.26	127.99	66.91	87.32	±	23.18
12.000	77.90	53.05	71.67	67.54	87.61	52.15	68.32	±	12.72
18.000	59.80	47.17	62.44	56.47	61.73	45.98	55.60	±	6.66
24.000	26.90	38.52	36.52	33.97	42.69	34.07	35.45	±	4.83
36.000	ND	17.41	6.37	11.89	16.06	7.58	11.86	±	4.40

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.VIII: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml trás la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia. Cuarto ANTERIOR DERECHO.

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X	±	DS
0.25	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
0.50	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
0.75	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
1.00	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
1.500	ND	8.43	ND	ND	7.12	ND	7.78	±	0.65
2.000	ND	15.86	6.08	7.49	8.01	9.19	9.33	±	3.42
2.500	6.18	22.12	10.15	13.06	11.19	13.72	12.74	±	4.85
3.000	8.38	20.22	12.52	16.14	13.72	16.46	14.57	±	3.68
3.500	SM	16.48	10.96	12.52	SM	15.39	13.84	±	2.20
4.000	10.45	10.22	9.01	10.74	12.57	10.23	10.55	±	1.06
6.000	8.36	5.86	7.48	8.05	9.81	5.61	7.53	±	1.45
8.000	SM	ND	ND	ND	SM	ND			
12.000	7.18	ND	ND	ND	5.63	ND	6.41	±	0.77

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.IX: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 ug/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia. CUARTO POSTERIOR IZQUIERDO.

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X	±	DS
0.250	23.90	64.60	51.94	59.41	57.85	52.77	51.75	±	13.15
0.500	43.29	76.19	63.15	65.76	63.38	61.24	62.17	±	9.74
0.750	SM	81.47	SM	69.67	SM	73.32	74.82	±	4.93
1.000	46.75	102.44	75.45	78.46	68.41	76.63	74.69	±	16.37
1.500	SM	SM	SM	SM	SM	SM			
2.000	46.87	79.41	53.42	55.57	70.72	65.75	61.96	±	11.08
2.500	SM	SM	SM	SM	SM	SM			
3.000	40.71	67.54	26.63	47.84	58.68	60.36	50.29	±	13.70
3.500	SM	SM	SM	SM	SM	SM			
4.000	34.70	56.54	15.91	41.08	41.46	51.93	40.27	±	13.08
6.000	24.42	43.93	11.15	27.60	35.61	34.17	29.48	±	10.28
8.000	15.93	26.82	8.77	14.80	16.06	23.58	17.66	±	5.94

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.X: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia. CUARTO POSTERIOR DERECHO.

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	$\bar{X} \pm$	DS
0.25	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
0.500	ND	9.45	6.10	7.78	7.83	8.90	8.01 \pm	1.15
0.750	ND	12.53	10.00	11.27	10.45	11.95	11.24 \pm	0.93
1.000	11.54	22.84	13.65	12.10	14.62	14.62	14.93 \pm	3.73
1.500	S/M	S/M	S/M	S/M	S/M	S/M		
2.000	15.28	27.65	15.40	15.73	18.54	17.93	18.42 \pm	4.31
2.500	S/M	S/M	S/M	S/M	S/M	S/M		
3.000	8.97	18.73	13.22	13.88	17.78	21.60	15.70 \pm	4.14
3.500	S/M	S/M	S/M	S/M	S/M	S/M		
4.000	6.14	13.28	11.11	10.11	14.62	16.56	11.97 \pm	3.37
6.000	ND	16.56	10.00	9.07	9.76	12.96	10.47 \pm	1.33
8.000	ND	8.15	8.97	7.63	6.95	10.42	8.42 \pm	1.20

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.XI: Concentraciones séricas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg de tianfenicol en seis vacas en lactancia.

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	$\bar{X} \pm DS$
0.25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
0.500	ND	12.38	10.10	8.40	12.70	15.71	11.86 \pm 2.48
0.750	11.29	14.26	13.59	12.76	14.81	16.43	13.86 \pm 1.61
1.000	12.97	15.44	15.72	14.91	17.03	17.60	15.61 \pm 1.50
1.500	14.06	13.93	13.96	12.32	15.33	14.84	14.07 \pm 0.94
2.000	13.18	12.12	12.20	11.25	13.94	13.61	12.72 \pm 0.94
2.500	11.41	11.29	SM	SM	12.50	SM	11.73 \pm 0.54
3.000	9.76	9.76	10.35	9.80	10.69	11.61	10.33 \pm 0.67
3.500	SM	SM	SM	SM	SM	SM	
4.000	7.28	ND	7.43	8.09	8.42	10.76	8.40 \pm 1.25
6.000	ND	ND	ND	ND	ND	9.65	9.65

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.XII: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la infusión intracisternal de 25 mg/kg de tianfenicol repartidos equitativamente entre los cuatro cuartos mamarios de seis vacas en lactancia Holando Argentino (ANTERIOR IZQUIERDO).

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X ± DS
0.250	677.08	647.58	510.46	672.17	678.66	617.30	633.88 ± 59.21
0.500	566.91	554.48	487.64	564.18	540.17	562.73	546.02 ± 27.57
0.750	489.72	479.33	467.04	S/M	S/M	458.21	473.58 ± 11.96
1.000	397.18	404.18	392.01	440.03	448.44	413.03	415.81 ± 21.24
1.500	290.08	299.50	258.57	300.11	278.00	309.77	289.34 ± 16.89
2.000	207.62	227.12	188.52	217.99	181.76	213.95	206.16 ± 16.07
2.500	156.78	150.58	129.84	S/M	S/M	S/M	145.73 ± 11.52
3.000	109.46	112.93	101.12	115.44	110.41	120.65	111.67 ± 5.98
3.500	103.36	120.03	97.58	109.15	100.48	119.27	108.31 ± 8.75
4.000	72.37	86.45	70.73	80.26	94.34	93.81	82.99 ± 9.38
6.000	69.20	83.22	68.38	72.40	79.82	65.07	73.02 ± 6.45
8.000	35.96	41.39	35.92	37.98	42.07	47.63	40.16 ± 4.11
12.000	20.82	40.96	31.76	31.38	29.16	39.33	32.24 ± 6.67
18.000	8.85	28.80	17.09	S/M	S/M	S/M	18.25 ± 8.19
24.000	ND	12.12	10.99	13.27	12.39	13.45	12.44 ± 0.89

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.XIII: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la infusión intracisternal de 25 mg/kg de tianfenicol repartidos equitativamente entre los cuatro cuartos mamarios de seis vacas en lactancia Holando Argentino (ANTERIOR DERECHO).

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X	±	DS
0.250	662.33	581.78	678.43	640.85	611.95	720.12	649.24	±	44.83
0.500	611.36	510.49	560.89	560.91	511.83	592.47	557.99	±	37.51
0.750	488.43	450.56	486.72	475.48	S/M	490.19	478.28	±	14.78
1.000	439.86	400.32	428.91	423.03	414.64	417.77	420.76	±	12.25
1.500	290.97	255.25	297.36	281.19	266.99	297.45	281.54	±	15.79
2.000	236.04	194.76	224.37	218.39	234.19	232.21	223.33	±	14.14
2.500	150.66	152.60	155.59	152.92	152.49	150.57	152.47	±	1.68
3.000	124.59	110.68	110.38	115.21	129.67	122.64	118.86	±	7.26
3.500	126.08	106.70	107.22	113.33	127.37	111.84	115.42	±	8.34
4.000	80.66	72.95	74.19	75.93	65.07	72.85	73.61	±	4.64
6.000	79.81	71.41	72.63	74.63	52.70	52.45	67.27	±	10.72
8.000	42.16	33.54	35.29	37.00	33.44	30.29	35.29	±	3.69
12.000	40.96	20.98	33.18	31.71	22.13	24.14	28.85	±	7.10
18.000	31.84	S/M	21.99	26.92	19.35	17.68	23.56	±	5.19
24.000	12.07	S/M	12.75	12.41	12.39	10.40	12.00	±	0.83

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.XIV: Concentraciones lacteas individuales y promedio con sus respectivos desvios standard, expresadas en ug/ml tras la infusión intracisternal de 25 mg/kg de tianfenicol repartidos equitativamente entre los cuatro cuartos mamarios de seis vacas en lactancia Holando Argentino (POSTERIOR IZQUIERDO).

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X	±	DS
0.250	678.66	569.99	754.22	667.62	651.27	644.52	661.05	±	54.31
0.500	540.17	508.56	667.55	572.09	630.92	574.04	582.22	±	53.25
0.750	470.71	424.19	584.10	493.00	546.24	437.18	492.57	±	56.98
1.000	409.28	370.72	506.04	428.68	448.29	364.76	421.30	±	48.07
1.500	267.32	258.56	338.80	288.22	317.74	266.84	289.58	±	29.42
2.000	214.18	186.07	257.86	219.37	228.29	214.25	220.00	±	21.29
2.500	151.36	124.76	182.67	152.93	177.25	139.76	154.79	±	20.10
3.000	111.65	100.34	148.03	120.01	119.27	101.37	116.78	±	15.95
3.500	99.16	98.38	138.89	112.14	93.81	89.79	105.36	±	16.50
4.000	73.06	64.28	94.74	77.36	71.64	65.07	74.36	±	10.18
6.000	72.37	63.09	94.20	76.55	59.47	53.49	69.86	±	13.32
8.000	33.61	35.17	47.28	38.68	34.78	38.08	37.93	±	4.55
12.000	29.30	32.14	29.52	30.32	25.13	29.13	29.26	±	2.10
18.000	20.18	26.43	S/M	23.31	15.78	20.47	21.23	±	3.54
24.000	5.86	10.93	S/M	8.39	7.62	10.19	8.60	±	1.81

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

TABLA 6.4.XV: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la infusión intracisternal de 25 mg/kg de tianfenicol repartidos equitativamente entre los cuatro cuartos mamarios de seis vacas en lactancia Holando Argentino (POSTERIOR DERECHO).

TIEMPO (h)	1	2	3	4	5	6	X	±	DS
0.250	717.75	573.36	666.61	652.57	649.28	707.93	661.25	±	47.16
0.500	561.06	534.69	548.99	548.25	523.49	601.00	552.91	±	24.54
0.750	476.26	423.16	497.95	465.77	448.97	491.18	467.22	±	25.42
1.000	422.60	364.21	299.18	395.33	356.62	414.78	375.45	±	41.76
1.500	306.39	245.81	270.59	274.26	301.74	310.19	284.83	±	23.21
2.000	195.92	194.50	229.32	206.38	217.33	234.75	213.03	±	15.47
2.500	193.34	132.42	153.44	143.06	139.91	152.50	152.45	±	19.66
3.000	108.13	101.38	117.38	108.96	105.62	110.32	108.63	±	4.85
3.500	105.22	98.94	116.33	106.83	94.98	89.49	101.97	±	8.70
4.000	70.70	73.72	94.20	79.54	68.69	69.92	76.13	±	8.83
6.000	67.52	69.09	81.18	72.60	59.65	57.14	67.86	±	8.00
8.000	30.85	38.55	44.05	37.82	36.40	32.32	36.67	±	4.32
12.000	24.83	38.42	32.48	31.91	28.81	25.13	30.26	±	4.69
18.000	19.44	31.97	20.10	23.84	19.99	20.00	22.57	±	4.45
24.000	12.73	20.14	S/M	16.43	14.38	15.43	15.82	±	2.48

S/M = Muestra no extraída

ND = No detectado

FIGURA 6.6.1

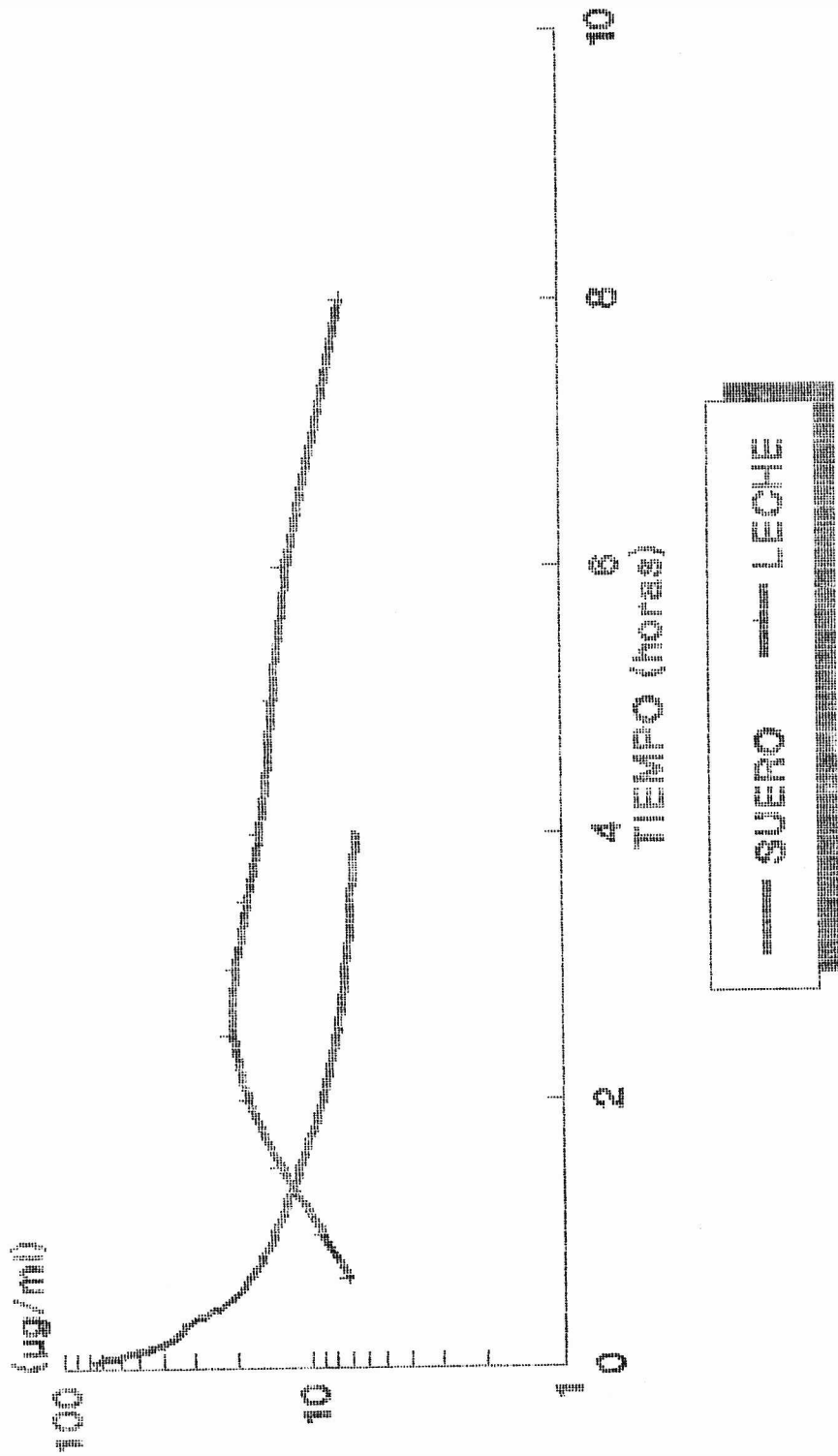


FIG. 6.1: Curva semilogarítmica de la concentración de TAP en suero y leche vs tiempo tras la administración IV de 25 mg/kg

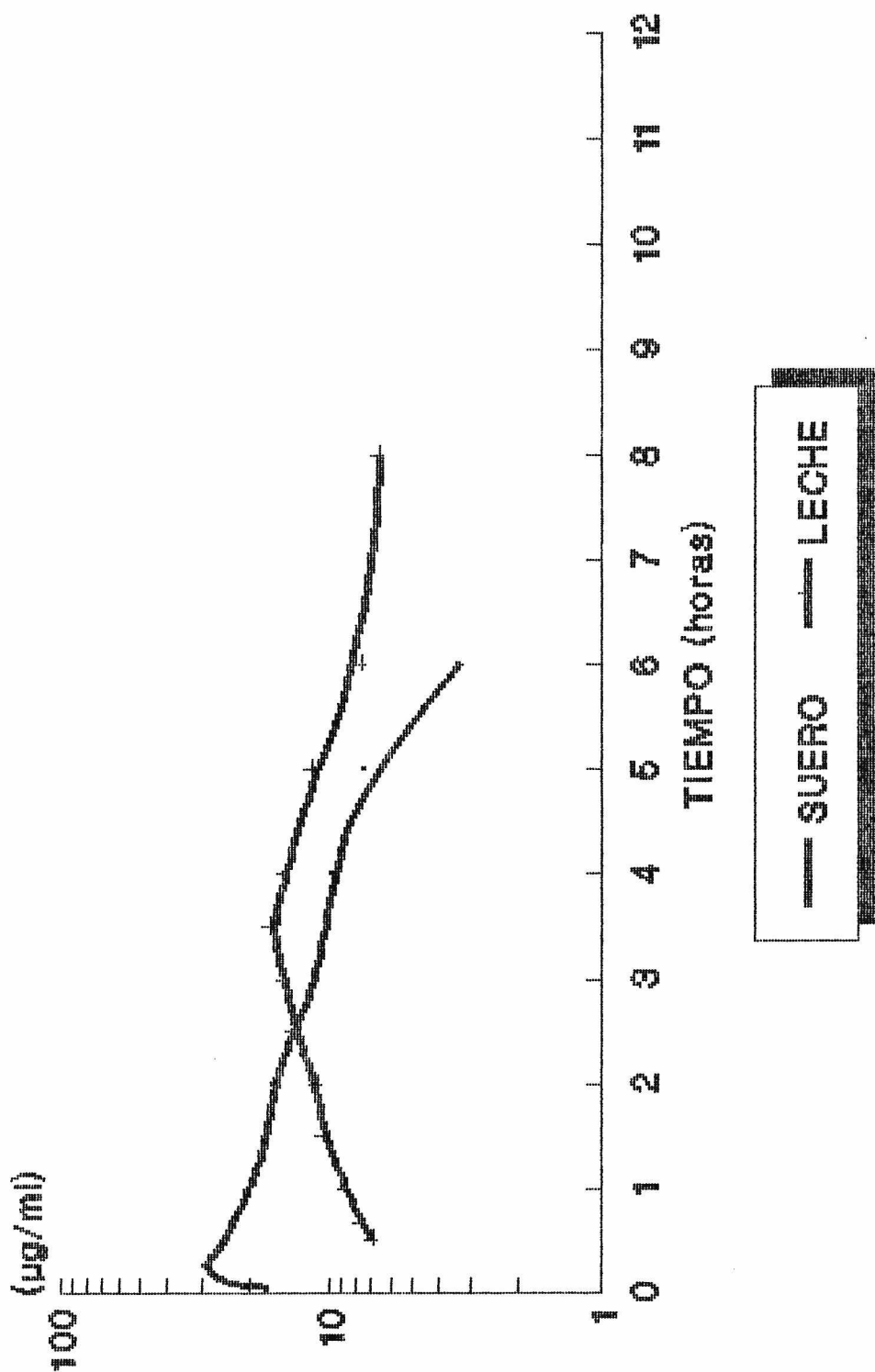
TABLA 6.5.1.A.: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las concentraciones séricas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intravenosa de 25 mg/kg a vacas en lactancia.

PARAMETRO	1	2	3	4	5	6	X ± DS
A (ug/ml)	55.31	23.26	54.59	70.01	39.68	149.60	65.41 ± 40.35
(min)	5.54	2.70	11.68	5.42	3.01	8.17	6.09 ± 3.09
T 1/2 (min)	7.50	15.40	3.56	7.67	13.81	5.09	8.84 ± 4.34
B (ug/ml)	33.30	21.75	23.98	15.32	24.29	18.56	22.67 ± 5.61
β (h)	0.75	0.27	0.42	0.29	0.36	0.31	0.40 ± 0.16
T 1/2 β (h)	0.92	2.57	1.65	2.39	1.92	2.23	1.95 ± 0.55
K12	2.11	1.02	6.97	3.20	1.21	5.15	3.28 ± 2.16
K21	2.55	1.44	3.86	1.21	1.37	1.18	1.94 ± 0.98
Kel	1.63	0.50	1.27	1.30	0.79	2.15	1.27 ± 0.54
Vc (ml)	282.13	555.43	318.19	292.98	390.81	148.65	331.37 ± 123.28
Vd B (ml/kg)	750.75	1149.42	1042.53	1631.85	1029.23	1346.98	1158.46 ± 275.71
Vd β (ml/kg)	613.16	1028.55	962.14	1313.36	857.61	1030.96	967.63 ± 210.17
Vd(area) (ml/kg)	731.47	1550.18	1331.93	2153.56	1173.84	1484.08	1404.18 ± 428.19
Vd(ss) (ml/kg)	515.58	948.86	692.74	1067.80	735.98	797.42	793.06 ± 177.99
ClB (ml/min.kg)	459.87	277.71	404.10	380.87	308.74	319.60	358.48 ± 62.41
AUC (ug.h/ml)	45.57	59.73	44.69	40.03	59.16	54.34	50.59 ± 7.56

TABLA 6.5.I.B.: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las concentraciones lácteas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intravenosa de 25 mg/kg a vacas en lactancia.

PARAMETRO	1	2	3	4	5	6	X ± DS
Kp (1/h)	1.56	1.06	1.89	0.93	1.13	0.83	1.23 ± 0.37
T1/2 p (min)	26.65	39.23	22.00	44.70	36.80	50.10	36.58 ± 9.72
KE (1/h)	0.21	0.17	0.20	0.13	0.33	0.20	0.21 ± 0.06
T1/2E (h)	3.30	4.08	3.46	5.33	2.10	3.46	3.62 ± 0.97
Cmáx (ug/ml)	27.82	22.86	22.14	18.48	26.22	21.04	23.89 ± 3.12
Tmáx (h)	2.00	2.50	2.50	3.00	2.50	2.50	2.50 ± 0.29
Lag Time (h)	0.67	0.67	1.50	1.00	2.00	0.67	1.08 ± 0.51
AUC (ug.h/ml)	96.05	113.75	63.16	94.40	96.25	50.99	85.77 ± 21.58
AUCi:AUCs	2.11	1.90	1.41	2.36	1.63	0.94	1.72 ± 0.47
T (días)	2.04	5.64	3.50	4.24	4.83	4.50	4.13 ± 1.13

FIGURA 6.5.2.



Curva semi-logarítmica de la concentración de TAP en suero y leche vs tiempo tras la administración IM de 25 mg/kg.

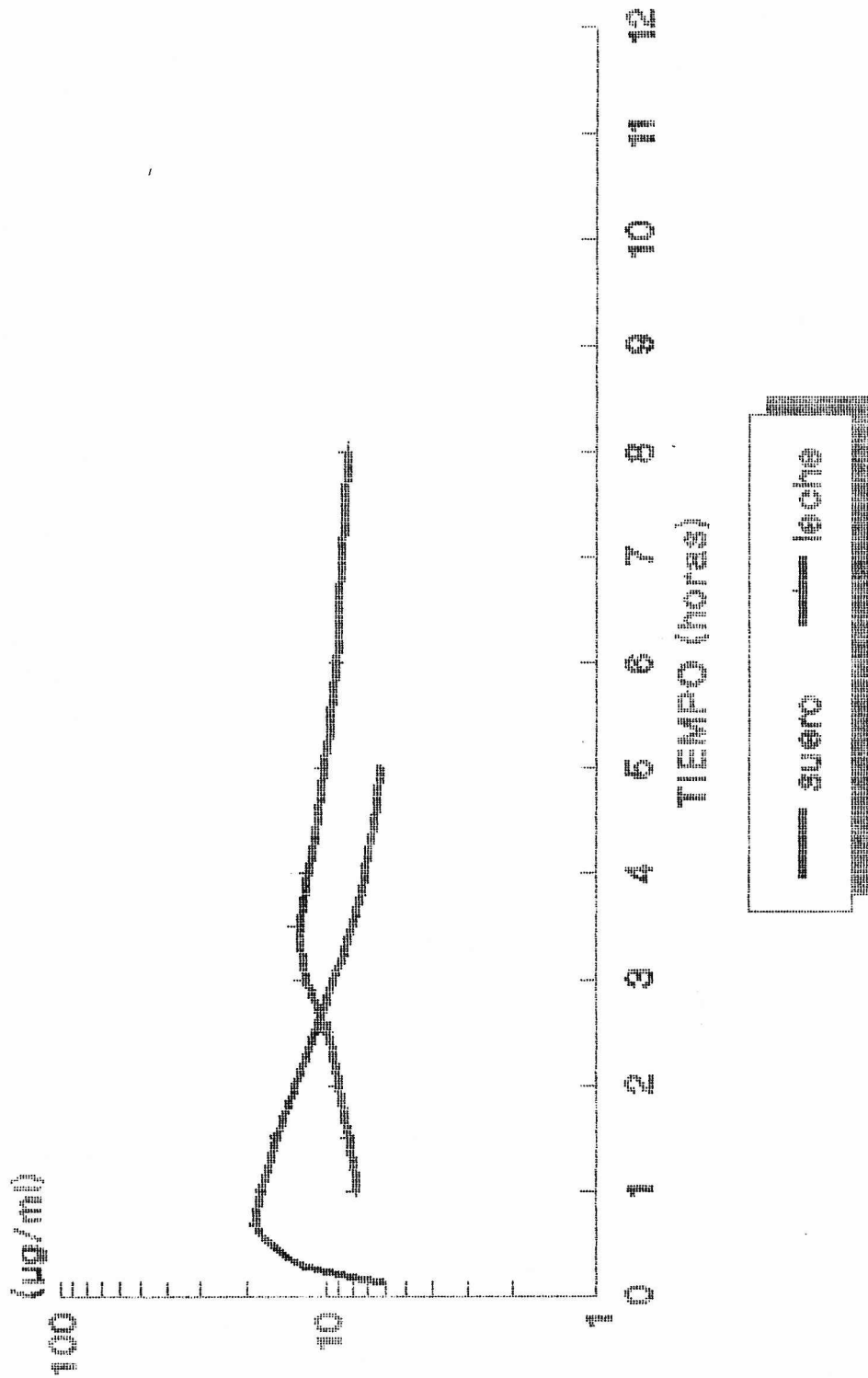
TABLA 6.5.II.A.: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las concentraciones séricas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intramuscular de 25 mg/kg a vacas en lactancia.

PARAMETRO	1	2	3	4	5	6	\bar{x}	\pm	DS
K _{ab} (1/h)	2.46	14.30	18.76	24.31	22.65	3.06	14.26	\pm	8.72
T _{1/2ab} (min)	16.90	2.91	2.22	1.71	1.83	13.59	6.53	\pm	6.25
B (ug/ml)	19.82	32.07	28.06	16.03	28.81	24.69	24.91	\pm	5.50
B (1/h)	0.34	0.21	0.29	0.20	0.23	0.19	0.24	\pm	0.05
T _{1/2 β} (h)	2.04	3.30	2.39	3.46	3.01	3.06	2.88	\pm	0.50
C _{máx} (ug/ml)	29.55	29.80	28.40	17.58	29.55	41.42	29.38	\pm	6.90
T _{máx} (h)	0.33	0.50	0.33	0.25	0.25	0.25	0.32	\pm	0.09
Lag Time (h)	0.08	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	\pm	0.02
AUC (ug.h/ml)	52.13	84.35	65.27	43.18	84.09	81.70	68.45	\pm	16.27
F (%)	51.00	109.00	101.00	74.00	91.00	92.00	86.33	\pm	19.00

TABLA 6.5.II.B.: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las concentraciones lácteas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intramuscular de 25 mg/kg a vacas en lactancia.

PARAMETRO	1	2	3	4	5	6	X ± DS
Kp (1/h)	0.68	0.96	0.75	0.80	0.83	0.93	0.83 ± 0.10
T1/2 p (min)	61.15	43.31	55.44	51.97	50.10	44.71	51.11 ± 6.10
B (ug/ml)	24.46	31.99	35.34	43.01	15.07	19.99	28.31 ± 9.47
KE (1/h)	0.19	0.24	0.20	0.20	0.05	0.15	0.18 ± 0.07
T1/2 E (h)	3.65	2.89	3.46	2.47	14.74	4.62	5.31 ± 4.27
Cmáx (ug/ml)	12.87	20.30	18.32	19.78	16.71	14.30	17.05 ± 2.73
Tmáx (h)	3.50	3.50	3.00	3.50	3.50	3.50	3.42 ± 0.19
Lag Time (h)	0.50	1.00	1.00	0.67	1.00	0.50	0.78 ± 0.23
AUC (ug.h/ml)	65.08	77.71	90.58	84.24	63.63	70.62	75.31 ± 9.85
AUC 1 : AUC s	1.25	0.92	1.39	1.95	0.76	0.86	1.19 ± 0.41
Cmáx s: Cmáx 1	2.30	1.47	1.55	0.89	1.77	2.90	1.81 ± 0.64
T (días)	2.52	6.43	4.20	6.57	4.83	4.20	4.79 ± 1.40

FIGURA 6.5.3.



Curva de concentración de la concentración de TAP en suero y leche vs tiempo tras la administración de 25 mg/kg

TABLA 6.5.III.A.: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las concentraciones séricas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración subcutánea de 25 mg/kg a vacas en lactancia.

PARAMETRO	1	2	3	4	5	6	\bar{X}	\pm	DE
K _{ab} (1/h)	4.38	8.63	1.93	5.60	4.28	5.51	5.06	\pm	2.00
T _{1/2ab} (min)	9.49	4.82	21.54	7.42	9.71	7.55	10.09	\pm	5.37
B (ug/ml)	32.31	17.63	29.32	15.53	27.87	19.62	23.71	\pm	6.37
β (1/h)	0.37	0.20	0.32	0.22	0.34	0.24	0.28	\pm	0.06
T _{1/2 β} (h)	1.87	3.46	2.16	3.15	2.04	2.89	2.60	\pm	0.60
C _{máx} (ug/ml)	25.16	17.69	21.08	13.66	21.75	19.65	19.83	\pm	3.57
T _{máx} (h)	0.67	0.67	1.00	0.67	0.67	0.67	0.72	\pm	0.12
Lag Time (h)	0.13	0.17	0.13	0.17	0.13	0.17	0.15	\pm	0.02
AUC (ug.h/ml)	66.29	52.43	59.98	43.63	61.30	53.41	56.17	\pm	7.33
F (%)	71.00	65.00	102.00	83.00	97.00	76.00	82.33	\pm	13.36

TABLA 6.5.III.B.: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las concentraciones lácteas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración subcutánea de 25 mg/kg a vacas en lactancia.

PARAMETRO	1	2	3	4	5	6	X	±	DS
Kp (1/h)	1.16	1.04	1.01	0.95	0.82	1.03	1.00	±	0.10
T1/2 p (min)	35.84	39.98	41.17	43.77	50.70	40.37	41.97	±	4.55
B (ug/ml)	36.42	21.73	11.90	14.47	18.91	13.99	19.57	±	8.22
KE (1/h)	0.22	0.31	0.05	0.06	0.17	0.06	0.15	±	0.10
T1/2 E (h)	3.15	2.23	12.83	11.95	4.00	11.18	7.57	±	4.47
Cmáx (ug/ml)	20.54	13.28	9.67	12.05	11.15	12.44	13.19	±	3.47
Tmáx (h)	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.00	3.42	±	0.19
Lag Time (h)	2.00	1.50	1.00	1.50	1.50	1.00	1.42	±	0.34
AUC (ug.h/ml)	87.83	36.59	60.91	49.28	42.37	40.11	52.85	±	17.50
AUC 1 : AUC s	1.32	0.70	1.01	1.13	0.69	1.31	1.03	±	0.26
Cmáx s: Cmáx 1	1.22	1.33	2.18	1.13	1.95	1.50	1.57	±	0.39
T (días)	3.68	4.41	2.00	3.64	2.18	3.45	3.23	±	0.86

FIGURA 6.6.4.

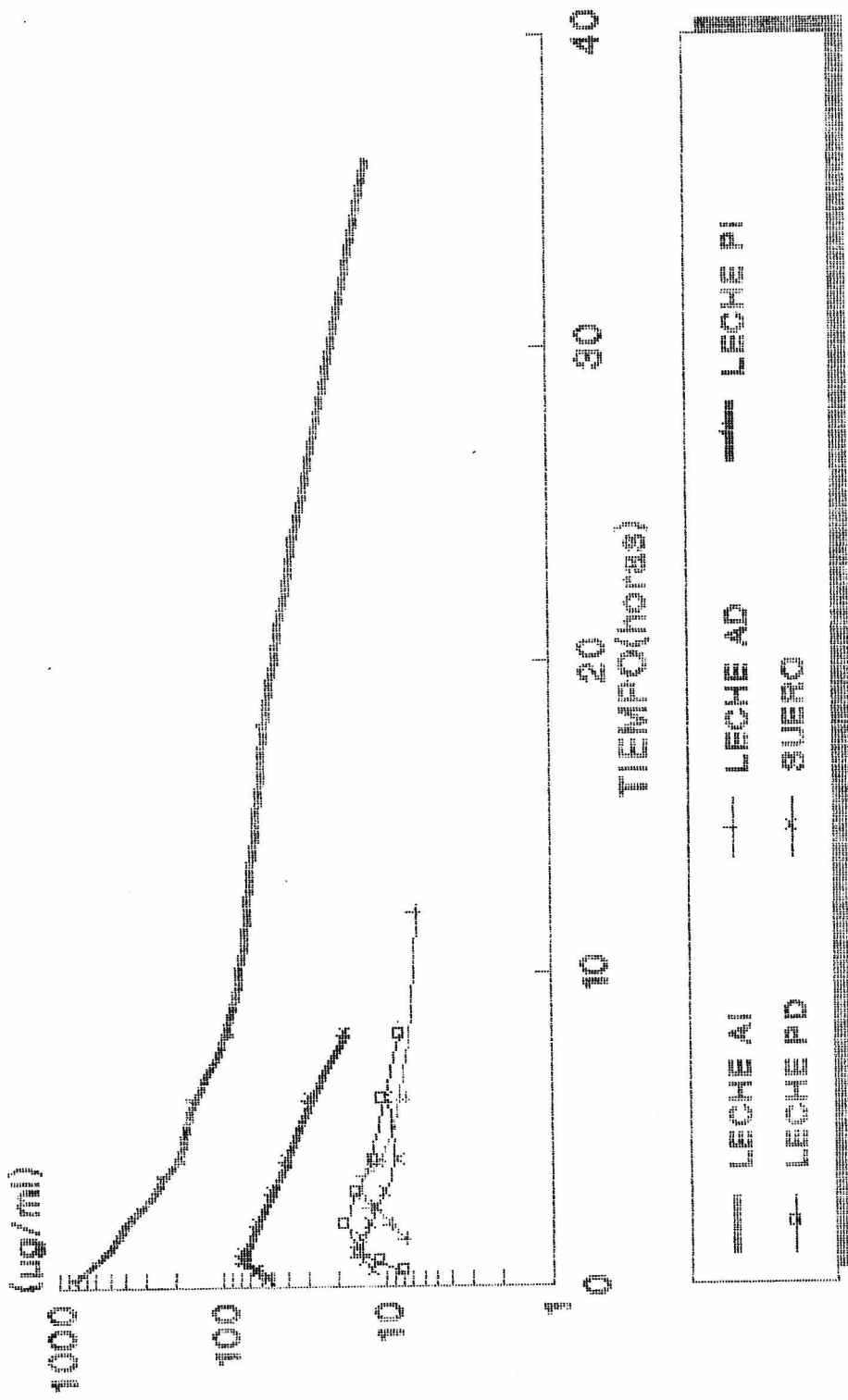


FIGURA 6.5.4.A.

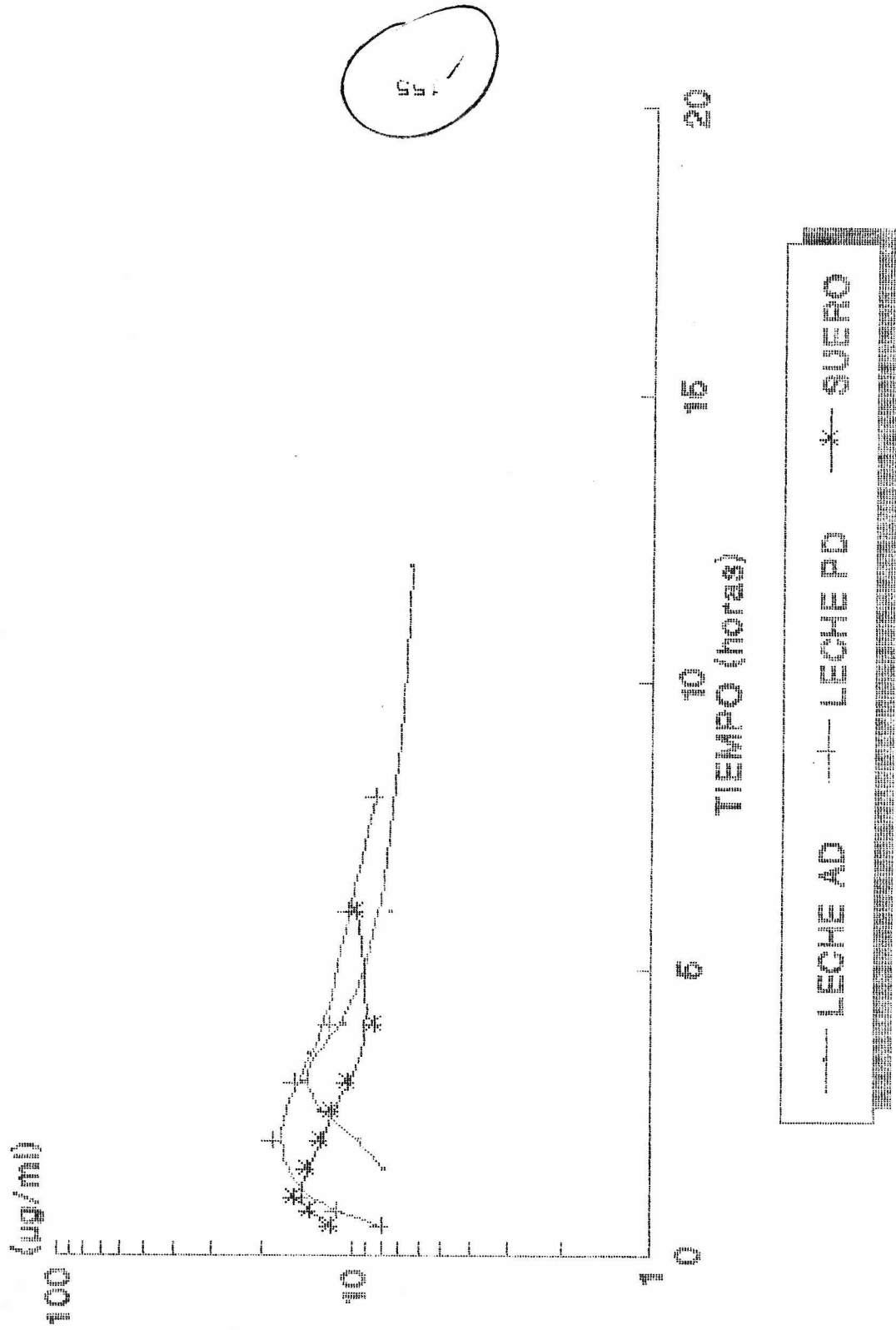


TABLA 6.5.IV.1.: Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos al analizar las concentraciones lácteas y séricas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg a vacas en lactancia. Animal No 1.

CUARTO MAMARIO	Lag Time (h)	C _{máx} (ug/ml)	T _{máx} (h)	AUC (ug.ml/h)	AUC NT:AUC T (%)	β	T 1/2 β
Ant. Izq. (adm)				3346.95		0.10	6.93
Posterior Izq.	0.25	48.12	1.50	258.12	7.71	0.14	4.95
Anterior Der.	2.5	10.45	4.00	77.90	2.33	0.04	17.32
Posterior Der.	1.00	15.28	2.00	34.47	1.03	0.53	1.31
Suero	0.75	14.06	1.50	36.77	1.10	0.30	2.31

TABLA 6.5.IV.2.: Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos al analizar las concentraciones lácteas y séricas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg a vacas en lactancia. Animal No 2.

CUARTO MAMARIO	Lag Time (h)	C _{máx} (ug/ml)	T _{máx} (h)	AUC (ug.ml/h)	AUC NT:AUC T (%)	β	T 1/2 β
Ant. Izq. (adm)				2499.87		0.05	13.86
Posterior Izq.	0.25	102.44	1.00	455.37	18.21	0.16	4.33
Anterior Der.	1.50	22.12	2.50	57.92	2.32	0.40	1.73
Posterior Der.	0.50	27.65	2.00	113.7	4.55	0.19	3.65
Suero	0.50	15.44	1.00	32.2	1.29	0.22	3.15

TABLA 6.5.IV.3.: Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos al analizar las concentraciones lácteas y séricas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg a vacas en lactancia. Animal No 3.

CUARTO MAMARIO	Lag Time (h)	C _{máx} (ug/ml)	T _{máx} (h)	AUC (ug.ml/h)	AUC NT:AUC T (%)	β	T 1/2 β
Ant. Izq. (adm)				3623.65		0.10	6.93
Posterior Izq.	0.25	75.45	1.00	219.05	6.04	0.31	2.23
Anterior Der.	2.00	12.52	3.00	37.16	1.02	0.16	4.33
Posterior Der.	0.50	15.40	2.00	86.16	2.38	0.09	7.70
Suero	0.50	15.72	1.00	40.86	1.13	0.24	2.89

TABLA 6.5.IV.4.: Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos al analizar las concentraciones lácteas y séricas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg a vacas en lactancia. Animal No 4.

CUARTO MAMARIO	Lag Time (h)	C _{máx} (ug/ml)	T _{máx} (h)	AUC (ug.ml/h)	AUC NT:AUC T (%)	β	T 1/2 β
Ant. Izq. (adm)				3205.33		0.09	7.70
Posterior Izq.	0.25	78.46	1.00	322.51	10.06	0.21	3.30
Anterior Der.	2.00	16.14	3.00	44.24	1.38	0.21	3.30
Posterior Der.	0.50	15.73	2.00	81.53	2.54	0.12	5.77
Suero	0.50	14.91	1.00	38.39	1.20	0.19	3.65

TABLA 6.5.IV.5.: Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos al analizar las concentraciones lácteas y séricas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg a vacas en lactancia. Animal No 5.

CUARTO MAMARIO	Lag Time (h)	C _{máx} (ug/ml)	T _{máx} (h)	AUC (ug.ml/h)	AUC NT:AUC T (%)	B	T 1/2 β
Ant. Izq. (adm)				3982.73		0.08	8.66
Posterior Izq.	0.25	70.72	2.00	357.98	8.99	0.21	3.30
Anterior Der.	1.50	13.72	3.00	95.48	2.40	0.10	6.93
Posterior Der.	0.50	18.54	2.00	97.89	2.44	0.19	3.65
Suero	0.50	17.83	1.00	44.97	1.13	0.26	2.66

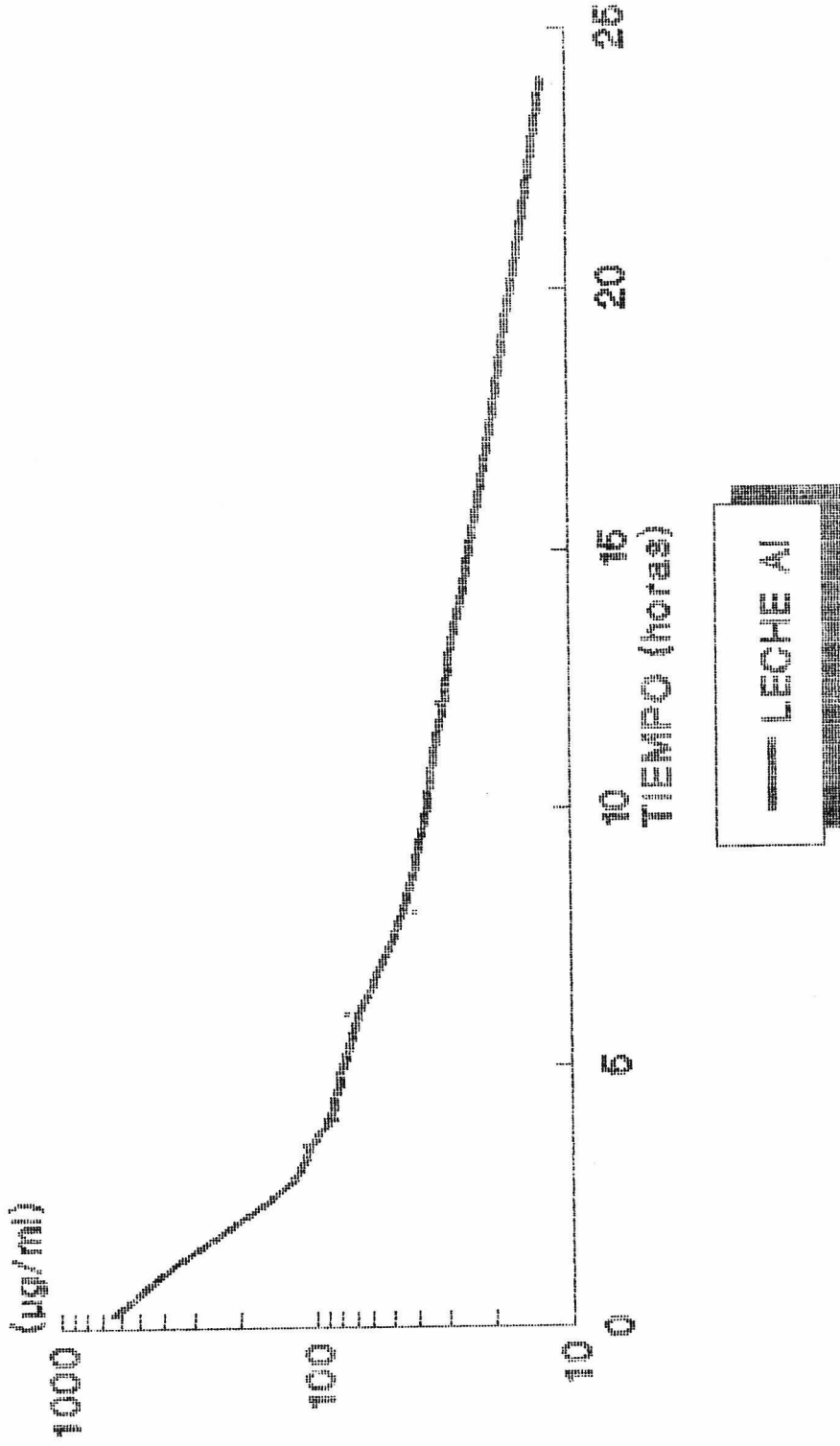
TABLA 6.5.IV.6.: Parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos al analizar las concentraciones lácteas y séricas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg a vacas en lactancia. Animal No 6.

CUARTO MAMARIO	Lag Time (h)	C _{máx} (ug/ml)	T _{máx} (h)	AUC (ug.ml/h)	AUC NT:AUC T (%)	B	T 1/2 β
Ant. Izq. (adm)				3024.16		0.09	7.70
Posterior Izq.	0.25	76.63	1.00	382.05	12.63	0.17	4.08
Anterior Der.	2.00	15.39	3.50	43.30	1.43	0.37	1.87
Posterior Der.	0.50	21.60	3.00	113.74	3.76	0.14	4.95
Suero	0.50	17.60	1.00	67.88	2.24	0.05	13.86

TABLA 6.5.IV.7.: Parámetros farmacocinéticos promedio con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las las concentraciones lácteas y séricas de tianfenicol en función del tiempo, tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario de 25 mg/kg a vacas en lactancia.

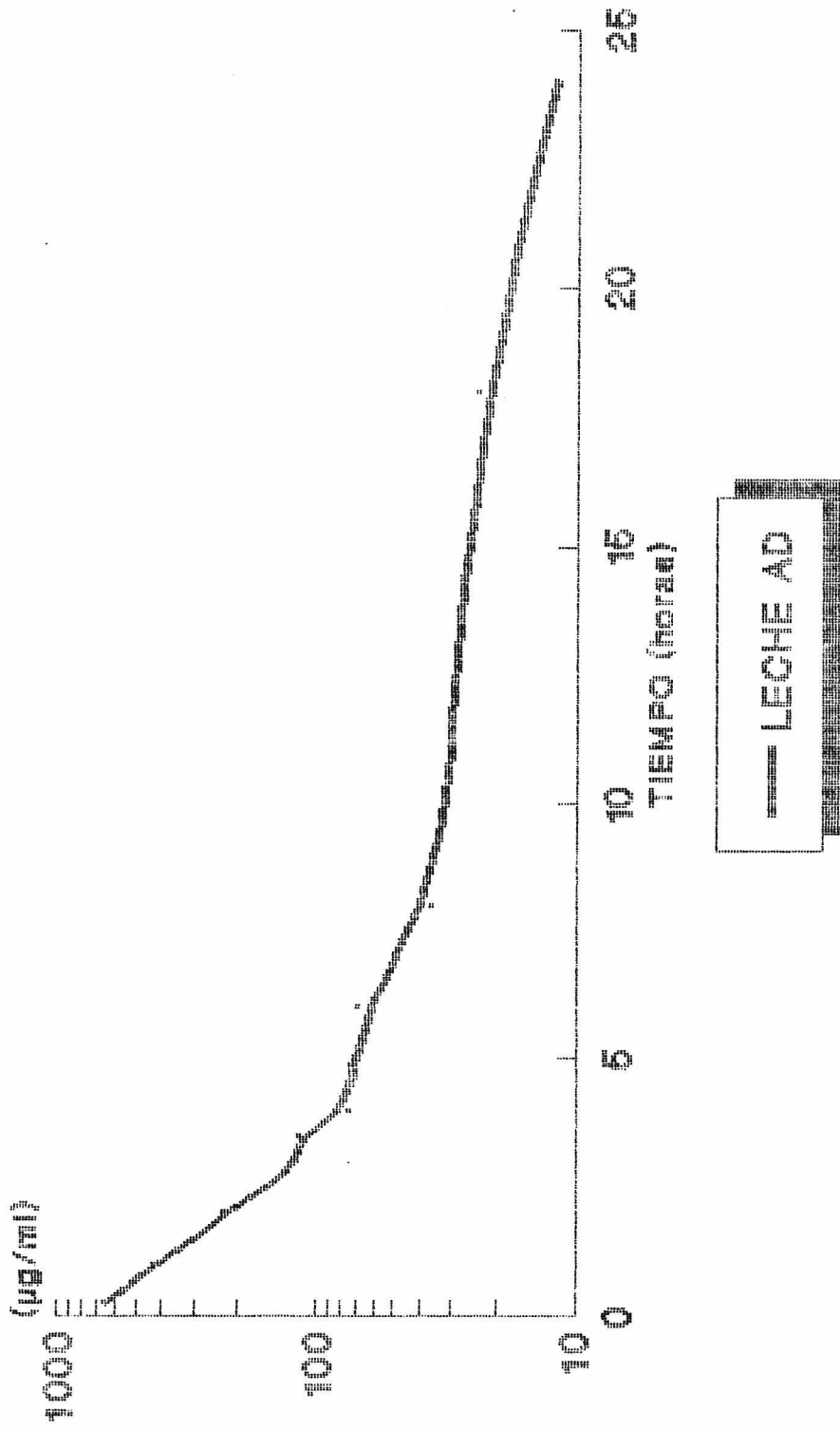
CUARTO MAMARIO	Lag Time (h)	C _{máx} (ug/ml)	T _{máx} (h)	AUC (ug.ml/h)	AUC NT:AUC T (%)	β (1/h)	T 1/2β (h)	T (días)
Ant. Izq. (adm)				3280.45 ± 464.76		0.09 ± 0.02	8.63 ± 2.41	
Posterior Izq.	0.25 ± 0.00	75.30 ± 15.85	1.25 ± 0.38	332.51 ± 78.21	10.61 ± 3.95	0.20 ± 0.05	3.70 ± 0.87	34.32
Anterior Der.	1.92 ± 0.34	15.06 ± 3.66	3.17 ± 0.47	59.33 ± 20.93	1.81 ± 0.55	0.21 ± 0.13	5.91 ± 5.39	6.86
Posterior Der.	0.58 ± 0.19	19.03 ± 4.46	2.16 ± 0.37	87.78 ± 26.82	2.78 ± 1.12	0.21 ± 0.15	4.51 ± 1.99	8.67
Suero	0.54 ± 0.09	15.79 ± 1.20	1.08 ± 0.19	43.51 ± 11.56	1.35 ± 0.40	0.21 ± 0.08	4.75 ± 4.09	

FIGURA 6.5.5.1



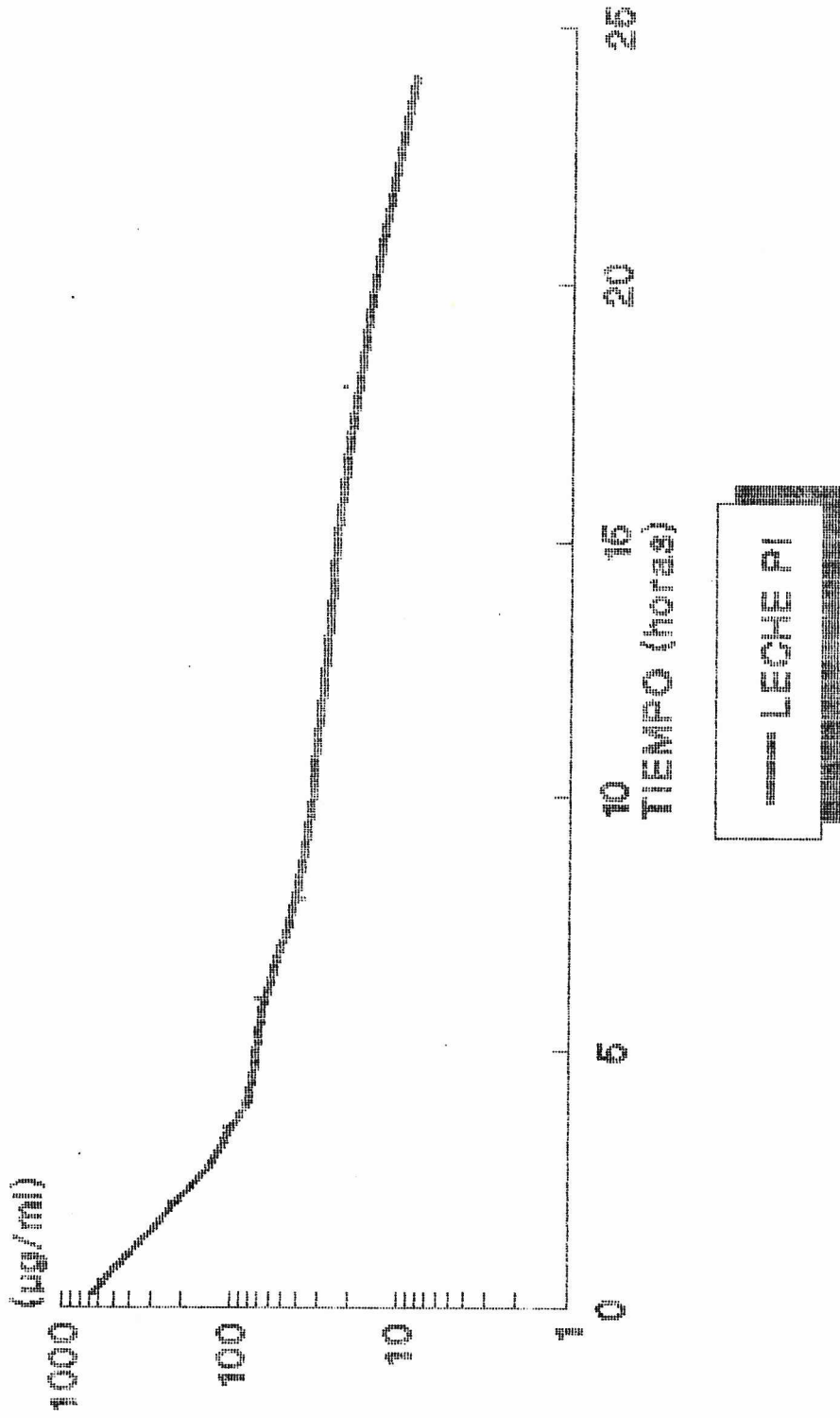
Curva semilog. de la concent. de TAP en leche va tpo. tras la administración en los cuartos cuatrifa menarios de 25 mg/kg

FIGURA 6.5.5.2.



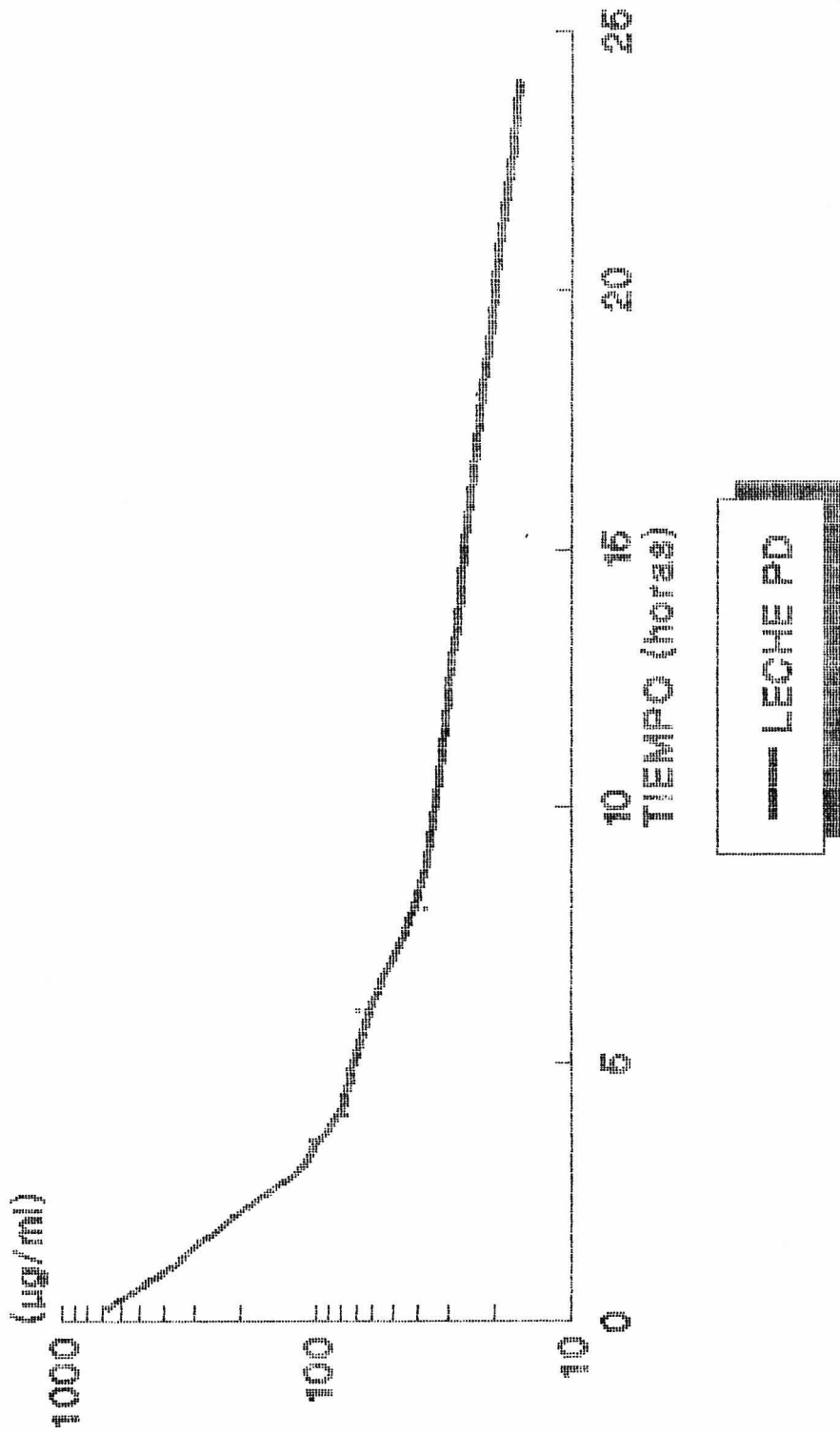
Curva semilog. de la concentr. de TAP en leche y tpo. tras la administración en los cuartos anteriores mamarios de 25 mg/kg

FIGURA 8.6.6.3.



Curva semilog. de la concentr. de TAP en
leche va tpo. tras la administración en
los cuatro cuartos mañana de 25 mg/kg

FIGURA 6.5.5.4.



Cuya emuls. de la concent. de TAP en
leche va to. tra la administración en
la cual se muestra manifiesto de 25 mg/kg

TABLA 6.5.V.1.: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio, con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las concentraciones lácteas y séricas de TAP en función del tiempo, tras la administración intracisternal en los cuatro cuartos mamarios de 25 mg/kg a vacas en lactancia. Cuarto Anterior Izquierdo

PARAMETROS	ANIMAL No1	ANIMAL No2	ANIMAL No3	ANIMAL No4	ANIMAL No5	ANIMAL No6	X	±	DS
K E (1/h)	0.17	0.10	0.11	0.10	0.09	0.08	0.11	±	0.03
T1/2 E (h)	4.08	6.93	6.30	6.93	7.53	8.55	6.72	±	1.37
R (E)	0.99	0.99	0.97	0.99	0.99	0.99	0.99	±	0.01
AUC (ug.ml/h)	1382.15	1740.78	1450.03	1629.72	1601.85	1699.99	1564.09	±	128.54

TABLA 6.5.V.2.: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio, con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las concentraciones lácteas y séricas de TAP en función del tiempo, tras la administración intracisternal en los cuatro cuartos mamarios de 25 mg/kg a vacas en lactancia. Cuarto Anterior Derecho

PARAMETROS	ANIMAL No1	ANIMAL No2	ANIMAL No3	ANIMAL No4	ANIMAL No5	ANIMAL No6	X	±	DS
K E (1/h)	0.09	0.21	0.10	0.08	0.08	0.09	0.11	±	0.05
T1/2E (h)	8.06	3.30	7.07	8.25	8.88	7.79	7.23	±	1.84
R (E)	0.99	0.98	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	±	0.00
AUC (ug.ml/h)	1784.90	1237.82	1621.51	1634.57	1469.54	1507.20	1542.59	±	169.74

TABLA 6.5.V.3.: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio, con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las concentraciones lácteas y séricas de TAP en función del tiempo, tras la administración intracisternal en los cuatro cuartos mamarios de 25 mg/kg a vacas en lactancia. Cuarto Posterior Izquierdo

PARAMETROS	ANIMAL No1	ANIMAL No2	ANIMAL No3	ANIMAL No4	ANIMAL No5	ANIMAL No6	X	±	DS
K E (1/h)	0.12	0.08	0.19	0.10	0.12	0.10	0.12	±	0.03
T1/2 E (h)	5.77	0.55	3.65	6.93	5.77	6.93	6.27	±	1.50
R (E)	0.99	0.99	0.99	0.99	0.98	0.99	0.99	±	0.00
AUC (ug.ml/h)	1513.76	1476.51	1623.34	1620.29	1553.63	1450.27	1539.63	±	66.27

TABLA 6.5.V.4.: Parámetros farmacocinéticos individuales y promedio, con sus respectivos desvíos standard, obtenidos al analizar las concentraciones lácteas y séricas de TAP en función del tiempo, tras la administración intracisternal en los cuatro cuartos mamarios de 25 mg/kg a vacas en lactancia. Cuarto Posterior Derecho

PARAMETROS	ANIMAL No1	ANIMAL No2	ANIMAL No3	ANIMAL No4	ANIMAL No5	ANIMAL No6	X	±	DS
K E (1/h)	0.08	0.06	0.14	0.08	0.09	0.04	0.08	±	0.03
T1/2 E (h)	9.00	11.74	4.95	9.12	7.61	15.75	9.70	±	3.38
R (E)	0.99	0.99	0.85	0.99	0.99	0.99	0.97	±	0.05
AUC (ug.ml/h)	1490.87	1613.43	1436.96	1601.14	1499.14	1546.59	1531.36	±	62.48

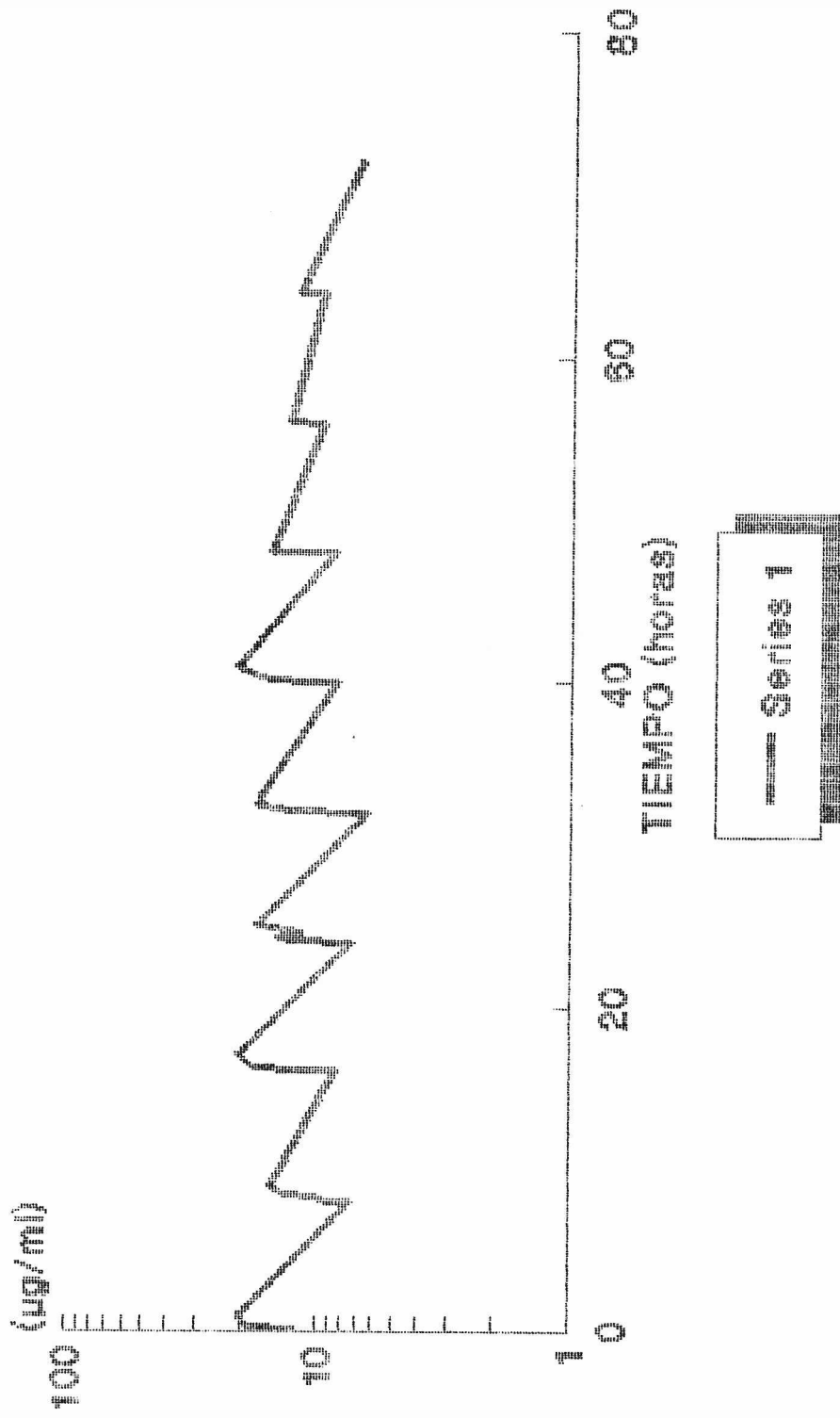
Tabla 6.6.1 : Dosis calculadas para la administración de tianfenicol por las vías IM y SC con intervalos de 8 horas.

VIA DE ADMINIST.	DOSIS DE ATAQUE (mg/kg)	DOSIS DE MANTENIMIENTO (mg/kg)
IM	35	30
SC	50	45

Tabla 6.6.2.1.: Concentraciones séricas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración intramuscular de una dosis de ataque (50 mg/ml) y 8 dosis de mantenimiento (45 mg/ml).

Nº Dosis	TIEMPO (h)	1	2	3	4	X	± DS
Da	0.083	14.98	S/M	S/M	9.21	12.10 ±	2.89
	0.250	16.94	26.77	17.95	13.47	18.78 ±	4.90
	0.500	19.69	21.38	16.76	19.33	19.29 ±	1.65
	1.000	16.58	25.21	17.52	S/M	19.77 ±	3.87
	8.000	ND	7.47	ND	7.00	7.28 ±	0.19
1a Dm	0.083	7.00	13.15	7.67	S/M	9.27 ±	2.75
	0.250	8.27	14.48	7.56	9.21	9.88 ±	2.72
	0.500	13.71	14.70	12.21	13.47	13.52 ±	0.89
	1.000	13.39	17.38	13.25	15.87	14.97 ±	1.74
	8.000	ND	7.76	8.90	S/M	8.33 ±	0.57
2a Dm	0.083	12.62	12.82	7.87	15.76	12.27 ±	2.83
	0.250	19.91	19.26	16.42	17.06	18.16 ±	1.46
	0.500	20.68	20.20	15.73	S/M	18.07 ±	2.23
	1.000	26.17	20.34	12.28	22.54	20.33 ±	5.09
	8.000	9.55	4.07	9.52	6.49	7.41 ±	2.29
3a Dm	0.083	18.50	6.16	13.32	11.46	12.36 ±	4.41
	0.250	19.40	8.32	15.38	13.95	14.26 ±	3.97
	0.500	S/M	15.35	17.45	13.02	11.46 ±	1.81
	1.000	18.50	16.37	S/M	17.19	17.35 ±	0.88
	8.000	8.27	5.37	5.39	6.49	6.38 ±	1.18
4a Dm	0.083	16.84	13.69	13.87	9.29	13.42 ±	2.69
	0.250	19.21	14.27	S/M	9.60	14.36 ±	3.92
	0.500	17.86	19.11	19.45	13.83	17.56 ±	2.23
	1.000	22.34	11.66	20.07	13.33	16.85 ±	4.47
	8.000	10.51	7.39	7.66	S/M	8.52 ±	1.41
5a Dm	0.083	13.52	8.48	13.80	8.60	11.10 ±	2.56
	0.250	16.48	11.74	21.18	13.02	15.61 ±	3.66
	0.500	22.37	17.52	23.17	10.72	18.45 ±	4.96
	1.000	24.50	17.57	20.83	S/M	20.97 ±	2.83
	8.000	10.66	9.28	7.32	7.73	8.75 ±	1.32
6a Dm	0.083	18.82	14.29	S/M	13.14	15.42 ±	2.45
	8.000	15.13	11.49	6.01	6.49	9.78 ±	3.76
7a Dm	0.083	23.22	11.81	7.58	10.22	13.21 ±	5.97
	8.000	13.57	9.87	5.10	9.81	9.59 ±	3.01
8a Dm	0.083	14.21	11.44	15.30	7.52	12.12 ±	3.00
	8.000	8.75	7.34	4.84	6.67	6.90 ±	1.41

FIGURA 6.3.2.



Curva semilog. de la concentr. sérica de
TAP va tipo tras la administración de 50
mg/kg(2a) y 45 mg/kg(5a) cada 8 horas

Tabla 5.6.2.2: Concentraciones lácteas individuales y promedio con sus respectivos desvíos standard, expresadas en ug/ml tras la administración intramuscular de una dosis de ataque (50 mg/kg) y 8 dosis de mantenimiento (45 mg/kg).

Nº Dosis	TIEMPO (h)	1	2	3	4	X	± DS
Da	0.083	ND	ND	ND	ND		
	0.250	ND	ND	ND	ND		
	0.500	ND	ND	ND	ND		
	1.000	ND	ND	ND	ND		
	8.000	ND	8.83	ND	ND		
1º Dm	0.083	ND	S/M	ND	ND		
	0.250	8.83	8.83	7.77	11.16	8.95 ± 1.34	
	0.500	S/M	10.39	7.77	11.72	9.96 ± 1.64	
	1.000	9.53	S/M	S/M	10.35	9.94 ± 0.41	
	8.000	S/M	10.39	9.65	11.96	10.67 ± 0.96	
2º Dm	0.083	13.27	15.69	13.41	11.40	13.44 ± 1.52	
	0.250	12.14	15.38	7.77	12.76	12.01 ± 2.73	
	0.500	14.31	15.07	9.08	11.24	12.43 ± 2.41	
	1.000	14.09	18.18	12.09	12.28	14.16 ± 2.45	
	8.000	18.50	25.82	13.41	14.69	18.11 ± 4.83	
3º Dm	0.083	21.34	33.77	12.19	15.01	20.58 ± 8.31	
	0.250	20.74	27.54	14.82	14.53	19.41 ± 5.31	
	0.500	19.17	30.96	17.17	11.16	19.62 ± 7.18	
	1.000	21.49	29.41	S/M	18.79	23.23 ± 4.51	
	8.000	17.45	27.54	11.53	18.07	18.65 ± 5.73	
4º Dm	0.083	21.94	27.54	13.13	13.57	19.05 ± 6.03	
	0.250	15.58	26.76	12.47	12.12	16.73 ± 5.94	
	0.500	14.48	10.96	14.92	11.16	12.88 ± 1.83	
	1.000	14.34	15.18	15.29	11.75	14.14 ± 1.43	
	8.000	17.02	12.25	12.73	12.82	13.71 ± 1.93	
5º Dm	0.083	18.18	11.39	10.49	12.44	13.13 ± 3.00	
	0.250	18.18	13.25	10.98	13.92	14.08 ± 2.60	
	0.500	16.54	10.53	13.51	13.01	13.40 ± 2.14	
	1.000	15.44	11.03	13.90	11.49	12.97 ± 1.80	
	8.000	17.08	14.82	13.41	14.35	14.92 ± 1.35	
6º Dm	0.083	16.88	13.39	15.36	14.63	15.07 ± 1.26	
	8.000	17.43	16.03	7.87	13.39	13.68 ± 3.65	
7º Dm	0.083	20.17	11.96	10.49	11.49	13.53 ± 3.87	
	8.000	19.82	13.39	18.96	9.20	15.34 ± 4.32	
8º Dm	0.083	22.70	16.68	15.84	7.67	15.72 ± 5.35	
	8.000	21.88	14.10	8.55	7.67	13.05 ± 5.66	

7.- DISCUSION Y CONCLUSIONES

7.1.- Discriminación del modelo farmacocinético seguido por el TAP tras su administración intravenosa.

Si bien en general, los análisis cinéticos de TAP, así como de CAP, se realizan siguiendo modelos bicompartimentales en diferentes especies, no se cita que método de discriminación condujo a la elección de ese modelo (Anderson, 1983; Fuglesang, 1982; Reiche, 1984; Signorini, 1986; Van Der Lee, 1982; Guillot, 1988a y b). Existen reportes de CAP en potros de un mes de vida (Brumbaugh, 1983) y en cabras (Javed, 1984) en los que se analiza el comportamiento cinético del antibiótico a través de un modelo monocompartimental, no citándose el método de discriminación utilizado. Esto puede deberse (en el caso del estudio realizado en potros) a que la primer muestra extraída fue a los 15 minutos, obviando de esa forma una buena parte de la fase de distribución.

En nuestro caso a través de la discriminación por regresión lineal, algunos animales muestran tendencias hacia el modelo tricompartmental. Los coeficientes de correlación obtenidos por regresión lineal entre las concentraciones experimentales y teóricas fueron superiores en cuatro animales de los seis totales al emplear una ecuación de tres exponentes.

Del mismo modo las intersecciones con el eje "Y" se hallaron más próximas a cero (0) en 4 animales mediante el análisis triexponencial, al igual que con las pendientes obtenidas. Es decir que este método no permite una clara discriminación.

Sin embargo al emplear el Test MAICE se verificó una neta tendencia hacia el modelo bicompartimental, excepto en el animal número 3, siendo coincidente con Sanders (1988), quien empleó también el Test MAICE, al discriminar el comportamiento farmacocinético del CAP. Consideramos que el mejor ajuste se logra al aplicar este método, ya que este penaliza los modelos más complejos. Recordemos que la regresión lineal, correlaciona los puntos experimentales que conforman cada segmento en que se divide la curva, con los teóricos, y que cuantas más veces sea dividida, menor número de puntos conformaran cada segmento, y por lo tanto mejor será la correlación. De ahí, es que los métodos de correlación lineal, por carecer de penalización para los modelos complejos (que dividen más la curva) generalmente tienden a discriminarlos como de mejor ajuste, haciendo muy engorrosos y poco prácticos los cálculos posteriores.

La expresión matemática que representa al modelo bicompartimental es la siguiente:

$$C_p = A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t} \quad (\text{ver punto 1.4.3.1.})$$

Surge como clara conclusión que, cuando el análisis de regresión lineal no aporta datos que permitan una neta discriminación a favor de un modelo dado, el Test MAICE, en general, soluciona el problema, jerarquizando los modelos sencillos.

7.2.- Estudio del grado de fijación del tianfenicol a las proteínas plasmáticas.

El porcentaje de unión del TAP a las proteínas plasmáticas obtenido por la técnica de ultrafiltración nos dió un valor de 33.58 ± 2.73 , siendo el fármaco libre 66.42 ± 2.73 % a una concentración terapéutica de $15 \mu\text{g/ml}$.

Este dato coincide con reportes de varios autores para CAP, y difiere con otros. Este tema es muy discutido, ya que no hay unanimidad de criterios ni de técnicas.

Sisodia (1973a) calculó el binding protéico considerando una concentración protéica en plasma bovino de 75% y obtuvo a concentraciones terapéuticas en sangre (5 a $10 \mu\text{g/ml}$) aproximadamente un 60% de CAP unido a proteínas. Este porcentaje es mayor en equinos (Davis 1972), lo que nos indica que existe variabilidad entre especies.

Para Pilloud (1973) esa fracción unida a proteínas plasmáticas en concentraciones terapéuticas varía muy poco y es del orden del 45-50% del total, concordando con Nouws y col (1986) que determinaron 37 % para CAP diluido con solventes orgánicos no especificados y 46 % cuando el antibiótico se encontraba en solución acuosa. Suhrland y Weisberger (1963) reportaron un 60% coincidiendo por lo tanto con Sisodia (1973a); mientras que Azzollini y col (1972) determinaron un 24-52% de fármaco ligado.

Empleando la técnica de equilibrio de diálisis, Buchanan y

Van Der Walt (1977) hallaron que el 25% se encuentra unido a proteínas. También estudiaron el sitio de unión, mediante electroforesis determinándose que casi la mitad de CAP está sobre la fracción de albúmina, mientras que la otra mitad está distribuida entre las globulinas séricas.

Este tema también fue analizado por Davis (1972) en diferentes especies. A continuación se reproduce una Tabla, en la que se presentan los valores comunicados por el.

Espece	% de unión a proteínas plasmáticas	Concentración proteica plasmática (g/100 ml)
gato	37.7 ± 3.40	7.9 ± 0.25
perro	39.5 ± 2.10	8.1 ± 0.16
porcino	35.1 ± 2.50	6.0 ± 0.16
pony	30.4 ± 2.00	8.7 ± 0.19

Aunque no estudió el binding en bovinos, sus valores son los que más coinciden con los hallados en nuestro trabajo.

La interacción del CAP con las proteínas plasmáticas es similar a la observada con anfetaminas (Baggot, 1972); en la cual la extensión de unión es independiente de la concentración de droga.

Hay pocos estudios de TAP en medicina veterinaria, hemos encontrado trabajos realizados en humanos en los que se comunica una unión a proteínas del 10 al 20 % (Otten, 1975).

Debido a los datos obtenidos sería interesante profundizar en este tema, determinando también el grado de unión a las proteínas lácteas.

Radica este incentivo en la importancia que tiene el % de unión de los fármacos a las proteínas plasmáticas como factor influyente en la distribución de los mismos en el organismo, actividad sobre los gérmenes, etc. Por otra parte, la unión a proteínas de la leche, sería un factor esencial en la persistencia de residuos, ya que, cuanto mayor la unión, exactamente a la inversa de lo que ocurre en plasma, mayor sería la depuración de antibiótico en los primeros ordeños, y menor la duración de los residuos. Consideramos que este es un tema fundamental en Salud Pública y su estudio merece ser continuado.

7.3.- Estudio farmacocinético del tianfenicol tras su administración intravenosa en vacas en lactancia.

La concentración plasmática de TAP por la vía IV luego de su administración a razón de 25 mg/kg fue de 74.61 ± 24.06 $\mu\text{g/ml}$ a las 0.042 h post-administración para descender rápidamente en la primer hora y luego más lentamente hasta llegar a 6.63 ± 0.74 $\mu\text{g/ml}$ a las 4 horas. La curva es característica de un modelo abierto de dos compartimientos. Los niveles obtenidos son coincidentes con los reportados por Signorini (1986) luego de administrar 20 mg/kg de TAP a vacas en lactancia y superiores a los obtenidos por Akakpo (1989) tras administrar 50 mg/kg de CAP a ovinos adultos y por Kume (1986) luego de administrar 25 mg/kg de CAP a cabras adultas.

La constante de tasa de distribución (α) tiene un valor relativamente alto, 6.09 ± 3.09 1/h. Esto indica una rápida distribución, concordando con lo reportado por Signorini (1986) para TAP administrado a razón de 20 mg/kg en vacas en lactancia ($\alpha = 3.44$ 1/h), por Varma (1986) para el derivado fluorado, florfenicol, en terneros (6.55 1/h); y con diferentes autores para CAP en terneros (Sanders, 1988; 5.75 1/h); (Burrows, 1983; 5.31 1/h); en vacas (Anderson, 1983; 3.61 1/h) y en cerdos de 6 meses (Kroger, 1985; 3.62 1/h). Sin embargo es superior a la tasa de distribución reportada por Archimbault (1987) para CAP en terneros (1.98 1/h) y por Guillot (1988) en conejos (1.78 1/h). Pero es inferior a la tasa de distribución hallada por Dagorn (1990) en ovejas que recibieron 30 mg/kg de CAP en

dimetilsulfóxido y glicerol (13.05 l/h). Una rápida tasa de distribución es dependiente de varios factores, uno de ellos, y de importancia, es el muestreo temprano. Eso puede dar lugar a una fase α con mucha pendiente y valores elevados. Tampoco deben descartarse como fuentes de variación las distintas metodologías de análisis del antibiótico en suero, el hecho de tratarse de moléculas diferentes, si bien están emparentadas; y fundamentalmente las variaciones de especies.

El tiempo medio de distribución ($T_{1/2\alpha}$) de 8.84 ± 4.34 min es coherente con lo expresado anteriormente. Este resultado está de acuerdo con el obtenido por Signorini (1986) para TAP en vacas en lactancia (12.09 min) y para florfenicol (Adams, 1987; 7.94 min); (Varma, 1986; 4.84 a 10.42 min); como así también con datos comunicados por diferentes autores para CAP, en vacas (Burrows, 1986; 9.6 min), (Anderson, 1983; 11.5 min); en cabras (Kume, 1986; 5.03 min); en cerdos (Kroker, 1985; 12.35 min); en terneros de 1 y 7 días y 10-12 semanas (Reiche, 1984; 13, 11 y 8 min respectivamente) y con el hallado por Sanders (1988), también en terneros (7.23 min). Sin embargo difiere de los tiempos reportados por otros autores en distintas especies, es menor que los valores comunicados para CAP en terneros (Archimbault, 1987; 20.97 min); en vacas adultas (Reiche, 1984; 21 min); en cabras en lactancia (Lavy, 1991; 21.98 min). Por otra parte, hay comunicaciones con tiempos menores para CAP en cerdos (1.84 min) (Mercer, 1978) y en ovejas (3.18 min) (Dagorn, 1990). El temprano esquema de muestreo usado en el presente trabajo, insistimos, puede haber incidido en las mencionadas diferencias.

El tiempo medio de eliminación ($T_{1/2}$) de 1.95 ± 0.55 h indica que los bovinos eliminan rápidamente el TAP. Nuestro valor es inferior al reportado por distintos autores, para TAP (2.47 h) Signorini (1986) (no especifica el vehículo utilizado); para florfenicol en terneros machos (3.45 a 4.11 h) (Adams 1987), en terneras de 1 a 8 meses de edad (2.30 a 3.40 h) (Varma 1986); para CAP, (2.81 a 5.33 h) (Sanders 1988), (6.03 h) (Archimbault et al 1987), (4.3 h) (Anderson 1983), quien utiliza CAP diluido en propilenglicol; (3.4 h) (Pilloud 1973), (4.25 h) (Burrows 1984) en terneros y (11.7 h y 4.9 h) en terneros de 1 día y 10-12 semanas de edad (Reiche et al, 1984) y (5.29 h) en equinos de 1 día (Adamson, 1991). Esta prolongada vida media reportada en terneros y en potros puede explicarse por el hecho de tratarse de animales muy jóvenes en los cuales los procesos implicados en el metabolismo hepático del CAP no han madurado aún (Adamson, 1991). En el caso de las 3.5 h reportadas por Pilloud (1973) no cabe otra explicación que el estado de preñez en 3 de los 5 animales experimentales. Como se trata de una droga liposoluble se produce una extensa distribución en el útero grávido y en el feto que puede contribuir a retardar este proceso de eliminación (Moss, 1984; Mercer, 1980; Nau, 1981). Por otra parte, es superior al reportado por Lavy (1991) (1.02h) tras la administración de 50 mg/kg de TAP en solución acuosa a cabras en lactancia y comparable con valores reportados para CAP en cabras (1.43 a 7.95 h) (Javed, 1984), (1.22 h) (Kume 1986); en ovejas (1.21 h) (Jaffery, 1982), (1.7 h) (Dagorn, 1990); en cerdos (1.55 h) (Kroker, 1985) y en conejos (1.56 h) (Guillot, 1988b). Las diferencias anteriormente citadas pueden deberse al hecho de que

muchos autores no especifican los vehículos empleados cuando trabajan con medicamentos específicos, ni ciertas características de los animales experimentales como edad, sexo, estado de preñez o no, vacas en lactancia o secas. Pensamos que nuestros valores de vida media están en el límite inferior de los reportados, porque hemos trabajado con la droga en vehículos muy simples que permiten a la misma absorberse y eliminarse a su ritmo basal, sin incidencia de vehículos que compliquen su cinética.

Las constantes de velocidad de pasaje entre el compartimiento central y periférico ($K_{12} = 3.28$ 1/h) y entre el periférico y central ($K_{21} = 1.94$), reflejan la velocidad de distribución del antibiótico hacia afuera del compartimiento central, la cual es rápida e importante. La relación $K_{12}:K_{21}$ con un valor de 1.69, indica una rápida salida con un retorno más lento de la droga desde el plasma hacia los tejidos, que conforman el compartimiento periférico. Nuestros resultados están de acuerdo con los expresados por Sanders (1988) de 1.28 en vacas y por Dagorn (1990) en ovejas, de 1.26. Valores inferiores son reportados por Guillot (1988b) en conejos, 0.64. Aparece lógico que para una droga como el TAP, altamente liposoluble, para la que se espera gran distribución tisular, exista una tasa $K_{12}:K_{21}$ mayor de 1.

El volumen del compartimiento central de 331.37 ± 123.28 ml/kg concuerda con datos reportados para CAP en terneros (361 ml/kg) (Burrows, 1986); en vacas (351 ml/kg) (Sanders, 1988); en ovejas (289 ml/kg) (Dagorn, 1990) y no así con el hallado en bovinos para CAP por diferentes autores (440 ml/kg) (Anderson,

1983); (920 ml/kg) (Van Der Lee, 1982) y para TAP en cabras en lactancia (493.67 ml/kg) (Lavy y col, 1991). De todos modos, con excepción del valor de 920 ml/kg, los demás aparecen razonables.

El volumen de distribución total, fue determinado por varios métodos, a través de los cuales se obtuvieron los siguientes resultados, $V_d (B) = 1158.46 \pm 275.71$ ml/kg; $V_d (\beta) = 967.63 \pm 210.17$ ml/kg; $V_d (\text{área}) = 1404.18 \pm 428.18$ ml/kg; $V_d (ss) = 793.06 \pm 177.99$ ml/kg. Estos volúmenes son considerados elevados y están correlacionados con la alta liposolubilidad del TAP, lo que sugiere una excelente penetración y distribución de la droga en los fluidos orgánicos, incluyendo el agua extracelular. En términos generales coinciden con el V_d calculado por Signorini (1986) (1.44 l/kg), quien no especifica el método de cálculo empleado. El volumen de distribución $V_d(ss)$ es similar al del florfenicol en terneros reportado por Varma (1986) (650 a 800 ml/kg) y por Adams (1987) (742 a 1028 ml/kg). El $V_d(\text{área})$ por nosotros calculado es comparable con el calculado por Kroker (1985) en cerdos que recibieron 10 mg/kg de CAP (1273 ml/kg), y por Burrows (1984-1986) en terneros de 6 semanas que recibieron 25 mg/kg de CAP (1264 ml/kg) y ligeramente superior al reportado por Sanders (1988) para CAP en bovinos (730 a 1045 ml/kg) y por Anderson (1983) (1000 ml/kg) y aproximadamente 2 veces inferior a los volúmenes de distribución del CAP calculados por diferentes autores Van Der Lee (1982) en vacas en lactancia, Kume (1986) (2217 ± 0.25 ml/kg) en cabras, y Nows (1986) (2300-2900 ml/kg). Mientras que el $V_d(ss)$ es casi una vez y media inferior que el hallado por Van Der Lee (1982). El $V_d(B)$ coincide con el

reportado por Archimbault (1987) (1239 ml/kg) y por Anderson (1983) (1100 ml/kg). El volumen de distribución calculado por cualquiera de los métodos concuerda de manera general con el volumen de distribución del CAP en diferentes especies, perro (1.77 l/kg); gato (2.36 l/kg); cerdo (1.05 l/kg); cabra (1.33 l/kg) y pony (1.02 l/kg) (Davis 1972).

El área bajo la curva calculada por el método de trapezoides de $50.59 \pm 7.56 \mu\text{g/ml.h}$, es inferior al área obtenida por Signorini (1986) ($63.20 \mu\text{g/ml.h}$). Esto puede deberse a que Signorini detectó por cromatografía gaseosa niveles de TAP en suero más bajos que los nuestros por contar con un método más sensible. La misma consideración se tiene al comparar con el AUC para CAP reportada por Archimbault (1987) de $220.6 \mu\text{g/ml.h}$. Aunque, si corregimos AUC por dosis empleada, las diferencias son menores.

Las concentraciones en leche son elevadas y se presentan en forma relativamente rápida (0.666 h) con una concentración máxima ($C_{\text{máx}}$) de $23.09 \pm 3.12 \mu\text{g/ml}$ a las 2.5 h ($T_{\text{máx}}$), perdurando hasta las 8 h con niveles de $7.30 \pm 2.10 \mu\text{g/ml}$ (superiores a la CIM para la mayoría de los microorganismos susceptibles (Brown, 1988; Knifton, 1987; Malgalhaes, 1987; Ravizzola, 1984). Estos datos son comparables con los reportados por Lavy (1991) luego de administrar 50 mg/kg de TAP a cabras y con los mencionados por Sisodia et al (1973a) para CAP en vacas (concentraciones entre 2 y 8 h) y 1.6 veces superiores que la $C_{\text{máx}}$ reportada por Lavy (1991) en cabras en lactancia que recibieron 25 mg/kg de florfenicol en solventes orgánicos (13.23

$\mu\text{g/ml}$). Por otra parte los niveles en leche perduraron más tiempo que en suero, lo que indica una buena disponibilidad láctea del antibiótico en cuestión, lo que halla su explicación en la elevada liposolubilidad del mismo. Hay un parámetro de real valor en este análisis, la vida media de eliminación desde la glándula ($T_{1/2 E}$), de 3.62 ± 0.97 h, 1.85 veces superior que el $T_{1/2 \beta}$, lo que sugiere que se establece algún tipo de secuestro del antibiótico en la glándula mamaria. Este valor es coincidente con el reportado por Lavy (1991) en cabras ($T_{1/2 E}$ 4.47 h) luego de administrar 50 mg/kg de TAP.

El tiempo medio de penetración en la glándula, relativamente rápido ($T_{1/2 P} = 36.58 \pm 9.72$ min), concuerda con lo expresado anteriormente al analizar los parámetros farmacocinéticos séricos, es una droga liposoluble que se distribuye rápidamente en todo el organismo, alcanzando fácil y completamente el compartimiento blanco (glándula mamaria).

La relación AUC en leche:AUC en suero de 1.72 ± 0.47 , es comparable con la relación reportada por Lavy (1991) (1.11) en cabras. Esta relación indica una extensa penetración del TAP al interior de la glándula. Pero no coincide con la relación entre las AUCs para florfenicol, también en cabras (0.71) (Lavy, 1991). Lo mencionado indicaría una cierta ventaja del TAP con respecto a su derivado en la penetración mamaria.

Hay un dato de extrema importancia, fundamentalmente para salud pública, que es el tiempo teórico de permanencia del antibiótico en leche de 4.13 ± 1.13 días. Este indica que deben

transcurrir casi 5 días para lograr un nivel de 100 ng/ml (0.1 µg/ml) de TAP en leche. Este límite fue fijado para el CAP (Boisseau, 1985). Si bien el TAP no produce aplasia medular, como mencionamos en la introducción, consideramos prudente ese límite para obtener una leche inocua.

7.4.- Estudio farmacocinético de tianfenicol tras su administración intramuscular en vacas en lactancia.

En la prueba intramuscular fueron obtenidas concentraciones séricas de $17.09 \pm 3.91 \mu\text{g/ml}$ a los 2.5 minutos. Se observaron niveles máximos de $29.2 \pm 7.55 \mu\text{g/ml}$ a las 0.32 ± 0.09 horas post-administración. Niveles superiores a la CIM ($5 \mu\text{g/ml}$) (Davis, 1972; Milhaud, 1985; Nouws, 1981; Nouws, 1986; Van Der Lee, 1982) se mantuvieron hasta las 5 horas. Nuestra $C_{\text{máx}}$ es inferior a la reportada por Lavy (1991) ($46.3 \mu\text{g/ml}$) en cabras que recibieron 50 mg/ml de TAP glicinato en solución acuosa y superior a la comunicada por Nouws (1986) en vacas que recibieron CAP disuelto tanto en solventes orgánicos ($13 \mu\text{g/ml}$) como en solución acuosa ($9 \mu\text{g/ml}$); por Sanders (1988) quien después de administrar 90 mg/kg de CAP en solventes orgánicos (preparado de liberación lenta) obtuvo una $C_{\text{máx}}$ de 7.9 a $21.2 \mu\text{g/ml}$; por Kume (1986) ($10.58 \pm 0.68 \mu\text{g/ml}$) y por Tanner (1985) ($3.3 \mu\text{g/ml}$) después de inyectar 20 mg/kg de CAP base diluido en solventes orgánicos. Estas diferencias hallan su explicación en las diferentes dosis y vehículos empleados por los distintos autores. Nuestra $T_{\text{máx}}$ es marcadamente menor que la obtenida por los mencionados autores (7.1 y 5 h) (Nouws, 1986) en ambas formulaciones; (entre 7 y 12 h) (Sanders, 1988); y (7.3 h) (Tanner, 1985); pero es comparable con la $T_{\text{máx}}$ citada por Kume (1986) de 20 minutos. En definitiva, en el presente estudio, una muy rápida absorción, con altas concentraciones en poco tiempo fueron demostradas.

El tiempo medio de absorción ($T_{1/2\text{ ab}}$) es de 6.53 ± 6.25 min. La gran desviación standard, que no es común en este parámetro, se debió a que los animales N01 y N06 mostraron una disminución marcada en la velocidad de absorción. Sin embargo se reportó en cabras (Lavy, 1991) un $T_{1/2\text{ ab}}$ de 48.2 min. y para CAP, en vacas se comunicaron 30 min (Archimbault, 1980; Nouws y Ziv, 1979); 77.4 min (Guillot, 1988); 2.5 y 2 h (Nouws, 1986); entre 10.6 y 13.2 h (Sanders, 1988) para un producto de liberación lenta, Tanner (1985) comunicó un $T_{1/2\text{ ab}}$ de 0.7 h (42 minutos) para aproximadamente un sexto de la dosis dada (la cual presumiblemente era soluble en agua) y 10.2 h para el resto de la fracción, la que probablemente precipitaba en el sitio de inyección; y en ovejas, 18 a 65.4 min (Dagorn, 1990). La mayoría de los autores emplearon CAP base disuelto en solventes orgánicos no especificados en los trabajos. Es bien conocido que el comportamiento farmacocinético de una droga está considerablemente influenciado por el sitio de inyección intramuscular (Groothuis, 1980; Rutgers, 1980) y, definitivamente, por la formulación (Nouws y Ziv, 1978b, 1979). Esto llega a tal punto, que una misma molécula formulada en diferentes vehículos puede cambiar sus parámetros hasta 1 orden de magnitud. En el caso de las formulaciones y sistemas de liberación lenta modernos las velocidades de eliminación pueden variar 2 y hasta 3 órdenes de magnitud.

El intervalo entre la administración del antibiótico y su detección en suero (Lag Time) es de 5 minutos.

La vida media de eliminación ($T_{1/2\text{ B}}$) calculada tiene un valor.

de 2.88 ± 0.50 h, coincidiendo con la reportada por diferentes autores, como para TAP en vacas, 2.29 h (Signorini, 1986); para florfenicol en cabras, 3.34 h (Lavy, 1991); para CAP en ovejas, 2.71 h (Dagorn, 1990), en vacas en lactancia, 3.56 h (Guillot, 1988a) y entre 1.34 y 6.10 h (Sanders, 1988) pero 2.5 veces superior al reportado por Lavy (1991) de 1.15 h para TAP glicinato en solución acuosa en cabras, y también algo mayor al reportado por Kume (1986) de 1.46 h en la misma especie; siendo inferior a las 4h reportadas por Burrows (1984), a las 13.9 h comunicadas para CAP en vacas por Guillot y Mourot (1987), a las 10.2 h reportadas por Tanner (1985) y a las 10.3 ± 3.1 h y 8.9 h reportadas en terneros (Nouws, 1986). Estas diferencias pueden deberse a las características de la formulación. Mientras que en la presente experiencia el vehículo utilizado fue buffer fosfato, en los otros casos, fueron vehículos orgánicos no especificados (Guillot y Mourot, 1987; Nouws, 1986), los que seguramente son modificadores del perfil de absorción y consecuentemente del $T_{1/2}$ β del antibiótico. Es coincidente un menor tiempo de eliminación desde el compartimiento central, ya sea tanto para el caso del TAP o sus congéneres, en los animales en lactancia. Este fenómeno puede explicarse por un aumento del metabolismo hepático en el estado de gestación (Guillot, 1988). De ninguna manera debería descartarse el secuestro de droga por parte de la glándula mamaria, el que contribuiría a la caída de concentraciones en plasma. Otra diferencia entre animales adultos y jóvenes, es la carencia en los últimos de maduración de los sistemas enzimáticos responsables del metabolismo (glucuronconjugación) (Uges, 1987), esto explicaría el alargamiento de los $T_{1/2}$ en animales pequeños.

Por otra parte pueden surgir diferencias debido a los métodos analíticos, tanto en lo que hace al ensayo de la droga como al análisis farmacocinético.

El área bajo la curva concentración vs tiempo (AUC) con un valor de $68.45 \pm 16.27 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ es comparable con el área comunicada por Signorini (1986) ($58.60 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$).

La biodisponibilidad de $86.33 \pm 19.08 \%$ define un compuesto altamente disponible tras ser administrado por la vía intramuscular. Nuestro valor fue comparable con los reportados por Signorini (1986) (93 %) y por Lavy (1991) (90.7 %) para TAP, como así también con los comunicados para CAP por Dagorn (1990) (83.01 %) y por Kume (1986) (83.34 %) ; pero es el doble de la biodisponibilidad lograda por florfenicol en cabras (Lavy 1991). Hay varios reportes sobre la biodisponibilidad del CAP por la vía IM, la cual es inferior a la obtenida por nosotros para el TAP, (63.4%) (Sanders, 1988; Tanner, 1985), (73.5 %) (Burrows, 1984); mientras que Archimbault (1987) reportó un 100% de biodisponibilidad, pero sin mencionar las áreas bajo las curvas.

Niveles terapéuticos de TAP ($\geq 5 \mu\text{g}/\text{ml}$) son mantenidos en leche entre 0.5 y 8 h después de la administración intramuscular; con una concentración máxima ($C_{\text{máx}}$) de $17.05 \pm 2.73 \mu\text{g}/\text{ml}$, superior a la comunicada por Nouws (1986) (6.7 a $18.3 \mu\text{g}/\text{ml}$) luego de administrar 50 mg/kg de CAP base y una $T_{\text{máx}}$ de 3.5 horas ($T_{\text{máx}}$). Estos datos son coincidentes con los reportados por Lavy (1991) (concentraciones terapéuticas entre 0.5 y 8 h; $C_{\text{máx}}$, $14.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ y $T_{\text{máx}}$, 3h).

El tiempo medio de penetración ($T_{1/2} P$) en leche desde suero fue de 51.11 ± 6.10 min.

La vida media de eliminación desde la glándula ($T_{1/2} E$) de 5.31 ± 4.27 h, resultó superior con respecto a la sérica ($T_{1/2} \beta$ de 2.88 h), y puede ser explicada de la misma manera que para el caso de la administración intravenosa (por acumulación en la glándula mamaria). El alto contenido lipídico de la leche y de la glándula mamaria induce un secuestro del TAP con rápida penetración y lenta eliminación. En cambio para el florfenicol se reportó un $T_{1/2} E$ desde la glándula de 1.82 h (Lavy 1991). La relación $T_{1/2} E$ en leche: $T_{1/2} \beta$ en suero fue 1.86 y 1.84 para la administración intravenosa e intramuscular respectivamente.

La relación $C_{\max} S : C_{\max} L$ fue 1.81 y la relación AUC en leche: AUC en suero fue 1.19, la cual es superior a la relación reportada por Lavy (1991) para TAP (0.885) y para florfenicol (Lavy 1991) (0.654) en cabras en lactancia.

El tiempo teórico de permanencia calculado es de 4.79 ± 1.40 días, menor que el tiempo comunicado por Nouws (1986) para CAP (7 días). Obviamente este valor fue obtenido en animales sanos y normales, ya que en animales enfermos, la velocidad de absorción, clearance renal, velocidad de eliminación, etc están disminuídos, resultando un prolongamiento en la persistencia del antibiótico en los diferentes tejidos. En estas circunstancias Nouws (1986) considera un factor 2, lo que llevaría el tiempo de permanencia a 9.58 días.

Según Ziv (1978) la rápida penetración desde suero hacia la

leche después de la administración intramuscular es caracterizada por una droga con un corto tiempo de aparición en leche, una relación de $C_{\text{máx}}$ en suero: $C_{\text{máx}}$ en leche de 2 o menor, un muy corto Lag Time entre $C_{\text{máx}}$ suero y $C_{\text{máx}}$ en leche y una relación de AUC en leche: AUC en suero de 1 o mayor. En el presente caso, el TAP cumple totalmente con los requerimientos para considerarlo un antibiótico de fácil penetración en leche.

Se debe hacer especial tratamiento de la mayor persistencia de la droga en leche respecto de plasma. Esa es una característica de las drogas que deben considerarse de elección para el tratamiento de enfermedades infecciosas mamarias

7.5.- Estudio farmacocinético de tianfenicol tras su administración oral en vacas en lactancia.

Luego de la administración oral de TAP no se alcanzaron concentraciones mensurables en suero ni en leche. Esto concuerda con datos para CAP (Davis, 1972; De Corte Baeten, 1975 y 1976). El CAP, sin embargo, puede ser fácilmente detectado en muestras sanguíneas tomadas de rumiantes jóvenes, tras su administración oral (Sisodia, 1973a), siendo absorbido fácil y completamente. Esto sugiere que la absorción de CAP en rumiantes jóvenes está relacionada con la infuncionalidad del rumen durante los primeros tres meses de vida (De Backer, 1978).

Estudios "in vitro" determinaron que el CAP es rápidamente metabolizado por la microflora ruminal (De Corte Baeten, 1975).

No hay reportes acerca de la absorción de TAP tras su administración oral en bovinos adultos, pero la comparación con drogas emparentadas como CAP o florfenicol (derivado del TAP) indica que también es destruido por la flora ruminal; existiendo absorción únicamente en animales jóvenes, prerumiantes, los que se comportan como monogástricos presentando una buena y completa absorción. El florfenicol después de la administración oral a terneros con el estómago en repleción, alcanza rápidamente una $C_{m\acute{a}x}$ de $9.41 \pm 1.05 \mu\text{g/ml}$ en 201.84 ± 41.72 minutos ($T_{m\acute{a}x}$) con una biodisponibilidad de 44 a 86 % (Varma, 1986).

Sería interesante realizar estudios con metodología de cierre de gotera esofágica, para, de esa manera, confirmar la

importancia del rumen en la inactivación de la molécula.

7.6.- Estudio farmacocinético de tianfenicol tras su administración subcutánea en vacas en lactancia.

El análisis farmacocinético de las concentraciones séricas de TAP luego de su administración subcutánea sugiere que la dosis es casi completamente absorbida y a una rápida velocidad.

Obtuvimos una $C_{m\acute{a}x}$ en suero de $19.83 \pm 3.57 \mu\text{g/ml}$ a las 0.722 ± 0.14 horas, con un tiempo medio de absorción ($T_{1/2\text{ ab}}$) de 10.09 ± 5.37 min (un poco más lento que para la vía IM, 6.53 min) y muy diferente del tiempo obtenido por Anderson (1983) de 3.7 h, después de administrar CAP base en propilenglicol. Esta diferencia es lógica y fácil de explicar dado que el propilenglicol actúa retardando la liberación desde la forma farmacéutica. Esta $C_{m\acute{a}x}$ es inferior a la obtenida tras la administración IM ($29.38 \mu\text{g/ml}$), pero marcadamente superior a la comunicada por Sanders (1988) para un producto de liberación lenta de CAP ($10 \mu\text{g/ml}$), la que se obtuvo entre 9 y 12 horas post-administración, lo que, nuevamente, aparece lógico. El Lag Time de 0.15 ± 0.02 h, es inferior al reportado por Dagorn (1990) para CAP (rango entre 0.77 y 3.46 h), aunque los Lag Time dependen, obviamente, del tiempo de toma de las primeras muestras.

El tiempo medio de eliminación de 2.60 ± 0.60 h es similar al hallado tras la administración intramuscular (2.88 ± 0.50 h) y muy inferior al reportado por Dagorn (1990) luego de administrar 30 mg/kg de CAP a ovejas (17.93 h). Esta gran diferencia puede fundamentarse en el vehículo empleado por el autor (dimetilsulfóxido y glicerol). Como explicamos anteriormente, se

modifica el perfil de la absorción y por lo tanto se prolonga la vida media de eliminación. También difiere de datos comunicados por otros autores, (Sanders, 1988) 1.15 a 6.37 h; (Burrows, 1983, 1984) 4 h en terneros de 4 meses y (Anderson, 1983) 4.2 h en vacas adultas. De todas maneras, en nuestro caso, la administración de la droga en un vehículo que permite su rápida absorción, hace que la vida media no cambie demasiado respecto de la IV.

El AUC calculada de $56.17 \pm 7.33 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$, determina una biodisponibilidad de $82.33 \pm 13.36 \%$, esto indica un muy buen nivel de absorción, superior a la biodisponibilidad reportada para CAP por esta vía de administración por diferentes autores, (61.19 %; Dagorn, 1990); (58.8 %; Sanders, 1988); (47.3 %; Burrows, 1984); mientras que Anderson (1983) menciona una biodisponibilidad de 96 %.

Las concentraciones séricas se mantienen por encima de la CIM, entre 0.125 y 5 horas, mientras que tras la administración IM, se logra un mayor margen de tiempo con niveles terapéuticos (entre 0.042 y 6 horas). La velocidad de absorción después de la inyección subcutánea (10.09 min) es más lenta que después de la administración intramuscular. Esta menor velocidad observada es extensamente descripta para otras drogas (Mac Diarmid, 1983) y fácil de explicar en base a la vascularización de los tejidos. La fracción de dosis absorbida (F) es de 86.33 % y 82.33 % después de los tratamientos IM y SC respectivamente. Estas diferencias se explican parcialmente en el hecho de que la $C_{\text{máx}}$ es mucho más elevada después de la inyección IM que después de la

administración SC.

Las concentraciones de TAP en leche luego de la administración subcutánea se mantienen entre 1 y 8 horas por encima de la CIM. El tiempo medio de penetración en la glándula desde el suero ($T_{1/2} p$) es de 41.97 ± 4.55 min, en el orden del obtenido tras la administración IM (51.11 min). La $C_{m\acute{a}x}$ fue de 13.19 ± 3.47 $\mu\text{g/ml}$, inferior a la obtenida luego de la inyección IM (17.05 $\mu\text{g/ml}$), con un $T_{m\acute{a}x}$ de 3.42 ± 0.19 h idéntico al obtenido para la vía IM.

El tiempo medio de eliminación desde la glándula ($T_{1/2} E$) de 7.57 ± 4.5 h es superior al tiempo obtenido para la vía IM (5.31 ± 4.27 h). La relación $T_{1/2} E$ en leche: $T_{1/2} \beta$ en suero es de 2.91. La relación $C_{m\acute{a}x} S:C_{m\acute{a}x} L$ es 1.57 y la relación entre las áreas bajo la curva leche/suero de 1.03. Estos parámetros hablan a las claras de una droga con excelente penetración y persistencia en la glándula mamaria. Fundamentalmente, AUC y $T_{1/2} E$ son dos parámetros que marcan sus diferencias con suero y definen, de esa manera, el perfil terapéutico de la droga. Como para el caso de la administración IM, cumplen con las pautas fijadas por Ziv (1978) para considerar al TAP como un antibiótico de fácil acceso a leche.

En cuanto al tiempo teórico de permanencia para esta vía se calcularon 3.23 días en animales sanos y 6.46 días en enfermos, es decir que luego de la administración SC la leche se clarifica más rápidamente que luego de la inyección IM.

7.7.- Estudio farmacocinético de tianfenicol tras su infusión intramamaria en un solo cuarto mamario a vacas en lactancia.

Son varias las razones propuestas para explicar la lenta, errática e incompleta absorción del CAP desde el sitio de inyección intramuscular. Estas están relacionadas con las propiedades físico-químicas del antibiótico, el vehículo empleado y el complejo insoluble que puede formarse con los componentes del tejido muscular (Ladage, 1979; Ladage, 1980; Rasmussen, 1980). La combinación de estas variables induciría una reducción de la superficie disponible para la absorción de la droga. Muchos administran grandes dosis de CAP en la ubre para el tratamiento de mastitis por E.coli, puesto que consideran a la droga como de fácil absorción desde los cuartos mamarios hacia la circulación general (Ziv y Sulman 1975). Es evidente que la superficie disponible para la absorción de CAP en la ubre es superior a la del sitio de inyección intramuscular, aunque de diferentes características.

En nuestro caso, el hecho de encontrar concentraciones mensurables en los cuartos no medicados, indica que el TAP es un antibiótico muy liposoluble y que atraviesa con facilidad las membranas del organismo. Por lo tanto es muy apropiado pensar en un pasaje por difusión local transeptal desde el cuarto tratado por lo menos al homolateral. Esa liposolubilidad queda demostrada por el pKa 7.2 del TAP, es decir que al pH 6.8 de la leche, prácticamente no se ioniza, por lo tanto está en estado molecular, altamente liposoluble (Ziv, 1974; 1975, 1980). A los

cuartos homolaterales pasa más antibiótico que a los heterolaterales, como ocurre con el CAP (Archimbault, 1979; Ceryre, 1979; Ziv, 1974). Esto es lógico puesto que entre los cuartos derechos e izquierdos hay un tabique fibroso longitudinal difícilmente permeable, de manera que el antibiótico ingresa a los mismos fundamentalmente desde la circulación sistémica. Por otra parte, la irrigación de los cuartos posteriores es mayor que la de los anteriores, puesto que a los mismos llega sangre desde la arteria pudenda externa, la cual a ese nivel tiene el máximo calibre para ir estrechándose hacia craneal (Frandsen, 1966; Habel, 1970). Además, los cuartos posteriores reciben sangre de la arteria perineal (Frandsen, 1966). Esto nos hace pensar que si el antibiótico llega a los cuartos no medicados por sangre, las concentraciones mayores deberían ser encontradas en los cuartos posteriores. Nuestra evidencia experimental confirma lo antedicho.

Pese a que se efectuaron ordeñes completos cada 12 horas, continuaron encontrándose concentraciones dosables hasta las 36 h, lo que indica que el TAP quedaría secuestrado en el tejido mamario, liberándose lentamente. Esto se puede comprobar con el cálculo que realizamos del secuestro teórico, aplicando la ecuación de Jacobs, la que arrojó una relación de 3.51 : 1.63 de TAP en leche:suero. A las 48 hs no fueron detectados niveles del antibiótico por método microbiológico, pero si hubiéramos utilizado métodos químicos, seguramente se hubieran podido dosar niveles más allá de las 72 h. Ziv (1973) reportó que a las 32 h no se encuentran niveles de CAP en leche tras la administración

intramamaria (entre 5 y 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$) tanto en los cuartos medicados como en los no tratados.

El tiempo transcurrido desde la administración del antibiótico hasta la aparición de la primera concentración mensurable en los cuartos no medicados y en suero (Lag Time) fue mínimo en el cuarto homolateral (posterior izquierdo: 0.25 h) en todos los animales ensayados, siguiéndoles suero (0.54 ± 0.1 h), cuarto posterior derecho (0.58 ± 0.2 h) y por último cuarto anterior derecho (1.92 ± 0.34 h). Esto está en un todo de acuerdo con nuestras hipótesis por la impermeabilidad del septum y por la mayor vascularización de los cuartos posteriores.

Las concentraciones máximas alcanzadas ($C_{\text{máx}}$) fueron 75.30 ± 15.85 ; 15.06 ± 3.66 ; 19.03 ± 4.46 y 15.79 ± 1.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en cuarto posterior izquierdo; anterior derecho; posterior derecho y suero respectivamente. Las mismas se obtuvieron a las 1.25 ± 0.38 ; 3.17 ± 0.47 ; 2.16 ± 0.37 y 1.08 ± 0.19 horas ($T_{\text{máx}}$) respectivamente.

Las relaciones entre AUC en los cuartos no tratados y AUC en el cuarto medicado fueron 10.61 ± 4.45 ; 1.81 ± 0.55 ; 2.78 ± 1.12 y 1.35 ± 0.40 % para los cuartos posterior izquierdo, anterior derecho, posterior derecho y suero respectivamente.

De estos datos puede concluirse que se produce un mayor pasaje del antibiótico desde el cuarto medicado a su homolateral (PI), en el cual se registró la mayor $C_{\text{máx}}$ al menor tiempo ($T_{\text{máx}}$) y presentó una disponibilidad láctea mayor (10.61 %). Esto es lógico puesto que no hay una división anatómica tan rígida como con los cuartos heterolaterales.

Mientras que en los cuartos heterolaterales, el pasaje fue mayor hacia el posterior derecho, presentando un Lag Time menor (0.58 h), una $C_{\text{máx}}$ mayor (19.03 $\mu\text{g/ml}$) al menor tiempo ($T_{\text{máx}}$ 2.16 h) con una disponibilidad láctea superior (2.78 %) que el cuarto anterior derecho. La explicación de lo antedicho se fundamenta en el factor irrigación; puesto que como mencionamos anteriormente la droga solo puede llegar por sangre y los cuartos posteriores tienen una mayor irrigación que los anteriores.

Se mantuvieron niveles de TAP por encima de la concentración inhibitoria mínima (CIM) entre 8 y 12 horas en los cuartos no medicados, mientras que en suero perduraron solo hasta las 6 horas.

Las vidas medias de eliminación desde la glándula ($T_{1/2} E$) fueron 8.63 ± 2.41 ; 3.70 ± 0.87 ; 5.91 ± 5.39 ; 4.51 ± 1.99 y 4.75 ± 4.09 h en el cuarto administrado (AI), posterior izquierdo (PI); anterior derecho (AD), posterior derecho (PD) y suero respectivamente. Como puede observarse, en los cuartos heterolaterales las vidas medias son más prolongadas que la del cuarto homolateral, esto puede deberse al hecho de que como en el cuarto homolateral, las concentraciones son más elevadas, la pendiente inicial de la fase de eliminación es más pronunciada y esto es interpretado por nuestros programas como una más rápida eliminación. Como los datos experimentales no fueron ponderados, la fase de muestreo intensivo y temprano ejerce un peso importante sobre toda la curva y eso acorta la vida media estimada.

Las concentraciones séricas de TAP alcanzadas después de la infusión intramamaria se mantienen por encima de la CIM ($25\mu\text{g/ml}$) entre 0.5 y 6 h, tiempo superior que luego de la administración IV a igual dosis (4 h) y similar al tiempo en que perduran tras las inyecciones IM y SC. La $C_{\text{máx}}$ en suero ($15.61 \pm 1.50 \mu\text{g/ml}$) es el 50 y 70 % aproximadamente de la $C_{\text{máx}}$ IM y SC (29.38 y $19.83 \mu\text{g/ml}$) respectivamente, el tiempo al cual se alcanza la misma es un poco más lento para el caso de la administración intramamaria (1 h) (IM= 0.32 h; SC= 0.72 h). El tiempo medio de eliminación ($T_{1/2 \beta}$) de 4.75 ± 4.09 h (2.31 a 13.86 h) es más prolongado que el de las otras vías parenterales. Puede explicarse, por el hecho de que un animal presentó una vida media muy prolongada (13.86 h), cifra que no podemos explicar más allá de la variación individual. Pero en términos generales, los animales restantes tuvieron tiempos parejos (entre 2.31 y 3.65h) coincidiendo con los calculados para las vías IM y SC (2.88 y 2.60 respectivamente), lo que nos parece lo más lógico.

Según los datos obtenidos, se calcularon los tiempos teóricos de retirada en leche, siendo los mismos 34.32 días para el cuarto homolateral (PI); 6.86 y 8.67 días para los heterolaterales (AD y PD). Cabe aclarar que estos tiempos se calcularon sin considerar la pérdida del antibiótico mediante los ordeñes manuales que se efectuaban cada 12hs. Pero es obvio que el TAP sufre algún tipo de secuestro en el tejido mamario, el cual enlentece el proceso de eliminación. A diferencia del CAP, que según Nouws and Ziv (1982), la presencia de sus residuos en leche persiste un corto periodo comparado con la persistencia

después de la administración IM de una dosis equivalente (Nouws, 1978). Pepin (1981) reportó un tiempo de espera para el consumo de leche de vacas tratadas con CAP por la vía intramamaria en dos cuartos (AI y PD) de 48 h para los cuartos medicados y 6 h para los no tratados. El autor no cita el método empleado para el cálculo de dicho tiempo, ni la concentración límite. Es muy posible que se refiera, por lo dicho, al tiempo de detección de niveles mensurables en leche y no concretamente al período que debe transcurrir para la no detección de niveles residuales.

Es muy importante determinar un tiempo de retirada confiable. Además de los trastornos que pueden ocasionar los residuos de antibióticos presentes en alimentos de origen animal o vegetal en las personas que los consumen, provocan trastornos en la fabricación de derivados. Por ejemplo, los gérmenes intervinientes en la fabricación de productos lácteos son fácilmente inhibidos por bajas concentraciones de CAP: *Streptococcus thermophilus* (0.05-0.1 µg/ml); *Lactobacillus bulgaricus* (0.3-5 µg/ml); *Bacillus stearothermophilus*, variedad *calidolactis* (1 µg/ml) (Mourot & Loussovann, 1981).

Según Labie (1981), la vía de administración intramamaria, usada en la profilaxis y el tratamiento de mastitis, es ciertamente el origen de contaminación más frecuente (70 % de los casos) y más importante de la leche. Mientras que considera el resto de las vías parenterales como fuentes secundarias de contaminación de la leche. Labie (1981) reportó que en las 12-24 h siguientes al tratamiento por vía galactófora, generalmente la mayor parte de los antibióticos es excretada por la leche y en

numerosos casos los residuos dosables pueden persistir en leche 2-3 días y hasta una semana.

Una interesante conclusión que hace al manejo de los animales de tambo es que la presencia del antibiótico en elevadas concentraciones en los cuartos que no han recibido la droga fija un período de retirada que es el mismo para los cuatro cuartos, hayan recibido el fármaco o no.

Para intentar paliar los riesgos sanitarios (accidentes alérgicos, fenómenos de antibiorresistencia) y las consecuencias económicas desfavorables (accidentes de fabricación, barreras sanitarias a la exportación de los productos) debido a la presencia de residuos de antibióticos en la leche, es necesario que el gobierno tome medidas reglamentarias de prohibición y sanciones.

7.8.- Estudio farmacocinético de tianfenicol tras su infusión intramamaria en los cuatro cuartos mamarios.

A pesar de efectuarse ordeños completos cada 12 h, en los cuatro cuartos mamarios, se detectaron altas concentraciones (entre 8.6 y 15.82 $\mu\text{g/ml}$) de TAP en la leche de los mismos hasta las 24 h, mientras que tras la administración en un solo cuarto se hallaron concentraciones en la leche del mismo hasta las 36 h ($11.86 \pm 4.40 \mu\text{g/ml}$).

El tiempo medio de eliminación desde la glándula es de 6.72; 7.23; 6.27 y 9.70 h en la leche del cuarto AI, AD, PI y PD respectivamente.

No tenemos una explicación concreta que nos aclare las razones de estas diferencias. De todos modos, la variabilidad interindividual tiene un gran peso en un diseño de solamente 6 animales experimentales. Es obvio, por otra parte, que el cuarto mamario, que en función del tiempo contiene diferentes cantidades de leche, y que, al ser ordeñado puede conservar un cierto residuo de mayor o menor magnitud, es un compartimiento muy especial, inestable, que varía mucho más que el plasma. De todas maneras, debe remarcarse la persistencia de concentraciones elevadas de TAP en la glándula en las condiciones de esta parte del estudio.

7.9.- Régimen de dosificación de tianfenicol en vacas en lactancia.

El cálculo teórico de las dosis de ataque y mantenimiento dió como resultados 34.36 y 29.21; y 49.72 y 44.25 mg/kg para las vías intramuscular y subcutánea respectivamente, con un intervalo de dosis de 8 horas. Posiblemente estas dosis elevadas se deban a que para el cálculo de las mismas se emplea el $V_d(B)$; el cual sobreestima el valor final de volumen. Sin embargo los resultados aceptables de la corroboración atestiguan un cálculo correcto. La corroboración a campo la realizamos para la administración SC, aplicando una dosis de ataque (49.72 mg/kg) y 8 dosis de mantenimiento (44.25 mg/kg) cada 8 horas. Elegimos esta vía debido a que de acuerdo a los parámetros farmacocinéticos obtenidos, se presenta como una buena opción para administrar el antibiótico, teniendo en cuenta la practicidad de la misma y el volumen a inyectar. Obtuvimos niveles séricos y lácteos superiores a la CIM (5µg/ml) durante todo el tratamiento (ver Fig. 6.6.2.).

Para el caso del CAP, si bien el número de ensayos experimentales es muy limitado, parece ser que también la vía SC da mejores resultados que la vía IM (Milhaud, 1985). En bovinos, una dosis de 16.5 mg/kg da una tasa plasmática eficaz durante 12 h y 44 mg/kg durante 24 h. Por vía IM el CAP se absorbe escasamente, son necesarias dosis de 50 mg/kg/día según comunicaron Nouws y Ziv, 1979; y Ziv, 1973a (quienes emplearon CAP disuelto en propilenglicol); mientras que Lamothe (1982)

recomienda 33 mg/kg tres veces por día, coincidiendo con nuestros resultados para la misma vía de administración.

El CAP debe ser administrado únicamente en forma parenteral en rumiantes, puesto que la administración oral no permite obtener niveles mensurables en suero, dada la rápida destrucción del antibiótico por la microflora ruminal (Clark, 1978).

Algunos autores reportan que con dosis de 50 mg/kg de CAP por la vía IM se obtienen concentraciones inhibitorias mínimas en sangre de 5 µg/ml (Anderson, 1983; Archimbault 1980; Brander, 1977; Clark, 1978a y b; Davis 1972, 1974; De Corte Baeten 1976; Knight 1981; Nouws y Ziv 1979; Sisodia 1973a, 1973b). La CIM necesaria para inhibir los microorganismos patógenos en la mayoría de los casos es algo menor de 1 µg/ml (Amstutz et al 1982).

Bovinos que reciben 50 mg/kg de CAP succinato presentan niveles plasmáticos de 25 µg/ml a la hora, decreciendo a 5 µg/ml en aproximadamente 9 horas (Clark, 1978b), excelentes niveles terapéuticos pueden mantenerse con dos o tres administraciones diarias. Mientras que administrando CAP base a razón de 20 mg/kg, también intramuscularmente, se logran niveles plasmáticos entre 4 y 6 µg/ml durante 12 horas o más y también se alcanzan niveles terapéuticos en ubre. Dosis menores producen inadecuadas concentraciones plasmáticas (Clark, 1978b).

Lamothe et al (1982) comunicaron que el CAP debe ser dosificado en bovinos por la vía IM a razón de 33 mg/kg y en varios sitios de inyección para alcanzar niveles terapéuticos en

suero aproximadamente por 6 horas.

Javed y col (1984) calcularon 23 mg/kg, como dosis de ataque y 19 mg/kg como mantenimiento por la vía IV en cabras con un intervalo de 8 horas. Este plan permite al finalizar el intervalo de dosificación obtener un nivel de 6.83 µg/ml en suero.

Un correcto plan de dosificación es de crucial importancia en medicina veterinaria. Los planes de administración, en el caso de que existan, frecuentemente subdosifican antibiótico en medicina veterinaria. Algunos autores (Banerjee, 1971; Brander, 1977) recomiendan dosis entre 4 y 12 mg/kg de CAP IV o IM dos veces al día para bovinos adultos y Reiche (1984) menciona dosis de 10-20 mg/kg una o dos veces diarias. De acuerdo a nuestro estudio, tales dosis no garantizarían niveles séricos de al menos 5 µg/ml en la totalidad del día. No obstante, la utilización de vehículos de liberación lenta podría dar base a esas aseveraciones.

Sisodia (1973a) reportó que con 10 mg/kg IM no se producen concentraciones terapéuticas en suero, pero si con 20 mg/kg IM, las que se mantienen fácilmente entre 2 y 8 horas; y con 30 mg/kg entre 2 y 12 horas. La magnitud de estas variaciones habla a las claras de la complejidad de este tema.

8.- CONCLUSIONES GENERALES

8.1.- El comportamiento farmacocinético de tianfenicol en suero tras su administración intravenosa en vacas en lactancia, se ajustó a un modelo abierto de dos compartimientos.

8.2.- El grado de unión del tianfenicol a las proteínas plasmáticas a una concentración terapéutica de 15 µg/ml, fue relativamente bajo, $33.58 \pm 2.73 \%$.

8.3.- Tras su administración intravenosa presentó una vida media de distribución ($T_{1/2} \alpha$) corta, con un valor de 8.84 ± 4.34 min y una vida media de eliminación ($T_{1/2} \beta$) también corta, 1.95 ± 0.55 h.

8.4.- El volumen de distribución (V_{darea}) con un valor alto, 1404.18 ± 428.19 ml/kg, define a una droga altamente liposoluble, que se distribuye muy bien en todo el organismo.

8.5.- Las microconstantes de velocidad de pasaje entre los compartimientos central y periférico (K_{12} , K_{21}), con una relación de 1.69, indican una rápida salida desde el compartimiento central hacia los tejidos, coherente con su volumen de distribución.

8.6.- Los niveles de tianfenicol en leche son elevados, con una concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) de 23.09 ± 3.12 µg/ml a las 2.5 h ($T_{m\acute{a}x}$).

8.7.- El tiempo medio de penetración en la glándula ($T_{1/2} P$)

resultó corto con un valor de 36.58 ± 9.72 min y un tiempo medio de eliminación desde la misma ($T_{1/2} E$) más prolongado que el $T_{1/2} B$, 3.62 ± 0.97 h, sugiriendo algún tipo de secuestro del antibiótico en la glándula.

8.8.- La relación área bajo la curva leche/suero (AUC_l:AUC_s) de 1.72 ± 0.47 indica una extensa penetración del tianfenicol al interior de la glándula.

8.9.- El tiempo de retirada para TAP tras su administración IV en vacas en lactancia se calculó en 4.13 ± 1.13 días, transcurrido ese tiempo no se encontrarán niveles de droga mayores a $0.1 \mu\text{g/ml}$ en leche.

8.10.- El TAP no se absorbe tras su administración oral en rumiantes.

8.11.- Tras su administración IM y SC, los niveles máximos se obtienen a las 0.32 ± 0.09 y 0.72 ± 0.12 h; siendo estos 29.38 ± 6.90 y $19.83 \pm 3.57 \mu\text{g/ml}$ respectivamente.

8.12.- El tiempo medio de absorción ($T_{1/2} ab$) fue breve en ambos casos, 6.53 ± 6.25 y 10.09 ± 5.37 min para las vías IM y SC respectivamente.

8.13.- Los niveles séricos se mantuvieron superiores a la CIM ($\geq 5 \mu\text{g/ml}$) 5 horas después de la administracione SC.

8.14.- Las vidas medias biológicas ($T_{1/2} B$) fueron similares, 2.88 ± 0.50 y 2.60 ± 0.60 h, ambas más prolongadas que luego de la administración IV (1.95 ± 0.55 h).

8.15.- Las biodisponibilidades IM de $86.33 \pm 19.08 \%$ y SC, de $82.33 \pm 13.36 \%$, definen un compuesto altamente absorbible.

8.16.- En leche se mantuvieron niveles terapéuticos de TAP durante 8 h, luego de inyectarlo por ambas vías.

8.17.- La concentración máxima en leche después de la administración IM fue $17.05 \pm 2.73 \mu\text{g/ml}$ y se alcanzó a las $3.42 \pm 0.19 \text{ h}$ ($T_{\text{máx}}$), al mismo tiempo se obtuvo la $C_{\text{máx}}$ luego de la inyección SC, con un valor de $13.19 \pm 3.47 \mu\text{g/ml}$.

8.18.- Los tiempos medios de penetración ($T_{\frac{1}{2} P}$) en leche fueron también muy parejos, 51.11 ± 6.10 y $41.97 \pm 4.55 \text{ min}$. Las vidas medias de eliminación desde la glándula ($T_{\frac{1}{2} E}$) fueron 5.31 ± 4.27 para la vía IM y $7.57 \pm 4.47 \text{ h}$ para la administración SC.

8.19.- La relación $C_{\text{máxS}}:C_{\text{máxI}}$ fue para la vía IM 1.81 y para la SC, 1.57; y la relación $AUC_{\text{I}}:AUC_{\text{S}}$, 1.19 y 1.03 respectivamente, indicando ambas relaciones que el TAP es un antibiótico de fácil penetración en la glándula mamaria.

8.20.- El tiempo teórico de retirada calculado fue de 4.79 ± 1.40 y 3.23 ± 0.86 días para las vías IM y SC respectivamente. Es decir que tras la administración subcutánea se depura más rápidamente la leche de los residuos de tianfenicol.

8.21.- Tras la administración intracisternal en un solo cuarto mamario se encontraron concentraciones en la leche de los cuartos no medicados y en suero entre 8 y 12 h, mientras que en el cuarto tratado perduraron hasta las 36 h. El TAP atraviesa fácilmente las membranas del organismo.

8.22.- Las mayores concentraciones se determinaron en el cuarto homolateral.

8.23.- El tiempo medio de eliminación desde la glándula fue 8.63 ± 2.41 ; 3.70 ± 0.87 ; 5.91 ± 5.39 ; 4.51 ± 1.99 y 4.75 ± 4.09 h, en el cuarto administrado (AI), PI, AD, PD y suero respectivamente.

8.24.- Se calcularon 34.32, 6.86 y 8.67 días como tiempos teóricos de retirada. El TAP es secuestrado por el tejido mamario.

8.25.- Luego de la administración de TAP en los cuatro cuartos mamarios, las concentraciones se mantuvieron elevadas durante 24 h.

8.26.- Los tiempos medios de eliminación desde la glándula ($T_{1/2} E$) fueron 6.72 ± 1.37 ; 7.23 ± 1.84 ; 6.27 ± 1.50 y 9.70 ± 3.38 en los cuartos AI, AD, PI y PD respectivamente, lo que los ubica dentro de una variación normal.

8.27.- Las dosis de ataque y de mantenimiento calculadas fueron 34.36 y 29.21; y 49.72 y 44.25 mg/kg para las IM y SC respectivamente, con un intervalo de dosis de 8 horas.

Como conclusión final, el tianfenicol, es una buena opción para reemplazar al CAP en medicina veterinaria. Es un antibiótico que se distribuye ampliamente en el organismo, llegando con facilidad a leche, en la cual alcanza muy buenos niveles y con vidas medias de eliminación más prolongadas que en suero. Y fundamentalmente, goza de una ventaja con respecto al cloranfenicol, no produce aplasia medular irreversible en el

hombre.

9.- RESUMEN

Los objetivos de este plan fueron:

9.1.- Discriminar el modelo farmacocinético que mejor describiera el comportamiento de tianfenicol en vacas lecheras Holando Argentino tras su administración intravenosa.

9.2.- Conocer el comportamiento farmacocinético del tianfenicol en suero y en leche, tras su aplicación intravenosa, intramuscular, subcutánea, oral e intracisternal en vacas en lactancia.

9.3.- Determinar el grado de unión del tianfenicol a las proteínas plasmáticas.

9.4.- Calcular el tiempo teórico de retirada del tianfenicol en leche tras su administración por las diferentes vías.

9.5.- Diseñar un régimen de dosificación adecuado.

Se trabajó con 6 bovinos Holando Argentino, hembras, sanas y en lactancia. Los mismos recibieron tianfenicol a la dosis de 25 mg/kg por la vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, oral, intracisternal en un solo cuarto mamario e intracisternal en los cuatro cuartos mamarios. Se dejó transcurrir entre prueba y prueba, por lo menos, dos meses. Se tomaron muestras sanguíneas a los siguientes tiempos post-administración: 2.5; 5; 7.5; 10; 15; 20; 30 y 40 minutos; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 12; 24; 36; 48; 60 y 72 horas. Las muestras de leche se extrajeron a los 15 y 30 minutos; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 3.5; 4; 5; 6; 8; 10; a las 12

horas se ordeñó el animal obteniéndose una nueva muestra; se siguió con ordeñes y muestreos cada 12 horas hasta las 72 h.

Las concentraciones de tianfenicol fueron dosadas por método microbiológico, utilizándose *Sarcina lútea* ATCC 9341, como microorganismo test. Se determinó por ultrafiltración el grado de fijación a las proteínas plasmáticas.

Las curvas de disposición sérica y láctea de droga fueron analizadas por métodos lineales, aplicándose un programa de stripping, conocido como Cstrip. Las microconstantes, así como las vidas medias para los diferentes procesos farmacocinéticos y área bajo la curva, fueron calculados por métodos clásicos.

El análisis farmacocinético sérico de este antibiótico administrado por vía intravenosa, fue realizado siguiendo un modelo bicompartimental, siendo la ecuación que lo describe:

$$C_p = 65.41 e^{-6.09 t} + 22.87 e^{-0.40 t}$$

El antibiótico demostró una distribución relativamente rápida, con una vida media de 8.84 ± 4.34 min. La vida media de eliminación de 1.95 ± 0.55 h indica que los bovinos eliminan rápidamente el TAP. El volumen de distribución fue elevado, 1404.18 ± 428.19 ml/kg. Las concentraciones en leche fueron elevadas, con un tiempo medio de penetración en la glándula ($T_{1/2}$ P) bastante rápido, 36.58 ± 9.72 min y una vida media de eliminación desde la misma de 3.62 ± 0.97 h. Se calculó un tiempo

de permanencia en leche de 4.13 ± 1.13 días.

Para el análisis farmacocinético de TAP en suero y leche tras su administración intramuscular, subcutánea e intracisternal, se siguió un modelo monocompartmental.

No se detectaron concentraciones en suero ni en leche, luego de su administración oral; igual que el CAP no se absorbe por vía oral en rumiantes.

Tras la administración intramuscular, el TAP se absorbió rápidamente, con una vida media de 6.53 ± 6.25 min y un tiempo medio de eliminación de 2.9 ± 0.50 h. La concentración máxima fue de 29.38 ± 6.90 $\mu\text{g/ml}$ y se presentó a los 0.32 ± 0.09 horas. El área bajo la curva fue de 68.45 ± 16.27 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ y la biodisponibilidad de 86.33 ± 19.08 %.

En leche se mantuvieron niveles terapéuticos de TAP entre 0.5 y 8 h, con una $C_{\text{máx}}$ de 17.05 ± 2.73 $\mu\text{g/ml}$, la que se alcanzó a las 3.42 ± 0.19 h. El tiempo medio de penetración en la glándula fue de 51.11 ± 6.10 min y la vida media de 5.31 ± 4.27 h, la relación $C_{\text{máx}}: C_{\text{máx1}}$ fue 1.81 y la relación $\text{AUC1}:\text{AUCs}$, 1.19. El tiempo teórico de permanencia en leche calculado fue de 4.79 ± 1.40 días.

Luego de la administración subcutánea se obtuvo una concentración máxima en suero de 19.83 ± 3.57 $\mu\text{g/ml}$ a las 0.722 ± 0.12 h, con un tiempo medio de absorción de 10.09 ± 5.37 min. La vida media de eliminación fue 2.60 ± 0.60 h. Se calculó un área bajo la curva de 56.17 ± 7.33 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ que arrojó una

biodisponibilidad de $82.33 \pm 13.36 \%$.

Las concentraciones en leche se mantuvieron entre 1 y 8 h por encima de la CIM, presentando una C_{\max} de $13.19 \pm 3.47 \mu\text{g/ml}$ a las 3.42 ± 0.19 h. Tuvo un tiempo medio de penetración en leche de 41.97 ± 4.55 min y una vida media de eliminación de 7.57 ± 4.47 h. las relaciones $C_{\max s}:C_{\max l}$ y $AUC l:AUC s$ fueron 1.57 y 1.03 respectivamente. El tiempo teórico de permanencia fue de 3.23 días.

En la infusión intramamaria en un solo cuarto, se determinaron altas concentraciones en los cuartos no medicados y en suero. Los niveles se mantuvieron 36 h en el cuarto tratado ; y entre 8 y 12 horas en los no tratados. El TAP difunde fácil y completamente hacia el cuarto homolateral por difusión simple y hacia los heterolaterales llega por intermedio de la circulación. En el cuarto homolateral se registró la mayor C_{\max} al menor tiempo y presentó una biodisponibilidad láctea mayor. Los tiempos teóricos de retirada calculados fueron 34.32 días para el cuarto homolateral (PI), 6.86 y 8.67 días para los heterolaterales (AD y PD) respectivamente.

Mientras que en la administración intramamaria en los cuatro cuartos se determinaron concentraciones de TAP en la leche de los mismos durante 24 h. Los tiempos medios de eliminación desde cada cuarto fueron entre 6 y 10 horas, superiores en general a las vidas medias calculadas tras la administración intramamaria en un solo cuarto.

En cuanto al régimen de dosificación calculado fue 34.36 y

29.21; y 49.72 y 44.25 mg/kg como dosis de ataque y mantenimiento para las vías IM y SC respectivamente, con un intervalo de dosis de 8 horas.

En conclusión, el tianfenicol es un antibiótico altamente biodisponible por cualquier vía de administración, llegando con gran facilidad al órgano blanco (la leche) y alcanzando en el mismo muy buenos niveles de droga. Por lo tanto se puede considerar una excelente opción para sustituir al CAP en la terapéutica veterinaria.

10.- SUMMARY

Objectives of the dissertation

10.1.- Discrimination of the pharmacokinetic model best fitting thiamphenicol pharmacokinetics in Holando Argentino cows after its IV administration.

10.2.- To know thiamphenicol pharmacokinetic behaviour in serum and milk after its IV, IM, SC, PO and intramammary in lactating COWS.

10.3.- To determinate thiamphenicol percentage of proteins binding in plasma.

10.4.- To calculate theoretical withdrawal time in milk after administration by different routes of administration.

10.5.- To design appropriate dosage regimens.

The work was performed in 6 Holando Argentino bovines, females, adult and lactating. The experimental animals received a dose of 25 mg/kg by the IV., IM, SC, PO and intramammary in one mammary quarter and in the four mammary quarters. At least two months elapsed between two different trials. Blood samples were obtained at the following post administration times: 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20, 30 and 40 min, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60 and 72 h. Milk samples were obtained at the following PAT: 15 and 30 min, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5, 6, 8, 10, at 12 h post administration the experimental animals were milked with obtention of another sample. The sampling

continued with the milkings of the animals every 12 h until 72 h.

Thiamphenicol concentrations were determined by the biological method, by using *Sarcina lutea* ATCC 9341 as test microorganism. Percentage of binding to plasma proteins was determined by ultrafiltration.

Serum and milk disposition curves were analyzed by linear means, by application of a stripping program known as Cstrip. Pharmacokinetic microconstants, half lives for the different pharmacokinetic processes, and areas under the curves were determined by classical methods.

Serum pharmacokinetics after IV administration was described following a bicompartmental model, through the following expression:

$$C_p = 65.41 e^{-6.09 t} + 22.87 e^{-0.40 t}$$

The antibiotic showed a rapid distribution, with a half life of 8.84 ± 4.34 min. Half life of elimination was 1.95 ± 0.55 h, indicating that thiamphenicol is rapidly eliminated in the bovine. Volume of distribution was high, 1404.18 ± 428.19 ml/kg. Milk concentrations were high, with a mean time of gland penetration ($T_{1/2 P}$) rather fast of 36.58 ± 9.72 min and a half life of elimination from the gland of 3.62 ± 0.97 h. A milk permanency time of 4.13 ± 1.13 days was determined.

A monocompartmental model was used to describe the pharmacokinetics of TAP after its IM, SC and intramammary

administration.

No serum or milk concentrations were determined after oral administration of TAP. As in the case of CAP, no absorption was found after administration by that route.

After IM administration, TAP was rapidly absorbed, with a half life of 6.53 ± 6.25 min and a half life of elimination of 2.9 ± 0.50 h. Maximum concentration was 29.38 ± 6.90 $\mu\text{g/ml}$ and was found at 0.32 ± 0.09 h. Area under the curve was 68.45 ± 16.27 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ and bioavailability 86.33 ± 19.08 %.

Milk therapeutic levels were maintained between 0.5 y 8 h with a C_{max} of 17.05 ± 2.73 $\mu\text{g/ml}$ reached at 3.42 ± 0.19 h. Mammary gland half life of penetration was 51.11 ± 6.10 min and half life of elimination 5.31 ± 4.27 h. Ratio C_{max} s: $C_{\text{max}1}$ was 1.81 and the ratio $\text{AUC}1 : \text{AUC} \leq 1.19$. Theoretical milk permanency time was 4.79 ± 1.40 days.

After SC administration a maximum serum concentration of 19.83 ± 3.57 $\mu\text{g/ml}$ was obtained at 0.72 ± 0.12 with a half life of absorption of 10.09 ± 5.37 min. Half life of elimination was of 2.60 ± 0.60 h. AUC of 56.17 ± 7.33 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ was calculated. Bioavailability was of 82.33 ± 13.36 %.

Milk concentrations after sc administration were maintained above the MIC between 1 y 8 h. The C_{max} was of 13.19 ± 3.47 $\mu\text{g/ml}$ at 3.42 ± 0.19 h. The half life of penetration was 41.97 ± 4.55 min and the half life of elimination 7.57 ± 4.47 h. Ratio C_{max} s : $C_{\text{max}1}$ and $\text{AUC}1 : \text{AUC}$ s were 1.57 and 1.03 respectively.

Theoretical permanency time was of 3.23 days.

After intramammary infusion in an individual quarter high concentrations in the nonmedicated quarters and in serum were determined. TAP levels were maintained during 36 h in the treated quarter and between 8 and 12 h in the nontreated quarters. TAP passes easily and completely to the homolateral quarter by simple diffusion, to the heterolateral quarters, on the other hand, it arrives through circulation. In the homolateral quarter, the main C_{max} at the lowest time was recorded, the highest bioavailability was recorded again here. Estimated theoretical withdrawal times were 34.32 days for the homolateral quarter (LP) 6.86 and 8.67 days for the heterolateral (RA and RP) respectively.

After intramammary administration in the four quarters, TAP concentrations were determined in milk during 24 h. Half life of elimination from each quarter were between 6 and 10 h, higher, in general terms, than the times calculated after administration to a single quarter.

Calculated dosification plans were 34.36 and 29.21 and 49.72 and 44.25 mg/kg as loading and maintenance doses for the IM and SC routes respectively, every 8 h.

As a conclusion, TAP is a highly bioavailable antibiotic, independently of the administration route, it arrives with ease to the mammary gland, reaching there high levels. That is why it can be considered an excellent option to use in place of CAP in veterinary therapeutics.

11.- BIBLIOGRAFIA

- Adams, H.R. (1975) "Acute adverse effects of antibiotics". J.A.V.M.A. 166:983-987.
- Adams, H.R.; E.L. Isaac and B.S. Masters. (1977) "Inhibition of hepatic microsomal enzymes by chloramphenicol". J.Pharmacol.Exp.Ther. 203:388-396.
- Adams, P. E.; K.J. Varma; T. E. Powers and J.F. Lamendola (1987) "Tissue concentrations and pharmacokinetics of florfenicol in males veal calves given repeated doses". Am.J.Vet.Res.48 (12): 1725-1731.
- Adamson, P.J.; Wilson, W.D.; Baggot, J.D.; Hietala, S.K.; Mihalyi, J.E. (1991) "Influence of age on the disposition kinetics of chloramphenicol in equine neonates". Am. J.Vet.Res. 52(3): 426-431.
- Akaike, H. (1973a) "Information theory and extension of maximum likelihood principle". In Second International Symposium on Information Theory, Petrov and Csaki (Eds). Budapest 267-281.
- Akaike, H. (1973b) "A new look at the statistical model identification". IEEE Trans.Automat. Contr. 19:716-723.
- Akaike, H.(1976) "An information criterion (AIC) Math.Sci. 14:5-9.
- Akakpo, A.J.; A.F.Abiola; P. Bornarel; E. Kovassi and G. Sawadogo. (1989) "Etude pharmacocinétique du chloramphenicol chez le mouton du Sahel". Revue.Méd.Vét. 140 (2):135-140.
- Akhnoukh, S.; N. El-Shazly; W. Sallan; S. El-Melegy and cols. (1982) "In vivo effect of chloramphenicol and thiamphenicol on some enzymes of normal mouse liver". Biochem.Pharmacol. 31 (1):55-58.
- Al-Hussainy, T.M.; M.I. Al-Daham; A.J. Al-Zubaidy; Y.Z. Abou. (1979) "Chloramphenicol induced pathological and biochemical alterations in the intestinal epithelium". Pharm.Res.Commun. 11:199-209.
- Allegri, G.; E. Lucidi; G. Marca; E. Borgogelli. (1982) "Effects of chloramphenicol and thiamphenicol on the outcome of Chlamydia psittaci infections in chick embryo". Chemotherapy 28 (2): 119-128.
- Amstutz, H.E.; R.L. Morter & C.H. Armstrong (1982) "Antimicrobial resistance of strains of Pasteurella hemolytica isolated from feed lot cattle".The Bovine Practitioner 17:52-55.

- Anderson, K.L.; C.A.Neff-Davis; L.E.Davis; G.D.Koritz and D.R.Nelson (1983) "Pharmacokinetics of chloramphenicol in non-lactating cattle". *J.Vet.Pharmacol.Therap.* 6:305-313.
- Anton, A.H. and W.T.Corey.(1971) "Interindividual differences in the protein binding of sulfonamides: the effect of disease and drugs". *Acta Pharmacol.Toxicol.* 28 (suppl) :S134-S151.
- Archimbault, P.; A. Aubert; P. Haas. (1978) "Residus de cloxacilline et de néomycine dans le lait après leur administration, an association, per voie galactophore". *Rec.Méd.Vét.* 154:951-956.
- Archimbault, P.; C. Boutier; R. Fellous; G. Muscat.(1979) "Concentrations et élimination dans le lait de quelques antibiotiques après leur administration intramamares". *Bull.Soc.Vét.Prat.* 63 (3):163-183.
- Archimbault, P.; C. Boutier & R. Fellous (1980) "Concentrations sériques et biodisponibilité sanguine de chloramphenicol chez les bovins". *Canadian Veterinary Journal*, 21: 323-327.
- Archimbault, P.; G. Ambroggi and J.Joineaud. (1987) Bioavailability and tissue elimination of chloramphenicol following parenteral administration in the preruminant calf". *Ann.Rech.Vet.* 18:85-90.
- Atef, M.; Atta, H.; Amer, A.M.(1991) "Pharmacokinetics of chloramphenicol in normal and escherichia coli infected chickens". *Br. Poult. Sci.* 32(3):589-596.
- Attili, C.; Finolli, M.; Grisler, R. (1962) "A new derivative of chloramphenicol:thiamphenicol glycinate. Clinical research in normal chronic bronchitic and silicotic subjetscs". *Gass.Med.Ital.* 121:53-6.
- Azzollini, F.; A. Gazzaniga; E. Lodola. (1970) "Thiamphenicol excretion in subjects with renal insufficiency". *Int.J.Clin.Pharmacol.* 3:303-308.
- Azzollini, F.; A. Gazzaniga; E. Lodola; R. Natangelo (1972) "Elimination of chloramphenicol and thiamphenicol in subjects with cirrhosis of the liver". *Int.J.Clin.Pharmacol.Biopharm.* 6:130-134.
- Baggot, J.D.; L.E. Davis and C.A. Neff. (1972)"Extent of plasma protein binding of anphetamine in different species". *Biochem.Pharmacol.* 21:1813-1816.
- Baggot, J.D. (1977) "Principles of drug disposition in domestic animals: the basis of veterinary clinical pharmacology". Saunders. Philadelphia.
- Baggot, J.D. (1978a) "Some aspects of clinical pharmacokinetics in veterinary medicine I". *J.V.P.T.* 1:5-17.

Baggot, J.D. (1980) "Principles of antimicrobial therapy". In: More rational use of veterenary drugs, pp 71-90. Massey University.

Baggot, J.D.(1986) "Principios de farmacologia clinica veterinaria". Ed. Acribia. S.A. Zaragoza (España).

Banerjee, S.; A. Bandyopadhyay; R.C. Bhattacharjee; A.K Mukherjee and A.K. Halder (1971). "Serum levels of chloramphenicol in children, Rhesus Monkeys, and cats after administration of chloramphenicol palmitate suspension". J.Pharm.Sci. 60:153-155.

Barba, C.; F. Bruno. (1964) "El tiofenicolo nella terapia dell'infezione tifoidea". Gir.de Chemioterapia 4:183.

Barber, M.; L.P. Garrod. (1963) "Antibiotic and chemotherapy:.". E & S Livingston, Edinburgh, London: 116 bis 128.

Bartlett, J.G. (1982) "chloramphenicol. Symposium on antimicrobial Therapy". Med.Clin.North Am. 66:91-102.

Bartz, Q.R. (1948). "Isolation and characterization of chloromycetin". J.Biol.Chem. 172:445-450.

Barza, M. (1981) "Principles of tissue penetration of antibiotics". J.Antimicrobial Chemotherapy 8 (Suppl C):7-28.

Bass, R. (1975) "Significance of mitochondrial function for embryonic development: proposal of a mechanism for the induction of embryolethal effects. In: Neubert D.; Merker, H.J. (eds) New approaches to the evolution of abnormal embryonic development, 2nd Symposium on Prenatal Development, Berlin 1975. Thieme, Stuttgart, pp 524-542.

Bass, R.; D. Dertter (1977) "Embryonic development and mitochondrial function, II. Thiamphenicol induced embryotoxicity". Naunyn Schmiedeberf's Arch.Pharmacol. 296:191-197.

Bass, R.; D. Dertter; R. Krowke; H. Spielmann (1978a) Embryonic development and mitochondrial function. III. Inhibition of respiration and ATP generation in rat embryos by Thiamphenicol". Teratology 18:93-102.

Bergoglio, R. "Antibioticos".(1970) pg. 223-235. Ed por Universidad Nacional de Cordoba.

Biancaniello, T.; R.A. Meyer; S.Kaplan (1981)"Chloramphenicol and cardiotoxicity". J.Pediatr. 98:828-830.

Blobel, H.; C.W. Burch. (1960) "Concentrations of penicillin in milk of cows following intramuscular administration". J.A.V.M.A. 136:477-480.

Bodhankar, V.G.; and M.S. Rawat (1988). "Chloramphenicol". Indian

Pediatrics 25:77-81.

Bonanomi, L.; A. Gazzaniga; P. Zaninelli (1977). "Effect of partial hepatectomy and renal impairment on thiamphenicol metabolism in rats" *Pharmacol.Res.Comm.* 9:609-612.

Boisseau, J. (1985) "Le chloramphenicol en médecine vétérinaire: les conditions d'autorisation de mise le marché". *Ann.Rech.Vét.* 16:155-157.

Bouchot, M.C. (1981). "Facteurs influencant l'excretion des antibiotiques par le lait". *Rec.Méd.Vét.* 157 (2):191-197.

Bowman, W.C. and M.J. Rand (1984) "Farmacología: Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas. Ed. Interamericana, pp 34.37.

Brander, G.C. and D.M. Pugh. (1977) *Veterinary Applied Pharmacology and therapeutics. Second Edition*, pp 375-376, London, Bailliére, Tindall.

Brock, T.D. (1961). "Chloramphenicol". *Bacterial Rev.* 25:32-48.

Brown, S.A. (1988) "Treatment of Gram-negative infections". *Clinical Pharmacology Vet. Clinics of North America. Small Animal Practice* vol 18 (6): 1141-1165.

Brumbaugh, G.W.; R.J. Martens; H.D.Knight and M.T.Martin (1983) "pharmacokinetics of chloramphenicol in the neonatal horses". *J.Vet.Pharmacol.Therap.* 6:219-227.

Brunov, A. B.; A.Z. Slabochoy; A.H.Platilov; F. Paulik (1977) "Interaction of tolbutamide and chloramphenicol in diabetic patients". *Int.J.Clin.Pharmacol.Biopharm.* 15:7-12.

Buchanan, A.; van der Walt, L.A. (1977) "Chloramphenicol binding to normal and kwashiorkor sera". *Am.J.Clin.Nutr.* 30:847-850.

Burgat-Sacaze, V. (1981)"Risque D'Accidents Allergiques dus Aux Résidus". *Rec.Méd.V130t.* 157(2):187-190.

Burgat-Sacaze, V.; Cl.Petit (1983) "Antibiotherapie intramammaire:Notions pratiques de pharmacocinétique". *Rec.Méd.Vét.* 159 (6):561-573.

Burns, L.E.; J.F. Hodgman; A.B. Cass (1959)"Fatal circulatory collapse in premature infants receiving chloramphenicol". *New Engl.J.Med.* 261:1318-1321.

Burrows, G.E.; P.B. Barto; B.S. Martin et al (1983) "Comparative pharmacokinetics of antibiotics in newborn calves: chloramphenicol, lincomycin and tylosine". *Am.J.Vet.Res.* 44:1053-1057.

Burrows, G.E.; A.L. Craigmill; P.B. Barto (1984).

"Chloramphenicol and the neonatal calf". Am.J.Vet.Res. 45(8):1586-1591.

Burrows, G.E.; P.B. Barto and B.R. Weeks. (1986) "Chloramphenicol, lincomycin and oxytetracycline disposition in calves with experimental pneumonia pasteurellosis". J.Vet.Pharmacol.Therapy. 9, 213-222.

Busch, H. and M. Lane (1967) "Chemotherapy" An Introductory text. Year Book Medical Publishers, Inc. Chicago III 54-59.

Castro, J. A.; E.C. De Ferreira; C.R. De Castro; D.M. De Fenos and A.M. Guarino. (1978). "Mechanism of chloramphenicol prevention of carbon tetrachloride-induced liver damage". Exp.Mol.Pathol. 28:395-405.

Cattebeni, F.; A. Gazzaniga (1974) "Identification of thiamphenicol excretion products in rat urine using gas-chromatography-mass spectrometry". Postgrad.Med.J. 50(suppl):23-27.

Ceryre, A.; Y.Larouche and R.Malo (1979).Recherche portant sur la pénétration d'antibiotique suite a'des traitements par voie parenterale pour la mammite bovine". M.V.Québec 3:11-13.

Clarenburg, R.; V.R. Rao. (1977). "A fluorometric method to assay chloramphenicol". Drug Metab.Dispos. 5:246-252.

Clarenburg, R.; Rao, V.R. (1977)"Pharmacokinetics of intravenously injected chloramphenicol in baby pigs". Drug.Met.Disp. 5,253-258.

Clark, C.H.(1978a) "Clinical uses of chloramphenicol". Med.Vet.Pract. 59:889-894.

Clark, C.H. (1978b)"Chloramphenicol dosage" Modern Veterinary Practice 59:749-754.

Clark, C.H.; J.E. Thomas; J.L. Milton; W.D. Goolsby. (1982). "Plasma concentrations of chloramphenicol in birds". Am.J.Vet.Res. 43:1249-1253.

Contreras, A.; M. Barbacid; D. Vasquez (1974). "Comparative aspects of the action of chloramphenicol and thiamphenicol on bacterial ribosomes". PostGrad.Med.J. 50 (Suppl) 50-53.

Craig, W.A. and S. Byungse. (1978) "Protein binding and the antibacterial effects methods for the determination of protein binding". Antibiotics in Vet.Med. Lorian, pp 265-297.

Cutler, R.A.; R.J. Stenger; C.M. Suter. (1952) "New antibacterial agents 2-acylamino-1-(4-hydrocarbonylsulfonylphenyl)-1-3-propanediols and related compounds". J.Am.Chem.Soc. 74:5475-5481.

Chau, P. Y. and N.G. Ws. (1982) "Comparative in vitro activity of

chloramphenicol and thiamphenicol against *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* and the typhoid and paratyphoid bacilli". *Chemotherapy* 28(2): 105-109.

Dagorn, M.; P.Guillot, and P. Sanders (1990) "Pharmacokinetics of chloramphenicol in sheep after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration". *The Veterinary Quarterly* vol 12(3):166-174.

Daigenault, R.; M. Guitard. (1976). "An enzymatic assay for chloramphenicol with partially purified chloramphenicol acetyltransferase". *J.Infect.Dis.* 133:515-522.

Davis, L.E.; C.A.Neff; J.D. Baggot and T.E. Powers (1972) "Pharmacokinetics of chloramphenicol in domestic animals". *Am.J.Vet.Res.* 33:2259-2265.

Davis, L.E. & Neff-Davis, C. (1974)"Dosage regimens of chloramphenicol in domesticated animals".*Journal of South African Veterinary Medical Association* 45:77-79.

De Backer, P.; M. Debackere & De Corte-Baeten, K. (1978). "Plasma levels of chloramphenicol after oral administration in calves during the first weeks of life". *J.Vet.Pharmacol.Therap.* 1:135-140.

De Backer P.; M.Debackere. (1979)."Comparative study of chloramphenicol absorption in calves after oral, intraruminal and intra-abdominal administration".*J.Vet.Pharmacol.Therap.* 2:195-202.

De Corte-Baeten, K. & M. Debackere (1975) "Chloramphenicol plasma levels in horses, cattle and sheep after oral and intramuscular administration". *Zentralblatt fur Veterinar Medizin, A*, 22:704-712.

De Corte-Baeten, K. & M.Debackere (1976) "Ausscheidung von chloramphenicol in der milk nach oraler und parenteraler applikation bei laktierenden rinderu". *Deutsche tierarztliche wochenschrift* 83:231-233.

Denslow, N.D. and T.W. O'Brien. (1978) "Antibiotic susceptibility of the peptidyl transferase locus of bovine mitochondrial ribosomes". *Eur.J.Biochem.* 91:441-448.

Doern, G.V.; J.H. Jorgensen; C. Thornsberry; D.A. Preston; T. Tubert; J.S. Redding L.A. Maher. (1988) "national collaborative study of prevalence of antimicrobial resistance among clinical isolates of *Haemophilus influenzae*". *Antimicrob.Agents Chemother.* 32:180-185.

Dolci, E.D.; and M.J. Brabec. (1978). "Antagonism by chloramphenicol of carbon tetrachloride hepatotoxicity examination of microsomal cytochrome P-450 and lipid peroxidation". *Exp.Mol.Pathol.* 28:96-106.

- Dost, H. (1949) "El aclaramiento renal". *Klin.Wochenschr.* 27, 257-264.
- Dotter, A.; R.Kroker and D.Arnold. (1990). "The pharmacokinetics of chloramphenicol in plasma and saliva of dairy cows". *J.Vet.Pharmacol.Therap.* 13:81-85.
- Duval, J. and C. J. Soussy (1980) *Manual de antibioticoterapia.* Trad.Cast. Toray-Masson. S.A. Barcelona.
- Ehrlich, J.; R.R. Barte; R.M. Smith; D.A. Josbyn; P.R. Burkholder (1947) "Chloromycetin a new antibiotic from a soil actinomycete". *Science* 106:417.
- Ehrlich, J.; D.Gottlies; P.R. Burkholder; L.E. Anderson and T.G. Prindham. (1948). "Streptomyces venezuelae, N. sp., the source of chloromycetin". *J.Bacteriol* 56:467-477.
- El Ramli, A.H. (1950). "Chloramphenicol in typhoid fever". *Lancet* 1:618-620.
- Ely y Petersen (1941) "Inhibición de la eyección de la leche por la liberación de adrenalina.
- English, P.B. and A.A. Sea Right. (1961) "Plasma and tissue concentrations of chloramphenicol in the pig". *Aust.Vet.J.* 37:9-13.
- Fabiansson, S.; T. Nilsson; J. Backstrom. (1976). "Tissue concentrations of chloramphenicol after intramuscular injection in pigs". *J.Sci.Food Agric.* 27:1156-1162.
- Ferrari, V. (1984) "Salient features of thiamphenicol. Review of clinical pharmacokinetics and toxicity". *Sex. Transm.Dis.* 11(4):336-339.
- Ferrari, A.F.; B.E. Murphy (1987) "Implementación de un Programa de calidad de leche desde la industria". Conferencia. Jornadas Internacionales de calidad de leche. Sociedad Argentina de Buiatría. Argentina.
- Finegold, S.M. (1984) "Susceptibility of anaerobic bacteria to thiamphenicol". *Sex.Transm.Dis.* 11(4):430-1.
- Finland, M. (1970) "Changing ecology of bacterial infection as related to the antibacterial therapy". *J.Infect.Dis.* 122:419-431.
- Franceschinis, R. (1981) "Drug utilization data for chloramphenicol and thiamphenicol in recent years". In: Najean Y, Tagnoni G.; Yunis A.A. (ed) *Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy.* Raven Press, New York.
- Franceschinis, R. (1984) *International Symposium on thiamphenicol and sexually transmitted disease.* Act. December, vol 11, 4.

- Fradson, R.D. (1966) "Anatomy and physiology of farm animals". Lea & Febiger pp 407-408.
- Frohli, P.; Ch. Graf and K. Rhyner. (1984) "Thiamphenicol induced bone marrow suppression as a therapy of myeloproliferative diseases". Blut. 49:456-463.
- Fuglesang, J.; T. Bergan. (1982) "Chloramphenicol and thiamphenicol". Antibiotics and chemotherapy". 31: Pharmacokinetics (31). Volume Editor H.Schonfeld pp 1-21.
- Fukui, H.; Y. Fujihara and T. Kano. (1987) "In vitro and in vivo antibacterial activities of florfenicol, a new fluorinated analog of thiamphenicol against fish pathogens". Fish Pathology 22 (4) 201-207.
- Furman, K.I.; H.J. Koornhof; T.A. Kilroe-Smith; R. Landless and R.G. Robinson. (1976) "Peritoneal transfer of thiamphenicol during peritoneal dialysis". Antimicrobial Agents and Chemotherapy vol 9 (4):557-560.
- Gaffney, D.F. and T.J. Foster. (1978) "Chloramphenicol acetyltransferase determined by R plasmids from Gram-negative bacteria". J.Gen.Microbiol. 109:351-358.
- Gale, E.F.(1963) "Mechanisms of antibiotic action". Pharmacol. Rev. 15:481.
- Gardner, F.H.(1991) "Chloramphenicol: a dangerous drug?". Acta-Haematol. 85(3):171-172.
- Garrod, L.P.; H.P.Lambert and F. O'Grady. (1981) "Antibiotics and chemotherapy" 5th Ed. Churchill Livingstone, London.
- Getty, R. (1989) "Anatomía de los animales domésticos". Ed. Salvat. 5ta. Ed. pg 1053-1057.
- Gibaldi, M.; R. Nagashima; G. Levy (1969) "Relationship between drug concentration in plasma or serum and amount of drug in the body". J.Pharm.Sci. 58:193-197.
- Gibaldi, M. (1977) Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetic" 29 ed., Lea & Febiger, Filadelfia.
- Gibaldi, M.; D. Perrier (1982) Pharmacokinetics. Marcel Dekker Inc. New York.
- Glazco, A.J. (1966) "Identification of chloramphenicol metabolites and some factors affecting metabolic desposition". Antimicrob. Agents Chemother. 1, 655-665.
- Gollin, J.I.; D.Kaye and W.M.O'Leary (1969) "Serum lipids in infection". N.Engl.J.Med. 281-1086.
- Golstein, A. (1949) "The interations of drug and plasma proteins"

Pharmacol.Rev. 1:102-165

Goodman Gilman A. and L. Goodman. (1991) Las Bases farmacológicas de la terapéutica".8va Ed. Ed. Medica Panamericana, pg 1091-1095.

Goto, S. and S. Kawahara (1966). "Antibiosis of thiophenicol". Chemotherapy, 14:435.

Groothius, D.G. and M.E.B. Werdler. (1980)"Factors affecting the absorption of ampicillin administered intramuscularly in dwarf goats". Res.Vet.Sci. 29:116-117.

Gross, B.J.; R.V. Branchflower; T.R. Burke; D.E.Less; L.R.Pohl (1982) "Bone marrow toxicity in vitro of chloramphenicol and its metabolites". Tox.Applied.Pharmacol. 64:557-565.

Grove, D.C.P. and W.A. Randall (1955) "Assay Methods of Antibiotics". A Laboratory Manual, Cap V.

Gruhzit, O.M.; R.A. Fiskens; T.F. Reutner & E. Martino. (1949). "Chloramphenicol (chloromycetin), an antibiotic. Pharmacological and pathological studies in animals". Journal of clinical investigation, 28:943-952.

Guillot, P.; D. Mourot (1987) "Biodisponibilités commerciales de chloramphenicol chez les bovins adultes.Influence du volume injecté et du nombre de points d'injection". Rec.Méd.Vét, 163 (1):49-52.

Guillot, P.; P. Sanders and D. Mourot (1988a)"Etude pharmacocinetique d'une association chloramphenicol-oxytetracycline chez le bovine". Rec.Méd.Vét. 164(8-9):661-665.

Guillot, P.; P. Sanders; and D. Mourot (1988b)"Etude pharmacocinétique du chloramphenicol chez le lapin". Ann.Rech.Vét. 19:27-33.

Habel, R.E. (1970) "Guide to the dissection of domestic ruminants". 2nd Ed. Ithaca, New York, pp 75.

Hahn, F.E.; P. Gund. (1975) "A structural model of the chloramphenicol receptor site. In, Drug Receptor Interactions in Antimicrobial Chemotherapy". Vol I (Drews, J. and F.E. Hahn, eds). Springer-Verlag, New York pp 245-266.

Halpert, J.; R.A. Neal (1981) "Inactivation of rat liver cytochrome P-450 by the suicide substrates parathion and chloramphenicol". Drug Met.Rev.12:239-259.

Hammond, S.M. & P.Lambert.(1972) "Antibiotics and antimicrobial action". Institute of biology's studies in biology, Nº 90 Edward Arnold. London.

Hansten, P. D. (1979). "Drug Interactions" 4th Ed. Lea & Febiger, Philadelphia.

- Hara, H.; M. Kohsaki; K. Noguchi; K. Nagai. (1978). "Effect of chloramphenicol on colony formation from erythrocytic precursors". *Am.J.Hematol.* 5:123-130.
- Hash, J.A. (1972) "Antibiotic mechanisms". In Elliott, H.W.; R. Okun and R. George. *Annual Review of Pharmacology*". Annual Review, Inc. Palo Alto 12:35.
- Herzog, C. (1976). "Chemotherapy of typhoid fever: a review of literature". *Infection* 4:166.
- Hird, J.F.R.; A. Knifton (1986) "Chloramphenicol in veterinary medicine". *The Veterinary Record* 119:248-250.
- Ingall, D. and J.D. Sherman. (1970) "Chloramphenicol". In Kagan, B.M. *Antimicrobial Therapy*. W. B. Saunders Co, Philadelphia, 61.
- Janbon, M.; A. Bertrand; F. Michel. (1966). "Sur l'antibiotherapie de la fièvre thyfoide. Commentaires de 90 cas traités par thiamphenicol". *Presse.Med.* 74:151.
- Jaffery, A.A. (1982) "Disposition pharmacokinetics of chloramphenicol in sheep". Research Tesis, Department of pharmaceutics, Faculty of pharmacy, University of Karachi, p.50.
- Javed, I.; M. Nawaz; M. Ahmed; Z.V.Rehman and B.H Shch. (1984) "Pharmacokinetics, renal clearance and urinary excretion of chloramphenicol in goats". *Pakistan Vet.J.* 4(3): 135-141.
- Jawetz, E.; J.L. Melnick; E. Adelberg. (1983). "Microbiología Médica". 15a Ed. Trad. Cast. Edit. El Manual Moderno, S.A.
- Jimenez, J.J.; M.Isildar; A.A. Yunis (1987)"Bone marrow damage induced by chloramphenicol may be mediated by its bacterial metabolites". *Blood* 70:1180-1185.
- Johannes, B.; K.H. Korfer; J. Schad; I. Ulbrich. (1983) "Measurement of chloramphenicol residues in edible tissues". *Archiv. fur lebensmittel hygiene* 34 (1) 1-7.
- Jusko, W.J. and Gibaldi, M. (1972) "Effects of change in elimination on various parameters of the two-compartment open model". *J.Pharm.Sci.* 61:1270-1273.
- Kaltwasser, J.P.; B. Simon; E. Werner; W. Stille; H.J. Becker (1974) "Untersuchung zur hamatoxizitat von thiamphenicol". *Drug Res.* 24:190-195.
- Kauffman, R.E.; M.C. Thirumoorthi; J.A. Buckley; M.K. Aravind and A.S. Dajani. (1981). "Relative bioavailability of intravenous chloramphenicol succinate and oral chloramphenicol palmitate in infants and children". *J.Pediatr.* 99, 963-967.
- Kayser, F.H. and J.Wurst (1974) "Resistance of Gram positive bacteria to chloramphenicol/thiamphenicol occurrence and genetic

- basis". Post grad.Med.J. 50 (5):79-83.
- Keck, G. (1978) "Metabolisme des médicaments et des toxiques" Le Point Vétérinaire 7 (35):15-36.
- Keck, G. (1981) "chloramphenicol"antibiotique a risque?". Rec.Méd.Vét. 157(6):507-513.
- Keen, P.M. (1979) "Pharmacokinetics of antimicrobial agents in the dog and cat". In Yoxal A.T.; Hird J.F.R. (ed) Pharmacological basis of small animal medicine. Blackwell Scientific Publications pp 53-62.
- Keiser, G.; P. Bolli; V. Buchegger (1972) "Hamatologische nebenwirkungen von chloramphenicol und thiamphenicol" Schweiz Med. Wochensh 102:1595-1598.
- Keiser, G. (1974a)"Cooperative study of patients treated with thiamphenicol. Comparative study of patients treated with chloramphenicol and thiamphenicol".PostGrad.Med.J. 50:132-145.
- Keiser, G.; V. Buchegger (1974b)"Hematological side effects of chloramphenicol and thiamphenicol". Helv.Med.Acta 37:265-278.
- Khan, N.; R.T. Marshall. (1963) "Inhibitory effects of milk and casein on five antibiotics". J.Dairy Sci. 52:895 (abstr).
- Kitoh, K.; T. Nagan; N.Seto; M.Tomoeda (1981) "Comparative studies on the mechanisms of chloramphenicol activation responsible for aplastic anemia". In: Najean, Y.; Tagnoni, G.; Yunis, A.A. (ed) Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy, Raven Press, New York.
- Klingerew, B.van; J.D.A. Van Embden; M. Dessenskroom. (1977). "Plasmid-mediated chloramphenicol resistance in Haemophilus influenzae". Antimicrob.Agents Chemother. 11:383-387.
- Klotz, I.M. (1973) "Physicochemical aspects of drug-protein interaction : a general perspective". Ann. N.Y.Acad.Sci. 226:18-35.
- Knifton, A. (1987) "The responsible use of chloramphenicol in small animal practice. I: Pharmacological considerations". J.Small Anim.Pract. 28:537-542.
- Knight, A.P.(1981) "Chloramphenicol therapy in large animals". Journal of American Veterinary Medical Association 178:309-310.
- Kohler, E.; Klaer, U.; Meyer, F.P.; Walther, H. (1991) "Quantitative chloramphenicol detection in serum and cerebrospinal fluid of infants with bacterial meningitis". Kinderarztl-Prax; 59 (1-2):38-43.
- Kong-DO Goh (1979). "Chloramphenicol and chromosomal morphology".J.Med. 10:159-166.

Kramer, P.W.; R.S. Griffith; R.L. Campbell. (1969). "Antibiotic penetration of the brain: a comparative study". J. Neuro-Surg. 31:295-302.

Krishna, G.; I. Aykac and D. Siegel (1981)"Recent studies on the mechanisms of chloramphenicol activation responsible for aplastic anemia". In Safety Problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy. Ed. Najean J. et al, pp 5-16. Raven Press, New York.

Kroker, R. (1985) "The pharmacokinetic behaviour of chloramphenicol in liver-damaged mini-pigs". J.Vet.Pharmacol.Therap. 8:82-87.

Kume, B.B. and R.C. Garg. (1986)"Pharmacokinetics and bioavailability of chloramphenicol in normal and febrile goats". J.Vet.Pharmacol.Therap. 9:254-263.

Kunin, C.M.; M. Finland (1960) "Absorption and urinary excretion of chloramphenicol and analogs, thiocymethin and u-15,442 in normal men". Proc.Spc.Exp.Biol.Med. 103:246-250.

Kunin, C.M. (1965) "Inhibitors of penicillin binding to serum proteins". J.Lab.Clin.Med. 65:416-431.

Kunin, C.M. (1966) "Clinical pharmacology of the new penicillins: I. The importance of serum protein binding in determining antimicrobial activity and concentration in serum". Clin.Pharmacol.Ther. 7:166-188.

Labie, Ch. (1981) Dispositions législatives destinées a éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait". Rec.Méd.Vét. 157(2): 161-167.

Ladage, C.A. (1979) "The development of a new injectable anti liver fluke compound". Thesis, State University of Utrecht.

Ladage, C.A.; A. van Walstijn and H.A. Riesen (1980) Comparative macroscopic evaluation of muscle damage in rats and cattle after intramuscular administration of same commercially available injectable medicines". In 'Trends in Veterinary Pharmacology' A.S.J.P.A.M. van Miert; J. Frens and F.W. van der Kreek, editors Elsevier, Amsterdam & New York.

Lamothe, P.; J.C. Panisset; R. Malo; Y.Couture. (1982). "Bioavailability of chloramphenicol in cattle: variation with the number of injection sites and the concentration of the pharmaceutical preparation". Can.Vet.J. 23:269-271.

Laplassotte, J.; M. Brunaud. (1961) "Recherches experimentales sur le thiophénicol: activité antibactérienne, concentrations humorales, élimination. Comparaison avec le chloramphenicol". Therapie 16:101-108.

Laurence, D.R.; P.N. Bennett. (1980) "Clinical Pharmacology". 5th

Ed. Churchill Livingstone, London.

Lavy, E.; G. Ziv; A. Glickman and Z. Ben-Zvi. (1991) "Single-dose pharmacokinetics of thiamphenicol in lactating goats". 5th Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology. Copenhagen Denmark. Quarterly Research J. (supp 87)pp 99-102.

Lavy, E.; G. Ziv; S. Soback; A. Glickman and M. Winkler. (1991) "Clinical pharmacology of florfenicol in lactating goats". 5th Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology. Copenhagen Denmark. Quarterly Res.J. (supp 87) pp 133-136.

Leinati, L. (1948) "Compendio de anatomía patológica de los animales domésticos". pg. 569-586.

Lery, N.; J. Descotes; J.C. Eureux (1978) "A review of chloramphenicol-induced blood disorders". Vet.Hum.Toxicol. 20:177-181.

Le Talec, J.Y. (1981) "Actualités bibliographiques a propos du traitement des mammites et de la détection des résidus d'antiinfectieux dans le lait". Rec. Méd.Vet. 157(2):225-236.

Liereman, P.S.; T.J. White and W.V.Shaw. (1976) "Chloramphenicol, an enzymological microassay". Antimicrob.Agents.Chemother 10:347-353.

Ling, G.V.; A.L. Ruby. (1978) "Chloramphenicol for oral treatment of canine urinary tract infections". J.Am.Vet.Med.Assoc. 172:914-916.

Litter, M. (1986). Farmacología Experimental y Clínica. 7ma Ed. Ed. El Ateneo. pp 1546-1561.

Lodola, E.; F. Marca (1960) "Blood levels and urinary and biliary elimination of thiophenicol in man in comparison with chloramphenicol". G.Ital.Chemioter. 11:130-140.

Mac Diarmid, S.C. (1983). "The absorption of drugs from subcutaneous and intramuscular injection sites". Veterinary Bulletin 53:9-23.

Malgalhaes, M. (1987) "Penicillinase producing Neisseria gonorrhoeae in Recife, Brazil". Rev.Microbiol 18(3):229-234.

Martin, A.R. (1977). "Antibiotics". In. Wilson, C.; O. Gisuld; R.F. Textbook of organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 7th Ed. J.B. Lippincott Co, Philadelphia, 269.

Maximow, A. and W. Bloom (1960) "Tratado de histología", pg.659-668.

Mc Cracken, G.H.; J.D. Nelson; S.L. Kaplan; G.D. Overturf; W.J.

Rodriguez and R.W. Steele. (1987) "Consensus report: antimicrobial therapy for bacterial meningitis in infants and children". *Pediatr.Infect.Dis.J.* 6:501-505.

Mc El Roy, I.W. and Gos, H. (1941) *Journ. Nutrition* 21, 163, 404.

Mc Whae, J.A.; Chang, J.; Lipton, J.H. (1992) "Drug-induced fatal aplastic anemia following cataract surgery". *Can.J.Ophthalmol.* 27(6):313-315.

Meitoe and Turner (1948) *Teorías sobre la iniciación de la lactación.*

Mercer, H.D.; J.N.Geleta; E.J. Schultz et W.N. Wright (1970) "Milk-out rates for antibiotics in intramammary infusion products used in the treatment of bovine mastitis: relationship of somatic cells counts, milk production level and drug vehicle". *Am.J.Vet.Res.* 31:1549-1560.

Mercer, H.D.; J.N.Geleta; R.A.Baldwin et W.Shimoda (1976) "View point and current concepts regarding accepted and tried products for control of bovine mastitis". *J.A.V.M.A.* 169:1104-1114.

Mercer, H.D.; G.E. Heath; P.E. Long; D.H. Showalter; T.E.Powers. (1978) "Drug residues in food animals. I. Plasma and tissue kinetics of chloramphenicol in young cross-bred swine". *J.Vet.Pharmacol.Ther.* 1:19-36.

Mercer, H.D. (1980). "The comparative pharmacology of chloramphenicol". *J.Am.Vet.Med. Assoc.* 176:923-924.

Meulemans, A.; C. Manuel; J. Mohler; A. Roncoroni; M. Vulpillat. (1981) "Determination of thiamphenicol in serum and cerebrospinal fluid with high-pressure liquid chromatography". *J.Liq.Chromatogr.* 4(1):145-154.

Milhaud, G. et J.M. Person (1981) "Evaluation de la toxicité des résidus d'antibiotiques dans le lait". *Rec.Méd.Vét.* 157 (2):179-185.

Milhaud, G. (1985) "Les résidus de chloramphenicol et leur toxicité". *Ann.Rech.Vét.* 16:133-148.

Miller, A.M.; L. Bueno; A.A. Yunis (1978). "Selective inhibition of mouse erythroleukemia by thiamphenicol and chloramphenicol". Abstract, American Society of Hematology, San Francisco.

Montesano, R. et L.Tomatis (1977) "Les cancérrogènes chimiques". *Lyon Med* 238 (14):107-117.

Moss, S.; A.J. Frost. (1984) "The resistance to chemotherapeutic agents of *Escherichia coli* from domestic dogs and cats". *Aust.Vet.J.* 61:82-84.

Mourot, D.; S. Loussouarn (1981) *Sensibilité des ferments*

lactiques aux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire".
Rec. Méd.Vét. 157(2)175-177.

Mulhall, A.; J.D. Louvois and R. Hurley (1983). "Chloramphenicol toxicity in neonates. Its incidence and prevention". Br. Med.J. 287:1424-1427.

Nahata, M.C. (1987) "Serum concentrations and adverse effects of chloramphenicol in pediatric patients". Chemotherapy 33:322-327.

Najejan, Y.; G. Tagnoni and A. A.Yunis. (1981) "Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol". Raven Press 333-469.

Nau, H.; F. Welsch; B.U. Rolf; J. Lange. (1981) "Thiamphenicol during the 1st trimester of human pregnancy:placental transfer in vivo, placental uptake in vitro inhibition of mitochondrial function". Arch. Toxicol 48 (2):15-18.

Neu, H.C.; K.P.Fu.(1980) "In vitro activity of chloramphenicol and thiamphenicol analogs". Antimicrobial Agents and Chemotherapy pp 311-316.

Nijhof, W. and A.M. Kroom (1974) "The interference of chloramphenicol and thiamphenicol with the biogenesis of mitochondrial in animal tissues: a possible clue to the oxidation". Postgrad. Med.J. 50:53-59.

Nijhof, W.; P.K. Wierenga (1978). "On the effects of thiamphenicol and chloramphenicol on nucleic acid and protein synthesis in rabbit bone marrow cells in vivo and in vitro". Experientia 35:686-688.

Nijhof, W. and P.K. Wierenga. (1980). "Thiamphenicol as an inhibitor of early red cell differentiation". Physiol.Chem.Bd. 361 (5): 1371-1379.

Nilsson-Ehle, I; G. Kahlmetr; P. Nilsson-Ehle. (1979) "Determination of chloramphenicol in serum and cerebrospinal fluid with high pressure liquid chromatography". J. Antimicrob.Chemother. 4:169-176.

Nouws, J.F.M.; G. Ziv.(1978) "Pre-slaughter withdrawal times for drugs in dairy cows" . J.Vet.Pharmacol.Therap. 1:47-56.

Nouws, J.F.M. and G. Ziv. (1978b)"A study of chloramphenicol distribution and residues in dairy cows". Tijdschrift voor Diergeneeskunde 103:725-735.

Nouws, J.F.M.; G. Ziv. (1979). "Serum chloramphenicol levels and the intramuscular bioavailability of several parenteral formulations of chloramphenicol in ruminants". Vet.Q. 1:47-58.

Nouws, J.F.M. (1981) "Tolerances and detection of antimicrobial residues in slaughtered animals". Arch.Lebensmittelhyg. 32:103-

110.

- Nouws, J.F.M.; G. Ziv. (1982) "Pharmacological aspects of chloramphenicol administration by the intramammary route to lactating dairy cows". *Vet.Q.* 4:23-31.
- Nouws, J.F.M.; T.B. Vree; J. Holtkamp; M. Baakman; F. Driessens and P.J.M. Guelen. (1986). "Pharmacokinetic, residue and irritation aspects of chloramphenicol sodium succinate and a chloramphenicol base formulation following intramuscular administration to ruminants". *The Veterinary Quarterly* 8 (3):224-232.
- Okubo, H. (1981). "The hematologic adverse reaction experience with chloramphenicol in Japa. In: Najean Y., Tagnoni, G.; Yunis, A.A. (ed) Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy". Raven Press, New York.
- Otten, H.; M. Plempel; W. Siegenthaler. (1975) *Antibiotika-Fibel*, 4; Auf 1 (Thieme, Stuttgart).
- Page, S.W. (1991a) "Chloramphenicol I. Hazards of use and the current regulatory environment" *Aust. Vet.J.* 68(1):1-2.
- Page, S.W. (1991b) "Chloramphenicol III. Clinical pharmacology of systemic use in the horse". *Aust.Vet.J.* 68(1):5-8.
- Pascoe, R.R. (1972). "Further observations on *Dermatophilus* infections in horses". *Aust.Vet.J.* 48:32-34.
- Pazdemik, T.L. and Corbett, M.D. (1979). "Effects of chloramphenicol reduction products on hemopoietic precursor cells in vitro". *Pharmacology* 19, 151.
- Pepin, G. (1981) "Temps d'attente pour le lait après utilisation d'antibiotiques". *Rec.Méd.Vét.* 157(2):205-211.
- Penny, R.H.C.; C.H. Carlisle; C.N.Prescott et al (1967) "Effects of chloramphenicol on the haemopoietic system of the cat". *Br.Vet.J.* 123:145-153.
- Pfenninger, J.; H. Furrer; M. Furst; J. Vogt; H. Widmer. (1977). "Thiamphenicol in treatment of *Haemophilus influenzae* meningitis". *Helv.Paediat.Acta.* 32:207-216.
- Pien, F.D.; R.D. Williams and K.L.Vosti. (1975). "Comparison of broth and human serum as the diluent in the serum bactericidal test". *Antimicrob.Agents.Chemother.* 7:113-114.
- Piffaretti, J.C.; Y. Froment. (1978). "Binding of chloramphenicol and its acetylated derivatives to *Escherichia coli* ribosomal subunits". *Chemotherapy* 24:24-28.
- Pilloud, M. (1973). "Pharmacokinetics, plasma protein binding and dosage of chloramphenicol in cattle and horses". *Res.Vet.Sci.*

15:231-238.

Plomp, T.A.; K.M. Schalkhauser; R.A.A. Maes. (1979). "Concentration of thiamphenicol in the human prostate and testis". *Chemotherapy*. 25:254-260.

Powers, T.E.; K.J. Varma and J.D. Powers (1988) "Clinical Pharmacology of a new antibiotic for veterinary Medicine: florfenicol". *Veterinary pharmacology toxicology and therapy in food producing animals. 4th Congress of The European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology held in Budapest.*

Pratt, W.B.; R.Fekety. (1986). *The antimicrobial drugs*. New York, Oxford University Press .

Price, K.E.; Gallian, M.J.; Heather, C.D.; Luther, H.G. (1955-1966) "The influence of milk and other media on antibiotic sensitivity of mastitis organisms". *Antibiotic.Annu.* 753-762.

Quéinnec, G.; R.Babile; R.Darré; H.M.Berland et J.Espinasse (1975) "Induction a'anomalies chromosomiques par le furoxone ou le chloramphenicol". *Rev.Méd.Vét.*126(12):1611-1626.

Rasmussen, F. (1966). "Studies on the mammary excretion and absorption of drugs". Copenhagen, Carl Fr. Martensen .

Rasmussen, F. (1971). "Excretion of drugs by milk". In. *Hand Book of experimental Pharmacology*, vol 28. Part. 1. Brodie, B.B. and J.R. Gillette, editors. Springer, New York, N.Y. 390-402.

Rasmussen, F. (1980) "Tissue damage at the injection site after intramuscular injection of drugs in food producing animals". In 'Trends in Veterinary Pharmacology' A.S.J.P.A.M. van Miert; J.Frens and F.W. van der Kreek editors, Elsevier, Amsterdam & New York.

Ravizzola, G.; A. Carenzi; N.Manca; P.Peretti. (1984). "In vitro antibacterial activity of thiamphenicol". *Chemiotherapy*. 3(3) 163-166.

Rebstock, M.C.; H.M. Brooks jr.; Q.R. Bartz. (1949) "Chloramphenicol (chloromycetin) IV. Chemical, studies *J.Am.Chem.Soc.* 71:2458-2462.

Reiche, R.; M. Mulling and H.H. Frey. (1984) "Pharmacokinetics of chloramphenicol in calves during the first week of life". *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 3:95-106.

Reller, L.B. and C.W. Stratton. (1977). "Serum dilution test for bactericidal activity: II. Standardization and correlation with antimicrobial assays and susceptibility test". *J.Infect.Dis.* 136:196-204.

Ridway, G.L.; D. Felmingham; G. Mumtaz; M. O'Hare. (1984). "Activity of thiamphenicol against chlamydia trachomatis and

- Neisseria gonorrhoeae". Sex Transm.Dis. 11(4):432-434.
- Riegelman, S.; J.C.K. Loo; M.Rowland. (1968) "Concepto de volumen de distribución y posibles errores en la evaluación de este parámetro". J.Pharm.Sci. 57:128-133.
- Rigdon, R. H.; G. Crass et N. Martin (1954) "Toxicity of chloramphenicol in ducks". Arch. Pathol. 58, 85.
- Riggs, J.K. (1940) Journ.Nutrition, 20, 491.
- Rolinson, G.N. and R. Sutherland. (1965) "The binding of antibiotics to serum proteins". Br.J.Pharmacol 25:638-650.
- Rose, J.L.; H.K. Choi; J.J. Schntag. (1977) "Intoxication caused by interaction of chloramphenicol and phenytoin". J.A.M.A. 237:2630-2631.
- Roussy, P.; J. Reiffers; A. Broustet; A. Boisseau; C. Boisseau; C. Beraud. (1978). "Insuffisance medullaire on thiamphenicol". Deux observations.Nouv.Press.Méd. 7:2073.
- Rowland, M.; L. Z. Benet; G.G. Graham. (1973) "Clearance concepts in pharmacokinetics". J.Pharmacokinet.Biopharm. 1:123-136.
- Rudman, D.; T.J. Bixler and A.E. Del Río (1971). "Effect of free fatty acids on binding of drugs by bovine serum albumin, by human serum albumin and by rabbit serum". J.Pharmacol.Exp.Ther. 176:261-272.
- Rutgers, L.J.E.; A.S.J.P.A.M. van Miert; J.F.M. Nouws and C.A.M. van Ginneken, (1980). "Effect of the injection site on the bioavailability of amoxycillin trihydrate in dairy cows". J.Vet.Pharmacol.Therap. 3:125-132.
- Salan,A. (1987) "Mastitis Bovina: enfermedades de la ubre y su control en Israel". Rosenbusch Técnica:3-41.
- Samuriwo, E.; Van Duin, C.T.; Van Miert, A.S. (1990) "Oral chloramphenicol in dwarf-goats influence of vasopressin on its absorption and effect of diet on its biodegradation in ruminal fluid samples". J.Vet.Pharmacol.Ther. 13(4):408-414.
- Sanders, P.; P.Guillot and D.Mourot. (1988) "Pharmacokinetics of a long-acting chloramphenicol formulation administered by intramuscular and subcutaneous routes in cattle". J.Vet.Pharmacol.Therap. 11:183-190.
- Schmidt, G.H.; L.D. Van Vleck. (1976). Bases científicas de la producción lechera". Editorial Acribia.
- Schmitt-Graff (1981). "Chloramphenicol-induced aplastic anemia terminating with acute non lymphocytic leukemia". Acta Haematol (Basel) 66:267-268.

- Schuck, D.; A.H. Naduorm Ikov; A.J. Grafne Herov. (1978). "The influence of ethacrymic acid, hydrochlorothiazide, and clopamide on the renal excretion of chloramphenicol and its metabolites". *Int. J.Clin. Pharmacol. Biopharm.* 16:217-219.
- Sedman, A.J.; J.G.Wagner (1976) "Cstrip a fortran IV computer programma for obtaining initial poliexponential parameter estimates". *Journal of pharmaceutical Sciences* 65, 1006-1010.
- Shaw, W.V. (1971) "Comparative enzymology of chloramphenicol resistance". *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 182:234-242.
- Shaw, W.V.; A.G.W.Leslie". (1991) "Chloramphenicol acetyltransferase". *Ann.Rev.Biophys.Chem.* 20:363-386.
- Shu, X.O.; M.S.Linet; R.N.Gao; L.A. Brinton; F. Jin and J.F. Fraumeni. (1987)"Chloramphenicol use and childhood leukemia in Shanghai". *Lancet* 2 : 934-937.
- Siddique, I.H.; Loken, K.I.; Hoyt, H.H.(1965) "Antibiotic residues in milk transfered from treated to untreated quarters in dairy cattle". *J.A.V.M.A.:* 146-150.
- Signorini, G.C.; L.Bonanomi; A. Longo (1986). "Farmacocinética emática del tiamfenicol nel bovino, pp 311-315. Istituto di Clinica Médica Veterinaria, Università di Parma. Laboratori Ricerche Zambon. Farmaceutici Sp.A Bresso (Milano).
- Sisodia, C.S.; R.H.Dunlop; V.S. Gupta; L.Taksas. (1973a). "A pharmacologic study of chloramphenicol in cattle". *Am.J.Vet.Res.* 34:1147-1151.
- Sisodia, C.S.; V.S. Gupta; R.H.Dunlop; O.M.Radostits (1973b) "Chloramphenicol concentrations in blood and milk of cows following parenteral administration". *Canadian Veterinary Journal* 14:217-220.
- Sisodia, C.S.; L.L. Kramer; V.S. Gupta; D.J. Lerner; L. Taksas. (1975). "A pharmacological study of chloramphenicol in horses". *Can.J.Comp.Med.* 39:216-223.
- Sisodia, C.S.; C. Bus . (1980) "Pharmacotherapeutics of chloramphenicol in veterinary medicine". *JAVMA* vol 176 NQ 10 (2): 1069-1071.
- Skinnider, L.F.; F.N. Ghadially. (1976). "Chloramphenicol-induced mitochondrial and ultrastructural changes in hemopoietic cells". *Arch. Pathol.Lab.Med.* 100:601-605.
- Slater, T. F. (1982) "Free radicals as reactive intermediates in tissue injury". In, *Biological Reactive Intermediates II: Chemical mechanisms and biological effects* (Snyder, R.; Parke, D.V.; Kocsis, J.J.; Jollow, D.J.; Gibson, G.G. and Witmer, C.M.; eds) Plenum Press, New York, pp 575-589.

- Strom-Kruyswijk, J.H. van Der; H.N. Gend van; R. Kommerij. (1983) "Testing for excretion of chloramphenicol in milk by fully-automated sample-treatment liquid chromatography". Preliminary communication Tijdschrift voor Diergeneeskunde 108 (4):145-147.
- Suarez, C.R.; Dw, E.P. (1992) "Chloramphenicol toxicity associated with severe cardiac dysfunction". *Pediat.Cardiol.* 13(1):48-51.
- Suhrland, L.G.; A.S. Weisberger (1963) "Chloramphenicol toxicity in liver and renal disease". *Archs.Interm.Med.* 112:747-754.
- Suh, B. and W.A.Craig. (1978). "Effect of free fatty acids (FFA) on protein binding of penicillins". *Clin.Res.* 26:296.
- Sugihara, Jun-Ichi. (1978). "Experimental studies on bile secretion:effects of several antibiotics on bile secretion in rats". *Med.J.Kobe Univ.* 40 (2):107-118.
- Tanner, V. and A. Nuethrich. (1985)"Pharmacokinetics of chloramphenicol in cows after intramuscular application". *Veterinary Research Comm.* 9:25-34.
- Torres Moreno, A. (1965)"El sistema mamario bovino y su funcionamiento". *Gaceta Veterinaria XXVII N^o 180 al 182.*
- Torres Moreno, A.(1965b)"La mastitis bovina". *Revista de Medicina Veterinaria.* vol 147 (2):134-138.
- Turk, D.C. (1977). "A comparison of chloramphenicol and ampicillin as bacterial agents for *Haemophilus influenzae* type B". *J.Med.Microbiol.* 10:127-131.
- Tzanakaki, G.; L. Maurommati; E. Tzelepi; S. Kolyva; E. Fragouli (1989). "Serological classification in relation to auxotypes, plasmid contents, and susceptibilities to antimicrobials of PPNG and non PPNG strains isolated in Greece". *Genitourin.Med.* 65(3):171-176.
- Uesugi, T.; M.Ikeda; R. Hori; K.Katayama; T. Arita. (1974). "Metabolism of thiamphenicol and comparative studies of its urinary and biliary excretion with chloramphenicol in various species". *Chem.Pharm.Bull. Tokyo* 22:2714-2722.
- Uges, D.R.A. and R. Schootstra. (1987). "Changed pharmacokinetics under the influence of age". *Pharm.Weekb. (Sci)*9:50-55.
- Van Der Lee, J.J.; J.F.M. Nouws and F.W.R.Bloemendal. (1982). "Physicochemical methods for pharmacokinetic and residue analysis of chloramphenicol and degradation products in dairy cows". *J.Vet.Pharmacol.Therap.* 5:161-175.
- Varma, K.J.; B.S. Paul; R.C. Gupta (1980). "A pharmacology study of chloramphenicol in *Bubalus bubalis* II". *J.Vet.Pharmacol.Therap.* 3:157-160.

Varma, K.J.; P.E. Adams; T.E.Powers; J.D. Powers and J.F.Lamendola. (1986) "Pharmacokinetics of florfenicol in veal calves". *J.Vet.Pharmacol.Therap.* 9:412-425.

Wagner, J.G. (1983). "Farmacocinética clínica". Ed. Reverté S.A. Barcelona.

Watson, A.D.J. (1972) "Chloramphenicol plasma levels in the dog, a comparison of oral, subcutaneous and intramuscular administration". *J.Small Animal Practice* 13(3):147-152.

Watson, A.D.J. (1977) "Chloramphenicol toxicity in dogs". *Res.Vet.Sci.*23:66-69.

Watson, A.D.J. et D.J. M'Adlaton (1978) "Chloramphenicol toxicosis in cats". *Am.J.Vet.Res.* 39(7):1199-1203.

Watson, A.D.J. (1979a) "Effect of ingesta on systemic availability of chloramphenicol from two oral preparations in cats". *Journal of Veterinary Pharmacological Therapy* 2:117-121.

Watson, A.D.J. (1980) "Further observations on chloramphenicol toxicosis in cats". *Am.J.Vet.Res.* 41:293-294.

Weisberger, A.S.; S. Wessler; L.V. Avioli. (1969). "Mechanisms of action of chloramphenicol". *J.A.M.A.* 209:97.

Weistein, L. (1975) "Antimicrobial agents. In the pharmacological basis of therapeutics". Eds.Goodman, L.S. & Gilman, A. 5th ed. Mac Millan New York.

Werner, R.; A. Kollak; D. Nierhaus; G. Schreiner; K.H. Nierhaus. (1975). "Experiments on the binding sites and the action of some antibiotics which inhibit ribosomal functions. In, *Drug Receptor Interactions in Antimicrobial Chemotherapy* vol I (Drews, J. and Hahn, F.E.; eds.) Springer-Verlag, New York, pp 217-234.

Wheeldon, L.W.; A.L. Lehninger. (1966). "Energy-linked synthesis and decay membrane proteins in isolated rat liver mitochondria". *Biochemistry* 5:3533-3545.

White, A.I. (1971) "Antibiotics". In Wilson, Co.; O. Bisuold and R.F. Doerge. *Text book of organic medicinal and Pharmaceutical Chemistry.* 6th Ed. J.B. Lippincott, Co, Philadelphia, 343.

Willet, H.P. (1983). "Acción de los agentes quimioterápicos". In. Joklik, W.; H.P. Willett and D.B. Amos. *Ziwwer Microbiología,* 17a Ed. Trad. Cast. Edit. Médica Panamericana, Buenos Aires, 235.

Woodward, T.E. and C.R. (1958) "Cloromicetina (cloranfenicol)". Trad. Cast. *Medical Encyclopedia,* Inc. New York.

Woodward, K.N (1991) "Hypersensitivity in humans and exposure to veterinary drugs". *Vet.Hum.Toxicol.* 33(2):168-172.

Wright, W.W.; L.C. Harold. (1960) "Antibiotic residues in milk". J.A.V.M.A. 137:525-533.

Yamaoka, K.; T. Nakagawa; T. Uno. (1978) "Application of AKAIKE'S Information Criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations". J. Pharmacokinet. Biopharm. 6:165-175.

Yunis, A.A. (1969)"Drug-induced bone marrow injury".Adv.Int.Med. 15:357-376.

Yunis, A.A.; V.S.Smith; A. Restupo (1970) "Reversible bone marrow suppression from chloramphenicol". Arch.Intern.Med. 126:272-275.

Yunis, A.A.; D.R. Manyan; A.A. Arimura (1973)"Comparative effect of chloramphenicol and thiamphenicol on DNA and mitochondrial protein synthesis in mammalian cells". J.Lab.Clin.Med. 81:713-718.

Yunis A.A.; M.A Gross. (1975) "Drug induced inhibition of myeloid colony growth: protective effect of colony-stimulating factor". J.Lab.Clin.Med 86:449-504.

Yunis, A.A.; A.M. Miller; Z.Salem; G.K. Armura (1980a) "Chloramphenicol toxicity:pathogenic mechanisms and the role of the p-NO₂ in aplastic anemia". Clin.Toxicol. 17:359-373.

Yunis, A.A.; A.M. Miller; Z.Salem; M.D. Corbett; G.K. Armura (1980b)."Nitroso-chloramphenicol: possible mediator in chloramphenicol induced aplastic anemia". J.Lab.Clin.Med. 96:36-46.

Yunis, A.A. (1981) "Chloramphenicol toxicity and the role of the p-NO₂ in aplastic anemia". In Safety Problems Related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy, Ed. Najean, J. et al. pp 17-30. Raven Press, New York.

Yunis, A.A. and K.J. Varma. (1987) Personal communication.

Yunis, A.A. (1988) "chloramphenicol relation of structure to activity and toxicity". Ann. Rev. Pharmacol.Toxicol. 28:83-100.

Ziv, G.; E. Bogin; F.G. Sulman. (1972) "Blood and milk levels of chloramphenicol in normal and mastitic cows and ewes after intramuscular administration of chloramphenicol and chloramphenicol sodium succinate". Zbl.Vet.Med.A. 20:801-811.

Ziv, G.; S. Gordin; G. Bachar; S. Bernstein. (1973). "Concentration and persistence of antibiotics in milk following intramammary infusion in cows". Refuah Vet. 30:85-100.

Ziv, G.; F.G. Sulman. (1973) "Penetration of lincomycin and clindamycin into milk in ewes". Brit.Vet.J. 129:83-91.

Ziv, G.; E.Bogin; F.G. Sulman (1973a)"Blood and milk levels of

chloramphenicol in normal and mastitic cows and ewes after intramuscular administration of chloramphenicol and chloramphenicol sodium succinate". Zentralbl.Veterinaermed A. 20:801-811.

Ziv, G.; F.G. Sulman. (1974) "Distribution of aminoglycoside antibiotics in blood and milk". Res.Vet.Sci. 17:68-74.

Ziv, G.; S. Gordin; G. Bechar.(1974) "Mode of transfer of antibiotics from treated to non treated quarters in dairy cows". Am.J.Vet.Res. 35(5):643-647.

Ziv, G. and F.G. Sulman. (1975)"Absorption of antibiotics by the bovine udder". J.Dairy Sci. 58:1637-1644.

Ziv, G. (1975) "Pharmacokinetic concepts for systemic and intramammary antibiotic treatment in lactating and dry cows". In: Proc. I.D.F. Seminar on Mastitis control; Dodd, F.H.; Griffin, T.K.; Kingwill, R.G. editors International Dairy Federation, Brussels, Belgium, 314-340.

Ziv, G.; Gordin, S.; Bechar, G. and Bernstein, S. (1976) "Binding of antibiotics to dry udder secretion and to udder tissue homogenates". Br. Vet. J. 132: 318.

Ziv, G. (1978) "Practical pharmacokinetic aspects of mastitis therapy, Animal health products, D.C.Monkhouse, Washington (USA):32-66.

Ziv, G. (1980) "Practical pharmacokinetic aspects of mastitis therapy; 1. Parenteral treatment; 2.Practical and therapeutic applications; 3. Intramammary treatment". Veterinzky Medicine/ Small Animal Clinician 277-290, 469-474, 657-670.