

**FARMACOCINETICA Y TOXICOLOGIA
DE NEOMICINA Y PAROMOMICINA
EN OVINOS**

POR

CARLOS E. LANUSSE

DIRECTOR

JORGE O. ERRECALDE

CATEDRA DE FARMACOLOGIA
FACULTAD Cs. VETERINARIAS
U.N.C.P.B.A.

CATEDRA DE FARMACOLOGIA
FACULTAD Cs. VETERINARIAS
U.N.L.P.

1986

INDICE

CAPITULO I	INTRODUCCION	1
1.1.	Prólogo	1
1.2.	Objetivos del presente estudio experimental . . .	2
1.2.1.	Objetivo general.	2
1.2.2.	Objetivos particulares.	2
CAPITULO II	REVISION BIBLIOGRAFICA	4
2.1.	Antibióticos aminoglucósidos.	4
2.1.1.	Origen.	4
2.1.1.1.	Biosíntesis y producción.	5
2.1.2.	Química	6
2.1.3.	Mecanismo de acción	8
2.1.4.	Espectro antibacteriano	9
2.1.5.	Resistencia bacteriana.	13
2.1.6.	Farmacocinética	19
2.1.6.1.	Absorción	19
2.1.6.2.	Distribución.	20
2.1.6.3.	Metabolismo y excreción	22
2.1.7.	Indicaciones, dosis y vías de administración. .	23
2.1.7.1.	Combinación con otras drogas.	27
2.1.8.	Toxicidad	28
2.1.8.1.	Nefrotoxicidad.	29
2.1.8.2.	Bloqueo neuromuscular	33
2.1.8.3.	Depresión cardiovascular.	35
2.1.8.4.	Toxicidad vestibular y auditiva	36
2.1.8.5.	Toxicidad por tratamientos locales.	38
2.1.8.6.	Otras manifestaciones tóxicas.	41
2.1.9.	Interacción con otras drogas.	43
2.1.10.	Perspectivas futuras	44
2.2.	Conceptos de farmacocinética.	45
2.3.	Fundamentos del método biológico.	46
CAPITULO III	MATERIALES Y METODOS	47
3.1.	Animales experimentales	47
3.1.1.	Examen clínico y medicación previa.	47
3.1.2.	Examen de laboratorio	47
3.1.2.1.	Control hematológico.	47
3.1.2.2.	Determinación del tiempo de protrombina . . .	47

3.1.2.3. Control serológico.	48
3.1.2.4. Control urinario.	48
3.2. Método biológico para determinación de concentra- ciones de antibióticos en suero	49
3.2.1. Materiales.	49
3.2.2. Preparación del medio de cultivo.	50
3.2.3. Preparación del inóculo	50
3.2.4. Preparación de soluciones patrones de neomicina y paromomicina.	50
3.2.5. Siembra del inóculo en el medio de cultivo.	51
3.2.6. Aplicación de las soluciones patrones o mues- tras séricas al medio de cultivo.	51
3.2.7. Incubación.	51
3.2.8. Características de la difusión, formación de zo- na de inhibición y lectura de los halos	51
3.3. Estudio farmacocinético	52
3.3.1. Materiales.	52
3.3.2. Preparación de la droga	53
3.3.3. Administración de la droga.	53
3.3.4. Obtención de muestras sanguíneas.	54
3.3.5. Extracción del suero. Conservación.	54
3.3.6. Determinación de halos por método biológico	55
3.3.7. Determinación de concentraciones de antibió- ticos	55
3.3.8. Parámetros farmacocinéticos: conceptos gene- rales y metodología del cálculo	56
3.3.8.1. Graficación aritmética.	56
3.3.8.2. Graficación semilogarítmica	56
3.3.8.3. Obtención del punto de pseudoequilibrio	56
3.3.8.4. Determinación del modelo compartimental y su ecuación matemática	57
3.3.8.5. Extrapolación de la fase β	58
3.3.8.6. Extrapolación de la fase α . Cálculo de resi- duales.	58
3.3.8.7. Tiempo medio.	58
3.3.8.8. Determinación de microconstantes farmacociné- ticas	59
3.3.8.9. Cálculo del volumen del compartimiento cen- tral.	59
3.3.8.10. Cálculo del volumen de distribución.	61
3.3.8.11. Clearance corporal	61
3.3.8.12. Biodisponibilidad.	61
3.3.9. Parámetros cinéticos calculados	62

3.3.10. Comparación entre parámetros farmacocinéticos.	63
3.4. Estudio toxicológico.	63
3.4.1. Materiales.	63
3.4.2. Control electrocardiográfico.	64
3.4.3. Control ruminográfico.	64
3.4.4. Control hematológico.	65
3.4.5. Control serológico y de tiempo de protrombina.	65
3.4.6. Control clínico.	66
3.4.7. Administración de la droga. Obtención de muestras sanguíneas.	66
3.5. Diseño de planes terapéuticos.	67
3.5.1. Materiales.	67
3.5.2. Métodos.	68
3.5.2.1. Cálculo de dosis.	68
3.5.2.2. Corroboración práctica.	69
CAPITULO IV RESULTADOS	70
4.1. Animales experimentales	70
4.1.1. Control clínico	70
4.1.2. Examen de laboratorio	70
4.1.2.1. Control hematológico.	70
4.1.2.2. Tiempo de protrombina	71
4.1.2.3. Control serológico.	71
4.1.2.4. Control urinario.	72
4.2. Método biológico: resultados expresados en halos de inhibición	73
4.2.1. Halos para diluciones patrones en agua y suero. Coeficiente de correlación. Pendiente. Comparación.	73
4.2.2. Halos para muestras séricas y diluciones patrones. Regresión y obtención de concentraciones en microgramos.	73
4.3. Estudio farmacocinético	74
4.3.1. Concentraciones séricas obtenidas	74
4.3.2. Parámetros farmacocinéticos	81
4.3.2.1. Neomicina intravenosa	81
4.3.2.2. Neomicina intramuscular	81
4.3.2.3. Neomicina subcutánea.	82
4.3.2.4. Paromomicina intravenosa.	82
4.3.2.5. Paromomicina intramuscular.	83
4.3.2.6. Paromomicina subcutánea	83
4.3.2.7. Comparación entre parámetros farmacocinéticos	83
4.4. Estudio toxicológico.	96

4.4.1. Neomicina.	96
4.4.1.1. Parámetros basales.	96
4.4.1.1.1. Control clínico	96
4.4.1.1.2. Control electrocardiográfico.	96
4.4.1.1.3. Control hematológico.	99
4.4.1.1.4. Control serológico y tiempo de protrombina.	99
4.4.1.2. Concentraciones séricas de neomicina.	100
4.4.1.3. Manifestaciones clínicas de toxicidad. Correlación con concentraciones séricas de neomicina	103
4.4.1.4. Modificaciones electrocardiográficas durante la prueba tóxica; su correlación con las concentraciones séricas de neomicina	108
4.4.1.5. Controles hematológicos y serológicos durante la prueba tóxica.	109
4.4.2. Paromomicina.	113
4.4.2.1. Parámetros basales.	113
4.4.2.1.1. Control clínico	113
4.4.2.1.2. Control electrocardiográfico.	113
4.4.2.1.3. Control hematológico.	114
4.4.2.1.4. Control serológico y de tiempo de protrombina.	114
4.4.2.2. Concentraciones séricas de paromomicina	115
4.4.2.3. Manifestaciones clínicas de toxicidad. Correlación con las concentraciones séricas de paromomicina.	115
4.4.2.4. Modificaciones electrocardiográficas durante la prueba tóxica; su correlación con las concentraciones séricas de paromomicina.	121
4.4.2.5. Controles hematológicos, serológicos y de tiempo de protrombina durante la prueba tóxica aguda.	124
4.5. Diseño de planes terapéuticos	124
4.5.1. Neomicina	124
4.5.1.1. Vía intravenosa	124
4.5.1.2. Vía intramuscular	126
4.5.1.3. Vía subcutánea.	127
4.5.2. Paromomicina.	127
4.5.2.1. Vía intravenosa	127
4.5.2.2. Vía intramuscular	128
4.5.3. Corroboración práctica.	129
4.5.3.1. Concentraciones séricas obtenidas	129

CAPITULO IV DISCUSION	132
5.1. Estudio farmacocinético.	132
5.2. Diseño de planes terapéuticos.	136
5.3. Estudio toxicológico	138
CAPITULO VI CONCLUSIONES.	146
6.1. Estudio farmacocinético.	146
6.2. Diseño de planes terapéuticos.	147
6.3. Estudio toxicológico	147

RESUMEN

SUMMARY

AGRADECIMIENTOS

BIBLIOGRAFIA

A MIS PADRES

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.1.- PROLOGO

Bajo el nombre de aminoglucósidos (AMG) se encierra un grupo de drogas con importante actividad antimicrobiana, que poseen características químicas, farmacocinéticas, toxicológicas y de espectro antibacteriano en común, y que, probablemente, comparten un mismo mecanismo de acción.

La estreptomicina, aislada en el año 1944, es la más antigua del grupo y su descubrimiento le siguió en importancia / al de la penicilina, principalmente porque ya estaba comprobada la ineficacia de ésta sobre gérmenes Gram negativos.

Además de la estreptomicina, componen el grupo una serie / de compuestos de origen natural: neomicina, gentamicina, kanamicina, dihidroestreptomicina, paromomicina, sisomicina y / otros más modernos de origen semisintético como amikacina, / tobramicina, netilmicina, dibekacina y habekacina.

Si bien algunas de estas drogas han sido muy difundidas en medicina veterinaria, se carece aún de pautas farmacológicas que avalen científicamente la utilización de muchas de ellas. Tal es el caso de neomicina y paromomicina (que serán las / drogas bases del presente plan experimental), como también / amikacina, tobramicina y lógicamente los compuestos más modernos.

Como se apreciará a través de la lectura de este trabajo, / son los AMG un grupo de antibióticos de especial utilidad en medicina veterinaria, y que requieren un más acabado conocimiento de su comportamiento cinético y toxicológico, para a-

provechar al máximo sus cualidades terapéuticas.

1.2.- OBJETIVOS DEL PRESENTE ESTUDIO EXPERIMENTAL

1.2.1.- Objetivo General

Realizar el estudio farmacocinético y toxicológico de / las drogas neomicina y paromomicina en ovinos adultos normales y diseñar planes terapéuticos, en función de la concentración inhibitoria mínima, acordes con los resultados/ farmacocinéticos obtenidos.

1.2.2.- Objetivos Particulares

- Estudiar todas las variables farmacocinéticas de neomi- / cina y paromomicina en ovinos, cuando son administradas / por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea en di- / ferentes experimentos.

- Determinar la biodisponibilidad de neomicina y paromo- / micina cuando son administradas por las vías intramuscular / y subcutánea en ovinos.

- Calcular la dosis de ataque (D_a) y dosis de manteni- / miento (D_m) para establecer correctos y prácticos planes / terapéuticos para ovinos, basados en los resultados farma- / cocinéticos obtenidos, cuando neomicina y paromomicina son / administradas por las vías intravenosa, intramuscular y / subcutánea.

- Corroborar prácticamente la eficacia de los planes di- / señados, estudiando las concentraciones plasmáticas obteni- / das cuando la neomicina es administrada por vía intramuscu- / lar.

- Determinar el margen de seguridad y las manifestacio- / nes tóxicas agudas en ovinos, tras la administración de /

neomicina y paromomicina, por infusión intravenosa cada /
15 minutos, en pruebas diferentes.

- Correlacionar las concentraciones plasmáticas de neo-/
micina y paromomicina con la aparición de sintomatología /
tóxica.

CAPITULO II

REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1.- ANTIBIOTICOS AMINOGLUCOSIDOS

Es el objetivo de este capítulo presentar una actualización bibliográfica general del grupo de antibióticos aminoglucósidos (AMG), de manera de contar con un sólido aval teórico, que nos permita una más completa y sencilla interpretación de los resultados experimentales obtenidos en el presente trabajo.

2.1.1.- Origen

La mayoría de los antibióticos de este grupo son de origen natural, obtenidos de la fermentación de cultivos de actinomicetos del suelo, del género *Streptomyces* y otros del género *Micromonospora* (gentamicina) (37).

Así por ejemplo, la estreptomicina fue aislada por Waksmán (1944), a partir del *Streptomyces griseus* (79), la neomicina (1949) del *Streptomyces fradiae* y la paromomicina (1958) del *Streptomyces rimosus*, forma *paromomycinus* (28,37,147).

A partir de estos aminoglucósidos naturales se han obtenido derivados semisintéticos de gran importancia terapéutica; así, por modificación de kanamicina se obtuvieron tobramicina (1967) y amikacina (1972) (21) y, recientemente dibekacina, habekacina y los llamados polideoxikanamicinas (195). Por modificación de sisomicina se obtuvo la netilmicina (184).

Estos compuestos semisintéticos son el resultado de la

búsqueda de drogas que, con menor toxicidad (21), resistan también a las enzimas inactivadoras de AMG presentes en / gérmenes resistentes (21,194,195).

2.1.1.1.- Biosíntesis y producción: La producción de AMG incluye: 1) fermentación aeróbica del actinomiceto correspondiente, 2) filtración del caldo de cultivo y 3) extracción y purificación del antibiótico (21).

La fermentación se lleva a cabo en grandes recipientes que contienen un medio nutritivo líquido que aporta carbón, nitrógeno, iones inorgánicos y que puede también / llevar un regulador de pH. Los medios más comunmente utilizados están compuestos por harina de soja, dextrosa, / almidón y glucosa, variando ésto según el antibiótico a/ obtener, y necesitando en algunos casos de elementos es-pecializados, tales como levadura, licor de maíz, extracto de carne, aminoácidos y oligoelementos (37,79).

Luego, el caldo de cultivo acidificado se filtra para separar el antibiótico que posteriormente es purificado por técnicas cromatográficas, de cristalización o precipitación de sales insolubles (21).

Lo descripto, sólo muestra aspectos técnicos groseros de la producción de estos compuestos, pero por otro lado, ya se conocen gran parte de los mecanismos bioquímicos / comprometidos en la biosíntesis de estos antibióticos / (97); tal es el caso de neomicina donde se han descripto minuciosos detalles de sus rutas biosintéticas (172), como también han sido encontrados compuestos intermedios / como "neamina" y "paromamina" (97) que explican alguna / vía común con la síntesis de paromomicina y de ahí, los/ comportamientos clínicos similares entre estos dos anti-

bióticos (28).

2.1.2.- Química

Los antibióticos AMG (o aminociclitolos) son aminoazúcares unidos por enlaces glucosídicos (120,127), denominados compuestos polihidroxiolo-poliaminos, con estructuras diversas, de pesos moleculares comprendidos entre 300 y 800, pero presentando en común una elevada polaridad e hidrosolubilidad y, que se presentan comercialmente bajo la forma / de sulfatos (79,80).

La estructura central está formada por un diamino-azúcar, la 2-deoxiestreptamina que presenta uniones glicosídicas / con dos tipos de aminohexosas, lo que fundamenta la existencia de dos familias de AMG, las "kanamicinas" cuya aminohexosa es la kanosamina y las "gentamicinas", cuya aminohexosa es la garosamina; así quedan incluidos todos los / compuestos del grupo de estas dos familias, cuya estructura química e interrelaciones pueden observarse en la Fig. 2.1 (95).

Con respecto a neomicina se sabe que el producto obtenido de la fermentación sin purificar, es una mezcla de tres compuestos, neomicina A, B y C (79).

La neomicina A es la "neamina" (anillo central o 2-deoxiestreptamina); las neomicinas B y C son isómeras (28), / en donde cada una contiene "neamina" (anillo central) y / "nebiosamina" (aminohexosa) (ver Fig. 2.2).

Los preparados comerciales contienen generalmente una / combinación de neomicinas B y C, bajo la forma de sulfatos (28).

Por su parte, la paromomicina presenta una estructura / química similar a las neomicinas B y C, con el solo reem-

plazo de un grupo $-NH_2-$ por un $-OH-$ (ver Fig.2.2), lo que explica la similitud de las acciones farmacológicas de las mismas (28,79).

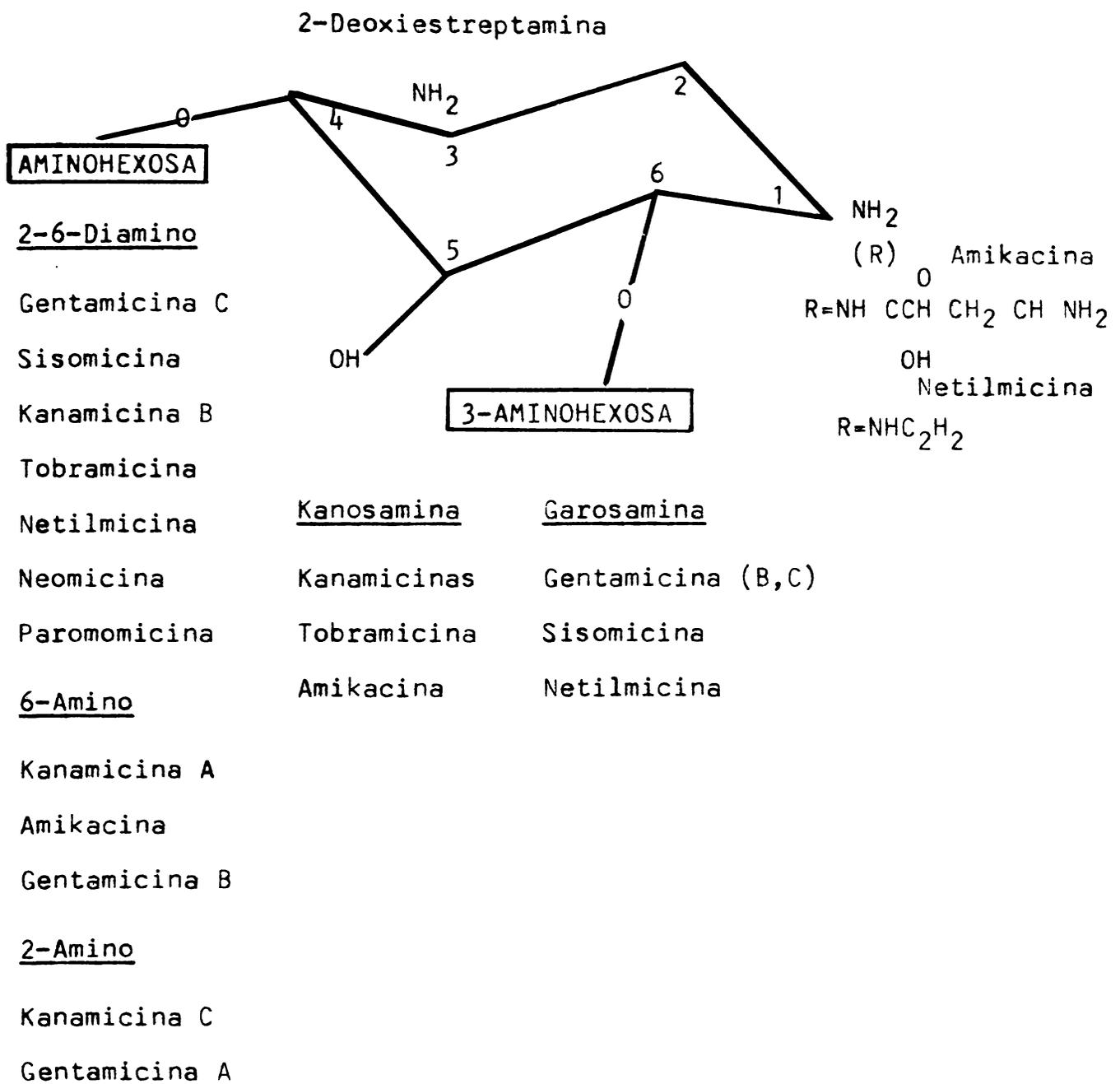


Fig.2.1: Estructura central e interrelaciones químicas de los antibióticos AMG

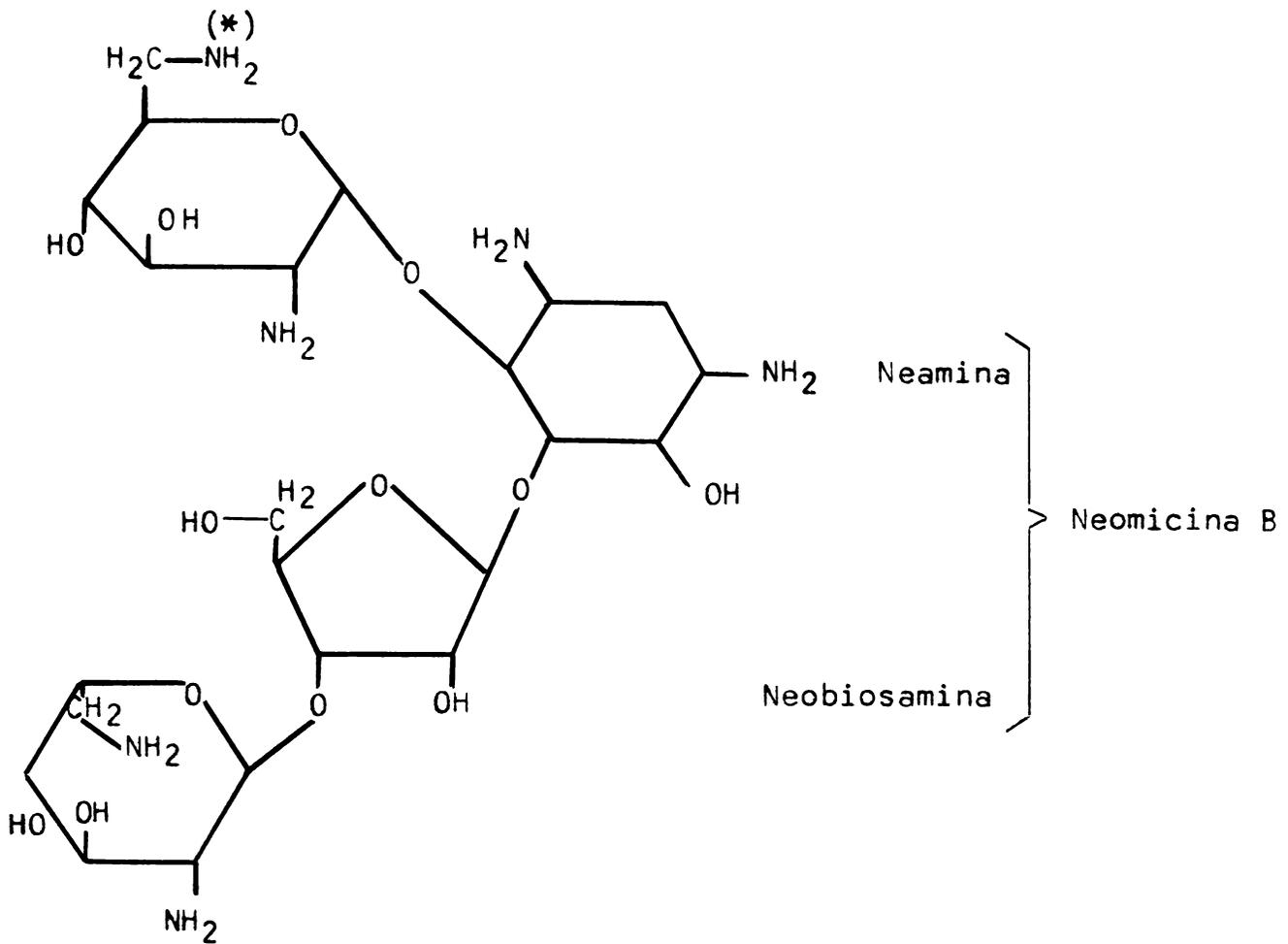


Fig.2.2: Estructura química de Neomicina B. En la Paromomicina el grupo -NH_2 - marcado (*) está reemplazado por -OH- .

2.1.3.- Mecanismo de Acción

Si bien el mecanismo de acción ha sido estudiado con profundidad, sólo para estreptomomicina (37,63), existen evidencias de que todos los AMG basan su actividad antimicrobiana en un mismo mecanismo (37,79,126).

En efecto, inhibición de la síntesis proteica (28,79,147), errores de lectura del código genético (28) y supresión fenotípica (79), han sido atribuidos a la unión irreversible/ de estos antibióticos con la subunidad 30 S del ribosoma / bacteriano (180); además se ha identificado una proteína específica, llamada P10, que sería el principal lugar de unión del antibiótico a la subunidad 30 S (137), aunque pro-

bablemente fueran varios los posibles sitios de unión molecular (61).

De esta manera, estas drogas producen un cambio conformacional que da como resultado una deficiente unión del aminoacil-ARNt con el ARNm y con esto una lectura errónea del código genético (73,82), que lleva a la posterior muerte / bacteriana por producción de proteínas no utilizables (60).

Algunos factores han colaborado en la interpretación de / estos mecanismos; por un lado, la denominada "supresión" / fenotípica que determina una dependencia de cultivos bacterianos hacia el antibiótico con el que estuvieron en contacto, es decir, que sólo crecerán en presencia de ese antibiótico que modificó su código genético (79); por otro / lado, se ha determinado que gérmenes resistentes a estreptomycinina presentaban una manifiesta alteración de la proteína P10, que imposibilitaría la unión del antibiótico al / ribosoma bacteriano (208).

Este mecanismo íntimo de acción y en definitiva la rapidez y efectividad de estos antibióticos sobre un cultivo / bacteriano, dependerá de la concentración que estas drogas logren dentro de esa célula bacteriana (95). En efecto, / han sido comprobados mecanismos de transporte celular activo, por los cuales el antibiótico pasaría y se concentraría en el interior celular, viéndose esto favorecido en fase de crecimiento bacteriano rápido, mostrando un pronto efecto bactericida (95), prácticamente irreversible (62) y, que explicaría por qué los AMG son los antibióticos más potentes (21).

2.1.4.- Espectro Antibacteriano

Los antibióticos AMG son rápidos bactericidas más que /

bacteriostáticos (21), y si bien existen diferencias individuales en cuanto al espectro antibacteriano, entre los / componentes del grupo, se puede generalizar diciendo que / son activos sobre la mayoría de las bacterias G^- y sobre / algunas pocas G^+ (23,187). Entre los gérmenes sensibles fi / guran: Escherichia coli, Klebsiella, Enterobacter, Aerobac / ter, Proteus, Salmonella, Haemophilus, Pseudomonas y los / géneros Brucella y Leptospira (57,87,117).

Entre los gérmenes G^+ sensibles figuran Staphylococcus y pocas cepas de Streptococcus (23). Estos antibióticos no / actúan sobre gérmenes anaeróbicos, hongos, Tripanosomas y Rickettsias (79).

Además se pueden hacer algunas consideraciones especia- / les en cuanto a la eficacia de algunos componentes del gru / po sobre determinados microorganismos:

a) amikacina, gentamicina y tobramicina presentan alta / efectividad sobre Pseudomonas aeruginosa (25).

b) estreptomycin tiene muy buena actividad sobre Leptos / pira y Mycobacterium tuberculosis (89,117).

c) gentamicina y tobramicina inhiben a concentraciones / muy bajas de Staphylococcus aureus, aún algunos resisten- / tes a las penicilinas (24,79,86).

d) sisomicina es fuertemente activa sobre Enterobacter / aerogenes y Proteus vulgaris (174).

e) los modernos compuestos, dibekacina y habekacina mues / tran una espectacular eficacia sobre gérmenes resistentes / a otros AMG, como Escherichia coli y Pseudomonas aerugino- / sa (124,195).

f) neomicina presenta un buen espectro de actividad (qui / zás sea uno de los AMG de mayor espectro), actuando sobre / todos los G^- descritos y sobre G^+ , como Bacillus anthra- / cis, Staphylococcus aureus, Streptococcus fecaelis y Myco-

bacterium tuberculosis (201,202). Estos gérmenes mencionados son inhibidos por concentraciones que están entre 5 y/ 10 $\mu\text{g/ml}$, siendo en la mayoría de los casos concentraciones inferiores, las necesarias para ejercer un efecto bactericida (79,202).

En líneas generales se considera para neomicina (como para la mayoría de los antibióticos del grupo) de 3 a 5 $\mu\text{g/ml}$ de suero, la concentración inhibitoria mínima (CIM) para combatir las infecciones más comunes, en que el antibiótico es recomendado en las distintas especies de animales domésticos (26), siendo esto un dato fundamental para tener en cuenta cuando, basándose en parámetros farmacocinéticos se establece un esquema terapéutico antibacteriano (9).

g) la paromomicina, que tiene características antibacterianas similares a neomicina (26), presenta además, una importante actividad amebicida (212) y tenicida (79).

Además de lo expuesto, cabe mencionar que numerosos factores del medio pueden modificar la eficacia antibacteriana de los AMG, tanto in vivo como in vitro, figurando entre los más importantes:

-pH: la actividad antibacteriana es notoriamente superior cuando el pH del medio tiende a la alcalinidad (79, / 117); así se ha corroborado una potencia entre 20 y 80 veces superior para estreptomina, actuando a pH 8 sobre bacilos G^- , con respecto a un pH de 5,8 (26).

El incremento de acidez local por destrucción de tejidos, / o la formación de abscesos pueden ser causa de disminución de la eficacia antibacteriana (79). Por esta misma razón / se ha sugerido la administración de agentes alcalinizantes en forma conjunta con AMG en la terapéutica de infecciones renales, en animales de orina francamente ácida (26).

-concentración de oxígeno: la mayoría de estos antibióti

ticos pierden actividad en medios anaeróbicos (117).

-concentración de heparina: la potencia bactericida de los AMG puede verse disminuída en medios con altas concentraciones de heparina (156). A pesar que la gentamicina / pierde actividad frente a la heparina, esto no parece tener importancia clínica, porque individuos con tratamiento anticoagulante no llegan a tener concentraciones de heparina, como para antagonizar el efecto bactericida de este antibiótico (156).

-iones bivalentes: en algunos casos la presencia de iones bivalentes en el medio de cultivo pueden disminuir la potencia antibacteriana (95,215). Esto fue comprobado con gentamicina "in vitro" (79,95,215).

Analizando estos factores encontramos que las características fisio-patológicas del mismo proceso infeccioso, exudación, anaerobiosis, disminución del pH, alta concentración bacteriana y la presencia de pus podrían en determinadas ocasiones ser una limitante importante en el efecto inhibitorio de los AMG (96); de todas maneras, estos impedimentos teóricos no tienen todavía relevancia clínica y además serían comunes a la gran mayoría de los antibióticos y quimioterápicos; por esto es lógico pensar que cuando fuera posible, debería primero realizarse la extracción quirúrgica del material purulento antes de iniciar cualquier tratamiento antimicrobiano (96).

Vemos entonces, que si bien la bibliografía más antigua clasifica los AMG como de espectro reducido (117), los autores más modernos muestran los avances en la investigación y descubrimiento de nuevos derivados y hablan de los AMG como antibióticos de amplio espectro (96,133), haciendo resaltar la importancia del efecto inhibitorio sobre es

tafilococos (96,206), como también la eficacia sobre enterobacterias resistentes que presentan los compuestos modernos (190); además una de las limitantes de espectro más importantes, como lo es la ineficacia sobre gérmenes anaeróbicos, parece tener mucho valor cuando individuos bajo tratamiento con AMG pueden mantener su flora anaeróbica oro-/faríngea o de piel en condiciones normales, lo que puede / ser muy importante cuando se realizan largos tratamientos/ antibacterianos en animales inmunodeprimidos (81,198).

2.1.5.- Resistencia Bacteriana

Las bacterias presentan resistencia, en grado variable, / a todos los antibióticos (21,79) y los AMG no escapan a esa generalidad; por el contrario, la existencia de gérmenes resistentes a los más antiguos componentes del grupo / data de muchos años (63,79,117), y ha ocupado un lugar fundamental en la interpretación de las bases bioquímicas de / la resistencia bacteriana a los antibióticos. Así, el conocimiento de éstas y sus relaciones con la estructura química de la molécula del AMG, nos ha permitido contar en la / actualidad con nuevos compuestos antimicrobianos capaces / de eludir la resistencia bacteriana (35,131).

Desde hace mucho tiempo entonces, existen pruebas concretas de resistencia a estreptomina (79), pero la pérdida / de sensibilidad de algunos microorganismos a un componente del grupo, no significa que ocurra lo mismo con los demás / (176), por ejemplo gérmenes resistentes a neomicina, estreptomina, dihidroestreptomina o paromomicina son sensibles a gentamicina (25,26).

Pero también existen casos de aparición de resistencia / cruzada entre antibióticos del grupo; por ejemplo, existen algunas cepas de Escherichia coli y estafilococos que desa

rrollan rápida resistencia a kanamicina y que a la vez, / crean resistencia a neomicina, estreptomina y gentamicina (26). En algunas ocasiones la resistencia cruzada sólo/ es parcial, lo que indicaría algunas particularidades individuales en el mecanismo de acción de algunos antibióticos del grupo (28).

Desde el punto de vista clínico, la resistencia de los / organismos coliformes a los antibióticos AMG es la más importante, sobre todo en lo que hace a estrepto y dihidroestreptomina (25,35).

Existen datos bibliográficos que muestran resultados comparativos de sensibilidad para algunos AMG, frente a gérmenes aislados de casos clínicos de campo (21); en los mis-/ mos se puede apreciar claramente, cómo al transcurrir los/ años la eficacia antibacteriana de dihidroestreptomina / va disminuyendo progresivamente, lo mismo para kanamicina, aunque no en forma tan brusca y en cambio es la gentamicina la que mantiene niveles de eficacia parejos a lo largo/ del tiempo (21).

Lo descrito sobre resistencia bacteriana se fundamenta/ en tres mecanismos distintos, que son las vías a través de las cuales las bacterias adquieren resistencia a los anti- bióticos AMG: a) mutación bacteriana; b) disminución de / permeabilidad de la bacteria; c) enzimas bacterianas inac- tivadoras.

a) Este mecanismo implica la mutación cromosómica de un/ microorganismo, como resultado de la cual se alteran las / estructuras celulares bacterianas, fundamentalmente los ribosomas (35,208), y así, los AMG no se podrán unir para e- ejercer su acción. En efecto, se han encontrado en gérmenes resistentes a estreptomina evidentes alteraciones de la/

proteína P10, uno de los principales sitios de unión de / los AMG a la subunidad 30 S ribosomal (79).

Este tipo de resistencia por mutación o "resistencia ribosomal" se da sólo para AMG del tipo estreptomicina (28), no existiendo evidencias que otros AMG pierdan su eficacia por este mecanismo (130,208); esta resistencia se da por / mutación espontánea, que implica el reemplazo de un solo aminoácido en una de las 21 proteínas que componen la subunidad 30 S, siendo ésto suficiente para que el antibiótico no se pueda unir (35,137,205).

Los microorganismos que crean resistencia a estreptomicina por este mecanismo, pueden ser sensibles a otros AMG / (35). Además, en presencia del antibiótico habría selec- / ción en favor de estos gérmenes resistentes, que se ven beneficiados por la supresión de la competencia (gérmenes / sensibles) (28,205); así en determinadas circunstancias, / el desarrollo de estos mutantes, podría hacerse dependien- / te de la presencia del antibiótico en el medio (195), sien- / do ésto muy interesante desde el punto de vista bioquímico, pero sin demasiada importancia práctica (79,205).

b) La disminución de la permeabilidad de la bacteria a / la droga, es otro mecanismo por el cual algunos gérmenes / adquieren resistencia a los antibióticos AMG (21,28,79,93). Este mecanismo es responsable de menos de un 20 % de los / casos clínicos de resistencia y los gérmenes que se hacen / resistentes a un AMG lo manifiestan con casi la totalidad / del grupo, por lo que deberán atacarse con otro tipo de / quimioterapia (87).

En condiciones normales los microorganismos sensibles, / acumulan antibiótico en su interior por un mecanismo acti- / vo de transporte, dependiente de energía (95).

Se ha visto, por ejemplo, que *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* sensibles, acumulan estrepto y gentamicina (21,94), y además que cepas resistentes presentan una / baja permeabilidad a los AMG, imposibilitando la entrada / del antibiótico en concentraciones que sean eficaces para / unirse a la subunidad 30 S y alterar la síntesis protéica / bacteriana (61,208).

c) El mecanismo más importante y más frecuente en la aparición de resistencia microbiana a los AMG, consiste en la producción de enzimas inactivadoras de estos antibióticos, por parte de las bacterias resistentes (195,214).

Estas enzimas responsables de la inactivación de los AMG están codificadas en pequeñas porciones extracromosómicas / de ADN, los plásmidos, que se autorreplican y son llamados factores R (21,175,176). Estos factores R pueden ser trans / feridos de una bacteria a otra por un proceso de conjuga- / ción (79) y son los responsables de la propagación de la / resistencia al antibiótico (21,28).

Desde el primer caso estudiado, donde se vio la resisten / cia de una cepa de *Escherichia coli* a kanamicina (184), / han aparecido variados tipos de inactivación enzimática pa / ra antibióticos AMG (28,193).

Trabajando con cepas resistentes se ha demostrado, que / cada posición modificable de la molécula del AMG, puede / ser atacada por una o varias enzimas (56,87,130). Por ejem / plo, se han identificado enzimas que pueden inactivar a / gentamicina y kanamicina, como: fosfotransferasas, acetil- / transferasas y nucleotidiltransferasas (56,79); se ha / aislado una 3-N-acetiltransferasa que inactiva a gentamici / na, pero no a tobramicina (21). También una fosfotransfera / sa, que es la responsable de la fosforilación que sufre la

paromomicina frente a gérmenes G^+ resistentes a ella (147, 196).

Sólo una pequeña cantidad del AMG es modificada por la acción enzimática sobre su estructura química, esa pequeña proporción del antibiótico alterado pasaría al interior de la bacteria y evitaría la acumulación de cantidades letales, es decir que las enzimas al alterar la droga, anularían su transporte celular y por lo tanto no habría suficiente concentración para unirse a la subunidad 30 S y ejercer su efecto (21,56).

Paralelamente con el avance en la interpretación de los mecanismos de resistencia enzimática, comienza la búsqueda de nuevos AMG, que puedan resistir la acción de las enzimas modificadoras bacterianas, y así es como surgen los modernos derivados semisintéticos (21,177,195).

Así, por modificación de kanamicina surgen amikacina y tobramicina (26,78); a partir de sisomicina se obtiene netilmicina, con el solo cambio de un grupo $-NH_2-$ por un grupo $-N-$ etil-, que le da a esta última, la protección necesaria para la mayoría de las enzimas inactivadoras de AMG, con las amplias ventajas de espectro que esto significa (98,99,129,153,184).

Otro ejemplo en este campo, lo componen los recientemente obtenidos, derivados de la kanamicina B, como la dibekacina de importante actividad frente a gérmenes resistentes (192,194), y a partir de la cual se obtiene habekacina, compuesto sintético con posibilidades de eludir el ataque de prácticamente todas las enzimas inhibitorias bacterianas, presentando una potente acción bactericida sobre G^+ y G^- , incluyendo *Pseudomonas* y distintas cepas resistentes (105,189,194); además los derivados poli-deoxikanamicinas (hexadeoxikanamicina, heptadeoxikanamicina, hexa y hepta-

deoxiamikacina), con interesantes características de resistencia enzimática y espectro (92,191,193).

Para ilustrar estos conceptos, en la Tabla 2.1 se presentan las CIM ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) para kanamicina B y algunos modernos derivados, frente a gérmenes resistentes, que nos muestran claramente la potencia inhibitoria de los nuevos compuestos (195).

En síntesis, estos compuestos representan en conjunto, un relevante avance en la utilidad de los AMG, que al incrementar su espectro, abren interesantes perspectivas terapéuticas.

De todo lo descripto se desprende la importancia que adquiere la resistencia bacteriana, desde el punto de vista clínico-terapéutico y, el papel decisivo que juega en la aparición de la misma, el esquema de tratamiento antimicrobiano recomendado. Así, la correcta elección del antibiótico, de las dosis adecuadas, a intervalos adecuados y respaldados por conocimientos farmacocinéticos reales de la droga elegida para la especie en cuestión, serán un arma fundamental para la no aparición de cepas resistentes (15, 85, 106).

Tabla 2.1:

CIM PARA ALGUNOS ANTIBIOTICOS AMG FRENTE A GERMENES RESISTENTES, EXPRESADAS EN $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Microorganismo	KM B	DBK	HBK	HXK	HXA
S. aureus Ap	50	0,78	0,39	3,13	3,13
E. coli K ₁₂ MLI629	100	0,78	0,78	50	1,56
E. coli JR225	12,5	50	0,39	1,56	0,78
P. aeruginosa H ₉	100	1,56	3,13	-	-
P. aeruginosa TI-I3	50	1,56	3,13	12,5	12,5

KM B: kanamicina B; DBK: dibekacina; HBK: habekacina; /
HXK: hexadeoxikanamicina; HXA: hexadeoxiamikacina.

2.1.6.- Farmacocinética

2.1.6.1.- Absorción: Existen coincidencias en afirmar que el comportamiento farmacocinético, es similar para todos los componentes del grupo de antibióticos AMG (14,37,54,126).

Dicho concepto está fundamentado en algunas características, que le son comunes a todos los integrantes del grupo y que son definitivas en ese comportamiento de los mismos en el organismo (9,54); en efecto, los AMG son sustancias básicas, policatiónicas de alta polaridad, elevadamente hidrosolubles, de bajo peso molecular y que forman sales estables en solución (9,31,119,158), siendo estas características las que explican la dificultad de pasaje de estos antibióticos a través de las membranas biológicas (12,14,79). Para esto, cabe sólo recordar que la fracción polar de una sustancia no es soluble en lípidos y por lo tanto estas drogas verán dificultado su paso por cualquier membrana celular (26,117,120).

De esta forma y en líneas generales, los AMG son pobremente absorbidos cuando son administrados por vía oral, manifestando así la incapacidad para atravesar el epitelio gastro-intestinal (28,80,109).

Por otro lado, estos antibióticos administrados en solución por las distintas vías parenterales, logran concentraciones sanguíneas elevadas durante cortos intervalos de tiempo (9,14,54), siendo, por lo tanto, pobre la permanencia de niveles terapéuticos en el organismo (25, 26).

Los distintos AMG son utilizados por diferentes vías parenterales, según la especie animal, existiendo datos bibliográficos sobre su administración intravenosa, in-

tramuscular, subcutánea, intratraqueal e intraperitoneal (9,26,87,112,113,162). A pesar de ésto, sólo han sido / realizados estudios farmacocinéticos completos para algunas pocas drogas del grupo y, preferentemente, para equinos (14) y caninos (10); no obstante, tenemos evidencias como para corroborar algunos conceptos teóricos en cuanto a un comportamiento cinético similar para todos los / AMG (14,25,26,138). Así por ejemplo en equino, estreptomina y kanamicina administradas por vía intramuscular/ presentaron una vida media de absorción no mayor de 20 / minutos, logrando concentraciones pico de 43 y 36 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ respectivamente, y con una importante biodisponibilidad/ con respecto a la vía intravenosa, que estuvo en 83 % para la primera y 100 % para la segunda (14).

Tenemos además resultados que indican una muy buena / absorción cuando algunos AMG son administrados por vía / intratraqueal e intraperitoneal, lográndose eficaces niveles sanguíneos en forma muy rápida (112,113,162).

2.1.6.2.- Distribución: Todas las características físico-químicas/ descriptas son las responsables de que los antibióticos/ AMG tengan serios inconvenientes para su distribución en el organismo (26,28); en efecto, su baja liposolubilidad hace que su distribución se restrinja a los líquidos extracelulares y sangre, donde se unen pobremente a las / proteínas del plasma, no llegando a 10 % según algunos / autores (21), y con valores inferiores al 40 % según otros (13).

Así, luego de administrado por vía parenteral cualquiera de los compuestos del grupo, llegará en buenas concentraciones a los flúidos extracelulares, incluidos líqui-

dos sinoviales, pleurales y peritoneales, en cambio no / se distribuirá en bilis, heces, líquido prostático y amniótico (19,21,26,33).

Difícilmente estos antibióticos podrán, en ausencia de inflamación, lograr concentraciones terapéuticas en líquidos cefalorraquídeo, ocular, articular y glándula mamaria (14,25,54,119,145). Con respecto a esta última, es importante destacar que un bajo porcentaje de una dosis terapéutica de un AMG, es eliminado por leche en una ubre sana, pero ese porcentaje se ve notoriamente incrementado en ubres enfermas (218).

Desde el punto de vista farmacocinético existe un comportamiento similar, a grandes rasgos, de estos antibióticos en las distintas especies de mamíferos (88,145,214). Así, su cinética es descripta en la mayoría de los casos por un modelo abierto de 2 compartimientos, que muestra una rápida fase de distribución seguida de una fase de eliminación, con una vida media relativamente corta y, un bajo volumen de distribución (9,14,26). Sin embargo, existen descripciones monocompartmentales para algunos / AMG en bovinos y ovinos (218). El volumen de distribución, que puede ser influenciado por muchos factores (edad, deshidratación, edemas), nos da idea de la extensión y magnitud de la distribución de una droga (10); de ahí que los AMG presenten bajos valores, por ejemplo para neomicina y kanamicina en equinos es de aproximadamente de 230 ml/kg, valor que indica que estas drogas llegaron a un 23 % del volumen total de líquido del organismo, que coincide con el volumen del líquido extracelular (10, 14). Valores similares son obtenidos con kanamicina en / perros y humanos (42), y con amikacina en terneros (54).

2.1.6.3.- Metabolismo y excreción: Después de la administración oral, la eliminación de la casi totalidad de la dosis de un AMG, se produce por materia fecal y en forma prácticamente inalterada (79,208).

Cuando la vía de administración permite que estas drogas hayan alcanzado la circulación sanguínea, la excreción se da rápidamente por orina y en forma activa (54,117,164). En efecto, los AMG son eliminados desde el organismo, casi exclusivamente por riñón (26,101); en presencia de una función renal normal, el nivel sanguíneo de droga declina rápidamente, presentando vidas medias de eliminación ($T_{1/2 \beta}$) que están entre 1 y 2,5 horas, para la mayor parte de los compuestos del grupo en las distintas especies (equinos, caninos, bovinos, humanos, y ratas), con lógicas variaciones de acuerdo a la vía de administración (10,14,138,218).

En individuos con insuficiencia renal, la vida media de neomicina y kanamicina se ven muy aumentadas, pudiendo aparecer altos riesgos tóxicos (109).

Aunque la concentración plasmática declina en cortos intervalos de tiempo, sólo una parte, que estaría entre el 60 % y 90 % de la cantidad total de droga administrada, es recobrada entre las primeras 24 y 36 horas en orina (5,157,166); ésto es el fundamento de una interesante posibilidad terapéutica en el tratamiento de infecciones renales (114,156).

Ahora bien, el remanente de droga es excretado recién entre las próximas 3 y 4 semanas post-tratamiento (5,160,166); de esta manera, se aprecia la perfecta eliminación bifásica, con un componente inicial rápido que dependería del mecanismo de filtración glomerular (ya descrito

desde hace mucho tiempo como el principal mecanismo de / excreción de AMG) (136,167,169), y otro lento, que implicaría la liberación gradual del AMG de un sitio de almacenamiento o depósito, que principalmente estaría dado / por la célula tubular proximal de la corteza renal (5, / 167,169). Esto demuestra la existencia de un mecanismo / secundario de reabsorción tubular de AMG, que ha sido / descrito para gentamicina y netilmicina (46,144,167); a demás, está comprobada la existencia para estas drogas y, probablemente para todo el grupo, de un tercer mecanismo renal de eliminación, como lo es la "secreción transtubular" (144,148).

Se ha corroborado que el sitio más importante de absorción tubular, sería la membrana apical de la célula re-nal y que estos mecanismos serían saturables y susceptibles de competencia (143,168), lo que nos da pautas para pensar en un mecanismo de transporte activo (22,110,143), aunque tampoco hay evidencias para descartar un transporte de difusión pasiva, pero en virtud de su baja liposolubilidad, éste carecería de significado en esa riesgosa concentración cortical de los AMG (101).

En resumen, estos mecanismos tubulares serían los responsables de la concentración de los AMG en la corteza / renal principalmente y, de la nefrotoxicidad característica de la mayoría de los antibióticos del grupo en las / distintas especies (101,121).

2.1.7.- Indicaciones, Dosis y Vías de Administración

Analizando el espectro antibacteriano de los AMG y sus / características generales de comportamiento en el organismo, se puede concluir, que son muchos y variados los pro- /

blemas infecciosos en que se los puede utilizar.

Una importante indicación para estos antibióticos lo / constituyen los tratamientos antimicrobianos locales, aprovechando sus características de alta polaridad y baja absorción (25,79,103). Así, administrados por vía oral se utilizan para el tratamiento de infecciones entéricas, solos o combinados con otros compuestos en preparaciones antidiarréicas, y también se indican para la supresión de / flora intestinal en profilaxis quirúrgica o en casos de coma hepático (28); además, en rumiantes, aprovechando la / misma propiedad se utilizan para la disminución de la microflora ruminal exacerbada en presencia de un cuadro de acidosis o alcalosis ruminal (26,103).

Neomicina a razón de 100 mg/kg/día, en 4 tomas diarias, / estreptomycinina o kanamicina, son las drogas más experimentadas con respecto a este tipo de tratamiento por vía oral (26).

Dentro del mismo tipo de tratamiento antibacteriano local los AMG y, especialmente la neomicina, ocupan un lugar fundamental en los tratamientos tópicos sobre ojo, oído externo y heridas contaminadas (21,26,79). Así la neomicina / es la droga de elección, por su importante espectro y baja absorción, para infecciones superficiales de córnea, conjuntiva o aparato lagrimal, siendo los preparados de soluciones acuosas los que permiten un rápido pasaje a través / del saco conjuntival (65,103,104).

Los AMG administrados por vías parenterales cumplen un / rol importante en el tratamiento de infecciones sistémicas causadas por gérmenes sensibles, pero deben ser administradas una serie de dosis y a los intervalos adecuados, según lo indique la farmacocinética de cada droga en la espe

cie a tratar (9,14); de modo que una adecuada concentración de drogas, deberá ser rápidamente establecida y mantenida en el sitio de la infección, por un correcto período de tiempo (14,15). Este concepto que es crucial en el éxito de cualquier tratamiento antimicrobiano, tiene especial significado para los antibióticos AMG, porque dosajes inadecuados o intervalos de dosis inadecuados, además de hacer inefectivo el tratamiento pueden inducir a la aparición de resistencia bacteriana y, por otro lado sobredosificaciones pueden traer aparejados problemas toxicológicos importantes (14,102).

En general los AMG se indican en todas las especies, individualmente, para combatir septicemias y distintos cuadros infecciosos causados por bacilos G^- y en forma conjunta con penicilinas para aprovechar su acción sinérgica y aumentar el espectro antibacteriano (89).

Cuando se trata de infecciones riesgosas producidas por gérmenes aeróbicos G^+ , el tratamiento con AMG debe instaurarse rápidamente (54,67); si la sospecha es un microorganismo de la familia de las enterobacterias, kanamicina, gentamicina o tobramicina serán las alternativas más importantes. Si el agente causal fuera *Pseudomonas aeruginosa*, amikacina o gentamicina serán la elección ideal (159).

Gentamicina y kanamicina son indicadas en infecciones urinarias, respiratorias y articulares en pequeños animales (67,104,114). La terapéutica con AMG en procesos infecciosos urinarios, tales como pielonefritis, nefritis y cistitis, encuentra la importante ventaja que significa un pH urinario elevado, para su potencia antibacteriana (67,88).

Las infecciones respiratorias se pueden tratar con éxito con gentamicina y neomicina, existiendo la desventaja de u

na mala penetración en el mucus bronquial cuando se las administra por vía intramuscular o intravenosa (20,146), pero logrando muy buenas concentraciones, cuando son administradas por vía intratraqueal en grandes animales (20,112,/113,211).

Con respecto a neomicina, se puede decir que su utilización parenteral es correcta, contrariamente a lo que se / cree, teniendo las lógicas precauciones de un tratamiento/ adecuado, para de esta forma aprovechar al máximo sus virtudes antimicrobianas, que la colocan entre los AMG de mayor espectro (26).

Gentamicina y amikacina se han utilizado con muy buenos/ resultados, ya sea localmente o por vía intramuscular, para tratamientos del tracto genital en yeguas (7,34,36,56,/78,87,155). En bovinos la gentamicina está indicada, aprovechando sus ventajas de espectro, para septicemias, infecciones respiratorias, urinarias, gastroentéricas y otras,/ a razón de 4 mg/kg por vía subcutánea o intramuscular, cada 12 horas y con un tratamiento de 3 a 5 días de duración (21,26).

Para el resto de los antibióticos AMG en grandes anima-/ les, y en términos generales, se recomiendan de 10 a 15 / mg/kg, con 8 a 12 horas de intervalo, cuando son adminis-/ trados por vías parenterales para combatir las infecciones descriptas (25), y en casos especiales, como lo es la indicación de estreptomina o dihidroestreptomina para el / tratamiento de leptospirosis o infecciones asociadas con / Haemophilus, la dosis debe llevarse a 25 mg/kg (25,26).

Pero estos planes de administración no son coincidentes/ entre los diferentes autores (9,170,217) y, entonces queda nuevamente en evidencia que, a pesar del rutinario uso de/

AMG en pequeños y grandes animales, se carece aún, de pautas farmacológicas (sobre todo en lo referente a farmacocinética de muchas de estas drogas en rumiantes), como para esperar resultados demasiado exitosos; y es más, existen / casos de antibióticos con comportamiento cinético conocido pero no tenido en cuenta cuando se instaura un tratamiento práctico.

2.1.7.1.- Combinación con otras drogas: Las importantes características de los AMG se ven incrementadas cuando la combinación con antibióticos β -lactámicos, permite la obtención de un sinergismo farmacológico (79,80,117).

Así, la estreptomicina en primer término y luego la mayoría de los AMG se han ido utilizando conjuntamente con penicilina G natural o últimamente, con las penicilinas semisintéticas o cefalosporinas, para lograr un mayor espectro antibacteriano, un mejor efecto bactericida y prevenir la aparición de cepas resistentes (133,182). Esta importante acción sinérgica, que permite a la combinación actuar sobre gérmenes que no son sensibles a los mismos en forma separada, sería debida a que la interacción de las penicilinas con proteínas encargadas de la síntesis de la pared celular de la bacteria, produciría un cambio en la permeabilidad de la misma, de modo que / facilitaría al AMG la penetración intracelular para ejercer su acción sobre la síntesis proteica ribosomal y así determinar el efecto bactericida (44,132,216).

De este modo la asociación se puede utilizar en severas infecciones urinarias o en cualquier septicemia producida por cepas resistentes (26,133). La combinación de AMG con cefalosporinas es recomendada en medicina humana, como de primera línea en el tratamiento de severas infec

ciones por aerobios G^- (6,133). Una importante alternativa lo constituyen la asociación de AMG con penicilinas / semisintéticas o vancomicina en la terapéutica de infecciones graves por estafilococos (107,133). Para casos de endocarditis, provocadas por *Estreptococo β hemolítico*, / la combinación más importante es la de penicilina G o ampicilina con estreptomina (56,163).

En medicina veterinaria la combinación más utilizada / es penicilina-estreptomina, conteniendo los preparados más comunes, una asociación de penicilinas de larga duración (26,182); esta formulación presenta la desventaja / de los diferentes comportamientos cinéticos que tienen, / por un lado, las penicilinas y por otro lado, el AMG, / por lo que es necesario un correcto plan terapéutico, para no perder "in vivo" las ventajas del sinergismo farmacológico (182).

Al seguir las investigaciones se ha evidenciado que además de los antibióticos β -lactámicos, otras sustancias podrían potenciar la eficacia bactericida de los AMG sobre gérmenes resistentes a ellos (77); en efecto, el alcohol linolénico y otros lípidos de cadena larga al producir cambios en la conformación estructural de la membrana plasmática, pueden permitir al AMG ingresar al interior celular y de esta manera ejercer su efecto bactericida (58,77). Esto ha sido comprobado con gentamicina, netilmicina y estreptomina sobre *Streptococcus mutans*, y otros G^+ (58,77).

2.1.8.- Toxicidad

Otra de las características compartidas por los antibióticos AMG es su toxicidad y por otro lado, una de las limitantes más importantes en su utilización (27,95).

En efecto, este grupo figura como el de mayor toxicidad/potencial entre los diferentes antimicrobianos, y si bien/ésto en medicina veterinaria tiene mucha importancia para/pequeños animales, no es tal la significancia clínica para grandes animales, por el tipo de tratamiento que en los / mismos se realiza (25,26,49).

Las manifestaciones tóxicas más importantes son: 1) Ne-/frotoxicidad; 2) Bloqueo neuromuscular; 3) Depresión car-/diovascular; 4) Toxicidad coclear y vestibular.

2.1.8.1.- Nefrotoxicidad: Los AMG pueden causar desde un leve daño renal hasta una severa necrosis tubular, dependiendo de/su dosificación, del tiempo de administración y en defi-/nitiva, de los niveles sanguíneos de la droga, que tam-/bién pueden verse incrementados por una falla renal pre-/via (32,48).

Dado que el 90 % de una dosis se elimina por filtra-/ción glomerular, una deficiencia en este mecanismo po-/dría aumentar las concentraciones del antibiótico en san-/gre, que induciría a mayor daño tubular renal, con la / consecuente menor eliminación de droga y la aparición de otras manifestaciones tóxicas (8,48,123).

De ahí la importancia de la evaluación del funciona-/miento renal, previamente a la administración de un AMG/ (25,48).

En perros se ha observado primeramente la aparición de signos de toxicidad renal antes que vestibular, cuando / estuvieron bajo prolongados tratamientos con gentamici-/na, kanamicina o neomicina (48), mientras que ésto se in-/vierte en gatos tratados con gentamicina o estreptomici-/na (48).

Cuando experimentalmente se trató terneros con neomicina por vía intramuscular, en un rango de dosis de 2,2 y/ hasta 4,5 mg/kg cada 12 horas, y con un tratamiento de / 12 días de duración, se comprobó un evidente daño renal/ (59). Dentro de esta misma experiencia se vio que animales deshidratados (casos clínicos de campo), presentan / mucho antes la aparición de notables elevaciones de la / uremia, con respecto a animales que al iniciar el tratamiento con la droga estaban en perfecto estado; en éstos, la uremia se eleva recién a los 12 días del tratamiento. De esto se deduce que el estado general, la hidratación/ del animal y el flujo sanguíneo renal son factores de mucha importancia cuando se utiliza terapéuticamente, potenciales agentes nefrotóxicos (59).

El daño renal, que inició su manifestación a los 5 / días que los animales comenzaron a recibir neomicina con el regimen descrito, fue incrementándose a lo largo de/ la experiencia. Entre las anormalidades más importantes/ encontradas figuran: presencia de cilindros granulosos,/ proteinuria, importantes incrementos de los niveles de / enzimas urinarias como γ GT (gamma-glutamyl-transpeptidasa) y AAP (alanino-amino-peptidasa) (18,64,108,178,183), y a la biopsia renal, la evidencia de degeneración y necrosis tubular (59,134). Azoemia, poliuria y polidipsia/ fueron seguidos luego por oliguria e isostenuria, que se observaron en etapas tardías de la intoxicación, previamente a la aparición de uremia y deshidratación, probablemente por disminución de la filtración glomerular y// daño en el mecanismo de concentración tubular (27,59).

Esta nefrotoxicidad común a todos los AMG, parece ser/ una consecuencia directa del transporte y acumulación de estos antibióticos por la célula tubular de la corteza /

renal, siendo la célula del túbulo proximal el sitio primario de la "injuria" renal (101), probablemente por la mayor capacidad de ésta para concentrar AMG (100).

Así se ha demostrado, que estos antibióticos altamente catiónicos pueden interactuar inicialmente con la membrana de las células de "borde de ribete en cepillo" (BBM) del túbulo proximal y específicamente esta unión estaría dada con fosfolípidos de características aniónicas (poli fosfoinositol y ácido fosfatídico) (116,165).

Luego de esta unión con las células BBM, el antibiótico es transportado por un mecanismo dependiente de energía, que podría ser una pinocitosis, hacia el interior / celular y concentrado secundariamente en los lisosomas / de la célula tubular (52).

También se ha descrito, la inhibición de una ATPasa / $\text{Na}^+\text{-K}^+$ dependiente por parte de los AMG, que podría tener / relación con su mecanismo de penetración celular (45).

Para interpretar las alteraciones bioquímicas y morfológicas que se producen luego que el AMG está concentrado en el interior de la célula renal, han sido postuladas muchas teorías (68); se menciona por un lado, que la lesión crítica estaría dada por una pérdida de la capacidad de regular el normal recambio de macromoléculas, por parte de los lisosomas y la consiguiente inestabilidad / de la membrana lisosomal (90); por otro lado, se sugiere que estos antibióticos inducirían cambios de permeabilidad en las mitocondrias, alterando los procesos de transporte que resultarían en la pérdida de la fosforilación / oxidativa, que daría origen a la posterior necrosis tubular (152).

Pero lo más concreto y demostrado es que la unión del /

AMG con los fosfolípidos aniónicos de la membrana de la célula proximal, produce alteraciones de permeabilidad y en los procesos de transporte a través de la misma, dando como consecuencia una pérdida de integridad de esa / membrana plasmática, con la consecuente alteración de / los procesos intracelulares y la posterior degeneración/ o muerte celular (188,210). Esto ocurriría porque esos / fosfolípidos cumplirían un rol muy importante en el mantenimiento de la integridad de la membrana, como barrera y en funciones de transporte (118), y así al alterarse / su metabolismo por la unión con el antibiótico se desencadenarían los cambios bioquímicos y morfológicos que evidencian la existencia de lesión tubular renal (69,128).

El avance en la investigación de la toxicología renal/ de estos antibióticos, ha permitido estudiar la inhibi- / ción de "fosfolipasas" y otras enzimas relacionadas di- / rectamente con los fosfolípidos de membrana de las células BBM, cuando están en contacto con los AMG; así esta/ inhibición de actividad enzimática de células BBM de riñón de rata, permite ordenar de mayor a menor, la potencialidad tóxica de algunas de las drogas del grupo: neomicina, gentamicina, tobramicina, amikacina, kanamicina/ y estreptomina (171).

Además de la lesión tubular, renal, últimamente se le ha dado mucha trascendencia a las alteraciones glomerulares, como integrantes del componente fisiopatológico que explica las acciones renales de estos antibióticos (47,53, 122). Estas alteraciones glomerulares están dadas por modificaciones en la ultraestructura del endotelio glomerular, por reducción del diámetro y frecuencia de los capilares fenestrados (123), y además por modificaciones de tipo funcional que responderían a un mecanismo de "feed-

back" túbulo-glomerular, mediado por el sistema renina- / angiotensina, que sería liberado también, como consecuen- / cia de efectos tóxicos agudos de estos antibióticos (53, / 185).

En resumen, los AMG serían nefrotóxicos actuando en el / glomérulo por reducción de la tasa de filtración (17,53) / y en el túbulo proximal, por inhibición de la reabsor- / ción tubular con cambios intracelulares de compleja im- / portancia, como lo es, la disminución de la actividad / proteolítica de enzimas lisosomales de estas células (53).

2.1.8.2.- Bloqueo neuromuscular: El bloqueo neuromuscular es un fe- / nómeno agudo que ocurre en algunas ocasiones, cuando una / dosis elevada de antibióticos AMG es administrada por / vía intravenosa o intraperitoneal (25,48). Se produce / así un bloqueo de la placa motora similar al que produ- / cen las drogas curarizantes, que da como resultado una / parálisis flácida de los músculos esqueléticos volunta- / rios y lo que es más importante, parálisis de los múscu- / los respiratorios que se manifiesta por episodios de dis- / nea, apnea, colapso, paresia y asfixia (26,48,65).

Los anestésicos generales, tales como éter o pentobar- / bital pueden potenciar este efecto (48,79); por ejemplo / la neomicina, es de 10 a 20 veces más efectiva en la pro- / ducción de parálisis respiratoria en perros bajo aneste- / sia con éter, con respecto a animales concientes (48).

En una experiencia, 5 perros bajo anestesia con éter / presentan como promedio, 2,5 litros de volumen respirato- / rio por minuto y luego de 4 minutos de recibir 10 mg/kg / de neomicina, este volumen cae a 0,45 litros (26,48).

En gatos se han descripto bloqueo neuromuscular, apnea

y muerte a los 15 minutos, luego de una elevada dosis de estreptomina post-quirúrgica (48). Por otro lado, existen evidencias de muertes de perros con dosis terapéuticas de estreptomina, en animales bajo anestesia con / pentobarbital (4,203).

En terneros se ha visto ocasionalmente este fenómeno / de bloqueo luego de la administración intravenosa o intraperitoneal de gentamicina, neomicina o kanamicina / (25,26). También estas manifestaciones se observaron en monos anestesiados, con la mayoría de los AMG (2).

Indudablemente la importancia clínica de esta manifestación tóxica de los AMG reside en la potenciación de la depresión respiratoria y de la relajación muscular, cuando son utilizados junto a drogas anestésicas en manobras quirúrgicas (1,181); de este modo, la utilización / de estos antibióticos previamente o poco después de la anestesia quirúrgica puede ser muy riesgosa (48,150).

El mecanismo por el cual los AMG producen este bloqueo neuromuscular, parece estar a dos niveles distintos del funcionamiento sináptico de la placa motora (4,30). Por un lado, estos antibióticos inhiben la liberación de acetilcolina desde el terminal presináptico y por otro lado, producen una disminución de la sensibilidad del receptor post-sináptico a la acetilcolina (2,150). Este / bloqueo post-sináptico es reversible por administración / de anticolinesterásicos, que permitirían que una mayor / concentración de acetilcolina tome contacto con su receptor (186); así la neostigmina a razón de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, es utilizada como uno de los antagonistas de elección ante / la presentación del cuadro tóxico (28,79,186). Sin embargo, autores más modernos le restan importancia a esto último, aduciendo que no hay acetilcolina disponible en el

espacio sináptico (142).

En cambio, el bloqueo presináptico parece ser el más / importante, y está comprobado que la inhibición de la liberación de acetilcolina respondería a una interferencia de los AMG con el ión calcio (2,26); existiría un blo- / queo a la absorción y unión del calcio con sus depósitos de membrana, y ésto daría como resultado alteraciones en el mecanismo exocitótico de la liberación de acetilcolina al espacio inter-sináptico (135,140). Esta quelación/ del ión calcio por los AMG, es corroborada porque la administración de sales de calcio revierte el cuadro de / parálisis muscular (30,74,135), usando como terapéutica la administración de clorhidrato de calcio o borogluco- / nato de calcio en dosis de 10 a 20 mg/kg, en perros y / gatos (25,48).

2.1.8.3.- Depresión cardiovascular: Todos los antibióticos AMG cau- / san bradicardia, disminución del volumen minuto cardíaco e hipotensión cuando son administrados en forma rápida y en dosis elevadas (26,48).

Esta depresión cardiovascular se da como consecuencia/ de la acción directa de estos antibióticos sobre el corazón, disminuyendo la fuerza contráctil del miocardio y además, por un efecto directo sobre el músculo liso vascular produciendo relajación del mismo, disminución de la/ resistencia periférica y caída de la presión arterial / (26,48,51).

El mecanismo responsable de estos fenómenos, que son / más manifiestos en animales anestesiados, parece ser / también, el antagonismo de la actividad del calcio por / parte de los AMG (3,4); de este modo el bloqueo del ión/

calcio no quedaría restringido a los terminales nervio-
sos somáticos (bloqueo neuromuscular), sino que también/
se daría en aquellos tejidos en cuyas membranas excita-
bles, el calcio, juega un papel importante, ya sea en e-
ventos de contractilidad muscular o liberación de neuro-
transmisores (3,4). También estas manifestaciones se pue-
den revertir por la administración de clorhidrato de cal-
cio en dosis de 10 a 20 mg/kg (48); en cambio las catecol-
aminas revierten sólo transitoriamente estos efectos he-
modinámicos (4).

Este antagonismo de los AMG por la actividad del ión /
calcio, estaría dado por la interacción de estas drogas,
policatiónicas, con sitios aniónicos de los fosfolípidos
de membrana que perturbaría la absorción y unión del cal-
cio a sus sitios de almacenamiento (2,151), quedando al-
terados todos los eventos intracelulares calcio-depen- /
dientes; así se explica la acción inhibitoria de la ho- /
meostasis del calcio por parte de estos antibióticos, /
que se ha descrito para distintas células periféricas /
como neuronas, músculo liso vascular, miocardio y que es-
tarían directamente relacionadas con el mecanismo tóxico
renal, también dependiente de una modificación de fosfo-
lípidos de membrana (4).

La depresión cardiovascular que pueden producir estos/
antibióticos, no sólo depende de una dosis elevada o de/
una rápida administración IV o IP, sino más importante//
todavía, del estado del animal que recibe esa dosifica- /
ción (25); animales con mal funcionamiento cardíaco o en
estado de toxemia serán más susceptibles (26,48).

2.1.8.4.- Toxicidad vestibular y auditiva: Administrados en dosis/
suficientes y por períodos largos de tiempo, todos los /

AMG pueden ocasionar degeneración del aparato vestibular y alteraciones auditivas de importancia (26,48,79). Este efecto neurotóxico, que está descrito principalmente para humanos, primates, caninos, felinos y terneros se debe a la acción central de estos antibióticos, a nivel / del nervio auditivo (8º par craneal), en sus ramas co- / clear y vestibular (59,72,207). Si bien experimentalmente se lo describe en grandes animales, desde el punto de vista clínico no es importante, porque la duración de / los tratamiento difícilmente sea tan prolongada como para que aparezca este tipo de toxicidad crónica (25).

Estas lesiones de ototoxicidad comprenden degeneraciones y necrosis en algunas áreas de la cóclea y el aparato vestibular (48,207). Las lesiones cocleares que se / han encontrado en perros y gatos tratados con gentamicina y estreptomina (la primera es más peligrosa para / los felinos), se manifiestan por pérdida de capacidad auditiva y presencia de áreas necróticas en la zona co- / clear (48).

Las lesiones a nivel vestibular se manifiestan primero por ataxia, que luego progresa hasta una severa incoordinación y con un nistagmus característico; puede haber émesis y en determinado momento el animal no puede mantenerse en pie por sí mismo (26,48).

Este daño vestibular parece ser irreversible, ya que / los animales que presentan ataxia, la mantienen de por / vida (48).

La degeneración vestibular y coclear ha sido observada en perros y gatos cuando se les instiló una solución de / AMG en el oído medio, demostrando ésto, un daño directo / sobre el órgano de Corti que reduce la capacidad auditi-

va (48,79).

Algunos reportes indican que los efectos ototóxicos de estos antibióticos podrían ser aditivos y que el proceso degenerativo podría comenzar, aún luego, de la última administración de AMG (48). También es evidente la mayor / sensibilidad de algunos animales a las alteraciones acústicas y además es probable que muchos animales tratados/ desarrollen una sordera parcial que difícilmente sea detectada (26,48,59), como también alteraciones vestibulares que sólo son manifiestas cuando el animal es sometido a un esfuerzo o "forcejeo" (26).

En la Tabla 2.2 se presenta una lista de dosis terapéuticas y tóxicas, como así también de los signos tóxicos/ primarios en perros y gatos, para algunos AMG comunes, / obtenidos en distintas experiencias (48).

De acá se puede deducir que generalmente la dosis tóxica es hasta 10 veces mayor que la terapéutica y debe administrarse al menos, por 2 semanas; de esta forma, trabajando con dosis correctas, los riesgos tóxicos se pueden minimizar (26,48).

2.1.8.5.- Toxicidad por tratamientos locales: A concentraciones adecuadas los AMG son muy útiles y a la vez, bien tolerados cuando son instilados en el oído externo (48,49,126). Sin embargo, si la membrana del tímpano no está intacta, estos antibióticos pueden difundir al oído medio y producir degeneraciones importantes; se ha visto que, gatos y perros instilados con soluciones saturadas de estreptomina que difundieron hasta el oído medio, provocaron destrucción de los aparatos acústico y vestibular (26,48).

Aplicando experimentalmente, gentamicina en solución /

Tabla 2.2:

DOSIS TERAPEUTICAS Y TOXICAS DE ALGUNOS AMG, CON SUS SIGNOS TOXICOS PRIMARIOS EN PERROS Y GATOS.

DROGA	Especie	Signos tóxicos primarios	Dosis	
			tóxica	terapéutica mg/kg
GENTAMICINA	Gato	- vestibular - acústica - renal - muerte	10 mg/kg durante 100 días	4,4
	Perro	- daño renal - vestibular	40 mg/kg por 15 días	4,4
KANAMICINA	Gato	- vestibular - acústica	150 mg/kg por 30 días	11
	Perro	- daño renal	200 mg/kg por 2 semanas	11
ESTREPTOMI CINA	Gato	- vestibular - acústica	50 mg/kg por 25 días	15-20
	Perro	- vestibular	200 mg/kg	25-40
NEOMICINA	Gato	- vestibular - vómitos - muerte	50 mg/kg por 5 días	11
	Perro	- renal	33-70 mg/kg por 7-14 días	11

al 10 % en el oído medio de gatos, éstos presentaron a-taxia entre los 3 y 4 días de tratamiento (48). Cuando se comparó la ototoxicidad de soluciones al 3 % de gentamicina y neomicina, respectivamente, aplicadas en el oído medio durante 30 días, se observó que la primera fue dos veces más severa siendo el daño más importante a nivel de cóclea y sáculo (48). De ésto se deduce que antes de indicar el uso de AMG topicamente, por instilación ótica, sería conveniente asegurarse que la membrana timpánica esté en perfectas condiciones.

Por otro lado, cuando los AMG se utilizan por vía oral para combatir disturbios entéricos, son poco absorbidos y por lo tanto no se presentan las manifestaciones tóxicas generales (26). Sin embargo, existen reportes de medicina humana que le adjudican a la neomicina administrada por vía oral, importantes alteraciones entéricas (49, 79, 80). Aparecen luego de tratamientos extensos, importantes cambios histológicos en el epitelio gastrointestinal con alteración en la absorción de algunas sustancias como hierro, vitamina B₁₂, xilosa y glucosa, todo lo cual se ha denominado "síndrome de mala absorción" (37, 79). Algo similar está descripto para paromomicina y otros AMG, cuando son administrados por vía oral en el hombre, presentando náuseas, vómitos, diarrea y otras alteraciones gastrointestinales (37); la aparición de superinfecciones también puede ser complicación de la terapia oral excesiva con AMG (79, 126).

Todo este tipo de complicaciones digestivas no han sido descriptos en medicina veterinaria y experiencias realizadas con neomicina en perros a dosis terapéuticas, pero por 3 semanas de tratamiento, no revelaron lesiones intestinales ni inconvenientes en la absorción de nu-

trientes (48). En ovinos administrando elevadas dosis de AMG por vía oral, se observó disminución de la secreción de enteroquinasa, como también, disminución de la motilidad de los proventrículos (48).

También carece de importancia en clínica veterinaria / la aparición de erupciones alérgicas en piel, cuando algunos AMG se aplican tópicamente (4,26).

2.1.8.6.- Otras manifestaciones tóxicas: Se ha demostrado que la / mayoría de los AMG producen una inhibición de la síntesis / protéica microsomal en células eucariotes (39,149). / Este efecto, puede observarse "in vitro" con concentraciones similares, a las que los AMG logran cuando son acumulados en los tejidos donde producen degeneraciones celulares: corteza renal y vasos perilinfáticos que bañan la membrana laberíntica (39). Esta acumulación daría como / resultado una saturación de los sitios de unión de la / membrana celular a los AMG, incremento de permeabilidad / para estas drogas y la alteración de la función celular / que de ello deriva, siendo la más importante la inhibición / de la síntesis protéica (40). Esta se daría, por una inhibición en la incorporación de aminoácidos y ha sido comprobada en células hepáticas, renales y de cerebro (38,209). En conclusión, el efecto nefro y ototóxico de / los AMG, se debería a una acumulación selectiva en esos / tejidos y la inhibición de la síntesis protéica podría / ser uno de los más importantes mecanismos celulares alterados (39).

Por otro lado, los AMG han sido reportados por muchos / autores, como productores de una supresión de las funciones de los leucocitos polimorfonucleares, cuando los mismos son incubados "in vitro" (70). Esta supresión incluí

ría disminución de la capacidad de adherencia, de la respuesta quimiotáctica y de la inhibición de estas células blancas sobre la candidiasis (70,173). A pesar de la importancia clínica que podría tener la alteración de la / función neutrofílica por estos antibióticos, la misma no pudo ser todavía comprobada "in vivo" en medicina humana cuando se utilizaron gentamicina, tobramicina, netilmicina y amikacina (197).

También alteraciones en la coagulación sanguínea son / asociadas a la toxicidad de algunos AMG (26,59). En terneros tratados por 12 días con dosis terapéuticas de neomicina, además del cuadro de toxicidad característico de esta droga, se observaron alteraciones hemorrágicas y un importante alargamiento del tiempo parcial de tromboplastina (59). Esto indica una falla en el mecanismo intrínseco de la coagulación, que probablemente sea debido a / una deficiencia del factor 3 plaquetario y que es coincidente con una falla renal (59).

Algunas modificaciones en la composición de los líquidos fetales, han sido detectadas en ovejas gestantes tratadas con AMG y otros antibióticos (125). En condiciones fisiológicas, a medida que avanza la gestación, el líquido amniótico ve incrementado sus niveles de aminoácidos/ e iones potasio, con una disminución paralela del ión sodio (26). Cuando estos animales gestantes fueron tratados con estreptomina se observó una caída en la concentración de aminoácidos y una reversión de los tenores/ de sodio y potasio en su distribución líquido amniótico-plasma (125). Esto indica una alteración en los mecanismos de transporte que rigen los pasajes de estos solutos a través del corio-alantoides; la inhibición de la síntesis protéica en las células corioalantoideas sería la ex_

plicación más lógica para estas modificaciones producidas por los AMG (125). Se trata de un hallazgo experimental para tener en cuenta en la práctica clínica, pues podría acarrear graves consecuencias en el desarrollo fetal (26,125).

2.1.9.- Interacción Con Otras Drogas

Los AMG pueden interaccionar con los antibióticos β -lactámicos dando una acción sinérgica, pero también pueden producirse antagonismos con otros antimicrobianos (79,127).

En general los agentes bactericidas, como los AMG, se antagonizan cuando se usan en forma conjunta con agentes bacteriostáticos, disminuyendo su eficacia antibacteriana. Sería conveniente entonces, no combinar en terapias antimicrobianas AMG con tetraciclinas, macrólidos, cloranfenicol o lincomicina (62,182). También pueden darse antagonismos "in vitro" o incompatibilidad, cuando se mezclan soluciones de gentamicina con penicilinas o cefalosporinas en una misma jeringa (25,26).

Varias drogas pueden interaccionar con los AMG e incrementar la toxicidad renal de los mismos (26,79). Así algunos antimicrobianos como anfotericina B, polimixina y tetraciclinas, que están relacionadas con disfunciones renales, pueden provocar graves alteraciones en el funcionamiento renal cuando se administran junto con AMG (28,182). También el metoxifluorano, un anestésico líquido volátil, posee toxicidad renal potencial por liberación de ión fluoruro, que puede magnificarse al utilizarlo con estos antibióticos.

La furosemda puede agravar el daño renal cuando se utiliza en forma simultánea con AMG (38,182). Otro diurético,

el ácido etacrínico puede potenciar la ototoxicidad de los AMG, por ser, al igual que éstos, un potente inhibidor de la síntesis protéica (38,39,40).

El bloqueo neuromuscular que producen estos antibióticos puede ser potenciado por diferentes drogas (1,28,79); los anestésicos como éter y pentobarbital y todos los agentes/relajantes musculares periféricos, de tipo curare, principalmente los que actúan como no despolarizantes en el receptor nicotínico de la placa neuromuscular, pueden potenciar la depresión respiratoria y parálisis muscular dada por estos antibióticos (48,142).

Los bloqueantes β -adrenérgicos pueden incrementar el riesgo de depresión respiratoria y apnea de los AMG (139,141); además, la cimetidina un bloqueante de los receptores H_2 a la histamina, puede producir un efecto bloqueante muscular similar al de estos antibióticos, y se ha probado experimentalmente la capacidad de producir un completo bloqueo neuromuscular, cuando ambos compuestos se potencian, aún administrados a bajas dosis (71,142). Esto es muy importante desde el punto de vista clínico, ya que la cimetidina es utilizada como tratamiento de gastritis y úlcera y que, por distintas circunstancias, podrían ir acompañadas de una terapéutica antimicrobiana (140,142).

2.1.10.- Perspectivas Futuras

Queda demostrada la utilidad de los antibióticos AMG en medicina veterinaria y la necesidad de profundizar en el conocimiento de sus comportamientos dinético (sobre todo en rumiantes) y toxicológico, para aprovechar al máximo las cualidades terapéuticas de drogas que ya son utilizadas, como también de otras mencionadas en este capítulo, que presentan perspectivas sumamente interesantes para la

clínica veterinaria.

Por otro lado, las investigaciones se deberán volcar al logro de AMG, que conservando las propiedades de los ya / existentes, permitan planes de administración más prácticos y que además no se acumulen en riñón por períodos muy / prolongados, lo que lógicamente daría importantes ventajas, tanto para sanidad como para la producción animal.

2.2.- CONCEPTOS DE FARMACOCINETICA

Farmacocinética es "el estudio de las velocidades de cambio de la concentración de fármacos y sus metabolitos en los flujos corporales, tejidos y excretas y la construcción de modelos adecuados para interpretar tales datos" (199,200).

La farmacocinética se caracteriza fundamentalmente, por la construcción de modelos adecuados que representan un sistema de compartimientos en el organismo y en los cuales se supone que se distribuye una droga, una vez que ingresó al mismo. / Un compartimiento puede ser un grupo de tejidos con características fisiológicas y físico-químicas similares (flujo sanguíneo, afinidad por fármacos) (9).

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; por su parte el modelo de 2 compartimientos es el más común dentro de los multicompartimentales y, caracteriza a una droga que se distribuye homogénea y rápidamente / en un compartimiento central (sangre, líquido extracelular / de los tejidos con alto riego sanguíneo) que más tarde, se equilibra con un compartimiento periférico (tejidos de baja / perfusión sanguínea) (9,10).

La elaboración de modelos farmacocinéticos presenta la ventaja de poder usar el razonamiento matemático, lo que permite definir varios parámetros, atribuyéndoles valores numéricos, con el objeto de aproximarse al máximo a los hechos biológicos (43).

La definición y metodología del cálculo de las diferentes/variables farmacocinéticas serán descriptas en el capítulo /referente a Materiales y Métodos, punto 3.3.8.

2.3.- FUNDAMENTOS DEL METODO BIOLOGICO

La cuantificación de las concentraciones de antibióticos /en suero del presente estudio experimental, son realizadas /por el "método biológico" o "microbiológico".

El mismo consiste en la determinación de los halos de inhibición sobre un cultivo de gérmenes conocido, en concentra-/ción conocida y estandarizada, provocados por concentracio-/nes previamente estipuladas de los antibióticos en estudio / (179). De esta forma, se elabora una curva patrón, de la que se extraen los datos de concentración de las diversas mues-/tras problema, por medio de la lectura del halo inhibitorio.

Este "método biológico" ha dado sobradas muestras de ex- /actitud, por la reiterada similitud de sus resultados con /los obtenidos por métodos químicos o cromatográficos, más /complejos y costosos (16,91) y, se lo utiliza internacionalmente para el dosaje de muchos quimioterápicos (91,111,213), ocupando la valoración de antibióticos aminoglucósidos un lugar muy especial (161,179,213).

CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1.- ANIMALES EXPERIMENTALES

Doce (12) ovinos adultos, raza Lincoln, hembras con un peso de 56 ± 8 kg, fueron utilizados para el estudio farmacocinético de neomicina y paromomicina por las distintas vías de administración.

3.1.1.- Examen Clínico y Medicación Previa

Se realizó una completa revisión clínica previa, de todos los animales que participaron de la experiencia. Además, se procedió a la desparasitación de los mismos, administrándoles Febantel (Bayverm (R) Lab. Bayer) al 2,5 %, a razón de 5 mg.kg^{-1} .

3.1.2.- Examen de Laboratorio

3.1.2.1.- Control hematológico: La sangre fue obtenida por punción/ de la vena yugular, en tubos que contenían anticoagulante de Wintrobe (oxalato de amonio-oxalato de sodio).

Además se realizó en el momento de la extracción, un / frotis sanguíneo, para establecer la fórmula leucocita- / ria.

Todas las determinaciones hematológicas se hicieron mediante las técnicas de rutina.

3.1.2.2.- Determinación del tiempo de protrombina: La sangre destinada a la determinación del tiempo de protrombina, fue re

colectada en tubos plásticos, con citrato de sodio al /
3,8 % y, se utilizó para la determinación el reactivo /
Simplastín de Laboratorios General-Diagnostics.

3.1.2.3.- Control serológico: Las muestras de sangre fueron extraí
das por punción yugular en tubos de centrifuga, sin anti
coagulante. Las muestras estuvieron libres de hemólisis/
y el suero obtenido fue procesado inmediatamente.

Los equipos utilizados para las determinaciones bioquí
micas del suero pertenecen a Laboratorios Wiener, siendo
todos ellos métodos colorimétricos, leídos en fotocolorí
metro "Spectronic 20" de Bausch & Lomb, con excepción de
gamma glutamil transpeptidasa (γ GT), creatín-fosfo-quina
sa (CPK) y glutámico dehidrogenasa (GLDH), cuyas activi
dades séricas se cuantificaron por métodos cinéticos y /
se leyeron en espectrofotómetro "Spectral 24" de Crudo-/
Caamaño.

3.1.2.4.- Control urinario: Se extrajeron muestras de orina median
te sonda Foley Nº 18 Ch; la orina fue recolectada en /
frascos perfectamente limpios y se procedió inmediatamen
te a su análisis.

Se realizaron pruebas físicas (color, olor, aspecto, /
pH, sedimento, densidad), las determinaciones químicas /
(proteínas, glucosa, cuerpos cetónicos, sangre, bilirru
bina y urobilinógeno) por medio de las tiras reactivas /
Combur 8 (R) de Laboratorios Boehringer.

Además, se procedió a la evaluación microscópica (40x)
del sedimento urinario

3.2.- METODO BIOLOGICO PARA DETERMINACION DE CONCENTRACIONES DE / ANTIBIOTICOS EN SUERO

En 2.3, se describió el fundamento general del método, desarrollándose a continuación los materiales y metodología utilizados para llevar a cabo el mismo.

3.2.1.- Materiales

- Sulfato de neomicina (681 mg.g⁻¹ Lab. Pfizer).
- Sulfato de paromomicina (670 mg.g⁻¹ Lab. Parke Davis).
- Agar "Mueller-Hinton" (Lab. Britania).
- Monodiscos de papel de filtro, estériles (Lab. Britania).
- Fotocolorímetro "Spectronic 20" (Bausch & Lomb).
- Balanza de precisión, "Mettler H 80".
- Bacillus subtilis, cepa ATCC 6633.
- Autoclave.
- Estufa de cultivo.
- Horno Pasteur.
- Placas de vidrio de 26 x 18 cm.
- Vernier.
- Perlas de vidrio
- Ansa de platino.
- Micropipetas.
- Portapipetas.
- Mecheros Bunsen.
- Materiales de vidrio y plástico, varios.

3.2.2.- Preparación del Medio de Cultivo

El agar "Mueller-Hinton", por carecer de sustancias que pudieran inhibir a los antibióticos aminoglucósidos y por permitir un buen desarrollo bacteriano, fue elegido como el medio de cultivo para la determinación "in vitro" de las concentraciones de estos antibióticos.

Para la preparación, se suspenden 37 g del medio en 1 litro de agua destilada, se deja embeber durante 15 minutos, se calienta con agitación permanente y se deja hervir por 1 minuto.

Se fraccionan en Erlenmeyer, 152 cm³, que corresponden a la capacidad de la placa de siembra, que tiene 28 x 16 cm.

Una vez fraccionado el medio de cultivo, se esteriliza en autoclave a 121°C, durante 15 minutos.

3.2.3.- Preparación del Inóculo

El microorganismo que se usó para la determinación de las concentraciones séricas de estos antibióticos, es la cepa ATCC 6633 del Bacillus subtilis.

Este se siembra en agar infusión cardíaca y se incuba a 36°C por una semana, se recoge con agua destilada estéril y se agita con perlas de vidrio estériles. Se prepara una suspensión con 80 % de transmisión al fotocolorímetro.

A partir de esta suspensión, se realiza una dilución al 1 % en agua destilada estéril, para el trabajo diario de siembra en las placas donde se incubará, con las muestras séricas a dosar.

3.2.4.- Preparación de Soluciones Patrones de Neomicina y Paromomicina

Se realizaron diluciones patrones de 200, 40, 20, 5 y /

2,5 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, en agua bidestilada y en suero ovino, para / los dos antibióticos en estudio.

3.2.5.- Siembra del Inóculo en el Medio de Cultivo

A cada Erlenmeyer que posee el medio de cultivo ya fraccionado y esterilizado, se le agrega con pipeta 1,52 cm^3 / de la suspensión de inóculo al 1 %; se homogeneiza (sin agitar para evitar formación de burbujas), y se vierte el / contenido (medio de cultivo-inóculo), en una placa previamente esterilizada y nivelada.

3.2.6.- Aplicación de las Soluciones Patrones o Muestras Séricas / al Medio de Cultivo

Las diluciones patrones o las muestras séricas para dos je, se aplican al medio de cultivo, una vez que éste se ha solidificado, embebiendo las mismas en discos estériles de papel de filtro, que cargan cada uno 2 microlitros.

Se eligió el uso de discos, en lugar de "pocillos" u o-/ tros sistemas, por su elevada practicidad que no va en de- trimento de su exactitud.

Cada disco cargado es depositado, con pinza, sobre la su perficie del medio solidificado, realizando una leve pre-/ sión para lograr una correcta coaptación disco-medio de / cultivo.

3.2.7.- Incubación

Las placas son incubadas a 36°C, durante 18 horas.

3.2.8.- Características de la Difusión, Formación de Zona de Inhi- bición y Lectura de los Halos

La difusión de los antibióticos en el medio de cultivo, /

depende de su concentración en el disco de papel, por lo / que en condiciones estandarizadas de trabajo, la difusión/ alcanzada por una concentración particular de neomicina o/ paromomicina en un tiempo dado, es proporcional a la con-/ centración de la droga en el disco.

La zona de inhibición representada por el halo, se forma cuando existe una cantidad de droga crítica, capaz de inhi- bir el crecimiento bacteriano.

La medición de los halos de inhibición se realizó con / vernier, utilizando una fuente de luz difusa para una co-/ rrecta lectura.

3.3.- ESTUDIO FARMACOCINETICO

3.3.1.- Materiales

- Sulfato de neomicina (681 mg.g^{-1} Lab. Pfizer).
- Sulfato de paromomicina (670 mg.g^{-1} Lab. Parke Davis).
- Doce (12) ovinos adultos, raza Lincoln, hembras con un peso de $56 \pm 8 \text{ kg}$.
- Balanza de precisión, "Mettler H 80".
- Centrífuga "Rolco".
- Venocath Nº 16 (Lab. Abbott).
- Calculadora "Texas" TI 58 C.
- Papel aritmético.
- Papel semilogarítmico (2 ciclos).
- Solución de heparina (1 UI.ml^{-1}).
- Agujas, jeringas, tubos y materiales varios.

3.3.2.- Preparación de la Droga

Tanto el sulfato de neomicina como el sulfato de paromomicina, fueron preparados a partir de droga pura.

Las soluciones de ambos antibióticos para inyectar, fueron realizadas con agua bidestilada y en el momento previo a su utilización.

3.3.3.- Administración de la Droga

Cada droga (neomicina y paromomicina) fue testeada en 6/ animales para cada vía de administración.

La administración de las drogas se realizó en grupos de/ 3 animales, que recibieron la misma droga, cada uno por una vía diferente, estimando para el mismo animal, un intervalo entre prueba y prueba, de por lo menos, diez vidas medias de eliminación, o sea $10 \times T_{1/2} \beta$ (ver cuadro).

PRUEBA	ANIMAL Nº					
	1	2	3	4	5	6
I	IV	SC	IM	-	-	-
II	-	-	-	IM	IV	SC
III	SC	IM	IV	-	-	-
IV	-	-	-	IV	SC	IM
V	IM	IV	SC	-	-	-
VI	-	-	-	SC	IM	IV

IV: Intravenosa; IM: Intramuscular; SC: Subcutánea.

La aplicación intravenosa fue realizada en vena yugular, la intramuscular en la región de los músculos isquiotibiales y, la subcutánea en la parrilla costal, haciendo en todos los casos un rasurado y desinfección previos, de la zona de administración.

La dosis para ambos antibióticos y, para todas las vías/ de administración mencionadas, fue de 10 mg.kg^{-1} de una solución que contenía 100 mg.ml^{-1} .

3.3.4.- Obtención de Muestras Sanguíneas

Previamente a la administración de la droga en estudio, se procedió en cada uno de los animales y cualquiera fuera la vía, a la canalización de la vena yugular (previo rasurado de la zona), por medio de un Venocath Nº 16; la vía / de canalización se mantuvo permeable por el uso de una solución de heparina (1 UI.ml^{-1}), y se tuvo la precaución de desechar la sangre obtenida inicialmente a cada muestreo, para evitar la posible interferencia del anticoagulante en procedimientos posteriores.

Las muestras fueron obtenidas con jeringas individuales/ y recolectadas en tubos de centrifuga, sin anticoagulante, todos perfectamente esterilizados, secos y rotulados.

Tomando como tiempo cero (0), el final de la administración de la solución antibiótica (para las 3 vías), los / tiempos de extracción de muestras fueron: 2,5; 5; 7,5; 10; 15; 20; 30 y 40 minutos; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 7; 10; 12; 24; 36; 48 y 72 horas.

3.3.5.- Extracción del Suero. Conservación

Dejando el tiempo necesario para la perfecta retracción/ del coágulo, la sangre perteneciente a cada uno de los / muestreos, fue centrifugada a 3000 r.p.m. durante 10 minutos, para la extracción del suero.

Los sueros fueron colocados en frascos de vidrio (estériles, secos y rotulados) y, mantenidos a -17°C hasta el / momento de su siembra en el medio de cultivo.

3.3.6.- Determinación de Halos por Método Biológico

Los sueros correspondientes a los distintos muestreos, // fueron sembrados por triplicado, en placas independientes, de acuerdo a la técnica detallada en 3.2. Además de las / muestras sembradas en cada placa, se sembraron diluciones/ patrones del antibiótico en estudio, realizadas con suero/ ovino.

Los valores de halos de inhibición, obtenidos para cada/ muestra y dilución patrón, fueron registrados en planillas especiales.

3.3.7.- Determinación de Concentraciones de Antibióticos

Para establecer la concentración de antibiótico de cada/ muestra sérica, se realizó una línea de regresión para ca- da placa sembrada. Esta línea, grafica el diámetro de los/ halos de inhibición en función de las concentraciones anti- bióticas de las diluciones patrones.

La ecuación que representa a dicha línea es:

$$y = a + bx$$

x es nuestra incógnita, es decir concentración en microgra- mos.

Despejando x:

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

Sabiendo que:

$$a = y - bx$$

y

$$b = \frac{[N\sum xy - Gx Gy]}{[N\sum x^2 - Gx^2]}$$

donde

N: Nº de casos

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

Gx: Gran total de "x"

Gy: 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 cualquiera, obtenemos la concentración de antibiótico de la misma.

3.3.8.- Parámetros Farmacocinéticos: Conceptos Generales y Metodología de Cálculo

3.3.8.1.- Graficación aritmética: Luego de obtenidas las concentraciones plasmáticas de cada droga y promediadas (para cada una de las vías utilizadas), en cada uno de los tiempos de muestreo, se procedió al trazado en papel aritmético de las curvas concentración versus tiempo.

3.3.8.2.- Graficación semilogarítmica: Se graficaron en papel semilogarítmico las concentraciones plasmáticas ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) en función del tiempo (horas), logrando así la transformación lineal de la fase de eliminación pura.

3.3.8.3.- Obtención del punto de pseudoequilibrio: Cuando del análisis de la curva semilogarítmica concentración versus tiempo surgen 2 fases, se dice que la cinética de la droga analizada se describe según un modelo de 2 compartimientos, y es de dicho análisis que se puede obtener el punto de pseudoequilibrio de distribución, o sea el tiempo

po en que ambas fases se separan, o lo que es lo mismo, / el momento en que se ha logrado equilibrio entre el compartimiento central y el periférico. A partir de este / punto la declinación de droga está dada sólo por metabolismo y excreción.

3.3.8.4.- Determinación del modelo compartimental y su ecuación / matemática: Del análisis de la curva semilogarítmica con concentración-tiempo, se puede establecer el modelo compartimental al que mejor se adapte la cinética de una droga. Así, por ejemplo, una curva que presenta una caída inicial brusca y que llegado a un punto declina en forma / más suave, seguramente pertenezca a una droga cuya cinética se adapta a un modelo abierto de 2 compartimientos, donde se describen una fase α o fase de distribución (también hay simultáneamente eliminación), un punto de pseudoequilibrio y una fase β o fase de eliminación.

La ecuación matemática que expresa la curva de disposición (concentración-tiempo) en un modelo bicompartimental, es la suma de 2 funciones exponenciales:

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

donde:

C_p : concentración plasmática al tiempo t .

A y B : términos de intersección medidos en concentración de droga por volumen de plasma.

e : base de logaritmos naturales.

α y β : constantes de tasa de distribución y eliminación (9,10).

Por otro lado, cuando del estudio de una curva no se / desprenden 2 fases, sino que la declinación de la misma / es uniforme, estaremos frente a un fármaco con una ciné-

tica monocompartimental, y sólo analizaremos la fase β .

3.3.8.5.- Extrapolación de la fase β : A partir del punto de pseudo equilibrio y hasta el valor de la última concentración / medida, se hace una regresión lineal. De la misma se obtiene: coeficiente de correlación (r_{β}), pendiente ($-\beta$) y punto de intersección de la fase β en el eje Y, el que / es denominado punto B.

3.3.8.6.- Extrapolación de la fase α -Cálculo de residuales: Se calculan residuales entre los valores de concentraciones / reales, obtenidas antes del punto de pseudoequilibrio, y los valores extrapolados de la regresión lineal antes / mencionada, para los mismos tiempos.

Con las concentraciones residuales obtenidas y sus correspondientes tiempos se establece una segunda regresión lineal, que nos permite realizar la representación / gráfica de la fase de distribución sin influencia de la / excreción (fase α). De la misma se obtienen: coeficiente de correlación (r_{α}), pendiente ($-\alpha$) y el punto de intersección con el eje Y, denominado A.

La suma de los puntos A y B nos da la concentración / plasmática teórica inmediatamente después de la administración intravenosa.

Las pendientes de las fases α y β , cuando trabajamos se milogarítmicamente, son las constantes de tasa de distribución (α) y de eliminación (β).

3.3.8.7.- Tiempo medio ($T_{1/2} \alpha - T_{1/2} \beta$): Son dos parámetros muy / importantes en el análisis farmacocinético de una droga, principalmente $T_{1/2} \beta$ que tiene especial trascendencia /

en el diseño de regímenes de dosificación. Ambos pueden/ ser calculados directamente de la gráfica semilogarítmica o por las siguientes ecuaciones:

$$T_{1/2\alpha} = \frac{0.693}{\alpha} \quad T_{1/2\beta} = \frac{0.693}{\beta}$$

3.3.8.8.- Determinación de microconstantes farmacocinéticas: Conociendo los valores A, B, α y β se pueden calcular las siguientes microconstantes (9,10):

$$K_{21} = \frac{A\beta + \alpha B}{A + B} \quad K_{12} = \alpha + \beta - K_{21} - K_{el}$$

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

donde:

K_{21} : es la constante de proporcionalidad para la difusión de una droga desde el compartimiento periférico al central.

K_{12} : es la constante de proporcionalidad para la difusión de una droga desde el compartimiento central al periférico.

K_{el} : es la constante de proporcionalidad para la eliminación.

3.3.8.9.- Cálculo del volumen del compartimiento central: Conociendo los puntos A y B obtenidos por extrapolación de las / fases α y β y la dosis administrada por vía intravenosa, / se calcula:

$$V_c = \frac{\text{Dosis}}{C_0}$$

donde:

C_0 : concentración inicial teórica (A + B).

3.3.8.10.- Cálculo del volumen de distribución: El volumen de distribución (Vd) es el volumen de líquido necesario para que la dosis de un fármaco esté disuelta en una concentración similar a la plasmática. Existen diferentes métodos para establecer el Vd: (11)

Método de Extrapolación $Vd_{(B)} = \frac{\text{Dosis}}{B}$

Método del Area $Vd_{(\text{área})} = \frac{\text{Dosis}}{\text{ABC} \cdot \beta}$

Método del Pseudoequilibrio $Vd_{(\beta)} = \frac{K_{el} \cdot Vc}{\beta}$

Método del Estado Fijo $Vd_{(ss)} = \frac{K_{12} + K_{21}}{K_{21}} \cdot Vc$

3.3.8.11.- Clearance corporal: El clearance corporal total (Cl_B) / indica la cantidad de droga eliminada del organismo por todas las vías metabólicas y excretoras por unidad de / tiempo. Se calcula:

$$Cl_B = K_{el} \cdot Vc$$

3.3.8.12.- Biodisponibilidad: El análisis cinético de drogas administradas por vías distintas de la intravenosa, incluye el estudio de la biodisponibilidad (F). Esta se define/ como "la velocidad y extensión de la absorción de una / droga desde el sitio de administración hasta el compartimiento central (9,76).

El método utilizado en el presente trabajo, para estimar la biodisponibilidad por las vías intramuscular y / subcutánea, consiste en el cálculo de las áreas bajo la

curva concentración-tiempo, para dichas vías y la comparación con el ABC de la vía intravenosa, para la misma droga.

El cálculo del ABC se realizó dividiendo el área en / trapezoides y un triángulo final (vía IV) y un triángulo inicial, trapezoides y un triángulo final (otras / vías) (9,11,75); luego se calculó la superficie de los / mismos y se realizó la suma, obteniéndose el ABC para / la vía en estudio.

El triángulo final se extrapoló al infinito por la división entre la última concentración medida (L_c) y la / constante de tasa de eliminación (β): (9).

Area triángulo final: $\frac{L_c}{\beta}$

Por último la biodisponibilidad (F) es:

$$F = \frac{ABC_x}{ABC_{IV}}$$

donde:

ABC_x : área bajo la curva concentración-tiempo para / cualquier vía.

ABC_{IV} : área bajo la curva concentración-tiempo para / la vía intravenosa.

3.3.9.- Parámetros Cinéticos Calculados

Los parámetros cinéticos que fueron calculados para cada uno de los antibióticos, según su vía de administración y, las unidades en que los mismos son expresados, se presentan a continuación:

Vía intravenosa

A ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$); α (h^{-1}); B ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$); β (h^{-1}); r_α ; r_β ; $T_{1/2\alpha}$ (min.); $T_{1/2\beta}$ (h); ABC ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$); K_{21} ; K_{12} ; K_{el} ; V_c (ml).

kg^{-1}); $Vd_{(\beta)}$ ($\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1}$); $Vd_{(B)}$ ($\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1}$); $Vd_{(\text{área})}$ ($\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1}$); /
 $Vd_{(ss)}$ ($\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1}$); Cl_B ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Vías intramuscular y subcutánea

B ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$); β (h^{-1}); r_{β} ; $T_{1/2 \beta}$ (h); ABC ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$); F ; /
concentración plasmática máxima ($C_{\text{máx}}$) ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$); tiempo /
de la concentración máxima ($T_{\text{máx}}$) (h); tiempo transcurrido
hasta la aparición en suero de concentraciones dosables /
(Lag. Obs.) (h).

3.3.10.- Comparación entre Parámetros Farmacocinéticos

Las variables farmacocinéticas obtenidas para cada droga, por las distintas vías de administración, fueron comparadas estadísticamente por medio del análisis de la varianza (50); ésto se realizó con aquellos resultados cinéticos, que por formar parte del estudio farmacocinético / de 2 vías, pudieron ser comparados.

3.4.- ESTUDIO TOXICOLOGICO

3.4.1.- Materiales

- Cuatro (4) ovinos hembras adultas, raza Lincoln (56 ± 8 kg).
- Sulfato de neomicina ($681 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ Lab. Pfizer).
- Sulfato de paromomicina ($670 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ Lab. Parke Davis).
- Equipos para determinación enzimática, serológica y / hematológica (descritos en el punto 3.1.2).
- Equipamiento para técnica de Método Biológico (punto / 3.2.1).
- Electrocardiógrafo "Rhomicrón T444", portátil de un / canal.

- Quimógrafo.
- Sonda nasoesofágica.
- Balón Sonda.
- Estetoscopio.
- Cronómetro.
- Termómetro.
- Venocath Nº 16 (Lab. Abbott).
- Tubos cónicos.
- Calculadora Texas TI 58 C.
- Papel semilogarítmico (2 ciclos).

3.4.2.- Control Electrocardiográfico

Se realizó, previamente y durante la prueba tóxica, un / registro electrocardiográfico a los animales experimenta- / les. Dicho registro se hizo utilizando la derivación D₂ / clásica de los miembros (miembro anterior derecho - miem- / bro posterior izquierdo); entre piel y la placa de los e- / lectrodos se colocó un trozo de espuma de goma embebido en agua, siendo previamente rasurada y desengrasada la zona. / La velocidad de registro fue de 25 mm/seg.

3.4.3.- Control Ruminográfico

Se realizó introduciendo un balón (globo) unido a una / sonda nasoesofágica, previamente lubricada; la misma se in- / trodujo hasta retículo y una vez colocada allí, se insufló agua; luego la parte anterior de la sonda se conectó a una aguja inscriptora, que a la vez, registraba sobre un tam- / bor ahumado. Los movimientos de los preestómagos fueron re- / gistrados por el cambio de presión producido en el sistema al comprimirse el balón.

3.4.4.- Control Hematológico

Los animales experimentales fueron sometidos a un control hematológico en el momento previo a la iniciación de la prueba tóxica y durante las manifestaciones clínicas de toxicidad aguda.

Las muestras de sangre fueron extraídas de la vena yugular en tubos, que contenían anticoagulante de Wintrobe (oxalato de amonio - oxalato de sodio).

El control hematológico comprendió: recuento leucocitario, recuento plaquetario, hematocrito y eritrosedimentación; todas las determinaciones se realizaron por las técnicas de rutina, tal cual lo descrito en el punto 3.1.2.1.

3.4.5.- Control Serológico y Tiempo de Protrombina

En los mismos tiempos que para el control hematológico se extrajeron muestras sanguíneas para control serológico y tiempo de protrombina.

Las muestras con destino al control serológico se extrajeron en tubos de centrifuga sin anticoagulante, mientras que las destinadas al tiempo de protrombina fueron recolectadas en tubos de plástico que contenían citrato de sodio al 3,8 %.

El control serológico incluyó las siguientes determinaciones: glucosa, urea, creatinina, bilirrubina, proteínas totales y las actividades enzimáticas de transaminasa glutámico-oxalacética (GOT), transaminasa glutámico-pirúvica (GPT), láctico dehidrogenasa (LDH), fosfatasa alcalina (FA), gamma-glutamil-transpeptidasa (γ GT), creatín-fosfo-quinasa (CPK) y glutámico dehidrogenasa (GLDH).

Cabe acotar, que los equipos y técnicas utilizados para/

Los antibióticos fueron inyectados en solución acuosa y/ cada dosis fue calculada a razón de 11 mg.kg^{-1} , para sulfato de neomicina y 13 mg.kg^{-1} para sulfato de paromomicina. Estas dosis se obtuvieron de los resultados del plan terapéutico, para ambos antibióticos por la vía intravenosa / (ver resultados Diseño de Planes Terapéuticos, capítulo / IV).

De las muestras sanguíneas obtenidas, se extrajo el suero y se realizó el dosaje de concentraciones de antibiótico en cada una de las mismas, por el método biológico, tal cual lo descrito en los puntos 3.2 y 3.3.6, pero sembrando cada muestra por duplicado y diluídas 1/10 en agua destilada, para evitar la superposición de halos de inhibición al trabajar con concentraciones séricas muy elevadas, sobre todo hacia el final de la prueba tóxica.

3.5.- DISEÑO DE PLANES TERAPEUTICOS

3.5.1.- Materiales

- Tres (3) ovinos adultos hembras, raza Lincoln (56 ± 8 kg).
- Venocath Nº 16 (Lab. Abbott).
- Sulfato de Neomicina (681 mg.g^{-1} Lab. Pfizer).
- Solución de heparina (1 UI.ml^{-1}).
- Tubos cónicos de centrífuga.
- Centrífuga "Rolco".
- Equipamiento para determinación de concentraciones por método biológico (ver punto 3.2).
- Papel milimetrado.
- Calculadora Texas TI 58 C.

estas determinaciones serológicas son los mismos que fueron descritos en el capítulo III, puntos 3.1.2.2. y 3.1.2.3.

3.4.6.- Control Clínico

Previamente y durante toda la prueba tóxica aguda, los animales fueron sometidos a una completa observación clínica, controlando frecuencia cardíaca y respiratoria, temperatura corporal, movimientos ruminales, coordinación neuromuscular, reflejos palpebrales, corneales y excitabilidad nerviosa. Esta observación prosiguió diariamente por 15 días, después del ensayo tóxico agudo.

3.4.7.- Administración de la Droga. Obtención de Muestras Sanguíneas

Se utilizaron 4 ovinos adultos, 2 para la prueba tóxica con neomicina y 2 para la de paromomicina; los mismos fueron canalizados en vena yugular con venocath Nº 16, y la permeabilidad de esta vía se mantuvo por el agregado de una solución de heparina (1 UI.ml^{-1}); dicha vía fue utilizada para la obtención de muestras sanguíneas durante todo el ensayo tóxico.

La administración del antibiótico correspondiente fue realizada por infusión intravenosa, en la yugular del lado contrario, con 15 minutos de intervalo entre una dosis y otra; a los 5 minutos de la administración de cada dosis, se extrajo una muestra sanguínea para determinar concentraciones del antibiótico en suero, y a los 15 minutos, en el momento inmediato anterior a la aplicación de una nueva dosis, se sacó otra muestra de sangre con el mismo fin.

3.5.2.- Métodos

3.5.2.1.- Cálculo de dosis: En base a los resultados obtenidos en el análisis farmacocinético se procedió al cálculo de los regímenes de dosificación más adecuados para neomicina y paromomicina por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea.

Este cálculo se realizó teniendo como objetivo, mantener en el tiempo de duración de dicho tratamiento, concentraciones plasmáticas por encima de $5 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ (que es la CIM para la mayoría de los gérmenes sensibles a estos antibióticos), sin que hubiera acumulación de droga en el organismo.

Las ecuaciones utilizadas para calcular las dosis de mantenimiento (D_m) y dosis de ataque (D_a) fueron: (9,41)

$$D_m = C_p^\infty (\text{min}) \cdot Vd_B (e^{+\beta\tau} - 1)$$

donde:

D_m : dosis de mantenimiento en $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$

C_p (min): mínima concentración plasmática deseada /
($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$)

Vd_B : volumen de distribución obtenido por método de /
extrapolación ($\text{ml}.\text{kg}^{-1}$)

e: base de los logaritmos naturales

β : constante de tasa de eliminación (h^{-1})

τ : intervalo de dosis deseado (horas)

Por otro lado:

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

donde:

D_a : dosis de ataque ($\text{mg}.\text{kg}^{-1}$)

D_m : dosis de mantenimiento ($\text{mg}.\text{kg}^{-1}$)

3.5.2.2.- Corroboración práctica: Luego de obtenidas las distintas dosis de los 2 antibióticos para todas las vías de administración descriptas, se procedió a la corroboración / práctica de los regímenes de dosificación calculados en forma teórica (descriptos en el punto anterior).

Se eligió como modelo para comprobación práctica la administración de sulfato de neomicina intramuscular, por considerar a esta vía de mayor practicidad en medicina / veterinaria y por los excelentes resultados cinéticos / obtenidos.

Esta comprobación práctica se realizó en 3 ovinos adultos hembras, sanos, que recibieron 4 dosis de neomicina/cada 12 horas (1 D_a y 3 D_m), por administración intramuscular en la región isquio-tibial. Las mismas se hicieron a razón de 22.46 mg.kg^{-1} para la D_a y 20.43 mg.kg^{-1} para las D_m , de una solución de neomicina al 10 %.

Los animales fueron canalizados en vena yugular con Venocath Nº 16 (Lab. Abbott) y se extrajeron muestras sanguíneas a los 15, 30 y 45 minutos, 1 y 12 horas después/ de cada administración del antibiótico. Esta última muestra fue obtenida en el momento inmediato anterior a la / dosis siguiente.

El suero obtenido se procesó por método biológico (ver 3.2.) para conocer los valores de concentración en los / tiempos mencionados.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1.- ANIMALES EXPERIMENTALES

4.1.1.- Control Clínico

Se realizó una completa revisión clínica de cada uno / de los ovinos que participaron del plan experimental, los/ que mostraron óptimas condiciones de salud.

4.1.2.- Examen de Laboratorio

4.1.2.1.- Control hematológico: Los valores obtenidos como resultados para todas las determinaciones hematológicas, son / promedio de las medias de 3 muestreos por animal.

Las unidades utilizadas para expresar dichos resultados, pertenecen al SIMELA (Sistema Métrico Legal Argentino), que está basado en el SI (Sistema Internacional de Unidades).

Recuento Leucocitario

$$8,6 \cdot 10^9 \cdot l^{-1} \pm 2,4 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$$

Recuento Plaquetario

$$230 \cdot 10^9 \cdot l^{-1} \pm 15 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$$

Fórmula Leucocitaria Relativa

CELULA	%	SIMELA
Neutrófilos	36	$0,36 \pm 60 \cdot 10^{-3}$
Eosinófilos	4	$40 \cdot 10^{-3} \pm 15 \cdot 10^{-3}$
Basófilos	0	
Linfocitos	46	$0,46 \pm 70 \cdot 10^{-3}$
Monocitos	14	$0,14 \pm 30 \cdot 10^{-3}$

Hematocrito

$$0,32 \pm 20 \cdot 10^{-3}$$

Eritrosedimentación

Los resultados promedios, expresados en unidades arbitrarias (u.a) fueron:

h	\bar{x}	DS
1 h	-	-
3 h	2	$\pm 0,9$
24 h	15	$\pm 4,6$

4.1.2.2.- Tiempo de protrombina: El valor promedio de tiempo de / protrombina, resultó de 13,60 segundos $\pm 0,28$ segundos.

4.1.2.3.- Control serológico: Los resultados que se presentan como valores séricos de referencia, son promedios de las medias, de 4 dosajes para cada uno de los ovinos que participan del plan experimental.

Las unidades utilizadas para expresar estos resultados de la bioquímica del suero, pertenecen al SIMELA y, en / algunos casos se expresan las equivalencias en unidades / de uso más corriente.

Cabe acotar, que todos los animales que participaron / de esta experiencia fueron incluidos porque ninguno presentó valores que se alejaran de los reportados por la / bibliografía (29,55).

Glucosa

$$3,11 \pm 0,20 \text{ m mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ (56,1} \pm 3,5 \text{ mg \%)}$$

Urea

$$5,3 \pm 0,61 \text{ m mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ (31,8} \pm 3,8 \text{ mg \%)}$$

Creatinina

$0,153 \pm 0,16 \text{ m mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($1,73 \pm 0,18 \text{ mg } \%$)

Bilirrubina

inferiores a $0,0034 \text{ m mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (menor que $0,2 \text{ mg } \%$)

Proteínas Totales

$78 \pm 8,8 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$

Transaminasa Glutámico-Oxalacética

$35,2 \pm 6,7 \text{ mUI} \cdot \text{ml}^{-1}$

Transaminasa Glutámico-Pirúvica

$8,8 \pm 0,3 \text{ mUI} \cdot \text{ml}^{-1}$

Láctico-Dehidrogenasa

$171,3 \pm 13,2 \text{ mUI} \cdot \text{ml}^{-1}$

Fosfatasa Alcalina

$34,6 \pm 16,3 \text{ mUI} \cdot \text{ml}^{-1}$

Gamma-Glutamil-Transpeptidasa

$45,3 \pm 12,7 \text{ mUI} \cdot \text{ml}^{-1}$

Creatín-Fosfo-Quinasa

$72,2 \pm 10,8 \text{ mUI} \cdot \text{ml}^{-1}$

Glutámico-Dehidrogenasa

$3,10 \pm 0,5 \text{ mUI} \cdot \text{ml}^{-1}$

4.1.2.4.- Control urinario: A lo largo de 3 muestras de orina por/ animal, en diferentes tiempos, los resultados nunca estuvieron fuera de lo fisiológico, tanto en las determina-/

ciones físicas y químicas como en la evaluación del sedimento urinario.

4.2.- METODO BIOLOGICO: RESULTADOS EXPRESADOS EN HALOS DE INHIBICION

4.2.1.- Halos para Diluciones Patrones en Agua y Suero. Coeficiente de Correlación. Pendiente. Comparación

Se realizó la siembra, por duplicado, de diluciones patrones de 200, 40, 20, 10, 5 y 2,5 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, preparadas con agua bidestilada y con suero ovino, obteniéndose los coeficientes de correlación (r) y pendientes, que a continuación se detallan, para cada uno de los antibióticos:

Neomicina

Dilución	Coeficiente Correlación	Pendiente
Agua	0,986	3,16
Suero	0,997	4,23

Paromomicina

Dilución	Coeficiente Correlación	Pendiente
Agua	0,998	2,90
Suero	0,991	3,65

De estos valores se desprende la similitud entre las líneas de regresión, obtenidas de siembras de diluciones patrones, realizadas con agua bidestilada y suero ovino.

4.2.2.- Halos para Muestras Séricas y Diluciones Patrones. Regresión y Obtención de Concentraciones en Microgramos

Una vez medidos los halos de inhibición correspondientes a los diferentes muestreos de suero, esos valores fueron interpolados en las líneas de regresión obtenidas con las/

concentraciones patrones del antibiótico en estudio (sembradas en la misma placa), extrapolándose los valores de concentración en microgramos.

Los promedios de diámetro de halos inhibitorios correspondiente a los patrones (en suero), de las diferentes placas, se reproducen a continuación:

Neomicina

Dilución Patrón en Suero ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$)	Diámetro Halo	
	\bar{x}	\pm DS
200	1,83	$\pm 0,10$
40	1,39	$\pm 0,06$
20	1,26	$\pm 0,06$
10	1,10	$\pm 0,05$
5	0,96	$\pm 0,04$

Paromomicina

Dilución Patrón en Suero ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$)	Diámetro Halo	
	\bar{x}	DS
200	1,91	$\pm 0,07$
40	1,40	$\pm 0,03$
20	1,19	$\pm 0,07$
10	1,04	$\pm 0,08$
5	0,94	$\pm 0,05$

4.3.- ESTUDIO FARMACOCINETICO

4.3.1.- Concentraciones Séricas Obtenidas

Los resultados de concentraciones séricas expresados en $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, para la administración de sulfato de neomicina / por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea se / presentan en las Tablas 4.1, 4.2 y 4.3, respectivamente.

Mientras que las Tablas 4.4, 4.5 y 4.6 presentan los valores obtenidos tras la administración de sulfato de paromomicina por las vías intravenosa, intramuscular y subcutá

Tabla 4.1:

CONCENTRACIONES EN $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ OBTENIDAS EN 6 OVINOS ADULTOS LUEGO DE LA ADMINISTRACION DE SULFATO DE NEOMICINA, A RAZON DE $10 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$, POR LA VIA INTRAVENOSA.

TIEMPO (h ⁻¹)	ANIMAL N°						$\bar{x} \pm \text{DS}$
	1	2	3	4	5	6	
0,042	68,37	77,68	69,22	72,63	62,68	78,78	71,56 \pm 6,08
0,083	50,18	43,63	69,22	55,85	57,70	62,68	56,54 \pm 9,03
0,125	50,18	54,37	43,63	54,18	51,31	46,74	50,07 \pm 4,23
0,167	39,17	43,63	34,64	47,40	47,40	41,44	42,28 \pm 4,96
0,250	48,41	43,63	39,81	43,25	39,96	39,96	42,50 \pm 3,37
0,333	34,64	39,81	34,39	43,43	37,60	47,16	39,51 \pm 5,06
0,500	32,48	21,84	30,57	39,58	28,42	34,54	31,24 \pm 5,98
0,667	31,58	31,58	23,00	33,49	35,68	27,92	30,54 \pm 4,49
1	30,57	19,66	23,36	29,99	29,51	29,99	27,18 \pm 4,56
1,5	25,06	25,06	18,31	27,58	26,00	20,55	23,76 \pm 3,55
2	12,60	17,31	8,69	24,71	20,39	14,08	16,30 \pm 5,74
2,5	23,36	12,20	9,70	18,82	18,04	13,41	15,92 \pm 5,04
3	24,02	12,20	8,72	14,52	10,54	12,63	13,77 \pm 5,39
4	8,69	8,72		10,54	9,40	8,28	9,13 \pm 0,89
5	8,72			5,41			7,07 \pm 2,34
6							

Tabla 4.2:

CONCENTRACIONES EN $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ OBTENIDAS EN 6 OVINOS ADULTOS LUEGO DE LA ADMINISTRACION DE SULFATO DE NEOMICINA, A RAZON DE $10 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$, POR LA VIA INTRAMUSCULAR.

TIEMPO (h ⁻¹)	ANIMAL N°						$\bar{x} \pm DS$
	1	2	3	4	5	6	
0,042							
0,083	6,58						6,58
0,125	9,63	4,45	6,37	6,24	5,95	5,85	6,42 \pm 1,72
0,167	16,50	4,85	6,63	8,57	5,63	7,15	8,22 \pm 4,25
0,250	16,21	7,49	15,92	9,15	6,75	9,18	10,78 \pm 4,20
0,333	15,56	12,74	11,48	9,75	8,86	9,18	11,26 \pm 2,57
0,500	20,37	12,26	14,23	11,66	10,51	14,57	13,93 \pm 3,51
0,667	18,06	18,89	18,04	10,07	11,61	12,60	14,88 \pm 3,88
1	21,16	15,83	19,10	12,60	11,25	12,60	15,42 \pm 4,00
1,5	18,05	18,06	18,61	15,99	15,01	14,58	16,72 \pm 1,74
2		18,06	16,32	15,46	13,18	20,47	16,70 \pm 2,74
2,5	20,68	16,30	15,27	13,92	11,10	14,47	15,29 \pm 3,17
3	14,71		11,89	9,39	12,16	12,02	12,03 \pm 1,88
4	9,80	12,92	11,44	8,57	7,04	8,49	9,71 \pm 2,16
5	8,43	10,75	11,44	8,49	9,59	7,20	9,32 \pm 1,59
6	5,41			8,72			7,07 \pm 2,34

Tabla 4.3:

CONCENTRACIONES EN $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ OBTENIDAS EN 6 OVINOS ADULTOS LUEGO DE LA ADMINISTRACION DE SULFATO DE NEOMICINA, A RAZON DE $10 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$, POR LA VIA SUBCUTANEA.

TIEMPO (h ⁻¹)	ANIMAL N ^o						$\bar{x} \pm \text{DS}$
	1	2	3	4	5	6	
0,042		4,15		3,50			$3,83 \pm 0,46$
0,083		5,93	4,51	6,61	3,50	3,50	$4,81 \pm 1,42$
0,125	4,15	6,50	5,69	5,70	4,44	5,08	$5,26 \pm 0,88$
0,167	5,96	10,30	8,50	7,65	8,27	10,49	$8,53 \pm 1,70$
0,250	6,42	13,14	13,24	9,88	10,01	7,82	$10,09 \pm 2,75$
0,333	8,05	16,18	15,25	14,75	8,54	13,76	$12,76 \pm 3,55$
0,500	14,04	19,52	15,58	18,13	13,45	20,76	$16,91 \pm 3,00$
0,667	16,81	24,47	14,51	18,02	21,60	14,75	$18,36 \pm 3,95$
1	17,35	20,33	23,11	18,11	17,46	13,66	$18,34 \pm 3,18$
1,5	16,15	20,58	23,93	17,78	14,27	16,59	$18,22 \pm 3,49$
2	15,04	22,10	16,81	16,21	11,36	19,12	$16,77 \pm 3,65$
2,5	15,08	18,54	14,66	16,02	15,22	15,55	$15,85 \pm 1,40$
3	14,39	16,19	14,56	17,69	15,93	12,87	$15,27 \pm 1,68$
4	10,35	10,82	11,37	14,35	8,23	10,01	$10,86 \pm 2,02$
5	9,00	7,23	7,32	7,37	8,34	6,41	$7,61 \pm 0,92$
6	5,10		7,22	5,39			$5,90 \pm 1,15$
7			4,51				4,51

Tabla 4.4:

CONCENTRACIONES EN $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ OBTENIDAS EN 6 OVINOS ADULTOS LUEGO DE LA ADMINISTRACION DE SULFATO DE PAROMOMICINA, A RAZON DE $10 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$, POR LA VIA INTRAVENOSA.

TIEMPO (h ⁻¹)	ANIMAL N°						$\bar{x} \pm DS$
	1	2	3	4	5	6	
0,042	67,34	97,73	85,80	70,56	106,60	103,82	88,64 \pm 16,88
0,083	48,66	56,33	53,55	42,72	52,53	50,89	50,78 \pm 4,71
0,125	51,57	49,03	51,23	52,31	67,55	47,16	53,14 \pm 7,31
0,167	36,16	33,98	38,95	38,28	31,38	23,18	33,66 \pm 5,84
0,250	28,43	31,59	49,11	33,00	30,44	35,38	34,66 \pm 7,46
0,333	24,17	25,56	28,49	29,58	25,43	20,04	25,55 \pm 3,38
0,500	28,29	27,48	23,39	28,92	18,43	10,77	22,88 \pm 7,12
0,667	18,33	18,61	20,92	22,83	19,54	13,10	18,89 \pm 3,29
1	13,33	11,22	12,71	10,28	9,99	9,04	11,10 \pm 1,66
1,5	11,02	8,24	9,95	11,40	10,02	6,94	9,60 \pm 1,70
2	7,79	12,18	6,96	6,79	8,80	4,68	7,87 \pm 2,51
2,5	9,59	7,59	5,20	7,28	6,56	6,56	7,13 \pm 1,46
3	5,91	6,59	7,97				6,82 \pm 1,04
4							
5							
6							

Tabla 4.5:

CONCENTRACIONES EN $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ OBTENIDAS EN 6 OVINOS ADULTOS LUEGO DE LA ADMINISTRACION DE SULFATO DE PAROMOMICINA, A RAZON DE $10 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$, POR LA VIA INTRAMUSCULAR

TIEMPO (h-1)	ANIMAL N°						$\bar{x} \pm \text{DS}$
	1	2	3	4	5	6	
0,042							
0,083							
0,125	8,33	7,96	7,09	5,05	7,53		$7,19 \pm 1,28$
0,167	9,46		9,61	6,38	7,94		$8,35 \pm 1,51$
0,250	15,41	10,54	11,55	6,48	5,82	6,74	$9,42 \pm 3,75$
0,333	25,74	14,84	10,50	7,30	7,14	9,91	$12,57 \pm 7,03$
0,500	23,42	21,67	9,61	10,24	7,17	10,25	$13,73 \pm 6,95$
0,667	27,39	21,54	10,03	11,68	8,69	10,31	$14,94 \pm 7,67$
1	26,47	17,73	9,19	12,84	11,91	10,76	$14,82 \pm 6,40$
1,5	20,47	15,15	8,12	12,16	12,71	12,06	$13,45 \pm 4,12$
2	13,42	10,99		12,88	7,19	14,33	$11,76 \pm 2,83$
2,5	13,46	9,76	7,96	6,61	8,82	5,47	$8,68 \pm 2,80$
3	8,21	8,76	9,21	7,94	7,54	5,68	$7,89 \pm 1,23$
4	4,46	8,07					$6,27 \pm 2,55$
5	7,41	9,39					$8,40 \pm 1,40$
6							

Tabla 4.6:

CONCENTRACIONES EN $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ OBTENIDAS EN 6 OVINOS ADULTOS LUEGO DE LA ADMINISTRACION DE SULFATO DE PAROMOMICINA, A RAZON DE $10 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$, POR LA VIA SUBCUTANEA.

TIEMPO (h ⁻¹)	ANIMAL N°						$\bar{x} \pm \text{DS}$
	1	2	3	4	5	6	
0,042							
0,083							
0,125							
0,167							
0,250							
0,333							
0,500		11,59	13,39	5,72			10,23 \pm 4,01
0,667	12,49	12,35	15,53	7,42			11,95 \pm 3,36
1	14,42	14,44	15,47	10,61	10,49	12,26	12,95 \pm 2,13
1,5	14,44	15,66	17,38	11,69	10,61	12,87	13,78 \pm 2,54
2	20,98	15,45	23,87	12,87	9,65	11,79	15,77 \pm 5,56
2,5	18,69	16,90	15,45	7,97	9,21	9,75	12,83 \pm 4,71
3	14,44	17,30	13,53	6,57	7,21	7,21	11,04 \pm 4,61
4	11,70	14,42	12,35		7,42		11,47 \pm 2,94
5							
6							

nea, respectivamente.

En dichas tablas se muestran las concentraciones a lo largo del tiempo, hasta las mínimas detectables por método biológico, es decir, aquellas capaces de inhibir el desarrollo bacteriano.

4.3.2.- Parámetros Farmacocinéticos

4.3.2.1.- Neomicina intravenosa: En la Fig. 4.1, se representa semilogarítmicamente las concentraciones séricas promedio de neomicina en función del tiempo, tras su administración intravenosa a 6 ovinos adultos, a razón de 10 mg. / kg⁻¹.

Del análisis de la curva, se obtienen los siguientes resultados:

- La cinética de la droga se describe según un modelo de 2 compartimientos, con un punto de pseudoequilibrio a los 30 minutos.

- La ecuación que representa matemáticamente a dicha curva es:

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

reemplazando en la misma con los valores obtenidos, tenemos:

$$C_p = 34,76 e^{-7,93 t} + 39,07 e^{-0,38 t}$$

- Se presentan en la Tabla 4.7, los parámetros cinéticos obtenidos para cada animal individual, sus promedios y desviaciones estándar, como así también los resultados cinéticos obtenidos luego de haber promediado las concentraciones de droga para cada uno de los animales.

4.3.2.2.- Neomicina intramuscular: Se presenta en la Fig. 4.2 la /

curva semilogarítmica concentración plasmática versus / tiempo, obtenida luego de promediar las concentraciones/ resultantes de la administración intramuscular de neomicina, a razón de 10 mg.kg^{-1} , a los mismos 6 ovinos de la prueba intravenosa.

Los parámetros cinéticos individuales y los promedios/ con sus respectivas desviaciones estándar se presentan / en la Tabla 4.8.

4.3.2.3.- Neomicina subcutánea: La curva semilogarítmica de concentraciones promedio en función del tiempo, obtenida luego de la administración subcutánea de 10 mg.kg^{-1} de neomicina a los mismos 6 ovinos de las pruebas anteriores, se / presenta en la Fig. 4.3.

Todos los resultados del análisis cinético obtenidos / cuando la neomicina es administrada por la mencionada / vía se presentan en la Tabla 4.9.

4.3.2.4.- Paromomicina intravenosa: En la Fig. 4.4, están representadas semilogarítmicamente las concentraciones promedio/ de paromomicina, en función del tiempo, tras su administración intravenosa a razón de 10 mg.kg^{-1} , a 6 ovinos adultos.

- Del análisis de dicha curva se establece que la cinética de la droga puede ser descripta por un modelo de 2/ compartimientos, con fases α y β bien marcadas y, un punto de pseudoequilibrio a 1 hora de la administración.

- La ecuación matemática que representa la curva antes mencionada es:

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

reemplazando con los valores obtenidos, tenemos:

$$C_p = 54,05 e^{-4,91 t} + 18,58 e^{-0,44 t}$$

- Los parámetros cinéticos obtenidos para cada animal/ en particular, sus promedios y desviaciones estándar, como así también los resultados farmacocinéticos hallados/ luego de haber promediado las distintas concentraciones/ para cada animal, se presentan en la Tabla 4.10.

4.3.2.5.- Paromomicina intramuscular: En la Fig. 4.5, se presenta/ la curva semilogarítmica concentración versus tiempo, obtenida luego de promediar las concentraciones plasmáticas resultantes, de la administración de 10 mg.kg^{-1} de / paromomicina por vía intramuscular, a los mismos 6 ovinos que recibieron la droga por vía intravenosa.

En la Tabla 4.11, se presentan todos los parámetros cinéticos obtenidos para esta vía de administración, para/ cada animal, sus promedios y desviaciones estándar, como también los resultados cinéticos logrados luego de promediar las concentraciones pertenecientes a cada uno de / los animales.

4.3.2.6.- Paromomicina subcutánea: Los valores de concentración detectados están por debajo de los necesarios como para / considerar, terapéuticamente útil a la droga por esta / vía de administración.

Por lo tanto no se representa la curva concentración / versus tiempo, ni se establece el análisis cinético.

4.3.2.7.- Comparación de parámetros farmacocinéticos: En la Tabla/ 4.11a se presenta la comparación estadística de los resultados farmacocinéticos obtenidos cuando la neomicina/ es administrada por las vías intramuscular e intravenosa.

En la Tabla 4.11b se comparan estadísticamente las va-

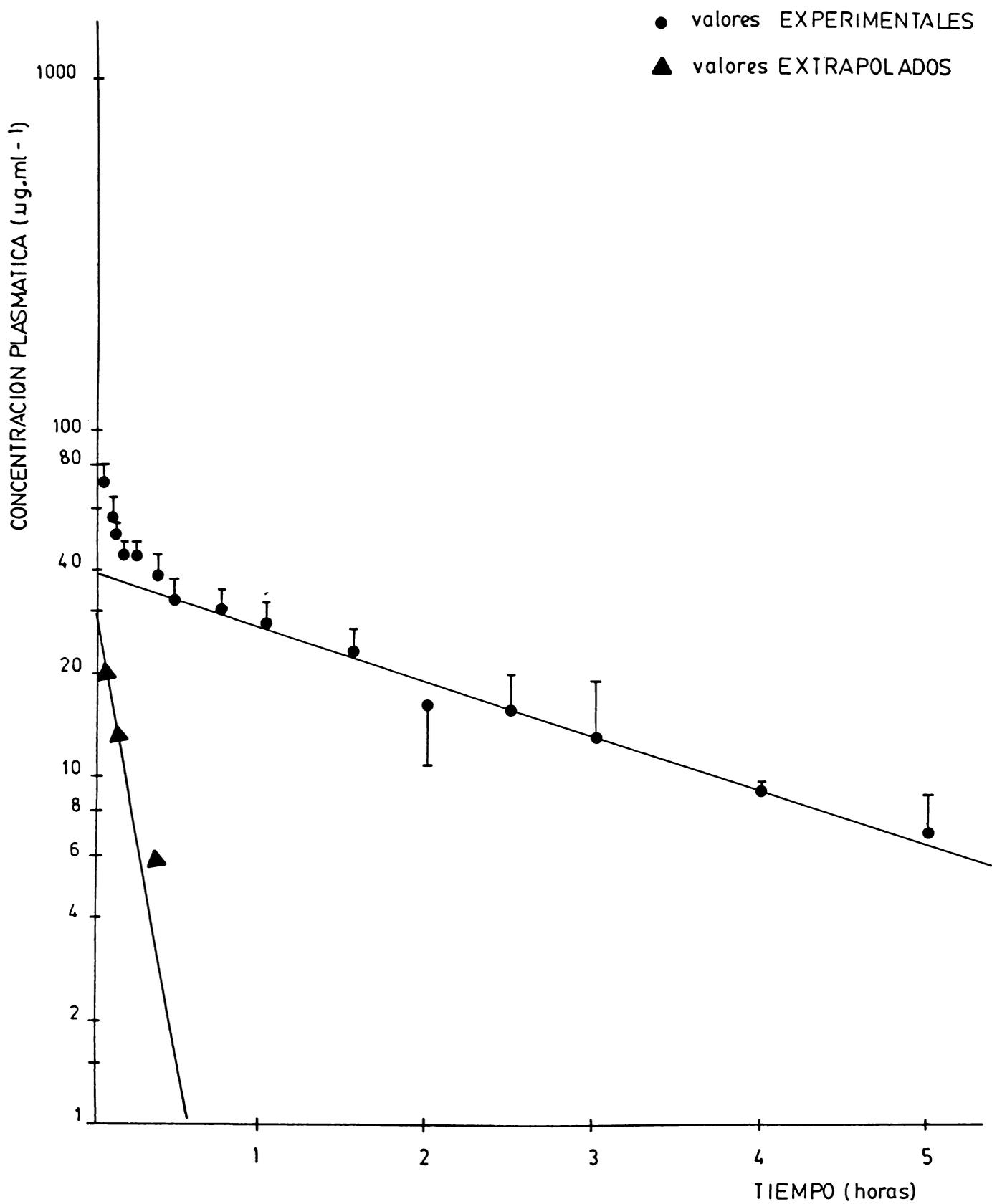


Fig. 4.1: Representación semilogarítmica de concentraciones plasmáticas de sulfato de neomicina en función del tiempo, tras su administración por la vía intravenosa, a razón de 10 mg.kg^{-1} , a 6 ovinos adultos.

Tabla 4.7: PARAMETROS CINETICOS OBTENIDOS TRAS LA ADMINISTRACION INTRAVENOSA DE SULFATO DE NEOMICINA, A RAZON DE 10 mg . kg⁻¹, EN 6 OVINOS ADULTOS.

Parámetros Cinéticos	Oveja N°						Media ± DS	Parámetros Cinéticos obtenidos de concentraciones promedio
	1	2	3	4	5	6		
A (µg.ml ⁻¹)	43.17	22.16	19.77	27.07	44.67	51.73	34.76 ± 13.41	30.44
α (h ⁻¹)	11.22	2.54	3.81	6.83	12.22	10.94	7.93 ± 4.14	5.73
B (µg.ml ⁻¹)	38.64	35.56	35.66	43.54	42.19	38.81	39.07 ± 3.28	38.04
β (h ⁻¹)	0.30	0.36	0.52	0.33	0.39	0.40	0.38 ± 0.08	0.36
r (fase α)	0.802	0.659	0.726	0.894	0.975	0.923	0.830 ± 0.12	0.883
r (fase β)	0.914	0.943	0.887	0.987	0.967	0.974	0.945 ± 0.04	0.990
T1/2 α (min)	3.66	16.38	10.8	6.08	3.40	3.80	7.35 ± 5.23	7.26
T1/2 β (h)	2.31	1.93	1.33	2.10	1.78	1.73	1.86 ± 0.34	1.93
ABC (µg.h.ml ⁻¹)	136.32	105.24	76.45	124.14	114.40	103.45	110.0 ± 20.51	114.87
K ₂₁ (h ⁻¹)	5.46	1.70	2.74	4.34	6.14	4.92	4.22 ± 1.69	3.34
K ₁₂ (h ⁻¹)	5.44	0.66	0.87	2.30	5.69	5.53	3.42 ± 2.41	2.13
K _{e1} (h ⁻¹)	0.62	0.54	0.72	0.52	0.78	0.89	0.68 ± 0.14	0.62
Vc (ml.kg ⁻¹)	122.23	173.25	180.41	141.62	115.12	110.45	140.51 ± 30.16	146.03
Vd (β) (ml.kg ⁻¹)	252.60	259.88	249.80	223.16	230.24	245.75	243.57 ± 14.04	251.50
Vd (B) (ml.kg ⁻¹)	258.80	281.21	280.43	229.67	184.88	261.03	249.34 ± 36.74	262.88
Vd (área) (ml.kg ⁻¹)	244.52	263.95	251.58	244.10	224.13	241.56	244.90 ± 13.04	241.82
Vd (ss) (ml.kg ⁻¹)	244.01	240.51	237.70	216.67	221.80	234.59	232.55 ± 10.89	239.16
CI _B (ml/min.kg)	75.78	93.56	129.90	73.64	89.79	98.30	93.50 ± 20.35	90.54

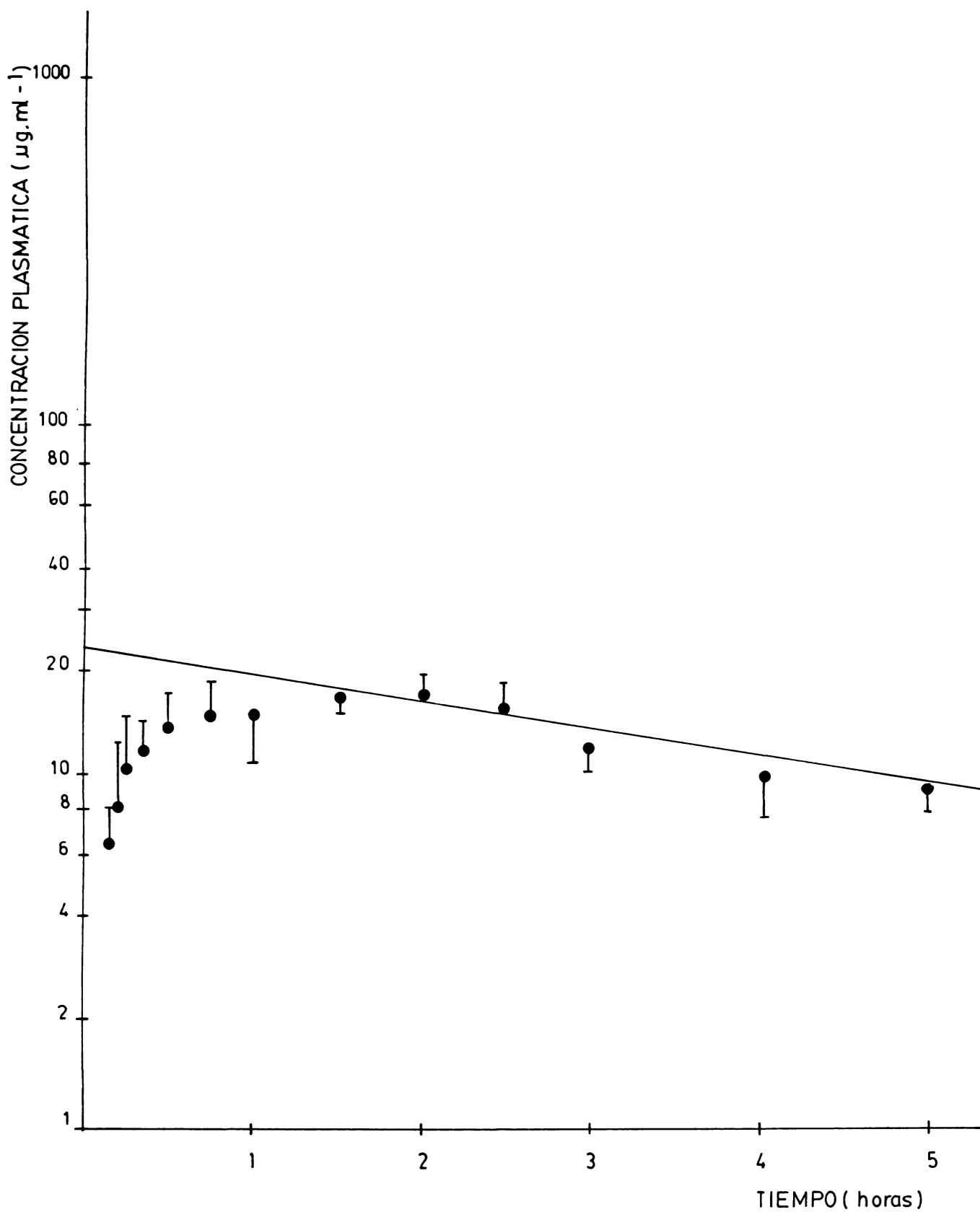


Fig. 4.2: Representación semilogarítmica de concentraciones plasmáticas de sulfato de neomicina en función del tiempo, tras su administración por la vía intramuscular, a razón de 10 mg.kg^{-1} , a 6 ovinos adultos.

Tabla 4.8: PARAMETROS CINETICOS OBTENIDOS TRAS LA ADMINISTRACION INTRAMUSCULAR DE SULFATO DE NEOMICINA, A RAZON DE 10 mg . kg⁻¹, EN 6 OVINOS ADULTOS.

Parámetros Cinéticos	Oveja Nº						Media ± DS	Parámetros Cinéticos obtenidos de concentraciones promedio
	1	2	3	4	5	6		
B (µg.ml ⁻¹)	30.94	20.63	21.78	21.67	16.61	35.53	24.53 ± 7.15	23.40
β (h ⁻¹)	0.27	0.12	0.15	0.21	0.11	0.34	0.20 ± 0.09	0.20
r (fase β)	0.958	0.915	0.928	0.911	0.908	0.972	0.932 ± 0.03	0.979
T1/2 β(h)	2.57	5.78	4.62	3.30	6.30	2.04	4.10 ± 1.74	3.47
ABC (µg.h.ml ⁻¹)	102.95	88.89	56.02	97.76	84.49	80.75	85.14 ± 16.48	107.09
F	0.75	0.84	0.73	0.78	0.74	0.78	0.77 ± 0.04	0.95
Cmáx (µg.ml ⁻¹)	20.68	18.89	19.10	15.99	15.01	20.47	18.36 ± 2.35	16.72
Tmáx (h)	2.5	0.667	1.0	1.5	1.5	2.0	1.53 ± 0.66	1.5
Lag. Obs. (h)	0.083	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.118 ± 0.017	0.083

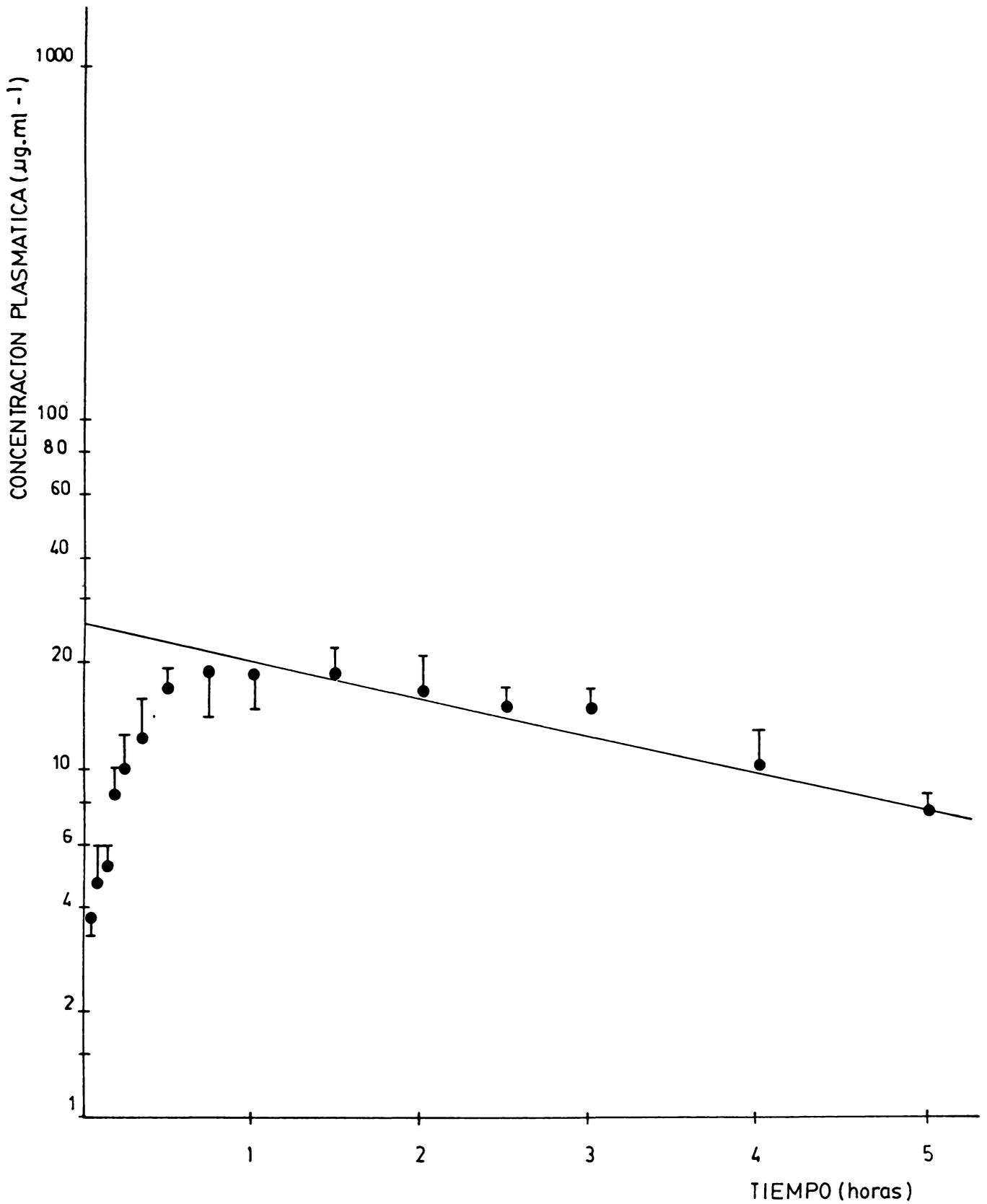


Fig. 4.3: Representación semilogarítmica de concentraciones plasmáticas de sulfato de neomicina en función del tiempo, tras su administración por la vía subcutánea, a razón de 10 mg.kg^{-1} , a 6 ovinos adultos.

Tabla 4.9: PARAMETROS CINÉTICOS OBTENIDOS TRAS LA ADMINISTRACION SUBCUTANEA DE SULFATO DE NEOMICINA, A RAZON DE 10 mg . kg⁻¹, EN 6 OVINOS ADULTOS.

Parámetros Cinéticos	Oveja Nº						Media ± DS	Parámetros Cinéticos obtenidos de concentraciones promedio
	1	2	3	4	5	6		
B (µg.ml ⁻¹)	24.29	31.40	31.75	23.74	21.73	37.92	28.47 ± 6.23	25.62
β (h ⁻¹)	0.23	0.26	0.27	0.20	0.20	0.35	0.25 ± 0.06	0.24
r (fase β)	0.952	0.948	0.982	0.889	0.853	0.995	0.937 ± 0.055	0.977
T1/2 β (h)	3.01	2.67	2.57	3.47	3.47	1.98	2.86 ± 0.58	2.89
ABC (µg.h.ml ⁻¹)	93.87	83.68	63.41	108.14	94.23	82.06	87.57 ± 15.15	100.92
F	0.69	0.79	0.82	0.87	0.82	0.79	0.80 ± 0.05	0.88
Cmáx (µg.ml ⁻¹)	17.35	24.47	23.93	18.13	21.60	19.12	20.77 ± 3.02	18.36
Tmáx (h)	1.0	0.667	1.5	0.5	0.667	2.0	1.06 ± 0.58	0.667
Lag. Obs. (h)	0.125	0.042	0.083	0.042	0.083	0.083	0.076 ± 0.031	0.042

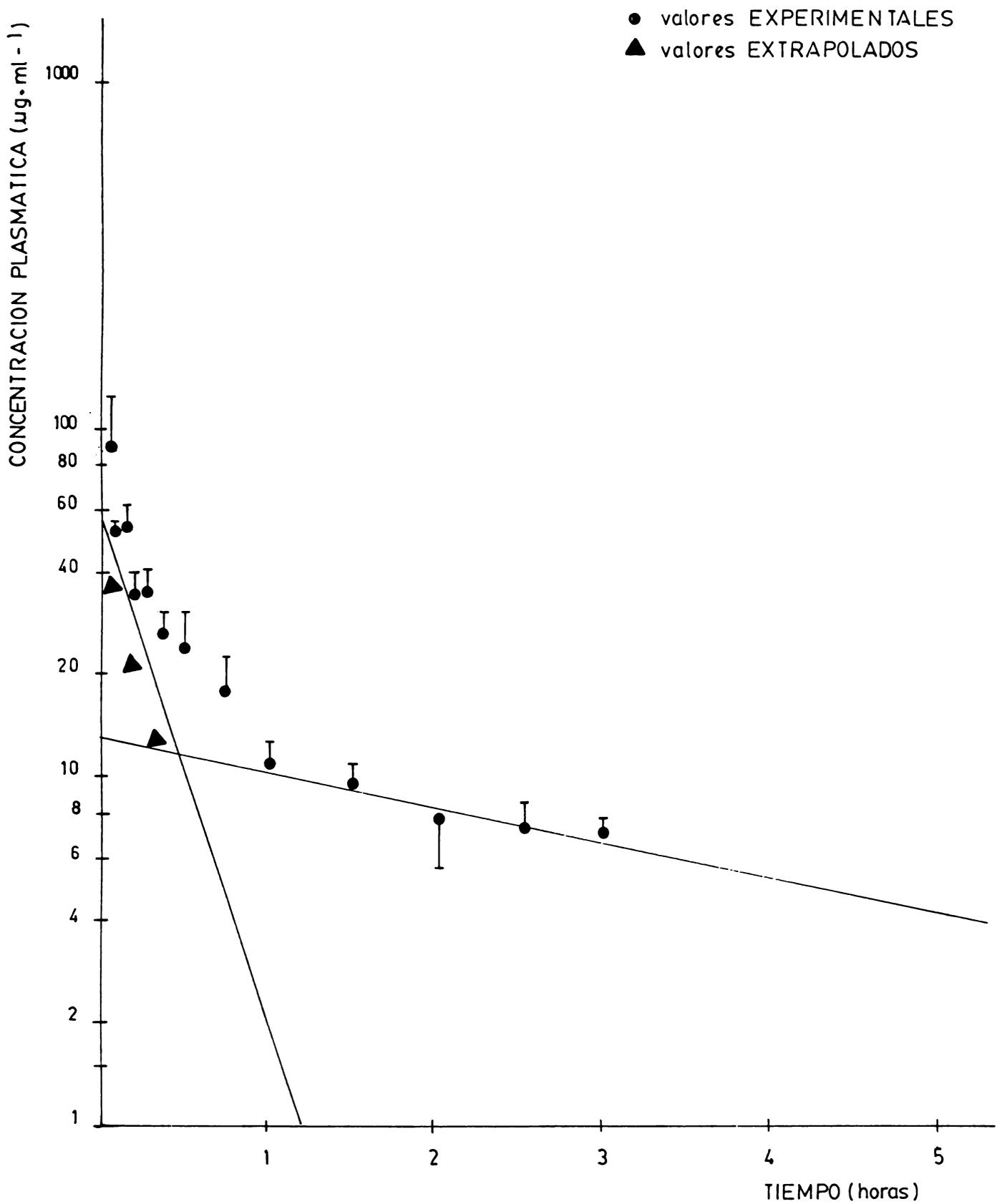


Fig. 4.4: Representación semilogarítmica de concentraciones plasmáticas de sulfato de paromomicina en función del tiempo, tras su administración por la vía intravenosa, a razón de $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, a 6 ovinos adultos.

Tabla 4.10: PARAMETROS CINETICOS OBTENIDOS TRAS LA ADMINISTRACION INTRAVENOSA DE SULFATO DE PAROMOMICINA, A RAZON DE 10 mg · kg⁻¹, EN 6 OVINOS ADULTOS.

Parámetros Cinéticos	Oveja N°						Media ± DS	Parámetros Cinéticos obtenidos de concentraciones promedio
	1	2	3	4	5	6		
A (μg.ml ⁻¹)	66.28	53.53	48.06	41.15	58.86	56.40	54.05 ± 8.75	53.02
α (h ⁻¹)	10.6	3.09	3.81	2.17	3.84	5.97	4.91 ± 3.06	3.34
B (μg.ml ⁻¹)	27.56	13.04	23.82	15.03	14.19	17.84	18.58 ± 5.85	13.90
β (h ⁻¹)	0.52	0.23	0.61	0.31	0.28	0.66	0.44 ± 0.18	0.25
r (fase α)	0.967	0.899	0.925	0.895	0.882	0.919	0.915 ± 0.03	0.931
r (fase β)	0.937	0.930	0.998	0.788	0.902	0.994	0.925 ± 0.08	0.976
T1/2 α (min)	3.92	13.46	10.91	19.16	10.83	6.96	10.87 ± 5.27	12.45
T1/2 β (h)	1.33	3.01	1.14	2.24	2.48	1.05	1.88 ± 0.81	2.77
ABC (μg.h.ml ⁻¹)	58.51	75.95	72.32	66.23	65.35	37.54	62.65 ± 13.70	72.17
K ₂₁	3.64	0.79	1.67	0.81	0.97	1.94	1.64 ± 1.09	0.89
K ₁₂	5.97	1.63	1.36	0.84	2.04	2.66	2.42 ± 1.85	1.76
K _{e1}	1.51	0.90	1.39	0.83	1.11	2.03	1.30 ± 0.45	0.94
Vc (ml.kg ⁻¹)	111.31	150.22	139.12	178.0	136.89	134.70	141.71 ± 21.82	149.43
Vd (β) (ml.kg ⁻¹)	323.23	587.82	317.01	476.58	542.67	414.30	443.60 ± 126.03	561.86
Vd (B) (ml.kg ⁻¹)	362.84	766.87	419.82	665.34	704.72	560.41	580.0 ± 161.84	719.42
Vd (área (ml.kg ⁻¹))	328.67	572.46	313.33	487.06	546.51	403.61	441.94 ± 110.31	554.25
Vd (ss) (ml.kg ⁻¹)	293.87	460.17	252.42	362.59	424.78	319.39	352.20 ± 79.33	444.93
Cl _B (ml/min.kg)	168.08	135.20	193.38	147.74	151.85	273.44	178.28 ± 50.74	140.46

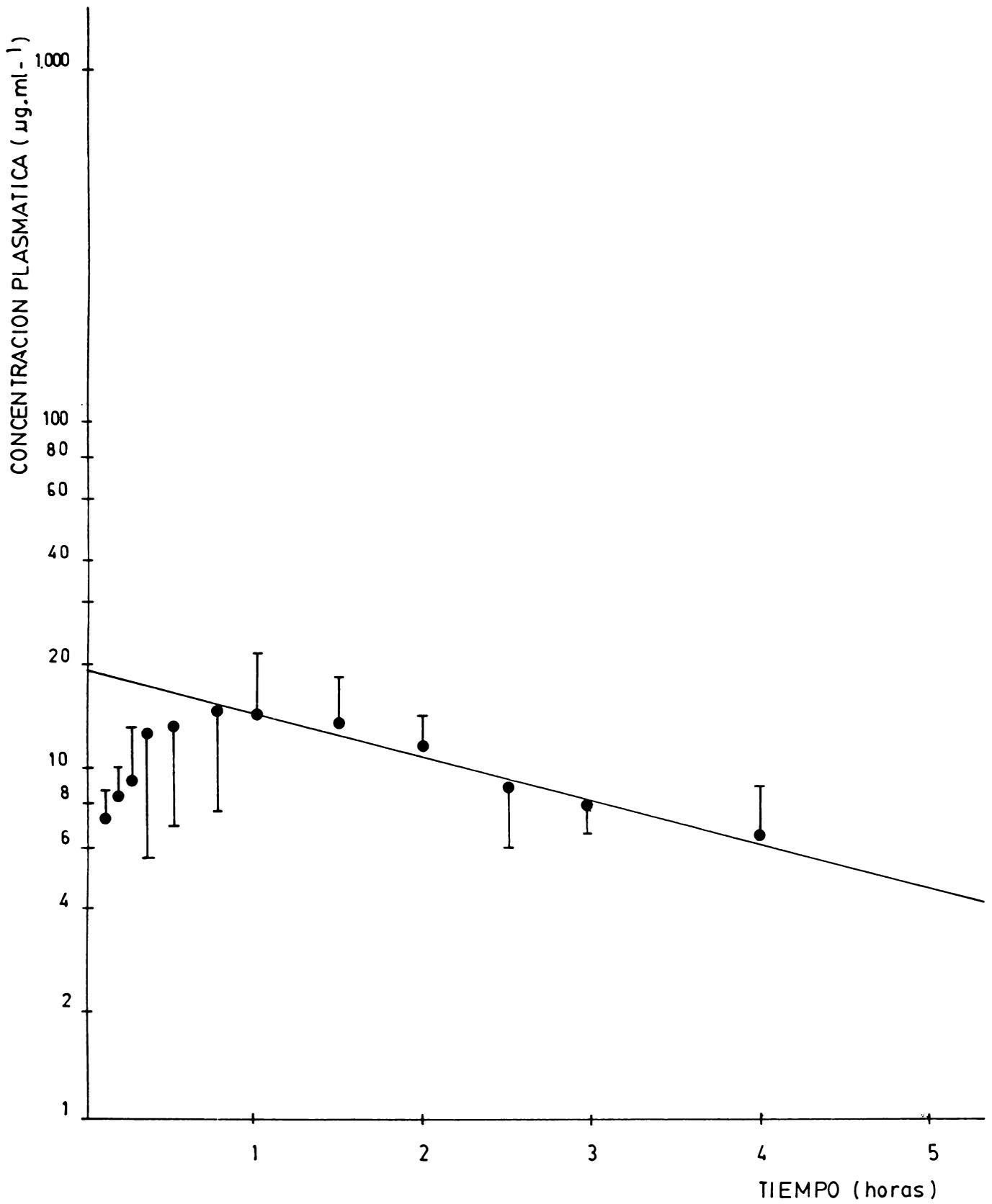


Fig. 4.5: Representación semilogarítmica de concentraciones plasmáticas de sulfato de paromomicina en función del tiempo, tras su administración por la vía intramuscular, a razón de $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, a 6 ovinos adultos.

Tabla 4.11: PARAMETROS CINÉTICOS OBTENIDOS TRAS LA ADMINISTRACION INTRAMUSCULAR DE SULFATO DE PAROMOMICINA, A RAZON DE 10 mg . kg⁻¹, EN 6 OVINOS ADULTOS.

Parámetros Cinéticos	Oveja N°						Media ± DS	Parámetros Cinéticos obtenidos de concentraciones promedio
	1	2	3	4	5	6		
B (µg.ml ⁻¹)	31.39	21.06	10.98	17.83	16.30	77.20	29.13 ± 24.51	19.34
β (h ⁻¹)	0.33	0.22	0.15	0.31	0.27	0.92	0.37 ± 0.28	0.29
r (fase β)	0.926	0.879	0.988	0.884	0.681	0.848	0.868 ± 0.103	0.983
T1/2 β (h)	2.1	3.15	4.62	2.23	2.56	0.75	2.57 ± 1.28	2.39
ABC (µg.h.ml ⁻¹)	51.46	68.34	62.97	53.93	55.01	34.66	54.40 ± 11.55	63.31
F	0.88	0.90	0.87	0.81	0.84	0.92	0.87 ± 0.04	0.88
Cmáx (µg.ml ⁻¹)	27.39	21.67	11.55	12.84	12.71	14.33	16.75 ± 6.35	14.94
Tmáx (h)	0.667	0.5	0.250	1.0	1.5	2.0	0.986 ± 0.659	0.667
Lag. Obs. (h)	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.250	0.146 ± 0.051	0.125

Tabla 4.11a:

COMPARACION DE PARAMETROS FARMACOCINETICOS OBTENIDOS TRAS LA ADMINISTRACION DE $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DE SULFATO DE NEOMICINA POR LAS VIAS INTRAVENOSA E INTRAMUSCULAR A 6 OVINOS ADULTOS, POR ANALISIS DE LA VARIANZA (ANVA).

Parámetro Farmacocinético	IV ($\bar{x} \pm \text{DS}; n= 6$)	IM ($\bar{x} \pm \text{DS}; n= 6$)	ANVA
B ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	39,07 \pm 13,41	24,53 \pm 7,15	P < 0,01
β (h^{-1})	0,38 \pm 0,08	0,20 \pm 0,09	P < 0,01
r (fase β)	0,045 \pm 0,04	0,932 \pm 0,03	NS
T _{1/2} β (h)	1,86 \pm 0,34	4,10 \pm 1,74	P < 0,05
ABC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$)	110,0 \pm 20,51	85,14 \pm 16,48	P < 0,05

P < x: significativos estadísticamente

NS: no significativo estadísticamente (50).

Tabla 4.11b:

COMPARACION DE PARAMETROS FARMACOCINETICOS OBTENIDOS TRAS LA ADMINISTRACION DE 10 mg.kg⁻¹ DE SULFATO DE NEOMICINA POR LAS VIAS INTRAVENOSA Y SUBCUTANEA A 6 OVINOS ADULTOS, POR ANALISIS DE LA VARIANZA (ANVA).

Parámetro Farmacocinético	IV ($\bar{x} \pm DS$; n= 6)	SC ($\bar{x} \pm DS$; n= 6)	ANVA
B ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	39,07 \pm 13,41	28,47 \pm 6,23	P < 0,01
β (h^{-1})	0,38 \pm 0,08	0,25 \pm 0,06	P < 0,01
r (fase β)	0,945 \pm 0,04	0,937 \pm 0,06	NS
T _{1/2} β (h)	1,86 \pm 0,34	2,86 \pm 0,58	P < 0,01
ABC ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$)	110,0 \pm 20,51	87,57 \pm 15,15	NS

P < x: significativos estadísticamente

NS: no significativo estadísticamente (50)

riables farmacocinéticas obtenidas cuando neomicina se / administra por las vías intravenosa y subcutánea; además la Tabla 4.11c muestra dicha comparación para los parámetros obtenidos de la administración intramuscular y subcutánea de neomicina.

Por otro lado, en la Tabla 4.11d se presentan los resultados de la comparación por análisis de varianza de / los parámetros farmacocinéticos obtenidos cuando paromomicina es administrada por las vías intravenosa e intramuscular.

4.4.- ESTUDIO TOXICOLOGICO

4.4.1.- Neomicina

4.4.1.1.- Parámetros basales

4.4.1.1.1.- Control clínico: Los 2 ovinos utilizados para la prueba tóxica con neomicina presentaron óptimas condiciones de salud cuando fueron sometidos al control clínico previo. Los valores obtenidos para frecuencia cardíaca (FC), frecuencia respiratoria (FR), temperatura corporal (TC) y movimientos ruminales (MR) se presentan en el siguiente cuadro:

	Animal Nº 1	Animal Nº 2
FC (l/min)	105	84
FR (l/min)	20	18
TC (°C)	39,5	39,5
MR (m/5 min)	6	5

4.4.1.1.2.- Control electrocardiográfico: Tal lo descrito en / 3.4.2, los 2 ovinos destinados a la prueba tóxica con

Tabla 4.11c:

COMPARACION DE PARAMETROS FARMACOCINETICOS OBTENIDOS TRAS LA ADMINISTRACION DE 10 mg.kg⁻¹ DE SULFATO DE NEOMICINA, POR LAS VIAS INTRAMUSCULAR Y SUBCUTANEA A 6 OVINOS ADULTOS, POR ANALISIS DE LA VARIANZA (ANVA).

Parámetro Farmacocinético	IM ($\bar{x} \pm DS$; n= 6)	SC ($\bar{x} \pm DS$; n= 6)	ANVA
B ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$)	24,53 \pm 7,15	28,47 \pm 6,23	NS
β (h^{-1})	0,20 \pm 0,09	0,25 \pm 0,06	NS
r (fase β)	0,932 \pm 0,03	0,937 \pm 0,06	NS
T _{1/2} β (h)	4,10 \pm 1,74	2,86 \pm 0,58	NS
ABC ($\mu\text{g}.\text{h}.\text{ml}^{-1}$)	85,14 \pm 16,48	85,57 \pm 15,15	NS
F	0,77 \pm 0,04	0,80 \pm 0,05	NS
C _{máx} ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$)	18,36 \pm 2,35	20,77 \pm 3,02	NS
T _{máx} (h)	1,53 \pm 0,66	1,06 \pm 0,58	NS
Log. Obs. (h)	0,118 \pm 0,02	0,076 \pm 0,03	P < 0,05

P < x: valores estadísticamente significativos

NS: valores no significativos estadísticamente (50)

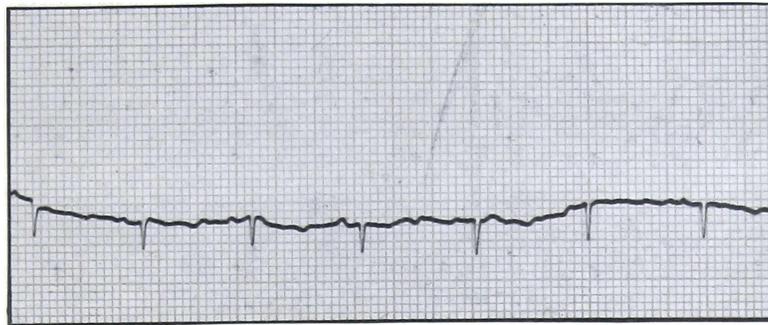
Tabla 4.11d:

COMPARACION DE PARAMETROS FARMACOCINETICOS OBTENIDOS TRAS LA ADMINISTRACION DE $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DE SULFATO DE PAROMOMICINA, POR LAS VIAS INTRAVENOSA E INTRAMUSCULAR A 6 OVINOS A DULTOS, POR ANALISIS DE LA VARIANZA (ANVA).

Parámetro Farmacocinético	IV ($\bar{x} \pm \text{DS}; n= 6$)	IM ($\bar{x} \pm \text{DS}; n= 6$)	ANVA
B ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	18,58 \pm 5,85	29,13 \pm 24,51	NS
β (h^{-1})	0,44 \pm 0,18	0,37 \pm 0,28	NS
r (fase β)	0,925 \pm 0,08	0,868 \pm 0,103	NS
T1/2 β (h)	1,88 \pm 0,81	2,57 \pm 1,28	NS
ABC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$)	62,65 \pm 13,20	54,40 \pm 11,55	NS

NS: no significativo estadísticamente (50).

neomicina fueron sometidos a un estudio electrocardiográfico; se obtuvieron los respectivos registros basales, presentando a continuación el correspondiente al animal Nº 1:



4.4.1.1.3.- Control hematológico: Las determinaciones hematológicas previas presentaron los resultados, que expresados en unidades basadas en el SIMELA, se muestran en el siguiente cuadro:

		Animal Nº 1	Animal Nº 2
Rcto. Leucocitario		$7,5 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$8,0 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$
Rcto. Plaquetario		$160 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$140 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$
Hematocrito		0,24	0,37
Eritrose- dimentación	1 h	-	-
	3 h	1,3 u.a	2,9 u.a
	24 h	12 u.a	14 u.a

4.4.1.1.4.- Control serológico y tiempo de protrombina: Se presentan a continuación todos los valores serológicos y de tiempo de protrombina, obtenidos previamente al inicio del ensayo tóxico, para los dos ovinos destinados al mismo. Estos valores se presentan en unidades basadas en el SIMELA, con excepción de glucosa, urea, creatini

na y bilirrubina que se presentan en mg % (unidad más/común) para facilitar su comparación:

	Animal Nº 1	Animal Nº 2
Glucosa (mg %)	70	45
Urea (mg %)	40	25
Creatinina (mg %)	1,4	2,4
Bilirrubina (mg %)	< 0,2	< 0,2
Proteínas Totales (g.l ⁻¹)	68	85
GOT (mUI . ml ⁻¹)	47	27
GPT (mUI . ml ⁻¹)	15	14
LDH (mUI . ml ⁻¹)	145	120
FA (mUI . ml ⁻¹)	28	32
γGT (mUI . ml ⁻¹)	42	46
CPK (mUI . ml ⁻¹)	74	86
GLDH (mUI . ml ⁻¹)	3,04	4,07
Tiempo de protrombina (seg.)	15	14

4.4.1.2.- Concentraciones séricas de neomicina: De las muestras / sanguíneas obtenidas, tal lo descrito en 3.4.7, se obtuvieron las concentraciones séricas del antibiótico durante todo el ensayo tóxico agudo, que nos permitió hacer la correlación entre estos niveles y las diferentes manifestaciones tóxicas.

En la Tabla 4.12, se presentan los valores de concentraciones séricas de neomicina ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$), con sus respectivas desviaciones estándar, para cada animal, obtenidos en los tiempos descritos luego de la administración intravenosa, a lo largo de todo el ensayo tóxico, / como también, los tiempos de administración de cada dosis en forma acumulativa.

Tabla 4.12:

CONCENTRACIONES SERICAS DE NEOMICINA ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) \pm DS, OBTENIDAS LUEGO DE CADA DOSIS INTRAVENOSA, A RAZON DE $11 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ Y LOS TIEMPOS DE ADMINISTRACION DE LAS MISMAS EN FORMA ACUMULATIVA, PARA 2 OVINOS ADULTOS.

		Concentraciones séricas de neomicina ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) \pm DS	
Nº dosis	Tiempo acumulativo duración prueba	Animal Nº 1	Animal Nº 2
Previo			
1º dosis	0'		
5'		67,3 \pm 10,3	60,0 \pm 17,3
15'		57,1 \pm 24,8	49,5 \pm 30,5
2º dosis	15'		
5'		123,0 \pm 68,3	171,3 \pm 40,5
15'		113,2 \pm 91,4	121,4 \pm 102,5
3º dosis	30'		
5'		174,6 \pm 13,08	211,2 \pm 110,8
15'		144,6 \pm 4,60	171,3 \pm 54,6
4º dosis	45'		
5'		194,5 \pm 23,6	211,2 \pm 52,8
15'		148,5 \pm 32,3	171,3 \pm 22,6
5º dosis	1:00 h		
5'		194,5 \pm 23,6	246,1 \pm 42,8
15'		174,6 \pm 4,60	218,0 \pm 21,8
6º dosis	1:15 h		
5'		231,4 \pm 28,6	251,6 \pm 44,6
15'		211,2 \pm 30,1	234,0 \pm 32,1

continúa

7º dosis	1:30 h		
5'		427,2 ± 24,8	321,5 ± 92,8
15'		303,9 ± 130,6	281,8 ± 71,5
8º dosis	1:45 h		
5'		447,8 ± 68,5	462,5 ± 18,5
15'		317,5 ± 150,3	423,7 ± 148,3
9º dosis	2:00 h		
5'		496,4 ± 10,7	522,5 ± 50,5
15'			475 ± 28,2
10º dosis	2:15 h		
5'			602,8 ± 92,6

En las Fig. 4.6 y 4.7 respectivamente, se presentan / las concentraciones séricas de neomicina ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$), en / función del tiempo y de las dosis acumulativas por vía / intravenosa a lo largo del ensayo tóxico.

4.4.1.3.- Manifestaciones clínicas de toxicidad. Correlación con / concentraciones séricas de neomicina

4.4.1.3.1.- Animal Nº 1: En esta prueba tóxica aguda, el animal no manifiesta ninguna alteración clínicamente visible, / hasta la administración de la quinta dosis intravenosa inclusive, conservando los valores basales para todos/ los parámetros descriptos.

Sí, al administrar la sexta dosis (75 minutos de co-
menzada la prueba), se evidencian algunas manifestacio-
nes importantes, tales como: evidente dificultad respi-
ratoria y marcada incoordinación, con imposibilidad de
mantener la cabeza en posición normal.

Correlacionando con las concentraciones plasmáticas/
observamos que en el momento de la aparición de estas/
manifestaciones, la concentración de neomicina en el /
suero del animal es de aproximadamente $230 \pm 29 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$

Así, al administrar la séptima dosis aparecen las si-
guientes manifestaciones:

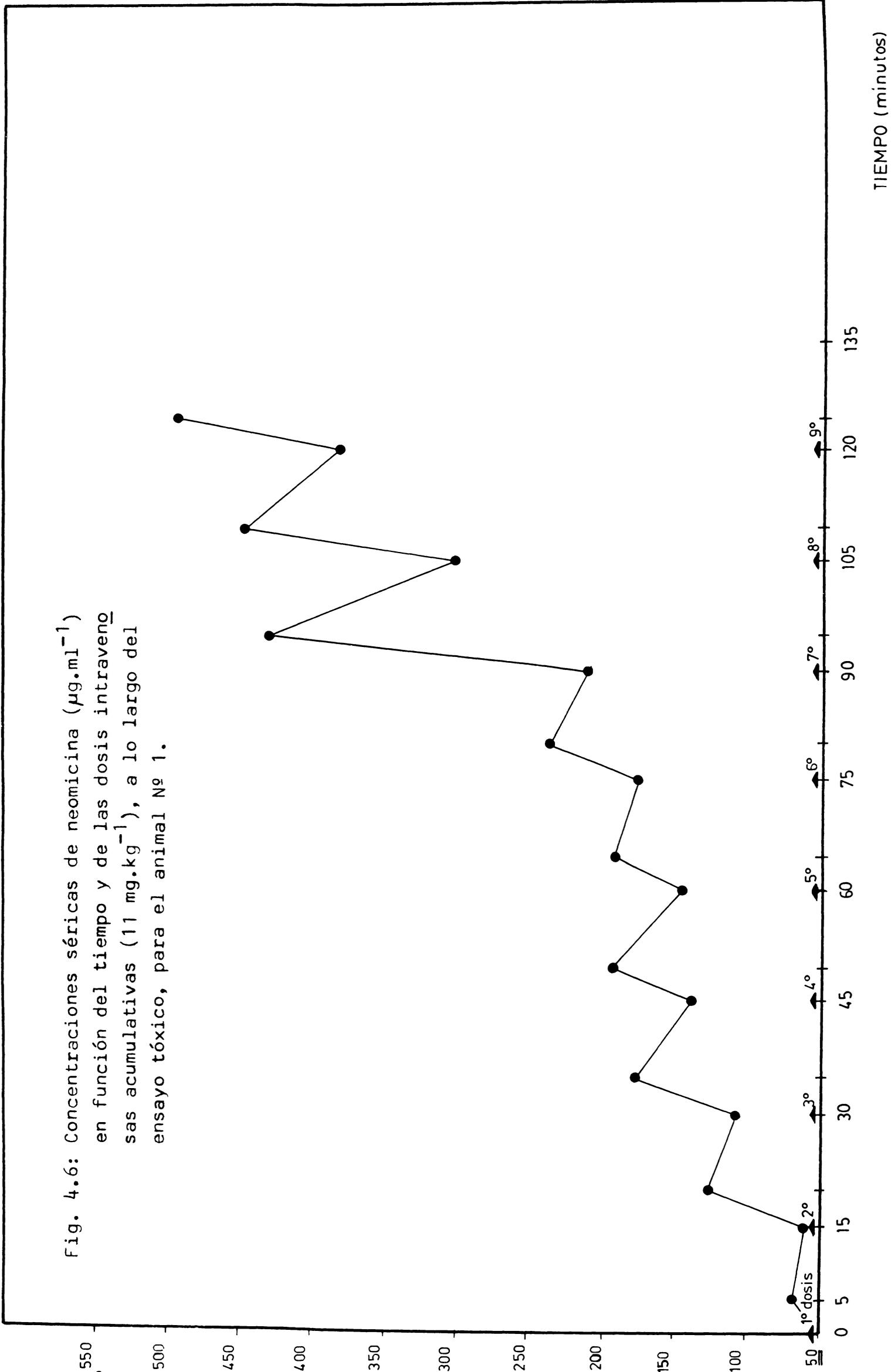
- Se acentúa la dificultad respiratoria, hay incre-
mento en la frecuencia de la misma (38 l/min), en de-
trimento de la profundidad y a la inspección aparece /
una notable cianosis de las mucosas bucal, nasal y con-
juntival.

- Aparecen notables fasciculaciones musculares en /
las regiones de la cara y cervical; la cabeza permane-
ce caída.

CONCENTRACION PLASMÁTICA ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)

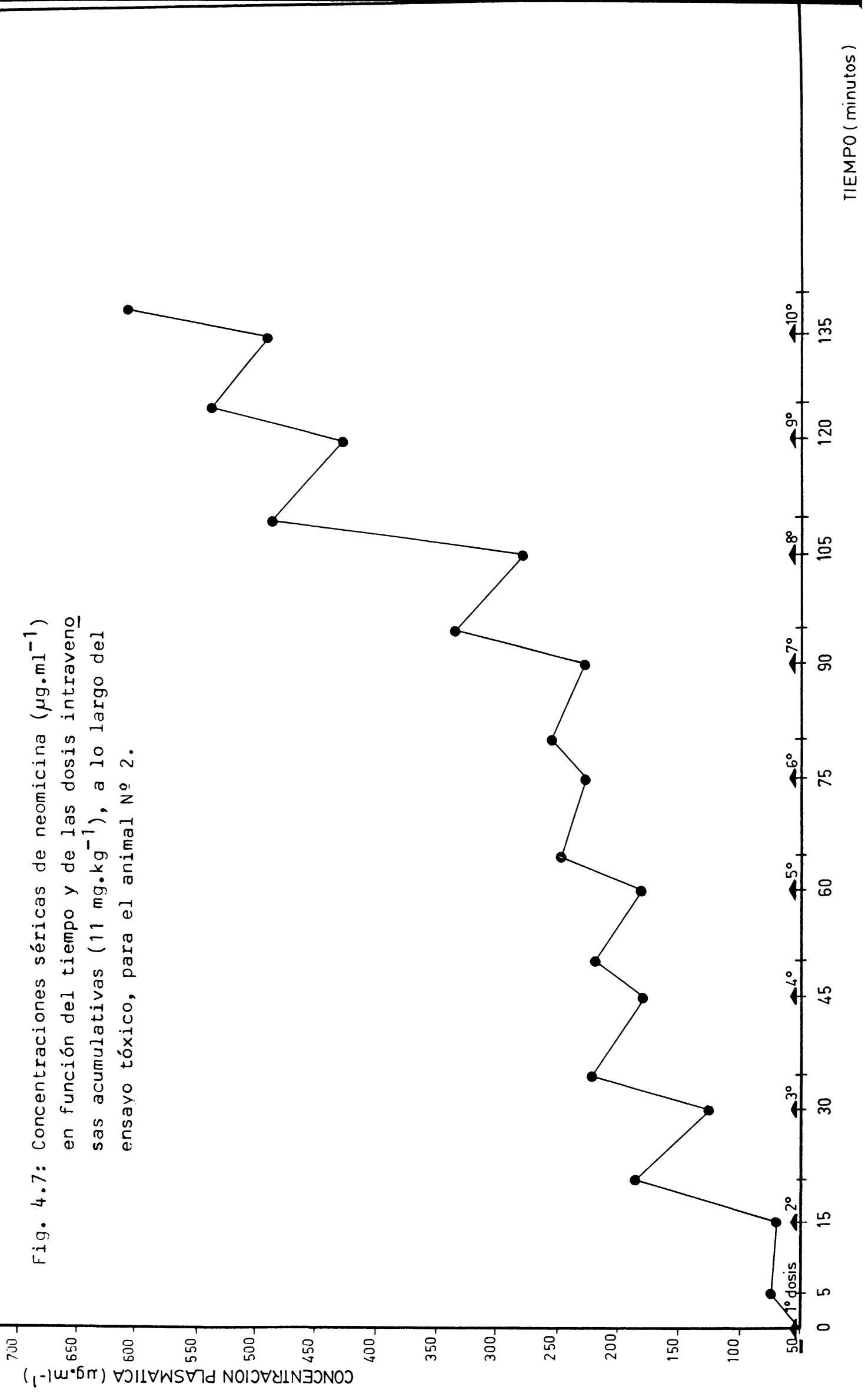
- 401 -

Fig. 4.6: Concentraciones séricas de neomicina ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) en función del tiempo y de las dosis intravenosas acumulativas ($11 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), a lo largo del ensayo tóxico, para el animal Nº 1.



TIEMPO (minutos)

Fig. 4.7: Concentraciones séricas de neomicina ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) en función del tiempo y de las dosis intravenosas acumulativas ($11\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), a lo largo del ensayo tóxico, para el animal N° 2.



- A la auscultación, aparece una frecuencia cardíaca elevada (150 l/min) y una notable alteración del ritmo cardíaco.

- La incoordinación se hace más notable, se aflojan/ los miembros posteriores y el animal cae por primera / vez en la prueba; todo esto coincide con un nivel sérico de neomicina de aproximadamente $427 \pm 25 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$.

Cabe acotar que el animal se recupera en forma rápida y recibe de pie la octava dosis; luego de la misma, se acentúan notoriamente las manifestaciones anteriores:

- El animal presenta una marcada debilidad muscular/ e incoordinación, afloja miembros posteriores y vuelve a caer.

- En este momento muestra un importante estado de sedación con pérdida del reflejo palpebral y notable cianosis.

Cuando ésto acontece la concentración de neomicina / es de $447 \pm 68 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de suero.

Aunque sólo parcialmente el animal se recupera antes de la novena dosis; se para, reincorpora la cabeza pero permanece con incoordinación. Al administrar la novena dosis, que significan acumulativamente alrededor/ de 6,5 g de neomicina en 2 horas de ensayo, el animal/ presenta secuencialmente lo descrito en los casos anteriores, y cae; en este momento hay un notorio aumento de secreciones salivales y nasales y una depresión/ muy marcada del sistema nervioso, que parece por la sedación y pérdida de reflejos palpebral y corneal, un / estado de "anestesia", aunque con conservación de la / sensibilidad.

En esta instancia se suspende la administración de / droga, pero se sigue observando el comportamiento clí- nico del animal. Así a los 30 minutos de la última do- sis, permanece caído, pero se ha recuperado del estado de sedación y tiene la cabeza en posición normal. A la hora el animal se para, pero mantiene dificultosamente el equilibrio; ésto sucede hasta las 2 ó 2,5 horas de/ la última administración. De aquí en más, el animal es controlado diariamente y por 15 días, no presentando / alteraciones clínicas visibles.

4.4.1.3.2.- Animal Nº 2: Las manifestaciones clínicas de toxicidad de este animal coinciden, en líneas generales, con las del anterior; aparecen las primeras manifestaciones / luego de la administración de la séptima dosis intrave- nosa, conservando hasta ese momento todos los paráme- / tros basales en condiciones normales; esas alteracio- / nes iniciales se dan cuando los niveles séricos de neo- micina están aproximadamente en $320 \pm 92 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ y con- sisten en una importante dificultad respiratoria, caí- da de la cabeza y una evidente incoordinación del tren posterior. El animal se recupera (en 10 minutos approxi- madamente) y al recibir la octava dosis, cuando tiene/ concentraciones plasmáticas de $462 \pm 185 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, se / acentúan las manifestaciones anteriores y presenta:

- Aumento de la frecuencia respiratoria (50 l/min), / pero con respiración superficial y notable cianosis en la mucosa bucal y nasal.

- Fasciculaciones musculares aisladas en la zona cer- vical.

- Debilidad en el tren posterior, incoordinación y / caída, aunque se restablece inmediatamente.

Al recibir la novena dosis las manifestaciones son / las mismas, pero el animal entra en un evidente estado de sedación; a los 10 minutos, se reincorpora (recuperación parcial) y al recibir la décima dosis, con la / que suma en forma acumulativa alrededor de 7,2 g de / neomicina, vuelve a caer, mostrando un estado de pro- / funda sedación con pérdida del reflejo palpebral; en / este momento el animal presenta importantes secrecio- / nes nasales y oculares.

Los niveles séricos de neomicina cuando el animal ma- / nifiesta esta importante depresión del SNC, entre la / novena y décima dosis, están entre 520 y 600 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, a / proximadamente.

Luego de esto, se suspende la administración y se / continúa observando al animal, que aproximadamente a / los 45 minutos de la última dosis, se reincorpora pero / mantiene muy dificultosamente el equilibrio y al for- / zarlo a marchar, cae fácilmente. Esta situación mejora / a partir de las 3 horas en que el animal no recibe dro- / ga y en la observación diaria posterior no presenta al- / teraciones detectables clínicamente.

4.4.1.4.- Modificaciones electrocardiográficas durante la prueba / tóxica; su correlación con las concentraciones séricas / de neomicina: Ninguno de los animales que participaron / de esta prueba tóxica aguda con neomicina manifestaron / modificaciones en sus registros electrocardiográficos, / hasta la administración de la sexta dosis intravenosa a- / cumulativa.

El registro del animal Nº 1, cuando éste recibió la / séptima dosis, y con un nivel plasmático de neomicina de / aproximadamente 420 - 430 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, muestra un importante

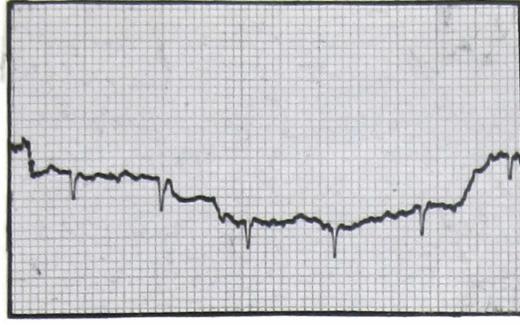
aumento en la frecuencia cardíaca (que fue también detectado a la auscultación) y además hay alargamiento del segmento ST, con un manifiesto acercamiento de las ondas T y P, todo lo cual se puede observar en la Fig. 4.8.

Luego de la octava administración intravenosa el incremento de la frecuencia cardíaca es notable, llegando a 150 l/min (ver Fig. 4.9). Al administrar la novena dosis y con el pico de sintomatología clínica de toxicidad, con una concentración plasmática de alrededor de 500 $\mu\text{g. ml}^{-1}$, el registro electrocardiográfico del animal Nº 1 / presenta una ratificación de las modificaciones detectadas en los anteriores, con marcado alargamiento del segmento ST y frecuencia cardíaca elevada sobre la basal, / que tiende a normalizarse en los registros correspondientes a los 30 y 60 minutos posteriores a la última infusión intravenosa de neomicina (ver Fig. 4.10).

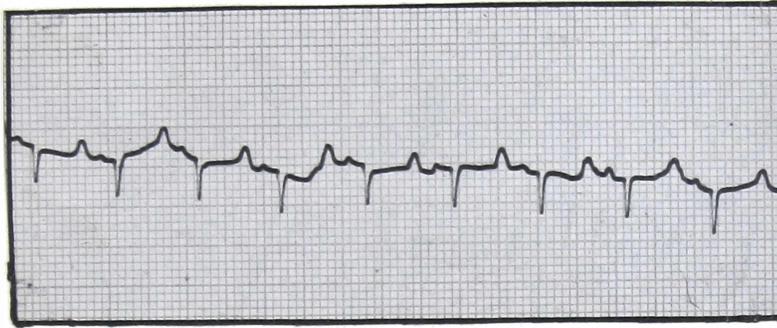
Las modificaciones electrocardiográficas se describen/ en base al registro del animal Nº 1, que muestra más claramente las alteraciones detectadas, presentando el registro del animal Nº 2 resultados similares, sobre todo/ en lo que respecta al aumento de frecuencia cardíaca.

4.4.1.5.- Controles hematológicos y serológicos durante la prueba/tóxica: Se hicieron controles hematológicos y serológicos y de tiempo de protrombina en el momento que los animales presentaron la máxima manifestación clínica de toxicidad aguda.

En la Tabla 4.13, se presentan estos valores para cada uno de los animales de la experiencia, acompañados de / los valores de referencia obtenidos previamente al comienzo de la misma, para facilitar su comparación.

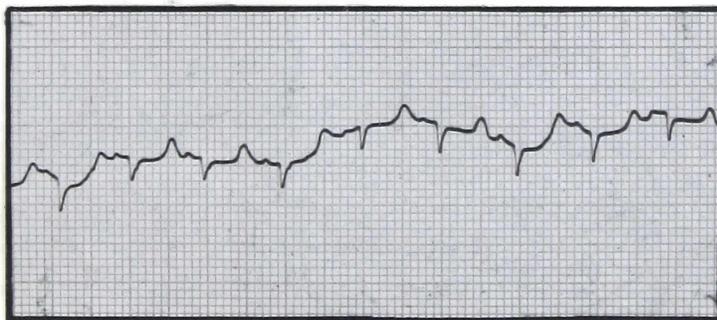


Previo a la 7^a dosis



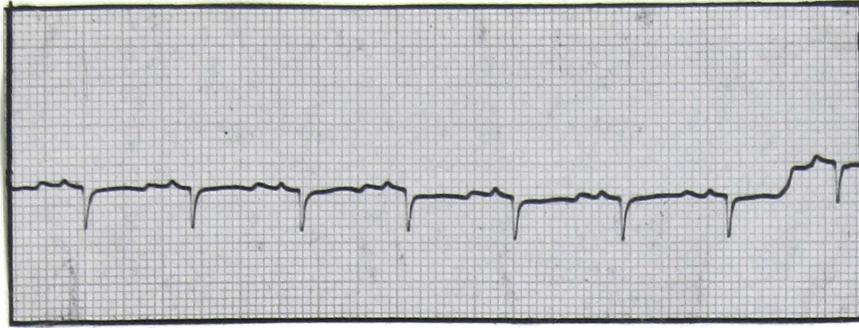
Posterior a la 7^a dosis

Fig. 4.8: Registro ECG del animal N^o 1, previo y posterior a la administración de la 7^a dosis intravenosa de neomicina, a razón de 11 mg.kg^{-1} .

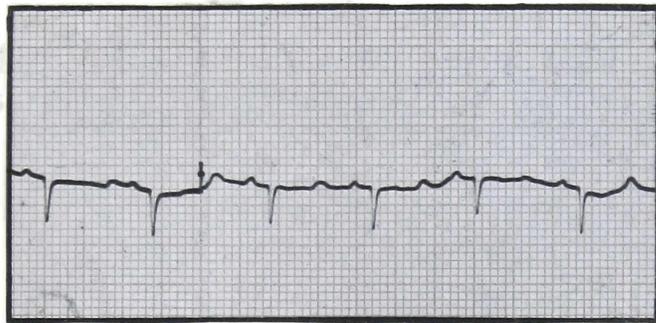


Posterior a la 8^a dosis

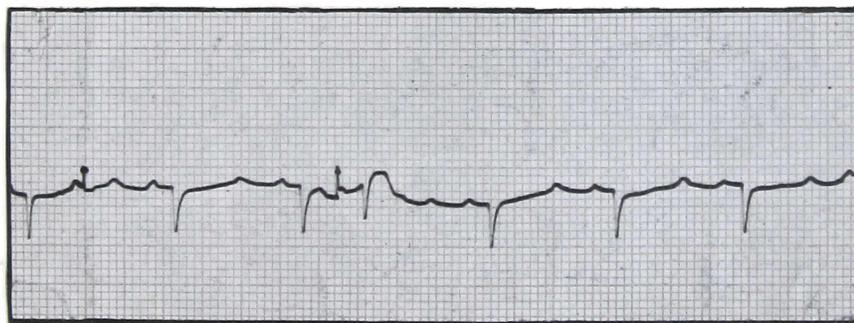
Fig. 4.9: Registro ECG del animal N^o 1, posterior a la administración de la 8^a dosis acumulativa de neomicina intravenosa, a razón de 11 mg.kg^{-1} .



5 min. después de la 9^a dosis



30 min. después de la 9^a dosis



60 min. después de la 9^a dosis

Fig. 4.10: Registro ECG del animal N^o 1; 5, 30 y 60 minutos posteriores a la administración de la 9^a dosis acumulativa de neomicina intravenosa, a razón de $11 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Tabla 4.13: VALORES HEMATOLOGICOS, SEROLOGICOS Y DE TIEMPO DE PROTROMBINA OBTENIDOS PREVIAMENTE A LA PRUEBA TOXICA Y EN EL MOMENTO DE MAYOR MANIFESTACION CLINICA DE TOXICIDAD, TRAS LA ADMINISTRACION DE SULFATO DE NEOMICINA EN DOSIS INTRAVENOSAS ACUMULATIVAS, A 2 OVINOS ADULTOS.

	Animal Nº 1		Animal Nº 2	
	Previo	Intoxicado	Previo	Intoxicado
Recuento leucocitario	$7,5 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$10 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$8,0 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$8,5 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$
Recuento plaquetario	$160 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$150 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$140 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$150 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$
Hematocrito	0,24	0,26	0,37	0,39
	-	-	-	-
Eritrosedimentación	1 h	-	-	-
	3 h	1,3 u.a	1,2 u.a	2,5 u.a
	24 h	12 u.a	13 u.a	15 u.a
Glucosa (mg %)	70	144	45	105
Urea (mg %)	40	78	25	50
Creatinina (mg %)	1,4	1,4	2,4	2,5
Bilirrubina (mg %)	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
Proteínas totales ($g \cdot l^{-1}$)	68	78	85	84
GOT (mUI $\cdot ml^{-1}$)	47	75	27	49
GPT (mUI $\cdot ml^{-1}$)	15	12	14	20
LDH (mUI $\cdot ml^{-1}$)	145	250	120	200
FA (mUI $\cdot ml^{-1}$)	28	28	32	26
γ GT (mUI $\cdot ml^{-1}$)	42	65	46	98
CPK (mUI $\cdot ml^{-1}$)	74	129	86	99
GLDH (mUI $\cdot ml^{-1}$)	3,04	9,12	4,07	10,4
Tiempo de protrombina (seg)	15	15	14	13

4.4.2.- Paromomicina

4.4.2.1.- Parámetros basales

4.4.2.1.1.- Control clínico: Los 2 ovinos adultos utilizados para/ la prueba tóxica aguda con paromomicina, mostraron un/ perfecto estado de salud en el control clínico previo; en el siguiente cuadro se presentan los valores obteni dos para: Frecuencia Cardíaca (FC), Frecuencia Respira toria (FR), Temperatura Corporal (TC) y Movimientos Ru minales (MR).

	Animal Nº 3	Animal Nº 4
FC (l/min)	88	96
FR (l/min)	22	18
TC (°C)	39	39,5
MR (m/5 min)	5	8

4.4.2.1.2.- Control electrocardiográfico: La actividad cardíaca de los animales Nº 3 y Nº 4 en el momento previo a la / prueba toxicológica con paromomicina se evaluó electro cardiográficamente, siendo el registro basal para el a nimal Nº 4:



Nota: Si bien el control ruminográfico no se pudo realizar por pro blemas de técnica, por el estudio clínico tenemos la eviden- cia que no hubo modificaciones importantes de los movimien- / tos ruminales, que permanecieron dentro de rangos normales / durante toda la prueba tóxica y además los animales una vez/ recuperados del estado de sedación, ingirieron alimento sin/ inconveniente.

4.4.2.1.3.- Control hematológico: Los parámetros hematológicos previos arrojaron los resultados, que expresados en unidades basadas en SIMELA, se presentan en el siguiente / cuadro:

		Animal Nº 3	Animal Nº 4
Rcto. Leucocitario		$8,5 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$9,2 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$
Rcto. Plaquetario		$140 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$180 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$
Hematocrito		0,33	0,38
Eritrose- dimentación	1 h	-	-
	3 h	3 u.a	1,5 u.a
	24 h	15 u.a	12 u.a

4.4.2.1.4.- Control serológico y de tiempo de protrombina: A continuación se presentan los resultados del control serológico y tiempo de protrombina realizados previamente a/ la prueba tóxica:

	Animal Nº 3	Animal Nº 4
Glucosa (mg %)	52	61
Urea (mg %)	30	33
Creatinina (mg %)	2,2	1,54
Bilirrubina (mg %)	< 0,2	< 0,2
Proteínas Totales ($g \cdot l^{-1}$)	64	74
GOT ($mUI \cdot ml^{-1}$)	45	43
GPT ($mUI \cdot ml^{-1}$)	7	6
LDH ($mUI \cdot ml^{-1}$)	120	250
FA ($mUI \cdot ml^{-1}$)	18	36
γ GT ($mUI \cdot ml^{-1}$)	40	52
CPK ($mUI \cdot ml^{-1}$)	97	52
GLDH ($mUI \cdot ml^{-1}$)	2,13	3,29
Tiempo de protrombina (seg.)	13	15

4.4.2.2.- Concentraciones séricas de paromomicina: De las muestras sanguíneas obtenidas previamente y durante todo el ensayo tóxico agudo (ver 3.4.7), se obtuvieron los valores / de concentración sérica de paromomicina ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) con / sus respectivas desviaciones estándar, para cada uno de / los animales y que junto a los tiempos de administración de cada dosis se presentan en la Tabla 4.14.

En las Fig. 4.11 y 4.12 se presentan las concentraciones séricas de paromomicina ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) en función del / tiempo y de las dosis acumulativas por vía intravenosa, / a lo largo del ensayo tóxico.

4.4.2.3.- Manifestaciones clínicas de toxicidad. Correlación con / las concentraciones séricas de paromomicina: Ninguno de / los 2 animales utilizados en esta prueba toxicológica ma / nifestaron alteraciones clínicas durante las primeras 4 / dosis intravenosas del antibiótico, manteniendo los pará / metros basales dentro del rango normal. Recién luego de / la quinta dosis el animal N° 4 muestra alteraciones en / su oxigenación con una notable respiración abdominal y a / la auscultación, aumento de la frecuencia cardíaca. Algo / similar pero luego de la sexta dosis ocurrió en el ani / mal N° 3; estas manifestaciones se correlacionan con ni / veles plasmáticos de aproximadamente 460 y $470 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$. / Al recibir la séptima dosis ambos animales, con muy po / cas diferencias, muestran las siguientes manifestaciones:

- Evidente dificultad respiratoria.
- Cianosis a la observación de las mucosas conjuntival y bucal (fue más manifiesta en el animal N° 3).
- Debilidad del tren posterior.
- Disminución de la excitabilidad nerviosa.

Tabla 4.14:

CONCENTRACIONES SERICAS DE PAROMOMICINA ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) \pm DS, OBTENIDAS LUEGO DE CADA DOSIS INTRAVENOSA, A RAZON DE $13 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ Y LOS TIEMPOS DE ADMINISTRACION DE LAS MISMAS EN FORMA ACUMULATIVA, PARA 2 OVINOS ADULTOS.

		Concentraciones séricas de paromomicina ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) \pm DS	
Nº dosis	Tiempo acumulativo duración prueba	Animal Nº 3	Animal Nº 4
Previo			
1º dosis	0'		
5'		94,2 \pm 30,0	97,10 \pm 62,05
15'		71,6 \pm 16,0	83,20 \pm 21,40
2º dosis	15'		
5'		99,7 \pm 25,0	113,30 \pm 22,10
15'		81,6 \pm 1,45	88,28 \pm 35,28
3º dosis	30'		
5'		250,6 \pm 70,5	179,90 \pm 80,19
15'		212,3 \pm 11,02	91,20 \pm 46,21
4º dosis	45'		
5'		411,11 \pm 65,0	333,40 \pm 162,0
15'		320,6 \pm 34,5	128,21 \pm 86,15
5º dosis	1:00 h		
5'		462,9 \pm 75,2	351,26 \pm 98,01
15'		387,6 \pm 64,1	282,14 \pm 111,2
6º dosis	1:15 h		
5'		473,2 \pm 14,2	468,18 \pm 38,13
15'		435,2 \pm 27,1	385,01 \pm 151,5

continúa

7º dosis	1:30 h		
5'		521,3 ± 180,3	502,41 ± 109,6
15'		482,2 ± 128,2	456,56 ± 184,05
8º dosis	1:45 h		
5'		531,6 ± 145,0	551,4 ± 33,16
15'		598,4 ± 94,06	524,6 ± 58,11
9º dosis	2:00 h		
5'		552,6 ± 28,03	586,3 ± 96,11
15'		510,4 ± 12,98	531,4 ± 59,80
10º dosis	2:15 h		
5'		570,5 ± 128,3	596,2 ± 128,8
15'		530,1 ± 111,2	558,3 ± 99,90
11º dosis	2:30 h		
5'		598,70 ± 96,01	662,4 ± 180,3
15'		558,30 ± 120,1	608,3 ± 136,6
12º dosis	2:45 h		
5'		636,40 ± 84,02	743,01 ± 113,8
13º dosis	3:00 h		
5'		1350,70 ± 140,5	981,10 ± 122,5

Fig. 4.11: Concentraciones séricas de paromomicina ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) en función del tiempo y de las dosis intravenosas acumulativas ($13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), a lo largo del ensayo tóxico, para el animal N° 3.

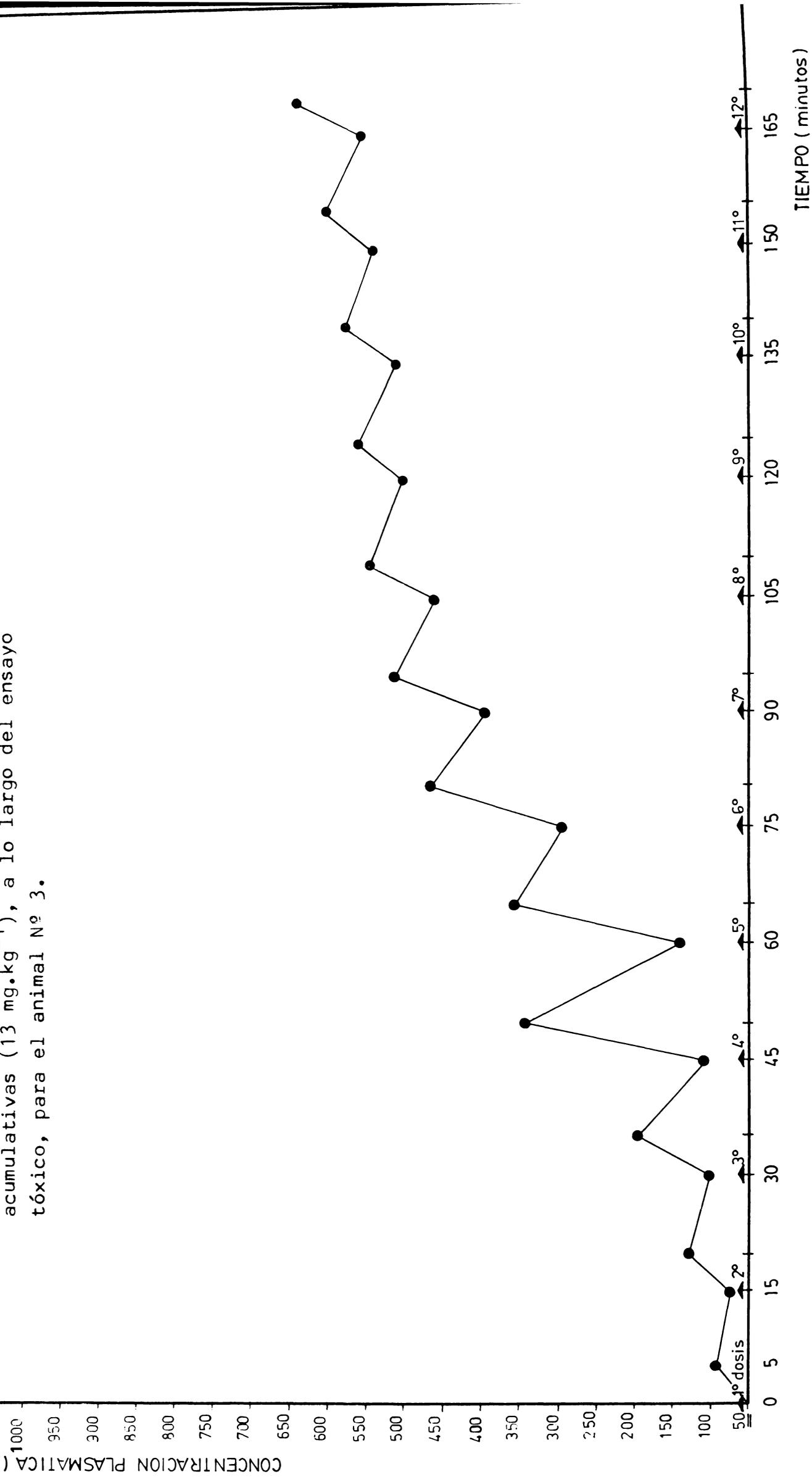
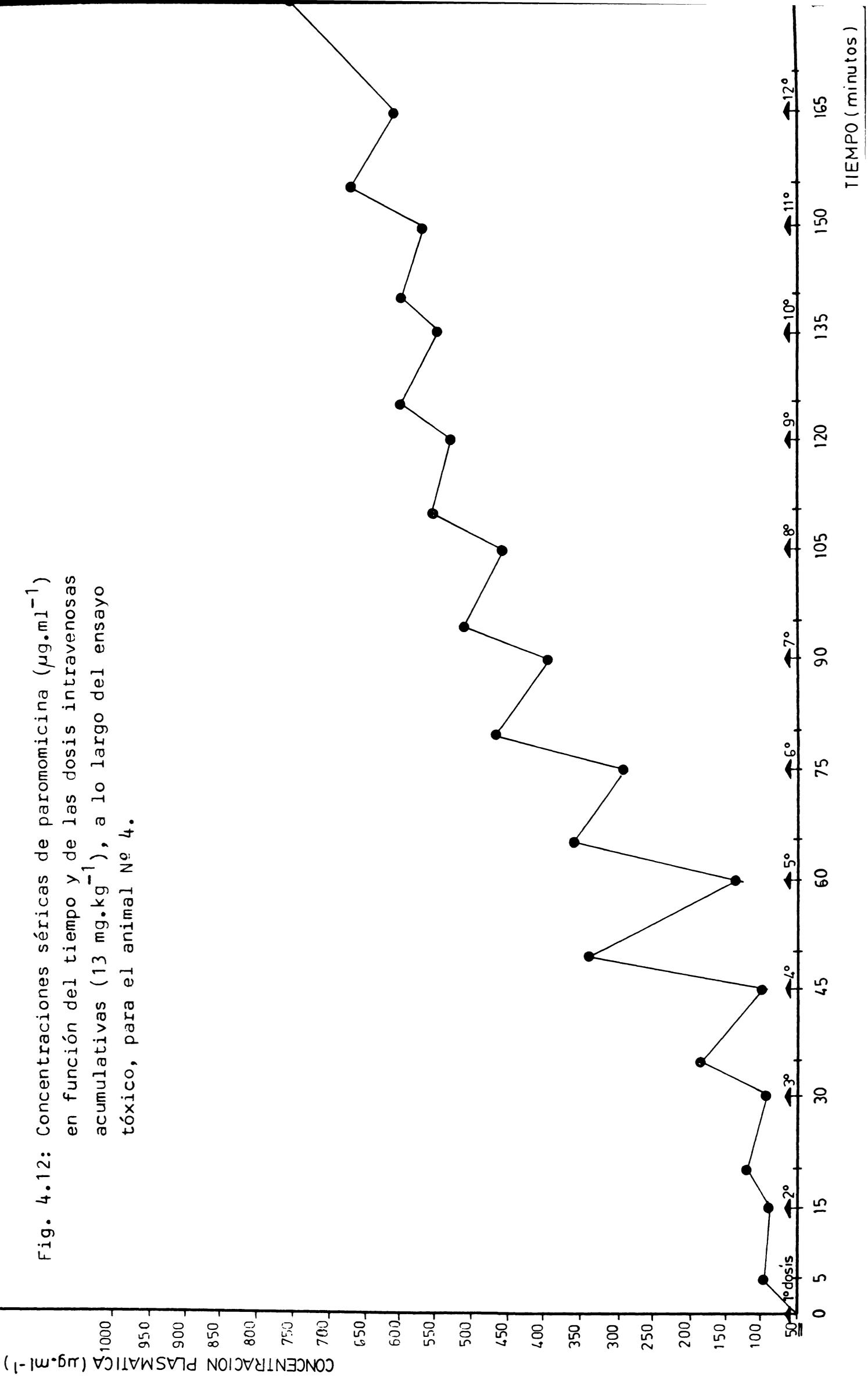


Fig. 4.12: Concentraciones séricas de paromomicina ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) en función del tiempo y de las dosis intravenosas acumulativas ($13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), a lo largo del ensayo tóxico, para el animal N° 4.



Cabe mencionar que en el momento que se presentaron estas manifestaciones se le dió alimento al animal N° 3, / que no fue ingerido; en el momento previo a la octava dosis, cuando el animal estaba casi recuperado, ingirió / sin inconveniente este alimento.

Valores entre 500 y 522 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, arrojaron los dosajes séricos en el momento que se presentaron las modificaciones descriptas.

Luego de la octava, novena y décima dosis, con concentraciones séricas comprendidas entre 530 y 590 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, / aproximadamente, ambos animales presentaron la misma secuencia sintomatológica:

- Notable respiración abdominal.
- Manifiesta debilidad muscular (tren posterior) y sedación parcial, con cabeza caída.
- Recuperación parcial: los 2 ovinos antes de la dosis siguiente mostraron una importante recuperación, más que nada en cuanto al estado de depresión central.

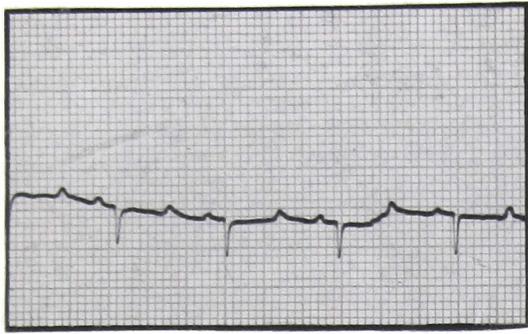
Al recibir la decimoprimerá dosis el animal N° 3 repitió la secuencia anterior, recuperándose en 10 minutos aproximadamente; por su parte el animal N° 4, sólo presentó mayor depresión nerviosa e importantes fasciculaciones de músculos faciales y cervicales.

Los 2 animales recibieron una décimosegunda y décimotercera dosis, que sólo incrementaron las manifestaciones anteriores sin que ninguno de los animales llegara a caer, a pesar de estar con elevados tenores séricos del antibiótico, que muestran valores entre 600 y 1350 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ (ver Tabla 4.14). Cabe remarcar que en el momento de la decimotercera dosis los animales habían recibido alrededor de 7 g de paromomicina, cada uno en 3 ho-

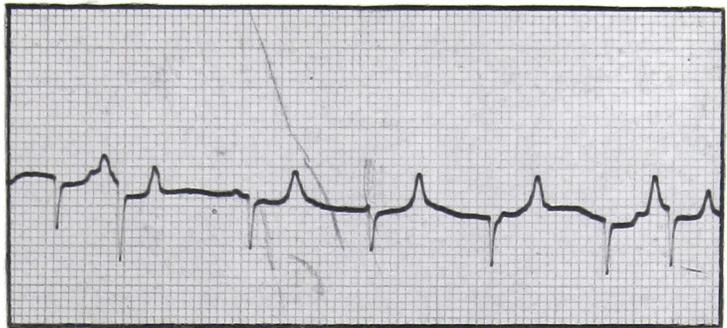
ras de ensayo. A esta altura, se suspende la administración, ante la evidencia que hay repetición de sintomatología y posterior recuperación, y se observa a los animales hasta la total recuperación clínica, que se da a los 40 minutos de la última dosis para el animal N° 3 y a la hora para el animal N° 4, esta observación que continuó/diariamente y hasta los 15 días post-intoxicación, no arrojó ninguna evidencia clínica.

4.4.2.4.- Modificaciones electrocardiográficas durante la prueba / tóxica; su correlación con las concentraciones séricas / de paromomicina: Los registros electrocardiográficos / (ECG) para los 2 ovinos que participaron del ensayo tóxico agudo con paromomicina no mostraron modificaciones / hasta la cuarta dosis intravenosa acumulativa inclusive. El registro del animal N° 4 muestra luego de la quinta / infusión un incremento de la frecuencia cardíaca, con notable arritmia, probablemente originada en una extrasístole nodal, quedando oculta la onda P (ver Fig. 4.13); / ésto coincide con una concentración plasmática de aproximadamente $350 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$.

Estas modificaciones tienden a normalizarse en los registros previos y posteriores a la sexta y séptima dosis notándose por comparación con el previo, que al administrar la octava dosis consecutiva, aunque con menor frecuencia cardíaca, aparece un aumento en la amplitud de / la onda T (ver Fig. 4.14), que al igual que otras modificaciones de voltaje observadas, podrían ser debidas a la influencia de la dificultad respiratoria que el animal / soporta, en dichos registros ECG. En este momento el animal tiene una concentración sérica de paromomicina superior a los $550 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$. Continuando con el registro del/

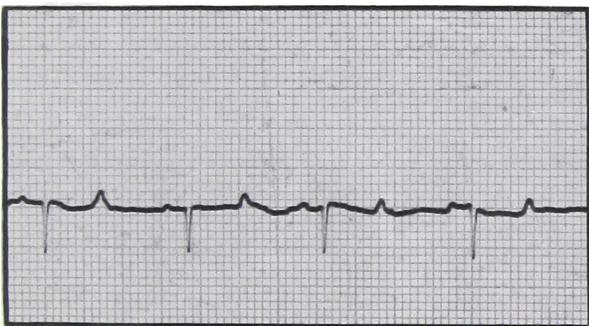


Previo a la 5ª dosis



Posterior a la 5ª dosis

Fig. 4.13: Registro ECG del animal N° 4, previo y posterior a la administración de la 5ª dosis acumulativa de paromomicina intravenosa, a razón de 13 mg.kg^{-1} .



Previo a la 8ª dosis

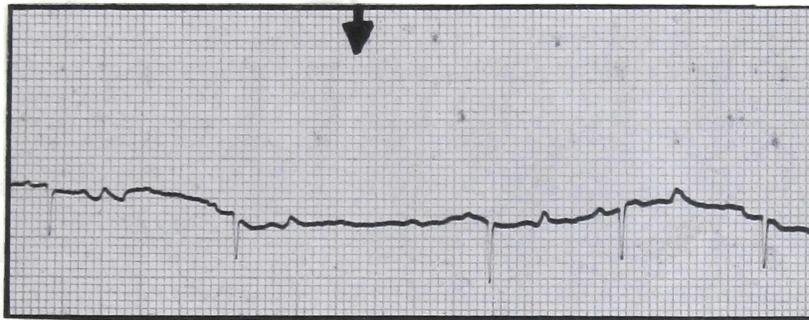


Posterior a la 8ª dosis

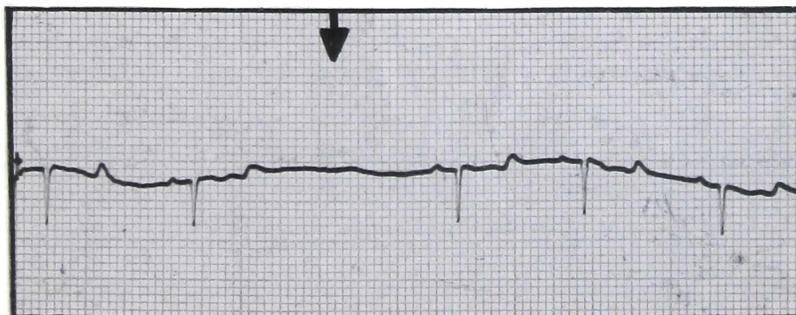
Fig. 4.14: Registro ECG del animal N° 4, previo y posterior a la administración de la 8ª dosis acumulativa de paromomicina intravenosa, a razón de 13 mg.kg^{-1} .



Posterior a la 11^a dosis



Posterior a la 12^a dosis



Posterior a la 13^a dosis

Fig. 4.15: Registro ECG del animal N^o 4, posterior a la administración de la 11^a, 12^a y 13^a dosis acumulativas de paromomicina intravenosa, a razón de 13 mg. kg⁻¹.

animal Nº 4, vemos que a partir de la novena dosis intravenosa, comienza a manifestarse una bradicardia que se acentúa con las últimas infusiones intravenosas (decimoprimeras, decimosegunda y décimotercera), con la aparición de trastornos en la conducción intracardíaca que se traducen por la aparición de bloqueos sino-auriculares, tal como se indican con flecha superior en la Fig. 4.15; esta disminución de la actividad cardíaca se da con concentraciones plasmáticas del antibiótico que están entre 600 y 980 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, aproximadamente.

El registro del animal Nº 3, muestra de igual manera, una importante bradicardia a partir de la décima dosis, aunque sin la aparición de bloqueos.

4.4.2.5.- Controles hematológicos, serológicos y de tiempo de protrombina durante la prueba tóxica aguda: En la Tabla 4.15 se presentan los valores hematológicos, serológicos y de tiempo de protrombina para cada uno de los animales que participaron de la prueba toxicológica, obtenidos en el momento de la mayor manifestación tóxica; junto a éstos se muestran los valores de referencia previos para facilitar la comparación de los mismos.

4.5.- DISEÑO DE PLANES TERAPEUTICOS

4.5.1.- Neomicina

4.5.1.1.- Vía intravenosa: Tomando los valores del análisis cinético correspondiente: $\beta = 0,38$; $Vd_{(B)} = 249,34 \text{ ml}.\text{kg}^{-1}$. Siendo $Cp_{(min)} = 5 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, y en base a las ecuaciones descritos en 3.5.2.1, se presentan en el siguiente cuadro las distintas dosis de mantenimiento (D_m), de acuerdo a/

Tabla 4.15: VALORES HEMATOLOGICOS, SEROLOGICOS Y DE TIEMPO DE PROTROMBINA OBTENIDOS PREVIAMENTE A LA PRUEBA TOXICA Y EN EL MOMENTO DE MAYOR MANIFESTACION CLINICA DE TOXICIDAD, TRAS LA ADMINISTRACION DE PAROMOMICINA EN DOSIS INTRAVENOSAS ACUMULATIVAS, A 2 OVINOS ADULTOS.

	Animal Nº 3		Animal Nº 4	
	Previo	Intoxicado	Previo	Intoxicado
Recuento leucocitario	$8,5 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$7,5 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$9,2 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$9,0 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$
Recuento plaquetario	$140 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$130 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$180 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$	$160 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$
Hematocrito	0,33	0,24	0,38	0,36
	1 h	-	-	-
Eritrosedimentación	3 u.a	2,5 u.a	1,5 u.a	1,2 u.a
	24 h	14 u.a	12 u.a	13 u.a
Glucosa (mg %)	52	113	61	108
Urea (mg %)	30	55	33	48
Creatinina (mg %)	2,2	2,3	1,54	2,0
Bilirrubina (mg %)	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
Proteínas totales ($g \cdot l^{-1}$)	64	80	74	76
GOT (mUI $\cdot ml^{-1}$)	45	79	43	63
GPT (mUI $\cdot ml^{-1}$)	7	8	6	10
LDH (mUI $\cdot ml^{-1}$)	120	170	250	272
FA (mUI $\cdot ml^{-1}$)	18	14	36	34
GT (mUI $\cdot ml^{-1}$)	40	65	52	74
CPK (mUI $\cdot ml^{-1}$)	97	94	52	54
GLDH (mUI $\cdot ml$)	2,13	10,14	3,29	9,28
Tiempo de protrombina (seg)	13	14	15	15

diferentes intervalos de dosis (ID), cuando neomicina es administrada por vía intravenosa en ovinos adultos:

ID (horas)	D_m (mg.kg ⁻¹)
* 6	10,93
7	16,55
8	24,78
12	117,75

En base a estos resultados vemos que el intervalo de / dosis de 6 horas es el que mejor se adapta, tanto en lo / referente a la practicidad de los tiempos de administra- / ción, como en lo relacionado a la magnitud de dosis a ad- / ministrar sin correr riesgos tóxicos.

Para un régimen de administración cada 6 horas, con / una $D_m = 10,93$ mg.kg⁻¹, la dosis de ataque es:

$$D_a = 10,93 \cdot \frac{1}{1 - e^{-0,38 \cdot 6}} = 12,18 \text{ mg.kg}^{-1}$$

4.5.1.2.- Vía intramuscular: Siendo los valores cinéticos para neo- / micina por esta vía: $\beta = 0,20$; $V_d = 407.66$ ml.kg⁻¹ y / deseando lograr una $C_{p(\min)} = 5$ $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ^(B), se presentan en / el siguiente cuadro las D_m para vía intramuscular, co- / rrespondiente a distintos intervalos de dosis:

ID (horas)	D_m (mg.kg ⁻¹)
6	4,73
8	8,06
9	10,29
10	13,02
* 12	20,43

De esto se deduce la mayor facilidad práctica de un intervalo de 12 horas entre cada dosis de mantenimiento de $20,43 \text{ mg.kg}^{-1}$, para lo cual corresponde iniciar el tratamiento con una dosis de ataque de $22,46 \text{ mg.kg}^{-1}$.

4.5.1.3.- Vía subcutánea: Siendo $\beta = 0,25$; $Vd_{(B)} = 351,25 \text{ ml.kg}^{-1}$ y / $Cp_{(min)} = 5 \mu\text{g.ml}^{-1}$, se presentan a continuación las D_m / para diferentes intervalos de dosificación cuando neomicina se utiliza por vía subcutánea en ovinos:

ID (horas)	D_m (mg.kg^{-1})
6	6,11
* 8	11,21
9	14,90
10	19,62
12	33,50

Dado que la dosis de mantenimiento para administrar cada 12 horas es elevada (con riesgos tóxicos en un tratamiento prolongado), se sugiere que la administración cada 8 horas de una dosis de $11,21 \text{ mg.kg}^{-1}$ es la más lógica; para la misma corresponde una dosis de ataque de / $12,84 \text{ mg.kg}^{-1}$.

4.5.2.- Paromomicina

4.5.2.1.- Vía intravenosa: Teniendo que $Cp_{(min)} = 5 \mu\text{g.ml}^{-1}$; $\beta = 0,25$; $Vd_{(B)} = 719,42 \text{ ml.kg}^{-1}$; se presentan a continuación las / distintas D_m correspondientes a diferentes intervalos de dosificación, cuando paromomicina se administra por vía/ intravenosa:

ID (horas)	D_m (mg.kg ⁻¹)
4	6,18
5	8,96
* 6	12,52
8	22,98

La administración cada 6 horas de una $D_m = 12,52$ mg.kg⁻¹ es la más correcta, porque al aumentar el intervalo en / sólo 2 horas, las dosis se elevan en gran proporción; para dicho intervalo corresponde una dosis de ataque de:

$$D_a = 12,52 \cdot \frac{1}{1 - e^{-0,25 \cdot 6}} = 16,12 \text{ mg.kg}^{-1}$$

Cabe mencionar que los parámetros β y $Vd_{(B)}$ utilizados para el cálculo de estas dosis fueron obtenidos del análisis cinético de los promedios de concentraciones (ver/ Tabla 4.10).

4.5.2.2.- Vía intramuscular: Siendo $Cp_{(min)} = 5 \mu\text{g.ml}^{-1}$

$$\beta : 0,37$$

$$Vd_{(B)} = 343,29 \text{ ml.kg}^{-1}$$

En el cuadro siguiente se presentan las D_m para distintos intervalos de dosificación, cuando paromomicina se / administra por vía intramuscular:

ID (horas)	D_m (mg.kg ⁻¹)
4	5,81
* 6	14,08
8	31,38

La administración de una dosis de $14,08$ mg.kg⁻¹ cada 6 horas es la más correcta, comenzando el tratamiento con/ una dosis de ataque de $15,80$ mg.kg⁻¹.

Para paromomicina por vía subcutánea no se pudieron / realizar cálculos de regímenes de dosificación, porque / las concentraciones obtenidas tampoco permitieron reali- / zar el análisis cinético.

4.5.3.- Corroboración Práctica

4.5.3.1.- Concentraciones séricas obtenidas: En la Tabla 4.16 se / presentan los valores de concentraciones séricas de neo- / micina en diferentes tiempos, tras la administración de / 4 dosis cada 12 horas por vía intramuscular, a razón de / $22,46 \text{ mg.kg}^{-1}$ (D_a) y $20,43 \text{ mg.kg}^{-1}$ para las restantes / (D_m). Dichos valores son promedio de las concentraciones / obtenidas en los 3 ovinos utilizados para la corroboración / práctica del régimen teórico elegido.

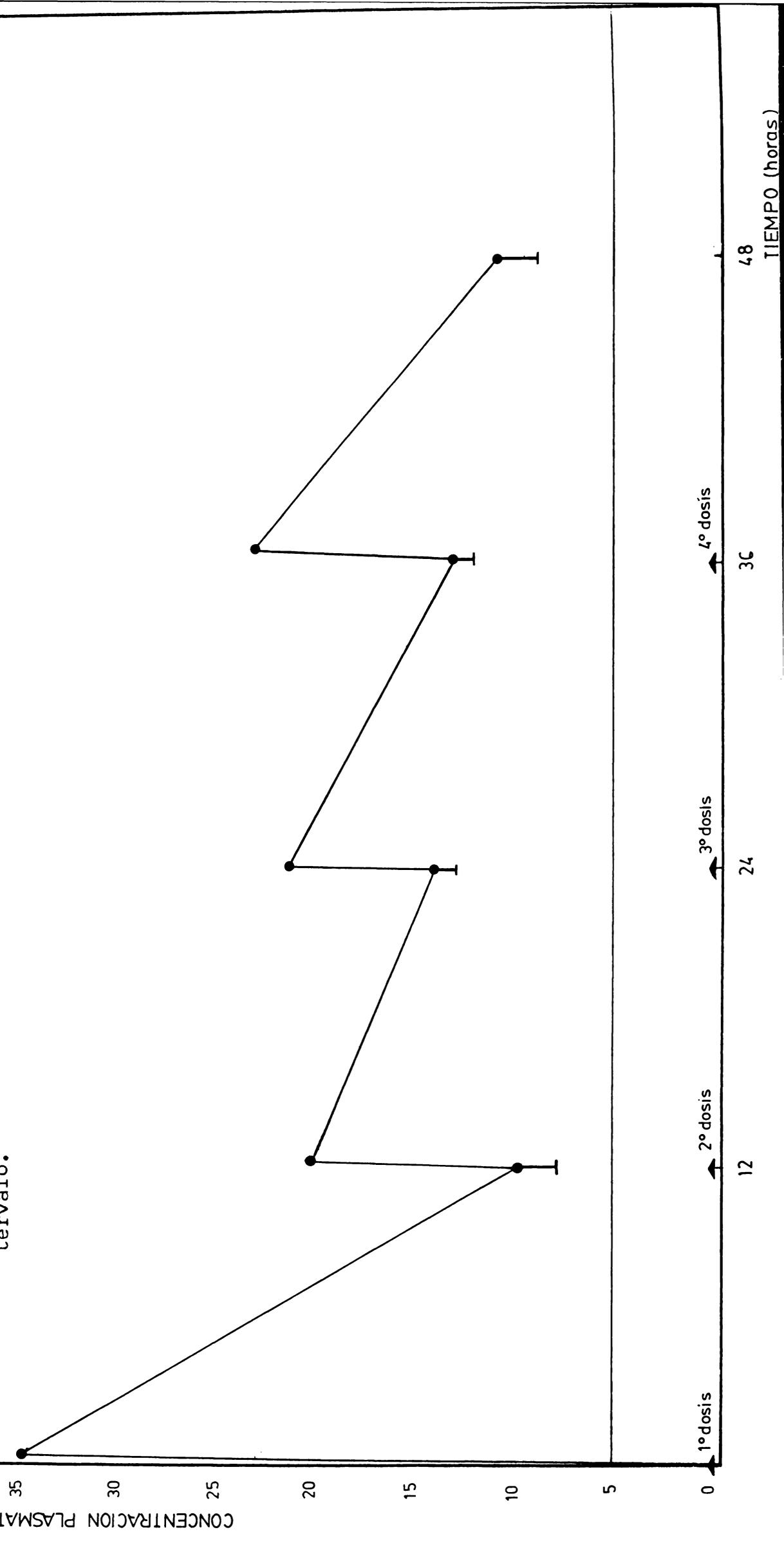
En la Fig. 4.16 se grafican las concentraciones séri- / cas de neomicina ($\mu\text{g.ml}^{-1}$) \pm DS, obtenidas como promedio / después de la administración intramuscular de una $D_a = / 22,46 \text{ mg.kg}^{-1}$ y de $D_m = 20,43 \text{ mg.kg}^{-1}$, con 12 horas de / intervalo, en 3 ovinos adultos.

Tabla 4.16:

CONCENTRACIONES SERICAS DE NEOMICINA ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) \pm DS, OBTENIDAS COMO PROMEDIO EN 3 OVINOS ADULTOS, A DIFERENTES TIEMPOS, TRAS LA ADMINISTRACION DE UNA $D_a = 22,46 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ y $D_m = 20,43 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ POR VIA INTRAMUSCULAR, CADA 12 HORAS.

Nº dosis	Tiempo de muestreo	Concentraciones séricas de neomicina ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$)
Previo		
1ª (D_a)	15'	35,11 \pm 13,94
	30'	19,39 \pm 3,15
	45'	17,83 \pm 0,94
	1 h	15,47 \pm 4,27
	12 h	10,30 \pm 1,81
2ª (D_m)	15'	20,88 \pm 1,03
	30'	19,39 \pm 3,15
	45'	17,83 \pm 0,94
	1 h	14,69 \pm 1,63
	12 h	14,07 \pm 0,76
3ª (D_m)	15'	21,89 \pm 2,83
	30'	17,83 \pm 0,94
	45'	16,11 \pm 7,79
	1 h	16,11 \pm 7,79
	12 h	12,99 \pm 0,76
4ª (D_m)	15'	22,70 \pm 3,61
	30'	16,55 \pm 2,74
	45'	14,14 \pm 2,38
	1 h	13,21 \pm 3,69
	12 h	10,30 \pm 1,81

Fig. 4.16: Representación gráfica de las concentraciones séricas promedio de neomicina ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) \pm DS en 3 ovinos, luego de la administración intramuscular de una $D_a = 22,46 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ y tres $D_m = 20,43 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, con 12 horas de intervalo.



CAPITULO V

DISCUSION

5.1.- ESTUDIO FARMACOCINETICO

Del análisis de la curva concentración versus tiempo, surge que la cinética de neomicina cuando se administra por vía intravenosa se puede describir por un modelo de 2 compartimientos, presentando una fase β con un buen coeficiente de correlación (0,925), corta vida media de distribución ($7,35/\pm 5,23$ minutos), un bajo volumen de distribución que estuvo entre 232 y 249 ml.kg^{-1} y una vida media de eliminación de $1,86 \pm 0,34$ horas.

Por lo tanto, de los resultados de este estudio experimental se deduce que la neomicina administrada por vía intravenosa en ovinos cumple con una rápida fase α , con escasa distribución en el organismo y una vida media de eliminación relativamente corta, lo que responde a los conceptos teóricos que la definen como una droga de alta polaridad, con manifestaciones dificultades para atravesar barreras biológicas.

Baggot (1981) en un estudio comparativo de varios AMG, muestra resultados cinéticos para neomicina administrada por vía intravenosa en equinos, con similitudes con nuestros resultados, fundamentalmente en que describe la cinética de la droga por un modelo bicompartimental. Por el contrario Ziv (1974), utiliza un modelo monocompartimental para describir la cinética de la neomicina en ovinos, pero esto es debido a que los dosajes séricos al inicio del ensayo se hacen en intervalos muy largos de tiempo (20 minutos), lo que no permite observar la rápida fase α de distribución que nosotros describimos para este antibiótico.

La administración de neomicina intramuscular dió lugar a / una concentración plasmática pico de $18,36 \pm 2,35 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, / obtenida a $1,53 \pm 0,66$ horas de la administración, apareciendo niveles inhibitorios en suero, aproximadamente a los 7 minutos ($0,118 \pm 0,017$ horas).

Es importante remarcar el valor $T_{1/2 \beta}$ obtenido, que fue / de $4,10 \pm 1,74$ horas como promedio de los 6 ovinos que recibieron neomicina por esta vía, y que indica una importante / prolongación con respecto a la vida media de eliminación por la vía intravenosa ($1,86 \pm 0,34$) que es estadísticamente significativa ($P < 0,05$).

Además la administración intramuscular presentó una buena / biodisponibilidad que alcanzó al 77 %.

Estos resultados son similares a los reportados por Baggot (1984), quien utilizando neomicina intramuscular en equinos / a razón de $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, mostró para esta especie una vida media de eliminación más corta, con un valor de $2,58 \pm 0,69$ horas.

Cuando se analizan los resultados del estudio cinético de / neomicina administrada por vía subcutánea se puede observar / que la vida media de eliminación fue de $2,86 \pm 0,58$ horas, / lo que implica un significativo aumento ($P < 0,01$) con respecto a la vía intravenosa ($1,86 \pm 0,34$ horas), pero una disminución comparada con la vía intramuscular ($4,10 \pm 1,74$ horas), que carece de significancia estadística ($P > 0,05$) por ANVA / (50); además esta vía presenta una biodisponibilidad del 80% con respecto a la vía intravenosa. De esto se desprende, que al existir diferencias estadísticas significativas entre el / $T_{1/2 \beta}$ de la vía intravenosa con respecto al de las vías intramuscular y subcutánea y siendo no significativas las diferencias entre estas últimas, hay una importante influencia / de la cinética de absorción en la vida media de eliminación /

de esta droga administrada por vías extravasculares, que marca la diferencia con la intravenosa.

Es importante remarcar, que si bien la concentración pico/no difiere significativamente ($P > 0,05$) de la obtenida por vía intramuscular, el tiempo de la obtención de la misma ($T_{m\acute{a}x}$) es menor (1,06 horas comparado con 1,53 horas de la intramuscular), aunque ésto también carece de significancia/estadística, como también es significativamente más rápida la aparición de niveles plasmáticos inhibitorios ($P < 0,05$).

Todo lo descripto nos indica que la neomicina administrada por vía subcutánea en ovinos (en solución acuosa), presenta una rápida y muy buena absorción, encontrándose a los 5 minutos de inyectada, niveles séricos con capacidad antibacteriana.

De ésto se concluye que tanto la vía intramuscular como la vía subcutánea se presentan como alternativas interesantes para la administración de neomicina en ruminantes, contraponiéndose a la mayor velocidad de absorción de la subcutánea, la mayor vida media de la vía intramuscular, todo lo cual avala los conceptos teóricos de que por tratarse de una droga muy hidrosoluble, fácilmente se disuelve en el líquido intersticial y logra llegar en forma abundante y rápida al torrente circulatorio, cosa que no ocurre cuando la misma se administra por vía oral.

Por su parte, del análisis de la curva concentración versus tiempo obtenida cuando la paromomicina es administrada por vía intravenosa, se desprende que la cinética de esta droga puede ser descripta por un modelo de 2 compartimientos con fases α y β bien marcadas, con una vida media de distribución de $10,87 \pm 5,27$ minutos y una vida media de eliminación de $1,88 \pm 0,81$ horas; vale acotar que este $T_{1/2} \beta$ fue mayor/

(2,77 h) cuando se obtuvo a partir del promedio de concen- / traciones y, esto se debió a la ubicación del punto de pseu- / doequilibrio que incidió en la pendiente de la fase β y por / lo tanto en el valor de vida media obtenido.

Esto coincide con lo reportado por Ziv (1974), que descri- / be la cinética de paromomicina en ovinos con un modelo bicom- / partimental y con un valor de $T_{1/2} \beta$ de 2,7 horas.

El volumen de distribución calculado por los distintos mé- / todos, presenta valores entre 350 y 580 ml.kg⁻¹, que son al- / go mayores que los obtenidos para neomicina, pero que no se / alejan de los valores reportados por la bibliografía para AMG / en distintas especies (9,14).

Cuando la paromomicina fue administrada por vía intramuscu- / lar el pico plasmático fue de $16,75 \pm 6,35 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, logrado / antes de la hora de la administración ($0,986 \pm 0,659$ h), / mientras que en aproximadamente 8 minutos post-inyección ya / hubo niveles séricos inhibitorios; por su parte la vida me- / dia de eliminación fue de $2,57 \pm 1,28$ horas, con una importan- / te biodisponibilidad que arrojó un valor del 86 %, lo que in- / dica una muy buena absorción de paromomicina por esta vía. / Tanto el $T_{1/2} \beta$, como todos los parámetros cinéticos obteni- / dos para las vías intramuscular e intravenosa, no presenta- / ron diferencias significativas ($P > 0,05$).

La utilización de paromomicina por vía subcutánea no es re- / comendable porque las concentraciones plasmáticas obtenidas / son muy bajas, lo cual también imposibilitó la realización / de su análisis farmacocinético.

Todo lo expuesto nos demuestra, que si bien no hay coinci- / dencias con la vía subcutánea, existe una similitud en el / comportamiento farmacocinético de paromomicina y neomicina / cuando se administran por vía intravenosa e intramuscular en

ovinos adultos; esto corrobora sus características similares como integrantes de un mismo grupo de antibióticos que tiene en común, entre otras cosas, una elevada hidrosolubilidad, que es la que fundamenta el comportamiento cinético descrito.

5.2.- DISEÑO DE PLANES TERAPEUTICOS

El éxito de cualquier tratamiento antibacteriano depende de la rápida y sostenida obtención de concentraciones antibióticas en el sitio de la infección, lo cual será logrado por la administración de las dosis correctas a intervalos de tiempo adecuados, como para mantener niveles plasmáticos de droga por encima de la CIM, sin caer en concentraciones tóxicas, mientras dure el tratamiento (14,15).

Con la base de este concepto general y conociendo el comportamiento de los antibióticos AMG en la mayoría de las especies, la obtención de regímenes de dosificación adecuados para neomicina y paromomicina en ovinos, nos obliga a balancear la búsqueda de planes de administración aplicables a las condiciones de la práctica clínica con el logro y mantenimiento de niveles plasmáticos bactericidas por un correcto período de tiempo.

Si bien algunos autores generalizan recomendando planes de administración iguales para todos los antibióticos AMG en distintas especies, generalmente dosificando a razón de 10 mg.kg^{-1} cada 12 horas (25,26), del estudio farmacocinético de los mismos surge claramente que esos planes no son correctos, al menos en el caso de ovinos.

De este modo, cuando la neomicina se indique por vía intravenosa, lo más correcto será una dosis de ataque de $12,18 \text{ mg.kg}^{-1}$, con dosis de mantenimiento de $10,93 \text{ mg.kg}^{-1}$ y, con un intervalo entre las mismas no mayor de 6 horas. En el pun

to 4.4.1.1. se puede observar cómo se incrementan las dosis/ a administrar para mantener niveles por encima de la CIM / ($5 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$), cuando extendemos los intervalos de dosifica- / ción buscando mayor practicidad.

En cambio, para la administración de neomicina por vía in- tramuscular en solución acuosa, se puede establecer según / nuestros resultados, un plan terapéutico más práctico, admi- nistrando una dosis de ataque de $22,46 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$, con dosis de mantenimiento de $20,43 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ cada 12 horas.

Este plan fue elegido para realizar la corroboración prác- tica en 3 ovinos adultos de los resultados de dosificación / obtenidos en forma teórica, y mostró que los niveles plasmá- ticos nunca descendieron por debajo de la CIM, ni tampoco hu- bo acumulación del antibiótico en el organismo luego de 4 do- sis consecutivas.

Con respecto a la vía subcutánea, se puede decir que la / misma es una interesante alternativa para la administración/ de sulfato de neomicina en ovinos y que dosis entre 11 y 12/ $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$, con un intervalo entre las mismas 8 horas, permiti- rá la obtención de sostenidos niveles bactericidas sin ries- gos tóxicos. Para llegar a 12 horas de intervalo tendríamos/ que administrar dosis muy elevadas (ver 4.4.1.3.) y si bien/ intervalos de 9 ó 10 horas nos permitirían utilizar dosis no demasiado altas, éstos carecen de practicidad.

Ziv (1974) recomienda para neomicina en ovinos $20 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ / por vía intravenosa y $10 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ por vía intramuscular, con/ los cuales se mantienen niveles séricos por encima de 5 - 6/ $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, durante 6 horas aproximadamente, pero sin precisar/ los intervalos entre dosis y duración de tratamientos; otros autores indican $15 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ de neomicina intramuscular para o- vinos (26).

Cuando se elige para una terapéutica antimicrobiana al sulfato de paromomicina por administración intravenosa, el régimen de dosificación más adecuado según nuestros resultados, es una D_a de $16,12 \text{ mg.kg}^{-1}$, seguida de una D_m de $12,52 \text{ mg.kg}^{-1}$ cada 6 horas. En 4.4.2.1. se puede observar que para alargar el intervalo entre dosis en sólo 2 horas, manteniendo niveles plasmáticos inhibitorios, es necesario casi duplicar la dosis a administrar por vía intravenosa.

Por otro lado, la administración intramuscular de paromomicina deberá realizarse con dosis de ataque de $15,80 \text{ mg.kg}^{-1}$ y dosis de mantenimiento de $14,08 \text{ mg.kg}^{-1}$ cada 6 horas. Al igual que para la vía intravenosa, serán necesarias dosis muy elevadas para poder extender el intervalo entre las mismas.

También Ziv (1974) utiliza dosis de paromomicina intravenosa de 20 mg.kg^{-1} para ovinos adultos, obteniendo resultados farmacocinéticos similares a los de este trabajo, pero sin diseñar planes terapéuticos que respondan a los mismos.

5.3. ESTUDIO TOXICOLOGICO

Son escasos los aportes bibliográficos existentes sobre toxicología aguda por antibióticos AMG en las distintas especies, sólo hay algunos datos para humanos y pequeños animales que muestran detalles de mecanismos farmacológicos íntimos que pueden ser muy útiles para trasladarlos a la interpretación de las manifestaciones observadas en este ensayo tóxico agudo en ovinos.

Al interpretar las manifestaciones clínicas que hemos descrito, tanto para los ovinos intoxicados con neomicina como con paromomicina, extraemos algunas conclusiones comunes.

En efecto, estas manifestaciones iniciales que son clínicamente visibles, se presentan luego de varias dosis intraveno

sas administradas acumulativamente, cuando la concentración/plasmática de neomicina está entre 230 y 320 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, mientras que para paromomicina está entre 350 y 470 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de suero, aproximadamente.

Estas manifestaciones primarias se acentúan a medida que se incrementan los niveles séricos del ATB, sobre todo en lo que respecta al estado de sedación e incoordinación del tren posterior y además, como comportamiento común, observamos el rápido restablecimiento del animal que pasa la crisis sintomatológica, siendo el restablecimiento sólo parcial cuando las manifestaciones clínicas han incluido sedación y caída (niveles plasmáticos de neomicina superiores a 400 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$).

Si analizamos estas manifestaciones tóxicas, que en líneas generales y con rangos estrechos de concentraciones plasmáticas, son similares para los 2 antibióticos estudiados, vemos que aparecen:

- Dificultad respiratoria que inicialmente es leve y se hace más notoria, convirtiéndose en respiración abdominal en el momento inmediato posterior a la infusión de una dosis intravenosa, cuando acumulativamente se tienen niveles séricos muy elevados.

Como consecuencia de ésta, aparece una marcada cianosis en la mucosa bucal, conjuntival y nasal y además, a la auscultación, corroborado por el registro electrocardiográfico, aparece una taquicardia compensatoria muy importante, que fue detectada luego de la séptima dosis intravenosa de neomicina y de la quinta de paromomicina.

Varios autores han demostrado la capacidad de los antibióticos AMG de producir un bloqueo neuromuscular actuando sobre la placa motora (1,48). El mismo que ha sido descrito en hombre, perro y gato cuando reciben altas dosis intraveno

sas o intraperitoneales (26,48), se da por un bloqueo o quelación del ión Ca^{++} , por parte de estos antibióticos, que al no permitir su absorción y depósito en la membrana del terminal presináptico, impiden la participación del mismo en el mecanismo exocitótico, lo que hace que no se libere acetilcolina al espacio intersináptico (4,142). En consecuencia se produce una acción de tipo curarizante con relajación del músculo estriado.

Conociendo esto, podemos dar un fundamento fisiopatológico a la dificultad respiratoria periférica que se vió en los animales intoxicados; altos tenores plasmáticos de neomicina/ o paromomicina pueden quelar al ión Ca^{++} y producir bloqueos de placa motora con relajación de los músculos respiratorios periféricos (diafragma, intercostales y abdominales), y con ésto comprometer seriamente la oxigenación del animal.

- Debilidad muscular e incoordinación del tren posterior / fueron otras de las manifestaciones sintomatológicas observadas; en efecto, la debilidad muscular e incoordinación leve/ iniciales, progresaron hasta la incoordinación total del tren posterior y caída del animal que fue más notoria en la prueba tóxica con neomicina, cuando el animal tenía niveles plasmáticos superiores a los $400 \mu g.ml^{-1}$.

Además se presentaron fasciculaciones aisladas de músculos cervicales y faciales, similares a las observadas con anterioridad a la parálisis muscular que dan los leptocurares, / actuando sobre el receptor nicotínico.

Adams (1973) y Clark (1977) describen en monos y perros, // un importante efecto depresor respiratorio y bloqueante neuromuscular periférico producido por los AMG. Si bien estos / autores le dan mayor importancia al bloqueo de músculos respiratorios, bien podría ser muy importante la incapacidad de

mantener un tono muscular adecuado en el aparato locomotor, / por efecto de este bloqueo, que sumado al estado de sedación y anoxia que el animal está sufriendo, serían los responsa- / bles de la incoordinación y caída de los mismos. Esto estaría avalado por algunos reportes que demuestran una mayor sensi- / bilidad nicotínica de fibras musculares estriadas de los miem- / bros, a la acetilcolina, con respecto a otros receptores nico- / tónicos (28). Por otro lado, es corriente comprobar en el / laboratorio de farmacología, que los músculos de los miem- / bros son los primeros afectados por la curarización, siendo / los respiratorios los últimos.

- Se observó un importante estado de sedación que general- / mente comenzó con la caída de la cabeza del animal y luego / progresó hasta un cuadro de depresión de tipo "anestesia" / con pérdida de reflejos palpebral y corneal, cuando los nive- / les séricos de neomicina estuvieron entre 450 y 600 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, Cabe acotar que con niveles séricos muy elevados (700 a 1350 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) de paromomicina, los ovinos de esta prueba mostra- / ron sedación, pero nunca llegaron a caer. De todo esto surge la evidencia que a pesar de que los AMG son muy polares, con concentraciones plasmáticas muy altas, los mismos podrían a- / travesar la barrera hemato-encefálica, porque indudablemente nos encontramos frente a un importante efecto depresor cen- / tral, que sumado a la relajación muscular periférica, son / los responsables directos de todo el cuadro tóxico agudo ob- / servado.

Además en todos los animales, durante la fase más profunda de sedación, apareció un importante incremento de secrecio- / nes nasales, salivales y lagrimales, que muy probablemente / respondan a un estímulo parasimpático.

Por otro lado Clark (1977), determina una importante depre

sión cardiovascular en perros y gatos con dosis elevadas intravenosas o intraperitoneales de algunos AMG; esta depresión de la actividad cardíaca está dada por bradicardia, disminución del volumen minuto y caída de la presión arterial.

Si analizamos los registros ECG de los ovinos que participaron de nuestro ensayo tóxico agudo (ver 4.4.1.4 y 4.4.2.4), podemos observar que junto a las manifestaciones clínicas iniciales, principalmente cuando se establece la dificultad respiratoria, aparece un incremento de la frecuencia cardíaca, lo que difiere con lo precedente. Probablemente el aumento de frecuencia cardíaca en el presente estudio sea compensatorio de la importante insuficiencia respiratoria que los animales padecían. En los animales que recibieron neomicina este aumento de frecuencia cardíaca junto a un alargamiento del segmento ST, aunque con recuperaciones parciales, se siguen observando después de cada dosis, inclusive tras aquellas en que los niveles plasmáticos presentes dan lugar a manifestaciones tóxicas máximas.

En cambio, el registro ECG de los animales que recibieron paromomicina muestra a partir de la novena dosis una marcada bradicardia, que se va acentuando con las dosis posteriores por la aparición de bloqueos sino-auriculares (ver Fig. 4.15), cuando los niveles séricos están entre 600 y 900 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$.

Es evidente que esto último es coincidente con la depresión cardiovascular por AMG descrita por muchos autores (4, 26, 48), que está dada también, por cambios de importancia en la homeostasis del ión calcio en la fibra cardíaca y el músculo liso vascular, lo que origina disminución de la fuerza contráctil y vasodilatación periférica, a la vez que importantes modificaciones electrofisiológicas.

De lo antedicho surge entonces, que los ovinos que recibieron paromomicina, si bien presentaron niveles muy elevados /

de antibiótico en sangre, clínicamente no manifestaron sintomatología tóxica tan marcada, pero sí permitieron la clara observación de las alteraciones cardíacas descritas por la bibliografía para otras especies. Por otra parte, los intoxicados con neomicina, aún con concentraciones plasmáticas inferiores, manifestaron un cuadro más brusco de toxicidad aguda que probablemente enmascaró la acción cardíaca directa de este antibiótico, porque el registro ECG mostró una taquicardia que sin duda era compensatoria de la mala oxigenación.

Con referencia a los parámetros hematológicos y serológicos, no existen aportes bibliográficos relacionados con fenómenos tóxicos agudos provocados por antibióticos AMG. Crowell (1981) sólo evalúa la actividad de algunas enzimas urinarias en terneros, pero en una intoxicación crónica con neomicina.

El objetivo de la determinación de estos parámetros en nuestro ensayo tóxico agudo, fue evaluar si se producían modificaciones de los mismos en el tiempo en que duraban las pruebas, donde los animales recibieron cantidades muy elevadas de estos antibióticos (2 a 3 horas).

No hubo modificaciones en el tiempo de protrombina entre el dosaje previo y el realizado en el momento de máxima toxicidad aguda.

Dentro de los valores serológicos, glucosa y urea mostraron importantes elevaciones, prácticamente en todos los ovinos que participaron de este estudio tóxico. El incremento de urea sanguínea está directamente relacionado con una deficiente eliminación renal de la misma, que puede estar dada por el establecimiento de una competencia por los mecanismos de eliminación renal, con los AMG, presentes en elevadísimas concentraciones en suero, o también porque estos antibióticos podrían alterar la funcionalidad glomerular, disminuyendo la tasa de filtración y por lo tanto, se vería incrementa

da la uremia. Estas modificaciones de la función glomerular, han sido descritas en hombre y animales experimentales, como consecuencia de modificaciones agudas producidas por antibióticos AMG (53).

El aumento de la tasa de glucemia podría estar dado por una importante descarga de adrenalina originada en las crisis tóxicas agudas, que daría lugar a una movilización tisular / de glucosa e incremento de su nivel sanguíneo, además de la / posible caída de la tasa de filtración glomerular.

En lo que hace a las actividades enzimáticas séricas, manifestaron modificaciones más o menos importantes GOT, LDH, / CPK, γ GT y GLDH, como se puede observar en las Tablas 4.13 y 4.15. Estas modificaciones que no tuvieron la misma magnitud en los diferentes animales y con los distintos antibióticos, se pueden interpretar de la siguiente manera:

- GOT y LDH son consideradas para el rumiante, enzimas no / específicas, ya que un incremento en su actividad puede te- / ner origen muscular, cardíaco o hepático (55); es por esto / que el aumento de actividad de las mismas en este cuadro / tóxico agudo en ovinos, bien podría tener origen muscular o / hepático. Para el caso de los ovinos que recibieron neomici- / na, el hecho que también la CPK (enzima músculo-específica) / manifieste un importante aumento de actividad sérica, corro- / boraría la existencia de alteraciones de permeabilidad celu- / lar a nivel de la fibra muscular estriada, no descartando / tampoco a la fibra miocárdica. En consecuencia, estas eleva- / ciones en la actividad sérica de enzimas que indican altera- / ción de la fibra muscular, avalan lo detectado clínicamente / en cuanto al compromiso de la actividad muscular estriada / por parte de los AMG.

- Tanto γ GT como GLDH son enzimas consideradas de alta sig- / nificancia diagnóstica para el rumiante; la primera es espe-

cífica de hígado y riñón y la segunda es la enzima hepato-específica por excelencia (29). Teniendo en cuenta ésto y observando que las actividades séricas de estas enzimas se incrementan durante el ensayo tóxico, en todos los ovinos que participaron del mismo, se puede pensar que estas elevadas / concentraciones de antibiótico alterarían el funcionamiento / celular a nivel renal y hepático.

Muchos autores describen el incremento de la actividad de γ GT sérica y urinaria como consecuencia de la lesión renal / crónica por AMG (18,59). No sería extraño entonces, conociendo las complejas alteraciones a nivel de la membrana celular que son capaces de provocar los AMG, que aún siendo un fenómeno agudo, exista la modificación celular suficiente para / que estas enzimas sean liberadas.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

6.1.- ESTUDIO FARMACOCINETICO

- La farmacocinética de la neomicina administrada por vía intravenosa en ovinos se ajustó a un modelo bicompartimental, con una vida media de distribución de $7,35 \pm 5,23$ minutos y una vida media de eliminación de $1,86 \pm 0,34$ horas; el volumen de distribución fue bajo con valores entre 232 y 249 ml.kg^{-1} .

- La máxima concentración plasmática de neomicina cuando se administró por vía intramuscular fue de $18,34 \pm 2,35$ $\mu\text{g.ml}^{-1}$ y se alcanzó a $1,53 \pm 0,66$ horas, luego de la administración; la vida media de eliminación fue de $4,10 \pm 1,74$ horas.

- Luego de la administración subcutánea de neomicina, el pico plasmático fue de $20,77 \pm 3,02$ $\mu\text{g.ml}^{-1}$, alcanzado a $1,06 \pm 0,58$ horas post-administración; la vida media de eliminación fue de $2,58 \pm 0,69$ horas.

- La neomicina administrada por las vías intramuscular y subcutánea en solución acuosa, presentó una buena absorción, con valores de biodisponibilidad entre 77 y 80 %.

- La farmacocinética de la paromomicina administrada por vía intravenosa en ovinos se ajustó a un modelo de 2 compartimientos, con una vida media de distribución de $10,87 \pm 5,27$ minutos y una vida media de eliminación de $1,88 \pm 0,81$ horas; el volumen de distribución estuvo entre 350 y 580 ml.kg^{-1} .

La administración intramuscular de paromomicina arrojó una concentración plasmática pico de $16,75 \pm 6,35$ $\mu\text{g.ml}^{-1}$, alcan

zada antes de la hora de la administración ($0,896 \pm 0,659$ h) existiendo niveles inhibitorios a los 8 minutos del comienzo de la prueba; la vida media de eliminación fue de $2,57 \pm 1,28$ horas.

- La biodisponibilidad para la paromomicina administrada / por vía intramuscular fue elevada, arrojando un valor del / 86 % con respecto a la vía intravenosa.

6.2.- DISEÑO DE PLANES TERAPEUTICOS

En base a los resultados farmacocinéticos obtenidos y para realizar un correcto plan terapéutico, la neomicina en ovi- / nos se deberá indicar:

- Intravenosa: $D_a = 10,18 \text{ mg.kg}^{-1}$ y
 $D_m = 10,93 \text{ mg.kg}^{-1}$ cada 6 horas.
- Intramuscular: $D_a = 22,46 \text{ mg.kg}^{-1}$ y
 $D_m = 20,43 \text{ mg.kg}^{-1}$ cada 12 horas.
- Subcutánea: $D_a = 12,84 \text{ mg.kg}^{-1}$ y
 $D_m = 11,21 \text{ mg.kg}^{-1}$ cada 8 horas.

Para un adecuado régimen terapéutico en ovinos la paromo- / micina se indicará:

- Intravenosa: $D_a = 16,12 \text{ mg.kg}^{-1}$ y
 $D_m = 12,52 \text{ mg.kg}^{-1}$ cada 6 horas.
- Intramuscular: $D_a = 15,80 \text{ mg.kg}^{-1}$ y
 $D_m = 14,08 \text{ mg.kg}^{-1}$ cada 6 horas.
- Subcutánea: No se recomienda su utilización por los ba- / jos niveles séricos obtenidos.

6.3.- ESTUDIO TOXICOLOGICO

- Las manifestaciones tóxicas agudas provocadas por neomi- / cina y paromomicina que aparecen con niveles plasmáticos en-

entre 230 y 450 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, son: dificultad respiratoria, debilidad muscular e incoordinación del tren posterior y estado de sedación del SNC; las mismas se acentúan cuando aumentan los niveles plasmáticos de droga.

- Los animales se recuperan rápidamente luego de la crisis sintomatológica.

- La neomicina aún en concentraciones plasmáticas inferiores (500 - 600 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) produce un cuadro tóxico más brusco/ con caída del animal y profunda sedación, que el que da la / paromomicina.

- La neomicina tiene menor índice terapéutico (IT) que la/ paromomicina, cuando ambas son administradas en altas dosis/ intravenosas consecutivas.

- El registro electrocardiográfico muestra para los animales que recibieron neomicina, un alargamiento del segmento / ST y un aumento de frecuencia cardíaca, que es probablemente/ compensatorio de la dificultad respiratoria.

- Una importante bradicardia y bloqueos de origen sino-auricular se detectan en el registro electrocardiográfico cuando los animales tienen concentraciones plasmáticas de paromomicina entre 700 y 1350 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$.

- Los parámetros hematológicos y el tiempo de protrombina/ no son modificados en esta prueba tóxica aguda.

- La tasa de urea y glucosa sanguínea presentan incrementos en el transcurso del ensayo tóxico.

- Se aumenta la actividad enzimática sérica de GOT, LDH, / CPK, γ GT y GLDH, luego de que los animales reciben altas cantidades de estas drogas por vía intravenosa.

RESUMEN

Los objetivos del presente plan experimental fueron:

- Estudiar todas las variables farmacocinéticas de neomicina y / paromomicina tras su administración por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea a ovinos.

- Determinar la biodisponibilidad de neomicina y paromomicina / tras su administración por las vías intramuscular y subcutánea a / ovinos.

- Calcular la dosis de ataque (D_a) y dosis de mantenimiento (D_m) a efectos de obtener planes terapéuticos adecuados para ovinos / con las mencionadas drogas, basados en los resultados farmacocinéticos obtenidos, para las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea.

- Corroborar prácticamente la eficacia de los planes diseñados, / estudiando las concentraciones plasmáticas obtenidas cuando la droga en estudio es administrada por vía intramuscular.

- Determinar el margen de seguridad y caracterizar el cuadro / tóxico agudo en ovinos, tras la administración de neomicina y paromomicina por infusión intravenosa cada 15 minutos; correlacionando los niveles plasmáticos de estos antibióticos con la sintomatología tóxica.

Seis (6) ovinos, hembras adultas de raza Lincoln (56 ± 8 kg), recibieron sulfato de neomicina por las vías intravenosa, intramuscular y subcutánea ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) y otros seis (6) ovinos de las mismas características recibieron, por las mencionadas vías, sulfato de paromomicina ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Todos los animales fueron canalizados en vena yugular y se extrajeron muestras sanguíneas, previamente a la administración y a los 2,5; 5; 7,5; 10; 15; 20; 30 y 40 minutos; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; /

4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 12; 24; 36; 48 y 72 horas de la administración del antibiótico; de las mismas se extrajo el suero que fue procesado por el método biológico para obtener los valores de concentración de droga. Con estos valores de concentración y habiendo obtenido los promedios para cada droga por cada vía de administración diferente, se procedió a la graficación semilogarítmica de la curva concentración versus tiempo y al estudio farmacocinético completo, que arrojó los siguientes resultados:

- La cinética intravenosa de neomicina y paromomicina puede ser descrita por un modelo bicompartimental con una vida media de distribución de 7.35 ± 5.23 (neomicina) y 10.87 ± 5.27 minutos (paromomicina) y un $T_{1/2 \beta}$ entre 1.86 ± 0.34 (neomicina) y 1.88 ± 0.81 horas (paromomicina); el volumen de distribución fue bajo, arrojando valores entre 232 y 249 ml.kg^{-1} (neomicina) y 350 hasta 580 ml.kg^{-1} (paromomicina).

- Cuando neomicina y paromomicina se administran por vía intramuscular se obtienen concentraciones plasmáticas pico de 18.36 ± 2.35 (neomicina) y $16.75 \pm 6.35 \mu\text{g.ml}^{-1}$ (paromomicina), logradas a 1.53 ± 0.66 (neomicina) y 0.968 ± 0.659 horas (paromomicina), apareciendo niveles séricos inhibitorios entre 7 y 8 minutos de la administración de estos antibióticos; el $T_{1/2 \beta}$ fue de 4.10 ± 1.74 (neomicina) y 2.57 ± 1.28 horas (paromomicina), con valores entre 77 % (neomicina) y 86 % (paromomicina de biodisponibilidad).

- La administración subcutánea no permitió realizar el análisis farmacocinético de paromomicina porque las concentraciones séricas fueron muy bajas, mientras que los resultados para neomicina fueron: concentración plasmática máxima = $20.77 \pm 3.02 \mu\text{g.ml}^{-1}$, lograda a 1.06 ± 0.58 horas; $T_{1/2 \beta} = 2.58 \pm 0.69$ horas y la biodisponibilidad fue del 80 %.

Los planes terapéuticos fueron diseñados en base a los parámetros farmacocinéticos obtenidos y fijando una CIM plasmática de /

5 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, presentando los siguientes resultados:

- Neomicina: intravenosa $D_a = 10.18 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$; $D_m = 10.93 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ / cada 6 horas; intramuscular $D_a = 22.46 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$; $D_m = 20.43 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ / cada 12 horas; subcutánea $D_a = 12.84 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$; $D_m = 11.21 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ / cada 8 horas.

- Paromomicina: intravenosa $D_a = 16.12 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$; $D_m = 12.52 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ / cada 6 horas; intramuscular $D_a = 15.80 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$; $D_m = 14.08 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ / cada 6 horas.

Las manifestaciones tóxicas agudas, que aparecen con niveles / plasmáticos entre 230 y 450 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, son: dificultad respiratoria, debilidad muscular, incoordinación del tren posterior y sedación; / neomicina presenta menor índice terapéutico dando un cuadro tóxico más brusco, aún con niveles séricos más bajos. Paromomicina origina bradicardia y bloqueos sino-auriculares al registro electrocardiográfico; los tenores de glucosa, urea y las actividades enzimáticas séricas de GOT, LDH, CPK, γ GT y GLDH se incrementan durante / el ensayo tóxico agudo.

SUMMARY

The aims of the present experimental study were:

- To determine the pharmacokinetic parameters of neomycin and / paromomycin when injected intravenously, intramuscularly and sub- / cutaneously to sheep.

- To determine the bioavailability of neomycin and paromomycin / when administered to sheep intramuscularly and subcutaneously to / sheep.

- To calculate loading (D_1) and maintenance dosis (D_m) to obtain adequate dosage regimens for sheep receiving the drugs through the / IV, IM or SC routes.

- To corroborate efficacy of the dosage regimen, studying the / plasma concentrations obtained after intramuscular administration / of neomycin.

- To determine the safety margin and describe the acute toxic / symptoms in sheep after some intravenous sequential administra- / tions of neomycin and paromomycin. To relate the plasmatic levels / to the toxic symptoms.

Six (6) normal adult Lincoln ewes (56 ± 8 kg) were given sulfate of neomycin intravenously, intramuscularly and subcutaneously / (10 mg.kg^{-1}) and another six (6) similar ewes were given sulfate / of paromomycin (10 mg.kg^{-1}) through the same routes.

Blood samples were collected from the yugular vein 2.5; 5; 7.5; / 10; 15; 20; 30 and 40 minutes; 1; 1.5; 2.0; 2.5; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 12; 24; 48 and 72 hours after administering the antibiotic. The serum was extracted and processed by means of the biological / method to obtain antibiotic concentration data. These were averaged for each drug and for each different route they were given and // a log. concentration vs. time curve was plotted. The calculated /

kinetics parameters gave the following results:

- The intravenous pharmacokinetics of neomycin and paromomycin / was described by a bi-compartmental model, with a half life of / distribution of 7.35 ± 5.23 minutes (neomycin) and 10.87 ± 5.27 / minutes (paromomycin); half life of elimination was 1.86 ± 0.34 / (neomycin) and 1.88 ± 0.81 hours (paromomycin). The volume of dis- / tribution gave between 232 and 249 (neomycin) and from 350 to 580 / ml.kg^{-1} (paromomycin).

- The intramuscular administration of neomycin and paromomycin / resulted in a plasma concentrations peak of 18.36 ± 2.35 (neomycin) and $16.75 \pm 6.35 \mu\text{g.ml}^{-1}$ (paromomycin), these were achieved in / 1.56 ± 0.66 hours (neomycin) and 1 hour (paromomycin); the half / life of elimination was 4.10 ± 1.74 hours (neomycin) and $2.57 \pm$ / 1.28 hours (paromomycin) and bioavailability was between 77 % (neo / mycin) and 86 % (paromomycin).

- The subcutaneous administration of paromomycin did not permit / kinetic analysis because the plasma concentrations were too low. / On the other hand, neomycin administered through the same route / gave the following results: plasma concentration peak = $20.77 \pm$ / $3.02 \mu\text{g.ml}^{-1}$; time of the maximum concentration = 1.06 ± 0.58 / hours; half life of elimination = 2.58 ± 0.69 hours and 80 % bio- / availability.

- Dosage regimens were calculated using the kinetic and bio- / availability data obtained from the pharmacokinetic study and a / minimum inhibitory plasma concentration of $5 \mu\text{g.ml}^{-1}$. The results / were as follows:

- Neomycin: IV $D_1 = 10.18 \text{ mg.kg}^{-1}$; $D_m = 10.93 \text{ mg.kg}^{-1}$ every 6 / hours; IM $D_1 = 22.46 \text{ mg.kg}^{-1}$; $D_m = 20.43 \text{ mg.kg}^{-1}$ every 12 hours; / SC $D_1 = 12.84 \text{ mg.kg}^{-1}$; $D_m = 11.21 \text{ mg.kg}^{-1}$ every 8 hours.

- Paromomycin: IV $D_1 = 16.12 \text{ mg.kg}^{-1}$; $D_m = 12.52 \text{ mg.kg}^{-1}$ every 6 / hours; IM $D_1 = 15.80 \text{ mg.kg}^{-1}$; $D_m = 14.08 \text{ mg.kg}^{-1}$ every 6 hours.

Acute toxic symptoms were seen when the plasma levels were between 230 and 450 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, which were respiratory difficulty, muscular weakness, incoordination of the hands legs and sedation.

Neomycin shown a low safety margin, giving more severe manifestations of acute toxicity with lower serum levels.

In the E.C.G. paromomycin shown a decrease in the heart rate and sino-auriculares blockage.

The levels of glucose, urea and enzymatic activity of GOT, LDH, / CPK, γ GT and GLDH increased in the acute toxic experiments.

AGRADECIMIENTOS

- A mi Director Científico y orientador permanente, pero sobre / todas las cosas a un amigo: Prof. Dr. Jorge O. Errecalde.
- Al Dr. Roberto Rule por toda la colaboración científica, técnica, moral y por la irrenunciable amistad que supimos conseguir a / lo largo de muchas horas compartidas.
- Al ex-Decano de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires: Dr./ Osvaldo De la Canal, por lo que él significó para mí, en este camino elegido.
- A los compañeros docentes de la Cátedra de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N.C.P.B.A.
- A los compañeros docentes de la Cátedra de Farmacología y Terapéutica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N.L.P.
- A la Dra. Irma Galufa y a todo el personal docente de la Cátedra de Biofísica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N. C.P.B.A.
- Al personal técnico del Laboratorio del Hospital Ramón Santamarina de Tandil.
- Al Dr. Néstor Auza.
- Al Sr. Francisco Espósito por su ayuda cotidiana.
- Al Dr. Eduardo Zaccardi.
- Al Dr. Guillermo Milano.
- A la Dra. Haydeé Vercesi.
- A la Dra. Margarita West.
- Al Dr. Mario Racciati.
- Al Sr. Andrés Bellinzoni.

- Al Sr. Martín Quintana.
- Al Sr. Julio Elicheribehety.
- Al Dr. Roberto Roncino.
- A la Srta. Gabriela Meyer.
- Al Sr. Fernando Milano.
- A la Srta. Patricia Viñas por su invariable voluntad y esfuerzo en la tarea mecanográfica.
- A todos mis amigos mencionados o no en esta nómina, que directa o indirectamente colaboraron en la realización de esta Tesis.
- A Diana por su ayuda técnica e invaluable apoyo espiritual.
- A mis padres y hermana por su constante apoyo moral e incentivo para concretar el logro de mis objetivos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ADAMS, H. R. Neuromuscular blocking effect of aminoglycoside / antibiotics in nonhuman primates. JAVMA, 163 (6): 613-616, 1973.
- 2.- ADAMS, H. R.; GOODMAN, F. R.; LUPEAN, V. A. Effects of Neomycin on tension and Ca movements in rabbit aortic smooth muscle. Life Sci., 12 (4): 279-287, 1973.
- 3.- ADAMS, H. R.; PARKER, J. L. Cardiovascular depressant effects / of antibiotics. Cardiovascular Toxicol., 32 (6): 327-351, 1982.
- 4.- ADAMS, H. R. Pharmacodynamic actions of antimicrobial agents in host cell membranes. JAVMA, 185 (10): 1127-1130, 1984.
- 5.- ADELMAN, M.; EVANS, E.; SCHENTAG, J. Two-compartment comparison of gentamicin and tobramycin in normal volunteers. Antimicrob./ Agents Chemother., 22: 800-804, 1982.
- 6.- ANDERSON, E. T.; YOUNG, L. S. Antimicrobial synergism in the / therapy of gram negative bacteremia. Chemotherapy, 24: 45-54, 1978.
- 7.- ARRIOLA, J.; FOOTE, R. H. Effects of amikacin sulfate on the motility of stallion and bull spermatozoa at different temperatures and intervals of storage. J. Anim. Sci., 54 (6): 1105-1109, 1982.
- 8.- AVASTHI, P. A.; EVAN, A. P.; HUSER, J. W. Effect of gentamicin on glomerular ultrastructure. J. Lab. clin. Med., 98: 444-454, 1981.
- 9.- BAGGOT, J. D. The Basis of Veterinary Clinical Pharmacology, 2^a ed., W. B. Saunders & Co. Ltd., Filadelfia, 1977.
- 10.- BAGGOT, J. D. Some aspects of clinical pharmacokinetics in veterinary medicine I. J. vet. Pharmacol. Therap., 1: 5-18, 1978.
- 11.- BAGGOT, J. D. Some aspects of clinical pharmacokinetics in veterinary medicine II. J. vet. Pharmacol. Therap., 1: 111-118, / 1978.

- 12.- BAGGOT, J. D. Pharmacokinetics of kanamycin in dogs. *J. vet./ Pharmacol. Therap.*, 1: 163-170, 1978.
- 13.- BAGGOT, J. D. Distribution of antimicrobial agents in normal/ and diseased animals. *JAVMA*, 176 (10): 1085-1090, 1980.
- 14.- BAGGOT, J. D.; LOVE, D. N.; ROSE, R. J.; RAUS, J. The pharmacokinetics of some aminoglycoside antibiotics in the horse. / *J. vet. Pharmacol. Therap.*, 4: 277-284, 1981.
- 15.- BAGGOT, J. D. Factors involved in the choice of routes of administration of antimicrobial drugs. *JAVMA*, 185 (10): 1076 - 1082, 1984.
- 16.- BARENDS, J. S.; MIJNSBERGEN, C. W. Pre-column derivatization/ of aminoglycosides with 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene. *J. Chromatography*, 322: 321-331, 1985.
- 17.- BAYLIS, C.; RENNKE, H.; BRENNER, B. Mechanism of the defect / in glomerular ultrafiltration associated with gentamicin administration. *Kidney Int.*, 12: 344-353, 1977.
- 18.- BECK, P.; THOMPSON, R.; CHAUDHURI, A. Aminoglycoside antibiotics and renal function: changes in urinary gamma-glutamyl / transferase excretion. *J. Clin. Pathol.*, 30: 432-437, 1977.
- 19.- BEECH, J.; KOHN, C.; LEITCH, M. Therapeutic use of gentamicin in horses: concentrations in serum, urine, and synovial fluid and evaluation of renal function. *Am. J. Vet. Res.*, 38: 1085-1087, 1977.
- 20.- BEECH, J. Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of the lower respiratory tract in large animals. *JAVMA*, 185 (10): 1199-1201, 1984.
- 21.- BENITZ, A. M. Future developments in the aminoglycoside group of antimicrobial drugs. *JAVMA*, 185 (10):1118-1123, 1984.
- 22.- BENNETT, W. M.; PLAMP, E. E.; ELLIOTT, W. C. Effect of basic amino acids and aminoglycosides on ³H-gentamicin in cortical slices of rat and human kidneys. *J. Lab. clin. Med.*, 99: 156-162, 1982.

- 23.- BERNHEIN, F. Quimioterapia de las infecciones bacterianas, / en: Farmacología Médica, editado por: Drill, V. A. La Prensa Mexicana, pág. 1466, 1969.
- 24.- BLACK, J.; CALESNICK, B.; WILLIAMS, D. Pharmacology of gentamicin, a new broad-spectrum antibiotic. Antimicrob. Agents / Chemother., 3: 138-147, 1964.
- 25.- BLOOD, D. C.; HENDERSON, J. A.; RADOSTITS, O. M. Veterinary / Medicine, 5^a ed., Bailliere Tindall, London, 1979.
- 26.- BOTH, N. H.; Mc DONALD, L. E. Veterinary Pharmacology and // Therapeutics, 5^a ed., The Iowa State University Press / Ames , Iowa, 1982.
- 27.- BOWEN, J. M.; CRAWFORD, L. M. Clinical pharmacology note: aminoglycoside antibiotic toxicity. Georgia Vet., 28: 14-21, // 1976.
- 28.- BOWMAN, W. C.; RAND, M. J. Farmacología. Bases Bioquímicas y Patológicas, Aplicaciones Clínicas, 2^a ed., Interamericana , México, 1984.
- 29.- BRAUN, J. P.; RICO, A. G.; BERNARD, P. Tissue and blood distribution of gamma-glutamyl transferase in the lamb and in / the ewe. Res. Vet. Sci., 25: 37-40, 1978.
- 30.- BRAZIL, O. V.; CORRADO, A. P. The curariform action of Streptomycin. J. Pharmacol & Exptl. Therap., 120: 452-459, 1957.
- 31.- BREWER, N. S. The aminoglycosides: streptomycin, kanamycin , gentamicin, tobramycin, amikacin, neomycin. Mayo Clinic.Proc., 52: 675-679, 1976.
- 32.- BROGARD, J. M.; COMTE, F.; SPACH, M. O. Nephrotoxicity of // Aminoglycosides. Contr. Nephrol., 42: 182-195, 1984.
- 33.- BROWN P.; STOVER, S. Kanamycin sulfate in the horse: serum, synovial fluid, peritoneal fluid. and urine concentrations / after single. Am. J. Vet. Res., 42 (1): 1823-1825, 1981.

- 34.- BROWN, M. P.; EMBERTSON, R. M.; GRONWALL, R. R. Amikacin sulfate in mares: pharmacokinetics and body fluid and endometrial concentrations after repeated intramuscular administration. *Am. J. Vet. Res.*, 45 (8): 1610-1613, 1984.
- 35.- BRYAN, L. E.; VAN DEN ELZEN, H. M. *Microbial Drug Resistance*. University Park Press, Baltimore, 1975.
- 36.- BUE, M. G.; ORIOL, J. G. Conception in mares following intrauterine therapy with amikacin. *J. Reprod. Fert.*, 27: 317-320, 1983.
- 37.- BUSCH, H.; LANE, M. *Chemotherapy*. Book Medical Publishers, USA, 1967.
- 38.- BUSS, W. C.; KAUTEN, R.; KEITH PIATT, M. Inhibitory effects of gentamicin and ethacrynic acid on mammalian microsomal // protein synthesis. *J. Antimicrob. Chemother.*, 15: 105-113, / 1985.
- 39.- BUSS, W. C.; KEITH PIATT, M.; KAUTEN, R. Inhibition of mammalian microsomal protein synthesis by aminoglycoside antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.*, 14: 231-241, 1984.
- 40.- BUSS, W. C.; KEITH PIATT, M. Gentamicin administered in vivo reduces protein synthesis in microsomes subsequently isolated from rat kidneys but not from rat brains. *J. Antimicrob. Chemother.*, 15: 715-721, 1985.
- 41.- BUTTON, C. Digoxin pharmacokinetics, bioavailability, efficacy and dosage regimens in the horse. *Am. J. Vet. Res.*, 41: / 1388-1389, 1980.
- 42.- CABANA, B. E.; TAGGART, J. G. Comparative pharmacokinetics / of BB-K8 and kanamycin in dogs and humans. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 3: 478-483, 1973.
- 43.- CARCAMO, E. C. *Introducción a la farmacocinética*. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Washington, 1982.

- 44.- CARRIZOSA, J.; LEVISON, M. E. Minimal concentrations of aminoglycoside that can synergize with penicillin in enterococcal endocarditis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 20: 405- / 409, 1981.
- 45.- CHAHWALA, S. B.; HARPER, E. S. An investigation of the // effects of aminoglycoside antibiotics on Na⁺, K⁺ -ATPase as a possible mechanism of toxicity. *Res. Comm. Chem. Pathol. / Pharmacol.*, 35: 63-78, 1978.
- 46.- CHIU, P. J.; BROWN, A.; MILLER, G.; LONG, J. F. Renal extrac^otion of gentamicin in anesthetized dogs. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 10: 277-282, 1976.
- 47.- CHRISTENSEN, E. I. Intralysosomal digestion of lysozyme in / renal proximal tubule cells. *Kidney Int.*, 6: 396-407, 1974.
- 48.- CLARK, C. H. Toxicity of aminoglycoside antibiotics. *Mod. / Vet. Pract.*, 3: 594-598, 1977.
- 49.- CLARKE, E.; CLARKE, M. *Veterinary Toxicology*, 1st ed., Baillie^rre Tindall, Baltimore, 1975.
- 50.- CLARKE, G. *Statistics and experimental design*. Arnold Pu- / blishers, Londres, 1969.
- 51.- COHEN, L. S.; WECHSLER, A. S. Depression of cardiac function by streptomycin and other antimicrobial agents. *Am. J. Cardiol.*, 26: 505-511, 1970.
- 52.- COJOCEL, C.; HOOK, J. Aminoglycoside nephrotoxicity. *Trends Pharmacol. Sci.*, 4: 174-179, 1983.
- 53.- COJOCEL, C.; DOCIUS, N.; SMITH, J.; HOOK, J. Renal ultras- / tructural and biochemical injuries induced by aminoglycosi- des. *Environm. Health Persp.*, 57: 293-299, 1984.
- 54.- CONZELMAN, G. M. Pharmacotherapeutics of aminoglycoside an- tibiotics. *JAVMA*, 176 (10): 1078-1080, 1980.

- 55.- CORNELIUS, C. E.; KANEKO, J. J. Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Academic Press, New York, 1963.
- 56.- COURVALIN, P.; WEISBLUM, B.; DAVIES, J. Aminoglycoside-modifying enzyme of an antibiotic producing bacterium acts as a determinant of antibiotic presistance in Escherichia coli. / Proc. Natl Acad. Sci., 74: 999-1003, 1977.
- 57.- COX, H. U.; LUTHER, D. G.; NEWMAN, S. Comparison of antibiograms determined by disk defusion and microdilution methods for selected gram-negative bacilli. Am. J. Vet. Res., 42: / 546-551, 1981.
- 58.- CROUT, R. J.; GILBERTSON, J. R.; PLATT, H. H. Effect of lingo lenyl alcohol on the in vitro growth of the oral bacterium/ Streptococcus mutans. Arch. Oral Biol., 27: 1033-1037, 1982.
- 59.- CROWELL, W. A.; DIVERS, T. J.; BYARS, T.; MARSHALL, A.; LARSEN, L. Neomycin toxicosis in calves. Am. J. Vet. Res., 42 (1): 29-34, 1981.
- 60.- DAVIES, J.; DAVIS, B. Misreading of ribonucleic acid code- words induced by aminoglycoside antibiotics: the effect of drug concentration. J. Biol. Chem., 243: 3312-3316, 1968.
- 61.- DAVIES, J.; GORINI, L.; DAVIS, B. Misreading of RNA code- / words induced by aminoglycoside antibiotics. Mol. Pharmacol., 1: 93-106, 1965.
- 62.- DAYKIN, P. W. Farmacología y Terapéutica Veterinaria, 1ª ed. en español, Editorial Continental, México, 1965.
- 63.- DI PALMA, J. Basic Pharmacology in Medicine. Mc Graw-Hill / Book Company, USA, 1976.
- 64.- DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology. Iowa State University Press, Iowa, 1977.
- 65.- ELLIS, P. P. Ocular Therapeutics and Pharmacology, 5ª ed., / The C. V. Mosby Company, USA, 1977.

- 66.- ELMQVIST, D.; JOSEFSSON, J. O. The nature of the neuromuscular block produced by neomycin. *Acta Physiol. Scand.*, 54: / 105-110, 1962.
- 67.- ENGLISH, P. B.; PRESCOTT, C. W. Antimicrobial therapy in the dog. *J. Small Anim. Pract.*, 24: 277-292, 1983.
- 68.- FARBER, E.; VERBIN, R. Cell suicide and cell death, en: *Mechanisms of Toxicity*, editado por: ALDRIDGE, W. McMillan and Co., Londres, pág. 163-170, 1971.
- 69.- FARESE, R. V. Phosphoinositide metabolism and hormone action. *Endocr. Rev.*, 4: 78-95, 1983.
- 70.- FERRARI, F. A.; PAGANI, A. Inhibition of candidacidal activity of human neutrophil leukocytes by aminoglycoside antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 17: 87-88, 1980.
- 71.- FORDTRAN, J.; GROSSMAN, M. Third symposium on histamine and H₂-receptor antagonists: clinical results with cimetidine. / *Gastroenterology*, 74: 1, 1978.
- 72.- GALAMBOS, R.; HECOX, E. Clinical applications of the auditory brainstem response. *Otolaryngol Clin. North Am.*, 11: 709-722, 1978.
- 73.- GARVIN, R.; BISWAS, D.; GORINI, L. The effects of streptomycin or dihydroestreptomycin binding to 16 RNA or to 30 S / ribosomal subunits. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 71: 3814-3819, / 1974.
- 74.- GIALLA, M.; PARADELIS, A. Two cases of prolonged respiratory depression due to interaction of pancuronium with colistin / and streptomycin. *J. Antimicrob. Chemother.*, 5: 234-240, / 1979.
- 75.- GIBALDI, M.; PERRIER, D. *Pharmacokinetics*. Marcel Dekker / Inc., New York, 1975.
- 76.- GIBALDI, M. *Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetic*, / 2ª ed., Lea & Febiger, Filadelfia, 1977.

- 77.- GILBERTSON, J.; LANGKAMP, H. Use of lipids to potentiate the antibacterial activity of aminoglycosides. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 26: 306-309, 1984.
- 78.- GINGERICH, D.; ROURKE, J. Amikacin: a new aminoglycoside for treating equine metritis. *VM SAC*, 78: 783-792, 1983.
- 79.- GOODMAN, L.; GILMAN, A. *Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, 5ª ed., Interamericana, México, 1978.
- 80.- GOTH, A. *Farmacología Médica*, 11ª ed., Doyma, Barcelona, // 1984.
- 81.- GUIOT, H.; VANDENBROEK, P. Selective antimicrobial modulation of the intestinal flora of patients with acute nonlymphocytic leukemia: a double-blind, placebo-controlled study. *J. Infect. Dis.*, 147: 615-623, 1983.
- 82.- HAHN, F.; SARRE, S. Mechanism of action of gentamicin. *J. Infect. Dis.*, 119: 364-365, 1969.
- 83.- HAMM, D. H. Gentamicin therapy of genital tract infections in stallions. *Equine Med. Surg.*, 2: 243-245, 1978.
- 84.- HERTING, R.; LANE, A.; LORBER, R. Netilmicin: chemical development and overview of clinical research. *Scand. J. Infect. Dis.*, 23: 20-29, 1980.
- 85.- HIRSH, D.; RUEHL, W. A rational approach to the selection of an antimicrobial agent. *JAVMA*, 185 (10): 1058-1061, 1984.
- 86.- HOEPRICH, P. Gentamicin versus *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Dis.*, 119: 391-393, 1969.
- 87.- HOUESHELL, J.; LAMENDOLA, J.; MC CRAKEN, J. Clinical pharmacology of aminoglycosides, Part 1. *Mod. Vet. Pract.*, 63: 619-621, 1982.
- 88.- HOUESHELL, J.; LAMENDOLA, J.; MC CRAKEN, J. Clinical pharmacology of aminoglycosides, Part 2. *Mod. Vet. Pract.*, 9: 707-710, 1982.

- 89.- HUBBER, G. Streptomycin, Chloranphenicol, and other anti- / bacterial agents, en: Veterinary Pharmacology and Therapeutics, editado por: JONES, C.; BOOTH, N. H.; MC DONALD, L. E., 4^a ed., Iowa State University Press, Iowa, pág. 940, 1977.
- 90.- HUMES, H.; WEINBERG, J.; KNAUSS, T. Clinical pathophysiological aspects of aminoglycoside nephrotoxicity. Am. J. Kid. / Dis., 2: 5-29, 1982.
- 91.- INGLIS, J.; KATZ, S. Improved microbiological assay procedures for dihydrostreptomycin residues in milk and dairy products. Appl. Env. Microbiol., 35: 517-520, 1978.
- 92.- IWASAWA, H.; IKEDA, D.; KONDO, S.; UMEZAWA, H. Chemical modification of 3'-deoxymikacin. J. Antibiot., 35: 1715-1717, 1982.
- 93.- JACKSON, G.; ARCIERI, G. Ototoxicity of gentamicin in man: a survey and controlled analysis of clinical experience in the U. S. J. Infect. Dis., 24: 5130-5137, 1971.
- 94.- JACKSON, G.; RIFF, L. Pseudomonas, Bacteremia of treatment with gentamicin. J. Infect. Dis. 124 (Suppl): 5185-5191, 1971.
- 95.- JACKSON, G. The key role of aminoglycosides in antibacterial therapy and prophylaxis. J. Antimicrob. Chemother., 13(Suppl. A): 1-7, 1984.
- 96.- JACKSON, G. The clinical versatility of aminoglycosides. J. Antimicrob. Chemother., 13(Suppl. A): 47-49, 1984.
- 97.- JIN-RUI, F.; PEARCE, C. Neomycin biosynthesis: the involvement of neamine and paromamine as intermediates. J. Antibiot. 37 (1): 77-79, 1984.
- 98.- KALLINGS, L. Resistance factors: influence on netilmicin / activity scana. J. Infect. Dis., 23 (Suppl): 54-58, 1980.-
- 99.- KAHLMETER, G. Netilmicin: clinical pharmacokinetics and // aspects on dosage schedules. Scand. J. Infect. Dis., 23:74-81, 1980.

- 100.- KALOYANIDES, G.; PASTORIZA MUÑOZ, E. Aminoglycoside nephrotoxicity. *Kidney Int.*, 18: 571-582, 1980.
- 101.- KALOYANIDES, G. Renal pharmacology of aminoglycoside antibiotics. *Contr. Nephrol.*, 42: 148-167, 1984.
- 102.- KRIGHT, H. Antimicrobial agents used in the horse. *Procc. / Am. Assoc. of Equine Pract.*, 21: 131-144, 1975.
- 103.- KNIFTON, A. Pharmacokinetics of antibacterials in calves. *Vet. Rec.*, 111: 49-52, 1982.
- 104.- KNIFTON, A. Selection of antibiotics in small animal practice. *Vet. Rec.*, 115: 38-40, 1984.
- 105.- KONDO, S.; LINUMA, K.; YAMAMOTO, H. Synthesis of 1-N- (S)4-amino-2-hydroxybutyryl -kanamycin B and 3', 4'-dideoxykanamycin B active against kanamycin-resistant bacteria. *J. // Antibiot.*, 26: 412-414, 1973.
- 106.- KORITZ, G. Relevance of peak and trough concentrations to / antimicrobial drug therapy. *JAVMA*, 185 (10): 1072-1075, 1984.
- 107.- KORZENIOWSKI, O.; SANDE, M. Combination antimicrobial therapy for *Staphylococcus aureus* endocarditis in patients addicted to parenteral drugs and in nonaddicts. *Ann. Intern. Med.*, / 97: 496-503, 1982.
- 108.- KOSIMA, R.; SUZUKI, Y. Studies on the nephrotoxicity of aminoglycoside antibiotics and protection from these effects. *// Folia Pharmacol. Japon.*, 84: 463-469, 1984.
- 109.- KUNIN, C. CHALMERS, T.; LEEVY, C.; LIEBER, S.; FINLAND, M. / Absorption of orally administered neomycin and kanamycin. *New. Engl. J. Med.*, 262: 380-385, 1960.
- 110.- KUO, C.; HOOK, J. Specificity of gentamicin accumulation by rat renal cortex. *Life Sci.*, 25: 873-878, 1979.

- 111.- LANUSSE, C.; RULE, R.; ERRECALDE, J. Farmacocinética intravenosa de ticarcilina en ovinos. X Congreso Panamericano de Veterinaria y Zootecnia y V Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias. Resúmenes, Nº 219, Buenos Aires, 1985.
- 112.- LANUSSE, C.; RULE, R.; LANDONI, F.; ERRECALDE, J. Farmacocinética de neomicina en ovinos luego de su administración intratraqueal. X Congreso Panamericano de Veterinaria y Zootecnia y V Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias. Resúmenes, Nº 220, Buenos Aires, 1985.
- 113.- LANUSSE, C.; RULE, R.; MESTORINO, N.; ERRECALDE, J. Niveles / plasmáticos de paromomicina luego de su administración intratraqueal en ovinos. X Congreso Panamericano de Veterinaria y Zootecnia y V Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias. / Resúmenes, Nº 221, Buenos Aires, 1985.
- 114.- LING, G.; RUBY, A. Gentamicin for treatment of resistant urinary tract infections in dogs. JAVMA, 175: 480-481, 1979.
- 115.- LING, G.; CONZELMAN, G.; FRANTI, C.; RUBY, A. Urine concentrations of gentamicin, tobramycin, amikacin, and kanamycin after subcutaneous administration to healthy adult dogs. Am. J. Vet. Res., 42 (10): 1792-1794, 1981.
- 116.- LIPSKY, J.; LIETMAN, P. Aminoglycoside inhibition of renal / phosphatidylinositol phospholipase C. J. Pharmacol. Exp. / Ther., 220: 287-292, 1982.
- 117.- LITTER, M. Compendio de Farmacología, 2ª ed., El Ateneo, Buenos Aires, 1978.
- 118.- LOCKWOOD, A. Membranes of Animal Cells. Camelot Press Ltd., / South Hampton, Gran Bretaña, 1978.
- 119.- LODE, H.; GRUNERT, K. Pharmacokinetics and clinical studies / with amikacin, a new aminoglycoside antibiotic. J. Infect. / Dis., 134: 316-322, 1976.
- 120.- LOPEZ ARNAIZ, J.; TORRIAN, H.; LAMDAN, S. Farmacoquímica II. Eudeba, Buenos Aires, 1976.

- 121.- LUFT, F.; BLOCH, R.; SLOAN, R. Comparative nephrotoxicity / of aminoglycoside antibiotics in rats. *J. Infect. Dis.*, 138: 541-545, 1978.
- 122.- LUFT, F.; EVAN, A. Glomerular filtration barrier in amino- / glycoside-induced nephrotoxic acute renal failure. *Renal / Physiol.*, 3: 265-271, 1980.
- 123.- MAITIA, K.; COJOCEL, C. Effects of aminoglycosides on glome- / rular ultrastructure. *Pharmacology*, 29: 292-300, 1984.
- 124.- MATSUNO, T.; YONETA, T. An improved synthesis of 3'4'-di- / deoxykanamycin B. *Carbohydr. Res.*, 109:271-273, 1982.
- 125.- MELLOR, D.; SLATER, J. Effects of antibiotic treatment on / the composition of sheep foetal Fluids. *Res. Vet. Sci.*, 12:/ 521-526, 1971.
- 126.- MELMON, K.; MORCELLI, H. *Farmacología Clínica*, Editorial Pa- / namericana, Buenos Aires, 1975.
- 127.- MEYERS, F.; JÄWETZ, E.; GOLDFIEN, A. *Manual de Farmacología Clínica*, 3^a ed., El Manual Moderno S.A., México, 1977.
- 128.- MICHELL, R. Is phosphatidylinositol really out of the cal- / cium gate?. *Nature*, 296:492-493, 1982.
- 129.- MILLER, G.; ARCIERI, G.; WEINSTEIN, M. Biological activity / of netilmicin, a broad spectrum semi-synthetic aminoglycosi- / de antibiotic. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 10: 827-836, / 1976.
- 130.- MITSUHASHI, S. Drug action and drug resistance. *Aminoglycosi- / de antibiotics*. University Park Press., Baltimore, 1975.
- 131.- MIYASAKA, T.; IKEDA, D.; KONDO, S. Synthesis and properties / of the 6"-deoxy or 4",6"-dideoxy derivatives of the kanamy- / cin antibiotics. *J. Antibiot.*, 33: 527-529, 1980.

- 132.- MOELLERING, R.; WEINBERG, A. Studies on antibiotic / synergism against enterococci. II. Effect of various anti- / biotics on the uptake of ^{14}C - labeled streptomycin by / enterococci. J. Clin. Invest., 50: 2580-2584, 1971.
- 133.- MODAI, J. Indications thérapeutiques actuelles des amino- / glycosides. Presse Méd., 13 (16): 991-995, 1984.
- 134.- MONDORF, A.; HENDUS, J. Tubular toxicity induced by amino- / glycosides in human kidneys, en: Nephrotoxicity, editado por: FILLASTRE, J., Masson Publications, New York, pág. 167, 1978.
- 135.- NAIMAN, J.; SAKURAI, K.; MARTIN, J. The antagonism of calcium and neostigmine to kanamycin-induced neuromuscular paralysis. J. Surg. Res., 5: 323-328, 1965.
- 136.- NEU, H. Pharmacology of aminoglycosides, en: The aminoglycosides, microbiology, clinical use and toxicology, editado / por: WHELTON, J.; NEU, H., Dekker, New York, pág. 125, 1982.
- 137.- NOMURA, M.; MIZUSHIMA, S. Structure and function of ribo- / somes and their molecular components. Cold. Spring. Harb. / Symp. Quant. Biol., 34: 49-61, 1969.
- 138.- ORSINI, J.; SOMA, L.; ROURK, J. Pharmacokinetics of amikacin in the horse following IV and IM administration. J. vet. / Pharmacol. Therap., 8 (2): 194-200, 1985.
- 139.- PARADELIS, A.; THEOCHARIDIS, N. Effect of propranolol on the isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of the rat. / Arzneim. Forsch., 23: 38-40, 1973.
- 140.- PARADELIS, A.; GIALA, M. Neuro-muscular blocking activity of / aminoglycoside antibiotics. Meth. Find. Exptl. Clin. Pharma- / col., 2: 45-49, 1980.
- 141.- PARADELIS, A.; BALAMOUTSOS, N.; ANASTASSIADOU, G. Effect of / tobramycin on serum pseudocholinesterase levels. Meth. Find. / Exptl. Clin. Pharmacol., 4: 121-123, 1982.

- 142.- PARADELIS, A.; TRIANTAPHYLLIDIS, C.; STAVRAKIS, A. Inter- /
action of aminoglycoside antibiotics with H₂-receptor block- /
ing agents at the neuromuscular junctions. *Drugs Exptl. Clin. /*
Res., 10(11): 807-811, 1984.
- 143.- PASTORIZA-MUNOZ, E.; BOWMAN, R.; KALOYANIDES, G. Renal tubu- /
lar transport of gentamicin in the rat. *Kidney Int.*, 16: /
440-450, 1979.
- 144.- PASTORIZA-MUNOZ, E.; TIMMERMAN, D.; KALOYANIDES, G. Renal /
transport of netilmicin in the rat. *J. Pharmac. exp. Ther.*, /
228:65-72, 1984.
- 145.- PEDERSOLI, W.; BELMONTE, A. Pharmacokinetics of gentamicin /
in the horse. *Am. J. Vet. Res.*, 41: 351-354, 1980.
- 146.- PENNINGTON, J.; REYNOLDS, H. Concentrations of gentamicin /
and carbenicilin in bronchial secretions. *J. Infect. Dis.*, /
128: 63-68, 1973.
- 147.- PEREZ-GONZALEZ, J.; JIMENEZ, A. Cloning and expression in /
Streptomyces lividans of a paromomycin phosphotransferase /
from *Streptomyces rimosus* forma paromomycinus. *Bioch. Bioph. /*
Res. Comm., 125 (3): 895-901, 1984.
- 148.- PERKINS, F.; LANE, B.; KALOYANIDES, G. Transport of netil- /
micin by LLC-PK₁ cells. *Clin. Res.*, 31: 517-520, 1983.
- 149.- PESTKA, S. Inhibitors of protein synthesis, en: *Molecular /*
Mechanisms of Protein Synthesis, editado por: WEISSBACH, H.;
PESTKA, S., Academic Press, New York, pág. 467, 1977.
- 150.- PITTINGER, C.; LONG, J. Neuromuscular blocking action of /
neomycin sulfate. *Antibiot. Chemother.*, 8: 198-203, 1958.
- 151.- PITTINGER, C.; ADAMSON, R. Antibiotic blockade of neuro- /
muscular function. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 12: 169-172, 1972.
- 152.- PORTER, G.; BENNETT, W. Nephrotoxic acute renal failure due /
to common drugs. *Am. J. Physiol.*, 24: 1-8, 1981.

- 153.- POSEY, L. Netilmicin marketed in US. Clin. Pharmacy, 2: 197-198, 1983.
- 154.- POWERS, T.; VARMA, J.; POWERS, J. Selecting therapeutic / concentrations: minimum inhibitory concentrations vs sub- / minimum or supraminimum inhibitory concentrations. JAVMA, 185 (10): 1062-1067, 1984.
- 155.- PRICE, K. Amikacin, an aminoglycoside with marked activity / against antibiotic resistant clinical isolates. J. Infect. / Dis. 134 (Suppl.): 249-261, 1976.
- 156.- REGAMEY, C.; SCHABERG, D. Inhibitory effect of heparin on / gentamicin concentrations in blood. Antimicrob. Agents / Chemother., 1: 392-393, 1972.
- 157.- REGAMEY, C.; GORDON, R.; KIRBY, W. Comparative pharmaco- / kinetics of tobramycin and gentamicin. Clin. Pharmacol. Ther., 14: 396-403, 1973.
- 158.- REVERT, C.; FILLASTRE, J.; GODIN, M. Pharmacocinétique de la / gentamicine. Administration intramusculaire de trois doses différentes chez des sujets ayant une fonction rénale normale. Therapie, 33: 713-722, 1978.
- 159.- RIFF, L. Pseudomonas bacteremia. Evaluation of factors / influencing response of therapy. Acta Pathol. Microbiol. / Scand., 81 (Suppl.): 79-88, 1973.
- 160.- RUDHARDT, M.; FABRE, J. Behavior of amikacin in renal paren- / chyma of normal rats and of rats with acute obstructive renal insufficiency. Nephron, 24: 287-291, 1979.
- 161.- RULE, R.; LANUSSE, C.; ERRECALDE, J. Contribución al estudio / de la valoración de antibióticos aminoglucósidos por el méto- / do biológico. X Congreso Panamericano de Veterinaria y Zootec- / nia y V Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias. Resúme- / nes, Nº 222_a, Buenos Aires, 1985.

- 162.- RULE, R.; LANUSSE, C.; ERRECALDE, J. Farmacocinética de gentamicina y kanamicina administradas por vía intraperitoneal/ en ovinos. X Congreso Panamericano de Veterinaria y Zootecnia y V Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias. Resúmenes, Nº 222_b, Buenos Aires, 1985.
- 163.- SANDE, M.; SCHELD, W. Combination antibiotic therapy of / bacterial endocarditis. Ann. Intern. Med., 92: 390-395, 1982.
- 164.- SAN MARTIN CASAMADA, R. Tratado de Farmacodinamia. Editorial Científico-Médica, Barcelona, 1974.
- 165.- SASTRASINH, M.; KNAUSS, T.; HUMES, H. Identification of the/ aminoglycoside binding site in rat renal brush border / membranes. J. Pharmacol. exp. Ther., 222: 350-358, 1982.
- 166.- SCHENTAG, J.; JUSKO, W. Renal clearance and tissue accumu -/ lation of gentamicin. Clin. Pharmacol. Ther., 22: 367-370, / 1977.
- 167.- SCHENTAG, J.; VANCE, J.; CUMBO, P. Gentamicin disposition / and tissue accumulation on multiple dosing. J. Pharmacokin./ et Biopharm., 5: 559-577, 1977.
- 168.- SCHENTAG, J.; CUMBO, P.; JUSKO, W.; PLAUT, M. Gentamicin / tissue accumulation and nephrotoxic reactions. J. Am. Med. / Ass., 240: 2067-2069, 1978.
- 169.- SCHENTAG, J. Aminoglycoside pharmacokinetics as a guide to / therapy and toxicology, en: The Aminoglycosides, Microbio- / logy, Clinical Use and Toxicology, editado por: WHELTON, J.; NEU, H., Dekker, New York, pág. 143, 1982.
- 170.- SCHNITZER, R.; HAWKING, F. Experimental Chemotherapy, Vol. / III, Academic Press, New York, 1964.
- 171.- SCHWETZ, D.; KREISBERG, J.; VENKATACHALAM, M. Effects of / aminoglycosides on proximal tubule brush border membrane / phosphatidylinositol-specific phospholipase C¹. J. Pharmacol. exp. Ther., 231 (1): 48-54, 1984.

- 172.- SEBEK, O. The synthesis of neomycin-¹⁴C by *Streptomyces fradiae*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 57: 71-79, 1955.
- 173.- SEKLECKI, M.; QUINTILIANI, R.; MADERAZO, E. Aminoglycoside / antibiotics moderately impair granulocyte function. *Anti- / microb. Agents Chemother.*, 13: 552-554, 1978.
- 174.- SHADOMY, S.; UTZ, C.; WAGNER, G. Estudios "in vitro" con sisomicina, gentamicina y tobramicina. *Trib. Méd., Supl. "Sisomicina"*, pág. 9-13, 1977.
- 175.- SHLAES, D.; VARTIAN, C.; CURRIE, C. Variability in DNA / sequence of closely related nosocomial gentamicin-resistant / plasmids. *J. Infect. Dis.*, 148 (6): 728-731, 1983.
- 176.- SHULMAN, J.; SELIERS, T. Chemotherapy of bacterial infections, en: *Drill's Pharmacology in Medicine*, editado por: DI PALMA, J., Mc Graw-Hill Book Company, pág. 1729, 1971.
- 177.- SMITH, C.; LIPSKY, J.; HELLMANN, O. Tobramycin is less nephrotoxic than gentamicin: results of a double-blind clinical / trial. *New Engl. J. Med.*, 302: 1106-1109, 1980.
- 178.- SOEP, H.; deBROE, M. Enzymurie, toxicite renal et aminosides. *Schweiz Rundschau*, 67: 1721-1725, 1978.
- 179.- SØGAARD, H. An improved microbiological procedure for / detection of streptomycin residues in milk and animal tissues. *Acta vet. Scand.*, 20: 38-41, 1979.
- 180.- SPEYER, J.; LENGYEL, P.; BASILIO, C. Ribosomal localisation / of streptomycin sensitivity. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 48: 684-688, 1962.
- 181.- STANLEY, V.; GIESECKE, A. Neomycin-curare neuromuscular block and reversal in cats. *Anesthesiology*, 31: 228-232, 1969.
- 182.- STOWE, C. Antimicrobial drug interactions. *JAVMA*, 185 (10): / 1137-1140, 1984.

- 183.- SZASZ, G. A kinetic photometric method for serum gamma / glutamy transpeptidase. *Lin. Chem.*, 15: 124-136, 1969.
- 184.- SZOT, R.; TABACHNICK, I. Animal studies with netilmicin. / *Clin. Trials J.*, 17: 318-337, 1982.
- 185.- THURAU, K; BOYLAN, J. Acute renal success. The unexpected / logic oliguria in acute renal failure. *Am. J. Med.*, 61: 308-315, 1976.
- 186.- TIMMERMAN, J.; LONG, J.; PITTINGER, C. Neuromuscular block- / ing properties of various antibiotic agents. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1: 299-304, 1959.
- 187.- TOBIN, T. Pharmacology review: streptomycin, gentamicin and / the aminoglycoside antibiotics. *J. Eq. Med. Surg.*, 3: 206- / 212, 1981.
- 188.- TRUMP, B.; ARSTILA, A. Cell membranes and disease process, / en: *Pathobiology of Cell Membranes*, editado por: ROSS, C., / Academic Press, New York, 1975.
- 189.- TSUCHIYA, T.; TAKAGI, Y. 1-N-Acylation of aminocyclitol / antibiotics via zinc chelation and regiospecific N-trifluoro acetylation. *Tetrahedron Lett.*, 38: 4951-4954, 1979.
- 190.- UMEZAWA, H.; UMEZAWA, S.; TSUCHIYA, T. 3', 4'-Dideoxykana- / mycin B active against kanamycin-resistant *Escherichia coli* / and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antibiot.*, 24: 485-490, 1971.
- 191.- UMEZAWA, H.; MIYASAKA, T. Chemical modification fo 5,3',4'- / trideoxykanamycin B. *J. Antibiot.* 34: 1635-1640, 1981.
- 192.- UMEZAWA, H.; KONDO, S. Mechanisms of resistance to amino- / glycoside antibiotics, en: *Handbook of Experimental Pharmacology*, editado por: UMEZAWA, H.; HOOPER, I., Springer-Verlag, Berlín, pág. 267, 1982.
- 193.- UMEZAWA, H., IDEDA, D. A predominant role of amino groups / in the antibacterial action fo aminoglycosides: Synthesis // of hexa- and heptadeosykanamycin derivatives. *J. Antibiot.*, / 36: 1087-1089, 1983.

- 194.- UMEZAWA, H.; KONDO, S. Aminoglycosides, en: Clinical Chemo- / therapy, editado por: KUEMMERLE, H., Thieme-Stratton Inc., / New York, pág. 120, 1983.
- 195.- UMEZAWA, H.; KONDO, S. KITASATO, I. Development of new semi- / synthetic aminoglycoside antibiotics. Drugs Exptl. Clin. / Res., 10 (10): 631-636, 1984.
- 196.- VAZQUEZ, D. Inhibitors of Protein Biosynthesis. Springer / Verlag, Berlín, 1979.
- 197.- VENEZIO, F.; DiVICENZO, C. Effects of aminoglycoside Anti- / biotics on polymorphonuclear leukocyte function in vivo. / Antimicrob. Agents Chemother., 27 (5): 712-714, 1985.
- 198.- WADE, J.; NEWMAN, K. Selective antimicrobial modulation as / prophylaxis against infection during granulocytopenia: tri- / methoprim sulfamethoxazole vs. nalidixic acid. J. Antibiot., 147: 624-634, 1983.
- 199.- WAGNER, J. Pharmacokinetics. Ann. Rev. Pharmacol., 26: 789- / 840, 1968.
- 200.- WAGNER, J. Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics. Drug / Intelligence Publications, Inc., Hamilton, 1975.
- 201.- WAKSMAN, S.; HUTCHINSON, D.; KATZ, E. Neomycin activity upon Mycobacterium tuberculosis and other mycobacteria. Ann. Rev. Tuber. Pulm. Dis., 60: 78-79, 1949.
- 202.- WAKSMAN, S.; KATZ, E. Antimicrobial properties of neomycin. / J. Lab. Clin. Med., 36: 93-99, 1950.
- 203.- WALKER, J.; ARTZ, C. Evaluation of intraperitoneal neomycin: effect on respiration in dogs under anesthesia. Ann. Surg., / 162: 634-640, 1965.
- 204.- WANNER, M.; ZIV, G.; NICOLET, J.; NOELP, U.; ROESLER, H. Ex- / periments with the double isotope single-injection method for / determining glomerular filtration rate and effective plasma / flow in veal calves. Res. Vet. Sci., 30: 339-340, 1981.

- 205.- WATANABE, T. Infections drug resistance. *Sci. Am.*, 217 (6):/ 19-27, 1967.
- 206.- WATANAKUNAKORN, C.; GLOTZBECKER, C. Enhancement of the / effects of antistaphylococcal antibiotics by AG. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 6: 802-806, 1974.
- 207.- WEINSTEIN, L.; WEINSTEIN, H. The pathophysiology and patho- / anatomy of reactions to antimicrobial agents. *Adv. Intern. / Med.*, 19: 109-135, 1979.
- 208.- WEINSTEIN, L. Antimicrobial agents: streptomycin, gentamicin and other aminoglycosides, en: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, editado por: GOODMAN, A.; GILMAN, A., 5^a ed., / McMillan Publishing Co., New York, pág. 1167, 1975.
- 209.- WILHELM, J.; PETTITT, S. Aminoglycoside antibiotics and / eukaryotic protein synthesis: structure-function relation- / ships in the stimulation of misreading with a wheat embryo / system. *Biochemistry*, 17: 1143-1149, 1978.
- 210.- WILLIAMS, P.; HOLOHAM, P. Gentamicin nephrotoxicity. II. / plasma membrane changes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 61: 242-251, 1981.
- 211.- WILSON, R., WHELAN, S. Kinetics of gentamicin after IV, IM, / and intratracheal administration in sheep. *Am. J. Vet. Res.* / 42: 1901-1904, 1981.
- 212.- WOLFE, M. Non dysenteric intestinal amebiasis treatment. *J. / Am. Med. Ass.*, 224: 1601-1604, 1973.
- 213.- YOSHIMURA, H.; ITOH, O. Microbiological and thin-layer / chromatographic identification of aminoglycoside antibiotics in animal body. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 44: 233-239, 1982.
- 214.- ZASKE, P.; CIPOLLE, R. *Aminoglycoside Antibiotics*, 2^a ed., / University of Minnesota School of Medicine, Minnesota, 1983.

- 215.- ZIEMLIŠ, V.; JACKSON, G. Activity of aminoglycoside antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*: specificity and site of calcium and magnesium antagonism. *J. Infect. Dis.*, 127: / 663-669, 1973.
- 216.- ZIMMERMAN, R.; MOELLERING, R.; WEINBERG, A. Mechanism of resistance to antibiotic synergism in enterococci. *J. Bacteriol.*, 105: 873-879, 1971.
- 217.- ZIV, G.; RISEMBERG, R. The concentration of several antibiotics in ovine blood and milk following intramuscular injection. *Rech. Vetér.*, 2: 45-57, 1969.
- 218.- ZIV, G.; SULMAN, F. Distribution of aminoglycoside antibiotics in blood and milk. *Res. Vet. Sci.*, 17 (1): 68-74, 1974.