

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

Escuela de Post Grado



Maestría en Ciencias

Mención: Salud

Línea: Salud Pública

TESIS

Para optar el Grado de Magister en Ciencias

**Biodisponibilidad Relativa de Diferentes Formulaciones
Genéricas Orales de Triclabendazol en Bovinos-2010**

Presentado Por:

Nicolás Castope Llásac

ASESORES:

Ph.D. Pedro Luis Ortiz Oblitas

Dr. Luis Ignacio Álvarez Raverta

COASESOR:

Ph.D. Carlos Edmundo Lanusse Debesa

CAJAMARCA- PERÚ

2015

Copyright By
Nicolás Castope Llásac
2015

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por fortalecer mi espíritu e iluminar mí mente. Hace ya muchos años que pise por primera vez la UNC, y quien me iba a decir entonces que con el tiempo iba a intentar graduarme de Magister en Salud Pública, en esta disciplina que me cautivo desde el primer momento. Ahora cuando escribo, al final de todo el trabajo realizado, me gustaría poder acordarme de todas las personas, que de una u otra forma han participado, bien técnica, profesional o personalmente en la consecución de este, mi pequeño sueño.

Quiero dar las gracias de una forma muy especial al Ph.D. Pedro Ortiz Oblitas, que tan constante ha sido para que al final consiguiéramos el objetivo marcado, hace ya unos cuantos años. En todo este tiempo hemos disertado lo humano desde luego le considero, no solo un maestro, sino también mi amigo. Gracias por haberme dejado formar parte de su equipo y haber confiado en mí y haber presentado los avances de la investigación en el Congreso Nacional de Parasitología ocupando el 1er Puesto a nivel del Perú, octubre 2010 y en el Congreso Mundial de Parasitología en Argentina en agosto 2011 y el artículo científico en New Zealand Journal Veterinary diciembre 2014 a nivel del Mundo.

Agradecer al Ph.D. Carlos Lanusse, director del Departamento de Farmacología de la Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Tandil Argentina, por habernos permitido realizar el trabajo, al Dr. Gottfried Büscher, de Novartis Animal Health Inc, Basilea, Suiza que amablemente proporcionó el estándar de Referencia pura de TCBZ, TCBZ.SO y TCBZ.SO₂. Agradecer a la Unión Europea por la subvención para realizar este trabajo de investigación.

Agradecer de forma especial al Dr. Luis. Álvarez, por confiar en mí, tanto personal como profesionalmente y por apoyarme en la revisión del presente trabajo de investigación y publicación del artículo científico.

Muchas gracias a la Labor de Cristina Farías en el trabajo de laboratorio, a las personas que en estos años han compartido algún tiempo, al M. Cs. José Coronado, Abel García y al Abogado Marco Llasac por su apoyo, gracias a todos.

No me gustaría olvidar a nadie en estos agradecimientos porque a todos los siento parte de esa familia que durante muchos años hemos sido capaces de mantener.

Gracias de todo corazón a los integrantes del Comité Científico: Dra. Margarita Cerna, Dra. Marina Estrada, (sus consejos son siempre una joya, gracias por revisar de prisa el trabajo). Al Dr. Corpus Cerna, al M. Cs. Guido de la Quintana, sé que siempre he podido contar con todos ustedes.

Muchas gracias seres queridos por haberme dado tiempo para poder trabajar en esta tesis, Gracias Milagritos por quedarte junto a mí en el estudio, apoyándome en la elaboración de la presentación, a Rencito por quedarse jugando a los pies de la mesa, sin apenas hacer ruido, tenerte ahí algunos días cuando empezaba a trabajar en esto ha sido algo maravilloso gracias al Licenciado Antonio Llasac, por apoyarme en la formulación del Problema.

Gracias a mí madre Aurora Llasac, sé que no vas a leer esto, porque, aunque tus nietos quieren enseñarte te resistes a aquello que en su día por circunstancias no pudiste hacer. Gracias por haberme educado como lo hiciste y por haberme inculcado valores que ahora yo intento enseñar a mis seres más queridos.

A la memoria de papá Francisco Llasac, donde estés, sé que me sigues cuidando.

Gracias hermanos, los años pasan, pero nosotros seguiremos siempre siendo los mismos. Quiero también agradecer todo el apoyo y ayuda que me ha prestado José L. Vásquez, con el ordenador de todo corazón muchas gracias.

*La búsqueda de las cosas perdidas está
entorpecida por los hábitos rutinarios, y es
por eso que cuesta tanto trabajo encontrarlos.*

Gabo.

A. Aurora.

A. Milagritos, Juan Carlos y Rencito.

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS	i
LISTA DE ABREVIACIONES	v
LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	6
CAPÍTULO II.	7
REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
2.1. Antecedentes	7
2.2. <i>Fasciola hepatica</i>	7
2.2.3. Ciclo biológico.....	11
2.3. Importancia Económica y Problemática de Salud Pública de la Fasciolosis.....	19
2.4. Áreas Endémicas en humanos.....	21
2.5. Control de la Fasciolosis con Bencimidazoles.....	23
2.5.1. El tratamiento con triclabendazol (TCBZ).....	25
2.5.3. Mecanismo de Acción del TCBZ.....	27
2.6. Triclabendazol en humanos.....	35
2.7. Reacciones adversas.....	40
2.8. Factores que modifican la disposición del fármaco en el organismo.....	42

2.9. Cromatografía Líquida de alto Poder (HPLC):.....	51
2.9.1. Términos empleados en Cromatografía	53
2.10. Parámetros Farmacocinéticos	57
2.11. El Enfoque de la FDA- Unión Europea.	61
HIPÓTESIS	62
VARIABLES	62
CAPÍTULO III.....	63
MATERIALES Y MÉTODOS	63
3.1. Ámbito de Estudio:	63
3.3. Análisis Farmacocinético.....	71
CAPÍTULO IV.	72
RESULTADOS	72
4.1. Validación Metodológica.....	72
4.2. Concentraciones Plasmáticas y Análisis Farmacocinético.	72
CAPÍTULO V.....	108
DISCUSIÓN	108
5.1. Cinética Cromatográfico Concentración de Metabolitos del Plasma bovino tratado con TCBZ.....	108
5.5. Bioequivalencia	115
CAPÍTULO VI.	118
CONCLUSIONES	118
RECOMENDACIONES.....	119
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	120
ANEXO	133

ABREVIATURAS

ABZ	:	Albendazol
BZD	:	Bensimidazol
HPLC	:	Cromatografía Líquida de alto poder
ES	:	Estándar interno
LD	:	Límite de detención
LOQ	:	Límite de cuantificación
RF	:	Formulación de referencia
TCBZ	:	Triclabendazol
TCBZ.SO	:	Triclabendazol sulfóxido
TCBZ.SO ₂	:	Triclabendazol sulfona
OBZ	:	Oxibendazol
T _{1/2} for	:	Vida media de formación
C _{max}	:	Concentración Máxima
ABC/AUB	:	Área bajo la curva de concentración frente al tiempo
MRT	:	Tiempo medio de residencia
T _{max}	:	Tiempo para la concentración máxima
T _{1/2} el	:	Vida media de eliminación
FMO	:	Flavín monooxigenasa
P- 450	:	Citocromo P-450
EMA	:	European medicine Agency
FDA	:	Food and drug Administration

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Linealidad de la respuesta del detector obtenida tras la inyección de patrones de triclabendazol sulfóxido (TCBZ.SO) y triclabendazol sulfona (TCBZ.SO ₂) desde 0,1 hasta 5 µg/ml en plasma bovino (rango de calibración).....	76
Tabla 2. Repetibilidad (variación intra – día) del método de extracción química y análisis por HPLC para TCBZ.SO en plasma bovino (n = 6). Repetibilidad promedio (3 determinaciones): 3,89.....	77
Tabla 3. Repetibilidad (variación intra – día) del método de extracción química y análisis por HPLC paraTCBZ.SO ₂ en plasma bovino (n = 6). Repetibilidad promedio (3 determinaciones): 4,13.....	78
Tabla 4. Reproducibilidad (variación inter – día) del método de extracción química y análisis por HPLC para TCBZ.SO en plasma bovino (n = 6). Repetibilidad promedio (3 determinaciones): 5,18.....	79
Tala 5. Reproducibilidad (variación inter – día) del método de extracción química y análisis por HPLC para TCBZ.SO ₂ en plasma bovino (n = 6). Repetibilidad promedio (3 determinaciones): 6,04	80
Tabla 6. Porcentaje de recuperación del método de extracción química y análisis por HPLC para TCBZ.SO en plasma bovino (n = 6). Recobre promedio general: 90,3	81
Tabla 7. Porcentaje de recuperación del método de extracción química y análisis por HPLC para TCBZ.SO ₂ en plasma bovino (n = 6). Recobre promedio general: 92,2	82
Tabla 8. Exactitud del método de extracción química y análisis por HPLC para TCBZ.SO en plasma bovino (n = 6). Recobre promedio general: -5,44....	83

Tabla 9. Exactitud del método de extracción química y análisis por HPLC para TCBZ.SO ₂ en plasma bovino (n = 6). Recobre promedio general: -4,42..84	
Tabla 10. Cálculo del límite de detección paraTCBZSO en plasma bovino (n = 6).	85
Tabla 11. Cálculo del límite de detección paraTCBZS.O ₂ en plasma bovino (n = 6).	86
Tabla 12. A la 21 de Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones (µg/ml) de TCBZ.SO en plasma tras la administración oral de <i>Fasinex</i> [®] en bovinos. Anexo.....	133
Tabla 22. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para TCBZ.SO obtenidos tras la administración oral de Fasinex (Grupo I, triclabendazol) por vía oral en bovinos.	91
Tabla 23. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para TCBZS.O ₂ obtenidos tras la administración oral de Fasinex [®] (Grupo I, triclabendazol) por vía oral en bovinos.	92
Tabla 24. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para TCBZ.SO obtenidos tras la administración oral de Bilevon [®] (Grupo II, triclabendazol) por vía oral en bovinos.	93
Tabla 25. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para TCBZSO ₂ obtenidos tras la administración oral de Bilevon [®] (GrupoII, triclabendazol) por vía oral en bovinos.	94
Tabla 26. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para TCBZ.SO obtenidos tras la administración oral de Trisan [®] (Grupo III, triclabendazol) por vía oral en bovinos.	95
Tabla 27. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para TCBZ.SO ₂ obtenidos tras la administración oral de Trisan [®] (Grupo III, triclabendazol) por vía oral en bovinos.	96

Tabla 28. Parámetros farmacocinéticos (media \pm DE) para TCBZ.SO obtenidos tras la administración oral de Zoliplus® (Grupo IV, triclabendazol) por vía oral en bovinos.	97
Tabla 29. Parámetros farmacocinéticos (media \pm DE) para TCBZS.O2 obtenidos tras la administración oral de Zoliplus® (Grupo IV, triclabendazol) por vía oral en bovinos.	98
Tabla 30. Parámetros farmacocinéticos (media \pm DE) para TCBZ.SO obtenidos tras la administración oral de Zolindex dorado® (Grupo V, triclabendazol) por vía oral en bovinos.	99
Tabla 31. Parámetros farmacocinéticos (media \pm DE) para TCBZ.SO2 obtenidos tras la administración oral de Zolindex dorado® (Grupo V, triclabendazol) por vía oral en bovinos.	100
Tabla 32. Parámetros farmacocinéticas (media \pm DE) de relevancia en el cálculo de la bioequivalencia, para TCBZ.SO obtenidos tras la administración oral de diferentes productos comerciales conteniendo TCBZ y administrados por vía oral en bovinos.	101
Tabla 33. Criterio de bioequivalencia entre las formulaciones estudiadas. Se evalúa el parámetro área bajo la curva concentración vs tiempo (ABC) para TCBZ.SO. Los límites de confianza superior o inferior para los cocientes entre valores de ABC entre grupos experimentales con un intervalo de confianza del 90 % deben estar comprendidos entre el 80-125 % para ser considerados bioequivalentes.	102
Tabla 34. Criterio de bioequivalencia entre las formulaciones estudiadas. Se evalúa el parámetro concentración máxima (Cmax) para TCBZ.SO. Los límites de confianza superior o inferior para los cocientes entre valores de ABC entre grupos experimentales con un intervalo de confianza del 90 % deben estar comprendidos entre el 80-125 % para ser considerados bioequivalentes.	103

Tabla 35. Parámetros de validación de la metodología analítica para la determinación de Metabolitos de TCBZ.SO y TCBZ.SO ₂ en plasma Sanguíneo de bovinos (n= 6) post administración oral deTCBZ (12 mg/kg) ya sea como una formulación de referencia de RF, Fasinex® Novartis o diferentes formulaciones de prueba disponibles en el mercado	104
Tabla 36. Parámetros farmacocinéticos. (Media ± DE), del plasma de TCBZ.SO, obtenidas después de la administración oral de TCBZ (12 mg/kg) para las terneras (n = 6 por grupo), ya sea como una RF, Fasinex®, Novartis, o diferentes formulaciones de prueba disponibles en el mercado. Importancia de la diferencia entre las formulaciones de prueba y RF se da entre paréntesis	105
Tabla 37. Parámetros farmacocinéticos (Media ± DE), del plasma para TCBZ. SO ₂ , obtenidas después de la administración oral de TCBZ (12 mg/kg) para las terneras (n = 6 por grupo), ya sea como una RF, Fasinex®, Novartis, o diferentes formulaciones de prueba disponibles en el mercado. Importancia de la diferencia entre las formulaciones de prueba y RF se da entre paréntesis	106
Tabla 38. Evaluación de bioequivalencia para diferentes formulaciones de TCBZ evaluados después del tratamiento oral de terneras (n = 6 por tratamiento). Las estimaciones puntuales son relaciones de las medias geométricas de los parámetros farmacocinéticos de TCBZ.SO. Las formulaciones fueron bien una RF, Fasinex®, Novartis, o diferentes formulaciones de prueba disponible en el mercado	107

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig 1. Morfología básica en un adulto de <i>Fasciola hepatica</i>	11
Fig 2. Ciclo biológico de <i>F. hepatica</i>	15
Fig 3. Cajamarca zona endémica en <i>F. hepatica</i>	22
Fig 4. Representación esquemática del metabolismo y distribución de TCBZ.	37
Fig 5. Estructura Química de TCBZ y sus Metabólicos.	39
Fig 6. Esquema del cromatógrafo de fase líquida.....	54
Fig 7. Representación de cromatograma.....	56
Fig 8. Área bajo la curva de un fármaco- concentración Plasmática vs tiempo.	60
Fig 9. Curva de Calibración de patrones de TCBZ.SO extraídos desde el plasma por triplicado de las siguientes concentraciones: 0,1, 0,5, 1, 3, 5 y 15 µg/ml.	74
Fig 10. Curva de Calibración de patrones de TCBZ.SO ₂ extraídos desde el plasma por triplicado de las siguientes concentraciones: 0,1, 0,5, 1, 3, 5 y 15 µg/ml.	75
Fig 11. Concentraciones (Media ± DE) de TCBZ.SO en plasma de bovinos Tratados con Fasinex® (Grupo I, Producto de referencia) y Bilevon® (Grupo II).	87
Fig 12. Concentraciones (media ± DE) de TCBZ.SO en plasma de bovinos tratados con Fasinex® (Grupo I, producto de referencia) o Trisan® (Grupo III).	88
Fig 13. Concentraciones (media ± DE) de TCBZ.SO en plasma de bovinos tratados con Fasinex® (Grupo I, producto de referencia) o Zoliplus® (Grupo IV).	89
Fig 14. Concentraciones (media ± DE) de TCBZ.SO en plasma de bovinos tratados con Fasinex® (Grupo I, producto de referencia) o Zolinex dorado® (Grupo V).	90

RESUMEN

BIODISPONIBILIDAD RELATIVA DE DIFERENTES FORMULACIONES GENÉRICAS ORALES DE TRICLABENDAZOL EN BOVINOS-2010.

Se realizó un experimento para estudiar la biodisponibilidad relativa de cinco formulaciones orales de Triclabendazol (TCBZ), comercialmente disponible para bovinos en el Perú. Se utilizaron treinta bovinos hembras de raza Holstein de un propietario del valle de Cajamarca con un peso promedio de 249,899 Kg. Los animales fueron seleccionados al azar en cinco grupos (n= 6). El Grupo I sirvió como grupo de referencia (RF), y fueron tratados con Fasinex® (Novartis). Los animales de los grupos II, III, IV y V fueron tratados con diferentes formulaciones de TCBZ. Todos los animales fueron tratados por vía oral a dosis de 12mg/Kg de peso corporal con TCBZ. Se recolectaron muestras de sangre de los animales en diferentes horas de 1h hasta 168 horas post tratamiento. Se obtuvieron muestras de plasma, las cuales se mantuvieron congeladas a -20 °C hasta su uso. Las concentraciones de metabolitos de TCBZ en plasma sanguíneo de todos los grupos de animales fueron medidos a través del análisis de Cromatografía Líquida de Alto Poder (HPLC). Los metabolitos detectados de TCBZ fueron TCBZ-sulfóxido (TCBZ.SO) y TCBZ- sulfona (TCBZ.SO₂). Se observaron diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas máximas (C_{max}) alcanzadas por TCBZ.SO entre las diferentes formulaciones con respecto a la RF, rango de 8,3-14,3µg/ml. La formulación del GIII mostró un área bajo la curva (ABC), concentración vs tiempo significativamente menor (268,9-78, 1µg.h/ml) en comparación con el de RF, (418,1- 60,2 µg.h/ml). El valor de ABC para este metabolito fue mayor (P<0,05) para las formulaciones de GIV (619,9-73,0 µg.h/ml y GV (683,4-85,5 µg.h/ml), con respecto al de RF. La formulación de GII, fue el único que mostró un comportamiento farmacocinético similar en comparación con el grupo RF. Los resultados obtenidos demuestran la necesidad de realizar estudios de biodisponibilidad relativa y bioequivalencia antes de la introducción de nuevos fármacos para el tratamiento de *Fasciola hepatica* en el mercado farmacéutico peruano y otras regiones.

Palabras clave: *Fasciola hepatica*, Triclabendazol, biodisponibilidad relativa bovinos

ABSTRACT

RELATIVE BIODISPONIBILITY OF DIFERENT GENERIC ORAL FORMULATIONS OF TRICLABENDAZOLE IN CATTLE.

An experiment was performed to examine the relative bioavailability of five oral formulations of Triclabendazole commercially available for cattle in Peru. Thirty Holstein female cattle from a breed owner from the valley of Cajamarca were used in the experiment, with an average weight of 249.899 kg. The animals were randomized into five groups (n = 6). Group I served as the reference group (RF) and were treated with Fasinex® (Novartis). Animals of groups II, III, IV and V were treated with different commercial formulations of TCBZ. All the animals were treated orally at 12mg/kg of body weight with TCBZ. Blood samples from animals were collected at different times from 1h up to 168 hours post treatment. Plasma samples were obtained and kept frozen at -20°C until use. TCBZ concentrations of metabolites in blood plasma of all groups of animals were measured through High Power Liquid Chromatography (HPLC). TCBZ metabolites detected were TCBZ sulfoxide (TCBZ.SO) and TCBZ sulfone (TCBZ.SO₂). Significant differences in maximum plasma concentrations (C_{max}) achieved by TCBZ.SO, between the different formulations with respect to the RF, range from 8.3 to 14.3µg/ml. The formulations of the group GIII showed an area under the curve (AUC) concentration significantly lower vs time (268.9-78.1µg.h / ml) compared to the RF group (60.2-418.1µg.h / ml). The value of AUC for this metabolite was higher (P <0.05) for the formulations of GIV (73.0-619.9 µg.h/ml) and GV (683.4-85.5 µg.h / ml) with respect to the RF. The GII formulation was the only that showed a similar pharmacokinetic behavior compared to the RF. The results obtained demonstrate the need for studies of relative bioavailability and bioequivalence prior to the introduction of new drugs for the treatment of *Fasciola hepatica* in the Peruvian pharmaceutical market and other regions.

Keywords: *Fasciola hepatica*, Triclabendazole, relative bioavailability, cattle.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La Fasciolosis constituye una enfermedad de distribución mundial, es causada por el trematodo *Fasciola hepatica*, considerada como una importante parasitosis veterinaria y humana, por su patogenicidad,¹ causa graves pérdidas económicas a la industria pecuaria, principalmente en el ganado bovino y ovino, con una distribución geográfica con la mayor amplitud, latitudinal, longitudinal y altitudinal.²

Esta especie utiliza como hospederos intermediarios caracoles de agua dulce de la familia Lymnaeidae,³ la forma subclínica hace que las pérdidas indirectas sean más difíciles de cuantificar y se refieren a la reducción de los índices de crecimiento y conversión, disminución de la producción láctea, efectos adversos en la cantidad y calidad de la lana, interferencia en la fertilidad, receptividad frente a otras infecciones, así como costosos gastos terapéuticos.⁴

La parasitosis en humanos por *F. hepatica* ha sido descrita en 51 países diferentes de los 5 continentes,⁵ ocurre como una accidental enfermedad zoonótica en África, Europa Occidental y América Latina.⁶ Desde la década de 1990, la Fasciolosis humana tiene una mayor relevancia, por el elevado número de personas en riesgo de infección.⁷ Este hecho refleja una problemática de salud pública con una importante repercusión en la economía de las sociedades, traducido como ausencias escolares y laborales por parte de la población parasitada. Se estima que la población humana afectada por la Fasciolosis se sitúa entre los 2,4⁸ y 17 millones de personas⁹ y un total de 180 millones en riesgo de contraer la enfermedad.¹⁰

En el Perú se han realizado diversos estudios en animales y en humanos usando métodos serológicos y coprológicos.¹¹ El fracaso en el control antiparasitario, basado casi exclusivamente en quimioterapia, tiene una importancia económica de enorme trascendencia en países como Perú, donde las condiciones climáticas y de explotación semiextensiva favorecen una alta incidencia del parasitismo.

Cajamarca una de las principales cuencas lecheras del Perú, produce aproximadamente 750,000 litros de leche diario, los ganaderos ven limitada su productividad por enfermedades infecciosas principalmente las parasitarias; predominando la Fasciolosis por las condiciones climatológicas para el desarrollo de los hospederos intermediarios, las que traducen pérdidas económicas para el ganadero, esta región es considerada una área endémica, donde se ha reportado fasciolosis humana con prevalencia del 8%,¹² 15%,¹³ los pacientes son tratados con Triclabendazol (TCBZ), en los hospitales. Esta emergencia evidente de la Fasciolosis humana ha estado en parte ligada al cambio climático, la marcada dependencia del ciclo biológico de *F. hepática*.¹⁴

Para el tratamiento de la Fasciolosis se disponen de varias estrategias de manejo dirigidas a actuar sobre las diferentes fases del ciclo biológico de *F. hepatica*, se basa en la administración de diferentes drogas antihelmínticas, Bencimidazoles (BZD), Closantel a 10 mg/Kg, Rafoxanide a 7 mg/Kg, Nitroxinil a 10 mg/Kg, Albendazol a 10 mg/Kg.

En humanos se ha realizado el tratamiento con diversos productos como el Bitionol y la Dihidroemetina; actualmente la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado incluir el TCBZ (Egaten), en el tratamiento de *F. hepatica*, por su eficacia y seguridad, en dosis única como en dosis repetida de 10 mg/Kg p.v. TCBZ, es el único BZD que actúa sobre los estadios juveniles como adultos de *F. hepatica*, a 10- 12 mg/Kg con una eficacia de 99 al 100 %.¹⁵

El TCBZ, es un Bencimidazol derivado del tiol halogenado, muestra excelente eficacia en la migración de *F. hepatica*, al hígado en ovinos, bovinos y humanos, que es una característica diferencial en comparación con otros fármacos trematocidas,¹⁶ esta droga puede alcanzar al trematodo hepático por ingestión de sangre o por difusión transtegumental. La superficie de absorción del tegumento del trematodo puede tener un papel importante en la difusión de drogas, la entrada de un fármaco en *F. hepatica* puede depender principalmente en la superficie de difusión, la gradiente de concentración a través de la membrana, la relación pH/pK y lipofílica de la molécula.¹⁷ TCBZ, es el más potente compuesto fasciolicida,

aunque in vivo transtegumental difusión en adulto de *F. hepatica* mostró ser significativamente baja que la observada para el Albendazol.¹⁸

El mecanismo de acción de TCBZ continúa siendo desconocido, su fuerte unión a varios tipos de estructuras de proteínas aparte de los microtúbulos (el sitio de acción para nematodocidas benzimidazoles compuestos), actividad trematodocida de esta droga.¹⁹ Los antihelmínticos Bencimidazol (Albendazol, Fenbendazol, etc.) metilcarbamato se metaboliza extensamente en todas las especies estudiadas.²⁰ Existe sólo información limitada disponible que describe el comportamiento farmacocinético en plasma de TCBZ, en rumiantes.^{21, 23}

El fármaco principal TCBZ no es detectado en plasma tras su administración oral a bovinos, lo cual indica que es completamente metabolizado de la circulación sanguínea por el hígado después de la aparente absorción.²² En sus correspondientes metabolitos, Triclabendazol sulfóxido (TCBZ.SO) y Triclabendazol sulfona (TCBZ.SO₂). La hidroxilación de TCBZ se produce en la posición 4 del anillo diclorofenoxy, formando los metabolitos hidroxilados, Hidroxi-triclabendazol sulfóxido (OH-TCBZ.SO) Hidroxi-triclabendazol sulfona (OH-TCBZ.SO₂).

La importancia de la calidad farmacológica cualitativa y cuantitativa se atribuye en aspectos de seguridad, eficacia y estabilidad, la calidad de materia prima, proceso de fabricación composición del excipiente, la diferencia del ingrediente activo de TCBZ, puede determinar las diferencias en la aparente absorción gastrointestinal, la exposición del fármaco en plasma como en la eficacia de las preparaciones farmacológicas, el incremento de productos similares y aparición de fármacos genéricos hace que la bioequivalencia a través de la biodisponibilidad relativa sea un parámetro decisivo para la selección de un medicamento, estudios de farmacocinética representa la forma más objetiva de obtención de datos suficientes en el diseño de un estudio, donde se toma un producto de referencia cuyas propiedades se conoce ampliamente.²⁴

Se considera que las formulaciones farmacéuticas son bioequivalentes cuando tienen el mismo principio activo (cantidad, calidad), tras la administración de las mismas dosis en las mismas condiciones, presentan una biodisponibilidad que describe la cantidad de medicamento que alcanza la circulación sistémica a la

velocidad que lo hace, la bioequivalencia de los medicamentos garantiza que sus efectos, en eficacia y seguridad son esencialmente similares que permita la seguridad de la salud pública. Los parámetros farmacocinéticos para medir la biodisponibilidad relativa son Máxima concentración plasmática (C_{max}), tiempo que alcanza la concentración máxima (T_{max}), límite de confianza entre 0,8 - 1,25 y área bajo la curva concentración vs tiempo (ABC/AUC), la concentración plasmática en el tiempo es proporcional a la cantidad de principio activo absorbido mediante el análisis de la cromatografía líquida de alto poder (HPLC).

En Cajamarca, la Fasciolosis es endémica con distribución en el Perú y el Mundo, el TCBZ es un Benzimidazol ampliamente usado en el tratamiento de *F. hepatica* en bovinos, ovinos y humanos. Se ha reportado su efectividad en una dosis de 12mg/Kg de pv, por vía oral de 99 a 100 % en pequeños y grandes rumiantes,²⁵ esta acción se asocia con el metabolito TCBZ.SO. La droga original de TCBZ, es rápidamente metabolizada en el hígado en TCBZ.SO y TCBZ.SO₂,^{22, 26} con una vida media de eliminación entre 18 y 24 horas. El fallo terapéutico, o la eficacia se deben a la calidad variable de la formulación del fármaco,²⁷ por lo que se planteó la siguiente interrogante.

¿Cuáles son los parámetros farmacocinéticos de biodisponibilidad relativa y bioequivalencia de las formulaciones genéricas de TCBZ, en plasma bovino, comparados con el producto de referencia, a través del análisis de HPLC, en el valle de Cajamarca-Perú?

Varias formulaciones genéricas orales de TCBZ (suspensión) se han introducido en el mercado farmacéutico del Perú y en diferentes regiones del mundo, después de la expiración de la patente original de la primera formulación aprobada (pionero) TCBZ (Faxinex®, Novartis Animal Health Basilea Suiza). En Perú existe un promedio de 15 formulaciones de TCBZ disponibles para ganado vacuno y ovino. La mayoría de ellos contiene la misma composición del vehículo utilizado en la formulación de TCBZ pionero, no existe información disponible sobre el comportamiento farmacocinético comparativo en los ensayos genéricos estandarizados en el mercado farmacéutico veterinario del Perú, no se conoce si estas formulaciones de TCBZ, tiene la eficacia y calidad deseada en el tratamiento

de *F. hepatica*, ya que la calidad de la droga que emplean los diferentes laboratorios es distinta, a la droga original, esta droga es comercializada por países como China, India etc. Los laboratorios peruanos adquieren el TCBZ de la forma genérica, la diluyen a una determinada concentración y lo comercializan.

Este proceso no tiene un control de calidad de los analitos, materia prima, excipientes, material de acondicionamiento y fabricación, ni conocimiento de biodisponibilidad relativa o bioequivalencia de TCBZ y sus metabolitos, dado que diferencias en la calidad del principio activo y/o en los excipientes vehículos utilizados para su formulación pueden determinar cambios en la disolución y absorción del fármaco y su eficacia. A sí mismo no existen estudios en plasma bovino, para conocer sus parámetros farmacocinéticos de las formulaciones genéricas de productos comerciales de TCBZ, y sus metabolitos TCBZ.SO y TCBZ.SO₂, disponibles, en el mercado de Cajamarca en bovinos.

A través del presente trabajo se propuso realizar el estudio de biodisponibilidad relativa en plasma bovino mediante el análisis de HPLC, validar un método de cuantificación en forma comparativa del comportamiento farmacocinético de estas formulaciones genéricas de TCBZ y sus metabolitos después de su administración por vía oral en bovinos, para conocer los parámetros farmacocinéticos de concentración plasmática de sus metabolitos, C_{max}, T_{max}, ABC, IC de 90 % y sus límites entre 80 % y 125 % de TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ que se generan en el organismo vivo a través de la oxidación y sulfonación en el hígado el cual se adhiere a la tubulina de la *F. hepatica*. Por lo antes mencionado se justificó realizar el presente trabajo de investigación.

OBJETIVOS

El estudio se realizó para alcanzar los siguientes objetivos:

Objetivo General

Evaluar la biodisponibilidad relativa y cinética plasmática de cinco formulaciones comerciales conteniendo como principio activo Triclabendazol (TCBZ), en bovinos.

Objetivos Específicos

- Desarrollar y validar un método para cuantificación de TCBZ y sus metabolitos en plasma bovino.
- Evaluar la cinética de disposición plasmática de los metabolitos de TCBZ, tras su administración en bovinos bajo la forma de diferentes formulaciones comerciales genéricas a través de HPLC.
- Establecer la biodisponibilidad relativa de TCBZ.SO tras la administración de TCBZ en bovinos bajo la forma de diferentes formulaciones comerciales genéricas.
- Determinar la bioequivalencia de las diferentes formulaciones comerciales genéricas de TCBZ evaluadas, con respecto a la formulación de referencia.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

La *Fasciola hepatica* fue el primer trematodo descrito en la historia de la Parasitología, y su ciclo biológico fue dilucidado a finales del siglo XIX.^{28, 29} De hecho *F. hepatica* fue el primer modelo general de ciclo de vida diheteroxeno descrito entre los trematodos.³⁰ En Francia, Jehan de Brie, en 1379, hace la primera referencia, en ovejas. Pollas en el siglo XVI descubre el parásito en el hombre.³¹ En 1758 Linnaeus le da su nombre latino. Uno de los primeros que describió el hallazgo de *Fasciola hepatica* en humanos, fue Pettridge³² en 1852, indicando la ubicación de la *F. hepatica* en vías biliares extra hepáticas. La mayoría de casos reportados en el mundo proceden de epidemias, en 1930 Sánchez Checa describe los dos primeros casos humanos en el Perú (ambos procedían de Lima, pero habían realizado viajes a Arequipa y Cajamarca), y refiere que Escomel en 1924, lo describe en el ganado ovino. En 1951 Cornejo inicia la recolección de casos hospitalarios, haciendo un estudio de 20 pacientes. Zegarra en 1964 presenta 20 casos, y en 1967 Lopera hace un estudio de 80 casos (los dos últimos en Arequipa). Los estudios epidemiológicos de campo se inician en 1962 con Lumbreras, cuando establece el método de sedimentación rápida para su diagnóstico y en 1964 realiza un estudio en Cajamarca. Igualmente lo hace Cosme en 1971 en Cajamarca, Terashima en 1970 y Náquira en 1972 en Junín; Huiza en 1973 y Reto en 1974 en Huarochirí, Lima.³³ En Cajamarca la prevalencia de 8%,¹² 15%,¹³ los pacientes son tratados con Triclabendazol (TCBZ), en los hospitales.

2.2. *Fasciola hepatica*

2.2.1. Clasificación taxonómica

Según estudios de^{34, 42} la clasificación taxonómica de la especie del género *Fasciola* es la siguiente:

Phylum : Platyhelminthes

Clase : Trematoda

Subclase : Digenea

Orden : Echinostomatida

Suborden : Prosomata Odhner, 1905

Familia : Fasciolidae Railliet, 1985

Género : *Fasciola*, 1758

Especie : *hepatica*, 1758

2.2.2. Caracterización morfológica

La fase adulta de *F. hepatica* se caracteriza fundamentalmente por presentar un cuerpo foliáceo, aplanado dorso ventralmente, con una longitud entre 20 y 30 mm y una anchura variable entre 6 y 13 mm.⁴³ En el extremo anterior presenta una proyección cónica bien definida denominada como cefálico de unos 3 o 4 mm de longitud, el cual se ensancha en su parte inferior para formar una especie de hombros a partir de los cuales el cuerpo se estrecha progresivamente hasta el extremo posterior redondeado. Las ventosas son relativamente pequeñas, llegando a ser la ventral un poco más grande que la oral.

En la porción apical del cono cefálico se localiza la ventosa oral muscular, al rededor de 1 mm de diámetro, la cual rodea la apertura oral del verme al exterior, la ventosa oral, donde comienza el tubo digestivo, continúa con una prominente faringe muscular seguida de un corto esófago en bifurcaciones consecutivas a los ciegos intestinales, es decir, en dos ramas principales de ciegos intestinales que a su vez se ramifican en un complejo sistema de ramas laterales secundarias y terciarias.^{38, 39} En la zona ventral cercana a la ventosa oral, se encuentra la ventosa ventral o acetábulo, que mide alrededor de 1,6 mm de diámetro.^{35, 37, 38, 40 y 44}

El tegumento se encuentra recubierto de espinas que se disponen dirigidas hacia atrás, las cuales alcanzan, hasta la mitad de la cara dorsal y hasta el último tercio de la región ventral. La función principal del tegumento es ayudar a la *Fasciola* a mantener la homeostasis, del medio interno, esencial para la supervivencia del parásito dentro del hospedador definitivo. Además, presenta otras funciones importantes como participar en la absorción e intercambio de nutrientes, en la eliminación de los desechos, en la regulación iónica y en la protección frente a la respuesta inmunológica del hospedero.

El sistema excretor se comunica con el exterior en el extremo posterior del cuerpo y consta de una vesícula sacciforme de la cual parten tubos ramificados que entran en el parénquima hasta contactar con las células flamígeras, que presenta largos cilios, que al moverse producen una corriente o flujo que impulsa las sustancias de desecho hacia la vesícula excretora al exterior, el sistema nervioso consta de un anillo peri esofágica de fibras y ganglios pares del cual parten tres pares de nervios dirigidos hacia atrás que recorren todo el cuerpo del trematodo.

La *F. hepatica* es hermafrodita y posee órganos sexuales masculinos, testículos y cirro, como órganos sexuales femeninos, ovario. Si bien la autofecundación es obviamente posible, parece ser que la fertilización cruzada es el modo más común de reproducción sexual. Los dos testículos se disponen en la zona media posterior del cuerpo y se encuentran muy ramificados^{38,39} de estos testículos emergen dos conductos deferentes que se unen formando la vesícula seminal. En la bolsa del cirro, situada en la ventosa ventral, se encuentran la vesícula seminal posterior, una región prostática media y un cirro anterior musculoso. Dicha bolsa se abre al exterior a través de un delicado conducto precirral en el atrio genital, situado frente a la ventosa ventral, en posición pre acetabular.⁴⁵

Las glándulas vitelógenas presentan una gran ramificación y contienen los folículos vitelinos que llenan la mayor parte de las porciones laterales del cuerpo y convergen justo debajo de los testículos, el ovario en forma dendrítica se halla situado en el lado derecho, frente al testículo anterior,

existe un corto canal de Laurer, pero no existe receptáculo seminal. El ootipo, que no es funcional, se encuentra en la línea media, detrás del ovario y está rodeado por una masa esférica de glándulas de Mehlis, el útero es relativamente corto y describe una trayectoria tortuosa entre el ootipo y el poro genital, en el que se abre el conducto precirral,⁴⁵ los diversos componentes del huevo fértil se reúnen en el segmento proximal del útero. La cubierta de los huevos del parásito, procede fundamentalmente de los gránulos contenidos en las denominadas células vitelinas; dichas células albergan dos componentes necesarios para la esclerotización de la cubierta, los polifenoles y las proteínas que dan lugar a la esclerotina.^{46, 47}

Las glándulas de Mehlis en la formación de la cubierta del huevo son secundarias, siendo su principal función la de secretar un líquido que aumenta la actividad de los espermatozoides,⁴⁸ los huevos de *F. hepatica* son operculados, ovoides, amarillos y no embrionados en el momento de la puesta. Suelen medir entre 130 y 150 µm de largo por 63/90 µm de ancho, estando relacionadas sus dimensiones con la especie del hospedero definitivo que aloje al parásito.⁴⁹

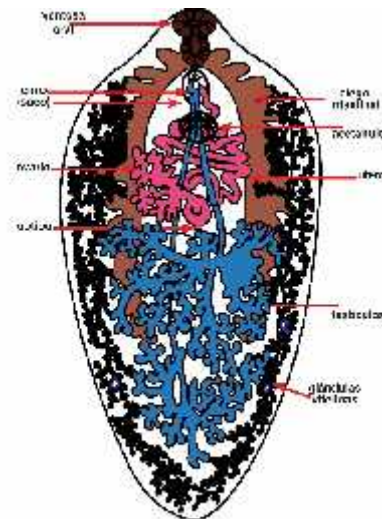


Fig. 1. Morfología básica de un adulto de *F. hepatica*.

Fuente: WWW. BIODIDAC.

2.2.3. Ciclo biológico

El ciclo biológico de la *F. hepatica* es diheteroxeno, es decir, alterna entre un hospedero intermediario (respecto al cual presenta una alta especificidad de tipo estenoxeno) y un hospedador definitivo (respecto al cual no es tan específico) (Fig. 2). El hospedero intermediario es un Invertebrado (Molusco Gasterópodo) y el hospedero definitivo es un Mamífero.^{7, 39 y 44} Como hospederos definitivos podemos encontrar a diferentes especies, pero es más frecuente esta parasitación en el ganado ovino, vacuno y caprino.

Los huevos son emitidos sin embrionar por el parásito adulto dentro del hospedero definitivo y son excretados con las heces al medio externo, el parásito sigue un ciclo acuático debido a la necesidad del agua para la maduración de los huevos. Si las condiciones climáticas son favorables, la temperatura y la humedad,^{35, 36, 39, 51 y 52} los huevos embrionan y transcurridos unos días eclosionan dando lugar a un embrión ciliado o miracidio. En el caso de que las condiciones no sean favorables, los huevos pueden permanecer viables en las heces durante varios meses a condición de que estas permanezcan húmedas, parece ser que el principal estímulo que

desencadena el mecanismo de eclosión del huevo es la luz.^{51, 53 y 54} La estimulación del miracidio por la luz hace que se altere la permeabilidad de la membrana,⁵⁵ lo que provoca un aumento de la presión osmótica interna que impulsa la apertura del opérculo y, por tanto, la consiguiente salida del miracidio al exterior, otros autores ^{53, 56} aventuran por la existencia de una enzima proteolítica que participa en el proceso de eclosión. Una vez el miracidio en el exterior, este nada de forma activa gracias a sus cilios es guiado por fototropismo positivo hacia los hábitats anfibios donde viven los caracoles que actúan como hospedero intermediario.

En Europa y en el Norte de África la especie principalmente involucrada es *G. truncatula* al igual que en las zonas de endemia estudiadas.⁵⁷ El miracidio entra en contacto con el caracol en un tiempo máximo de ocho horas. Los que no han podido penetrar en un caracol idóneo mueren a las 24 horas de haber salido al exterior.⁵⁸ El contacto y la unión del miracidio al caracol parece estar inducido por el mucus del molusco, penetrando a través del epitelio del Gasterópodo, preferentemente a nivel de manto, pie y tentáculos.⁴⁸ La metamorfosis al siguiente estadio larvario tiene lugar *in situ* y es denominado esporocisto, siendo elíptico y sacular,⁵⁹ en el interior del esporocisto ya maduro se forman las bolas germinales que darán lugar a las redias, siguiente estadio larvario.

Dentro del molusco va a ocurrir una sucesión de varias generaciones de redias. Estudios realizados al respecto indican la existencia de hasta cuatro generaciones de redias, siendo las tres primeras bipotenciales: rediogenas y cercariogena (con capacidad de producción de redias y cercarias respectivamente) y la cuarta generación unipotencial cercariogena. Las cercarias son emitidas al agua por el caracol mediante un fenómeno pasivo, no pareciendo existir ritmos de emisión cercariana.

La cercaria es de tipo gymnocéfalo, cuerpo globoso, cola larga y fina. Las cercarias maduras nadan en el agua por muy poco tiempo (una hora aproximadamente) hasta ponerse en contacto con un sustrato inerte donde se fijan, pierden la cola y se enquistan,⁶⁰ transformándose en metacercarias. Las metacercarias enquistadas son muy resistentes y presentan un amplio

margen de supervivencia en ambientes húmedos, siendo destruidas por el calor excesivo o por la deshidratación. Algunas metacercarias no se fijan al sustrato y presentan un collar que rodea al quiste y que les permite flotar en la superficie del agua, son las denominadas “metacercarias flotantes.”⁶¹

El hospedero definitivo se infecta al ingerir las metacercarias. Una proporción de las metacercarias muere en el tracto gastrointestinal y un número relativamente escaso logra desarrollarse, aproximadamente una hora después de la ingestión, las metacercarias se desenquistan dentro del intestino delgado, el verme resultante atraviesa la pared intestinal y a través de la cavidad abdominal, alcanza el hígado a los seis días más o menos, las juveniles migran durante 5 o 6 días, alimentándose del parénquima hepático, hasta finalmente llegar a la luz de los conductos biliares, donde alcanzan, su madurez sexual, y por consiguiente, la capacidad de producir y emitir huevos.⁵⁹

La alimentación del adulto depende de su localización, ingiriendo células hepáticas y sangre de forma preferente. Ocasionalmente, se encuentran focos ectópicos de localización del trematodo en pulmón, músculo, ojo, cerebro o incluso, en hembras preñadas de bovinos, han llegado a alcanzar el feto. El periodo prepatente dura alrededor de 2 meses en ganado ovino y vacuno,⁷ el ciclo completo presenta una duración aproximada entre 14 y 23 semanas.⁶²

En los seres humanos es necesario un periodo de 3 a 4 meses para que los adultos del trematodo maduren sexualmente,⁶³ debido a que muchos de los juveniles mueren antes de llegar a los conductos biliares quedando atrapados en el parénquima hepático, el humano no es considerado como un buen hospedero definitivo.⁶⁴ Sin embargo, se ha demostrado que en zonas de hiperendemia el parasito se ha adaptado mejor al ser humano como hospedero definitivo.⁶⁵

2.2.4. Patología

En animales, la tasa de mortalidad es inversamente proporcional al número de trematodos presentes en el hígado. La penetración de la pared intestinal,

concretamente las paredes del duodeno y yeyuno, por la meta cercarías puede causar hemorragia e inflamación local, aunque estas lesiones pueden no ser evidentes de forma clínica. Sin embargo, los principales efectos perniciosos son causados por la migración del parásito a través del parénquima hepático que puede durar de 4 a 6 semanas o incluso más tiempo. Los parásitos digieren el tejido hepático causando destrucción masiva del parénquima, con graves lesiones hemorrágicas y reacciones inmunológicas e inflamatorias por parte del hospedero. Las sendas migratorias pueden observarse mediante cortes histológicos. A veces los parásitos que se encuentran en migración pueden morir, dejando las cavidades llenas de desechos necróticos, que cuando son reparadas son sustituidas por tejido cicatrizado.⁶⁶ Los trematodos pueden alcanzar los conductos biliares donde pueden permanecer hasta varios años.

En humanos, existe muy poca información disponible sobre casos de mortalidad a causa de fasciolosis ya que ocurre con muy poca frecuencia.^{7,}

⁶⁷ La patogénesis de la fasciolosis depende esencialmente del número de trematodos que penetran la pared intestinal e invaden el hígado.

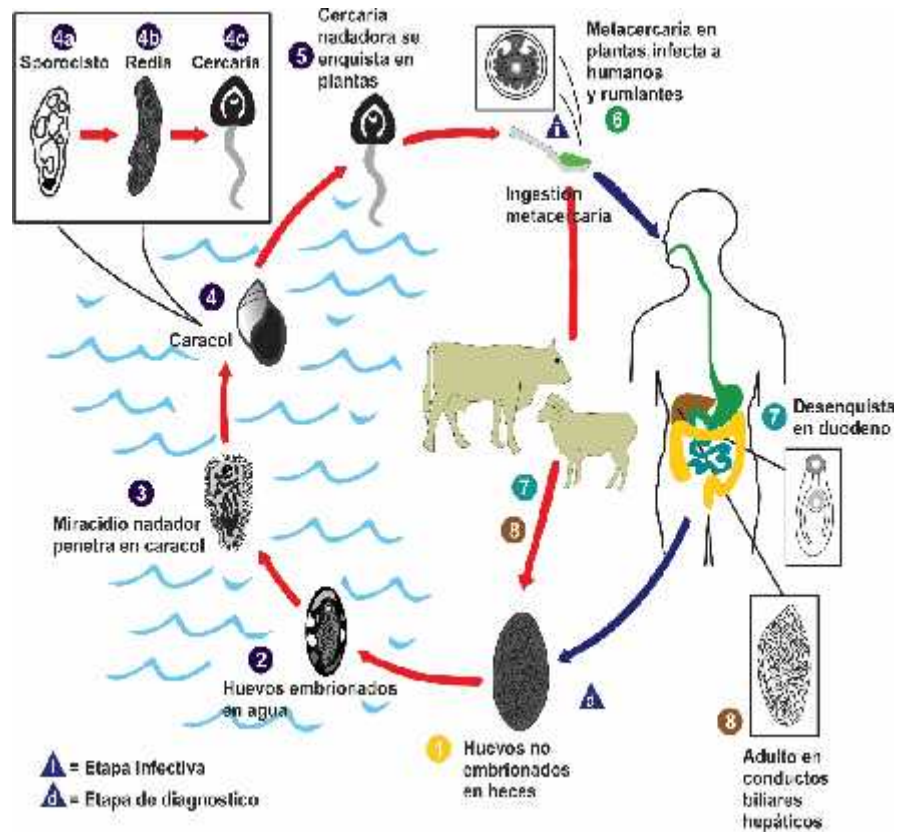


Fig. 2. Ciclo biológico de *F. hepatica*.

Fuente:www. CDC/dpdx.

En el humano, una vez que los parásitos han alcanzado los conductos biliares los efectos patógenos disminuyen, aunque puede existir fibrosis como consecuencia de la inflamación, engrosamiento y dilatación de los canalículos, así como pérdida de sangre en la bilis.⁶⁹ Tanto en las infecciones de los animales como en humanos, la anemia es uno de los síntomas más característicos, especialmente en infecciones graves.^{59, 70} La pérdida de sangre en bilis parece ser un importante factor que contribuye a una anemia severa aunque no es el único.⁷¹

Los trematodos juveniles pueden desviarse durante la migración, invadiendo otros órganos y causando lo que se conoce como fasciolosis ectópica. En el ganado, es frecuente encontrar a *F. hepatica* en los pulmones.^{72, 73} En el ser humano, las lesiones ectópicas más frecuentes ocurren en el tracto gastrointestinal.^{64, 74} Otras localizaciones ectópicas han sido encontradas en tejido subcutáneo,^{75, 76} corazón, vasos sanguíneos,

pulmones y cavidad pleural;⁷⁷ cerebro;⁷⁸ orbita ocular;^{78, 79} pared abdominal;⁸⁰ apéndice;⁸¹ páncreas,^{82, 83} nódulos inguinales;⁸⁴ nódulos cervicales;⁸⁵ músculo esquelético;⁸¹ y epidídimo.⁸⁶ Estos trematodos ectópicos nunca llegan a madurar. Los principales efectos patológicos en estos casos de lesiones ectópicas debido a las migraciones causando daños tisulares con inflamación y fibrosis. Los parásitos pueden calcificarse o integrarse en el tejido en forma de granuloma.⁶³

2.2.5. Clínica

Desde el punto de vista clínico, los periodos o fases que se pueden distinguir son los siguientes:⁸⁷

El periodo de incubación, varía considerablemente dependiendo del número de metacercarias ingeridas y de la respuesta inmune del hospedador. En humanos, el periodo de incubación todavía no está determinado con precisión, describiéndose unos pocos días, 6 semanas, de 2 a 3 meses, o incluso 6 meses.^{7, 88}

La fase aguda, la sintomatología se debe principalmente a la destrucción mecánica de tejido hepático y peritoneo abdominal provocado por la migración larvaria causando reacciones tóxicas y alérgicas localizadas o generalizadas,⁶³ finalizando en 2-4 meses. Sin embargo, en áreas endémicas de fasciolosis humana de forma frecuente ocurren reinfecciones y las lesiones agudas se superponen sobre la enfermedad crónica. De este modo, la fase aguda puede ser prolongada y superponerse sobre las fases obstructiva o latente. Los principales síntomas y signos de esta fase son fiebre, dolor abdominal, molestias gastrointestinales, urticaria y síntomas respiratorios.

El primer síntoma normalmente es la fiebre, usualmente baja o moderada, aunque a veces llega a 40° C, y en casos de infecciones graves hasta 42° C; puede tratarse de fiebres remitentes, intermitentes o irregulares con altas temperaturas por la tarde.⁷ Entre las molestias gastrointestinales, nos

encontramos de forma común pérdida de apetito, gases, náuseas y diarrea, mientras que son menos frecuentes vómitos y estreñimiento. La urticaria es un hecho distintivo en la fase temprana de la invasión del trematodo y puede ser acompañada de ataques de asma bronquial.^{7, 84} En la fase aguda, podemos encontrar los siguientes signos en la exploración física: hepatomegalia y esplenomegalia, ascitis, anemia, problemas respiratorios e ictericia.⁷ Las molestias respiratorias probablemente se deben a la migración de las formas jóvenes del trematodo, que ocasiona irritación pleural con efusión, neumotórax e infiltrado parenquimatoso que recuerda el síndrome de Loeffler.⁸⁹

La fase latente, puede durar meses o años. La proporción de personas asintomáticas que se encuentran en esta fase es desconocida. A menudo se descubren casos durante las encuestas familiares después de diagnosticar un paciente.^{84, 90 y 91} Una inexplicada y prominente eosinofilia puede ser sugerente de infección helmíntica.⁹² Algunas personas pueden tener problemas gastrointestinales o una o más recaídas de síntomas agudos durante esta fase.⁶³

La fase obstructiva o crónica, puede desarrollarse después de meses o años de infección. Los trematodos adultos en los conductos biliares causan inflamación e hiperplasia de los epitelios. Como resultado de esa hiperplasia, se produce engrosamiento y dilatación de los conductos y de las paredes de la vesícula biliar. La colangitis y colecistitis, combinadas con el tamaño de los trematodos, son suficientes para provocar la obstrucción mecánica del conducto biliar. Las manifestaciones clínicas que ocurren en esta fase son: cólicos biliares, dolores epigástricos, intolerancia a la comida grasa, náuseas, ictericia, prurito, etc. Estas manifestaciones no son distinguibles si se trata de una colangitis, colecistitis o colelitiasis provocada por otras causas o es por una infección de *F. hepatica*, el agrandamiento hepático puede estar relacionado con el aumento del bazo o con la ascitis.⁶⁴

Los conductos hepáticos están normalmente distendidos y engrosados. En humanos, el lugar más frecuente de obstrucción es el conducto biliar.⁹³ Si se produce la obstrucción, la vesícula biliar se encuentra aumentada y

edematosa con engrosamientos de la pared, es frecuente que se produzca litiasis de los conductos biliares o de la vesícula. Las piedras suelen ser pequeñas y numerosas.^{7, 84 y 94} Tanto los conductos biliares como la vesícula pueden contener sangre mezclada con bilis (hemobilia), coágulos de sangre y tapones fibrinosos. El diagnóstico puede ser confirmado por laparotomía al encontrar los trematodos en los conductos o en la vesícula biliar, comúnmente asociados a colangitis o colelitiasis,⁷ las complicaciones que podemos encontrar son hemorragias y cirrosis biliar, las cuales pueden ser las principales causas de muerte. Sin embargo, la muerte es rara en esta infección.⁷

2.2.6. Epidemiología

La presencia de *F. hepatica* en una zona depende fundamentalmente de factores como la presencia de los moluscos gasterópodos *Lymnaea* que se desenvuelve como hospederos intermediarios, que al ser anfibios prefieren el barro en vez del agua libre y corriente, de ahí que se han localizado en suelos arcillosos o ricos en materia orgánica. La temperatura es indispensable para el desarrollo y multiplicación del caracol y para la evolución de los huevos de *Fasciola*. Otro factor de importancia es la introducción de animales infectados con *F. hepatica* a zonas que reúnen las condiciones para el establecimiento del ciclo evolutivo completo, por lo tanto, es necesario hacer un diagnóstico adecuado, previo a la introducción de animales provenientes de zonas contaminadas, e incluso se debe recomendar no suministrar pastos de corte provenientes de esos lugares debido a la alta probabilidad que esté contaminado con metacercarias enquistadas.⁹⁵

2.2.7. Prevalencia

Relación que mide la fuerza con que permanece la enfermedad en una población. Es la relación entre el número de casos conocidos de una enfermedad dada y la población en riesgo de padecerla. En el Perú se han estimado grandes pérdidas económicas a causa de la mortalidad, disminución de la producción de leche, carne, lana, abortos y al decomiso de vísceras infectadas; lo que permite colocar a la fasciolosis como la segunda enfermedad parasitaria económicamente importante en la ganadería nacional. Se calculan pérdidas de 10.5 millones de dólares al año, cifra que representa el 39.5 % de las pérdidas por parasitismo y el 15 % del total de pérdidas por todo concepto; esto sin incluir los gastos de tratamiento y asesoría técnica.⁹⁶ Las especies ganaderas afectadas de mayor importancia en el país son los bovinos y ovinos, los cuales se crían sobre todo en forma extensiva en la sierra. Estas especies presentan prevalencias del 20 al 100 %, siendo mayor en Junín, Cajamarca, Cuzco y Ayacucho.⁹⁶

Existen evidencias que la prevalencia de Fasciolosis hepática en países del trópico se acrecienta después de varios meses de sequía, quizás debido a la gran afluencia de los animales alrededor de los bebederos naturales, y que constituyen a su vez un magnífico hábitat para los caracoles, garantizándose de esta manera la infección de estos y una alta concentración de metacercarias disponibles para los bovinos.⁹⁵ La Fasciolosis constituye también un problema de salud pública en el país, puesto que ha adquirido niveles alarmantes en ciertas zonas enzoóticas de la sierra. Se señala cifras de Fasciolosis humana en el valle del Mantaro y Cajamarca que van desde 15.6 % en niños y 13.2 % en adultos que viven en comunidades campesinas.^{96,97}

2.3. Importancia económica y problemática de salud pública de la Fasciolosis

Existe un importante impacto económico asociado a las infecciones causadas por trematodos a través del consumo de alimentos, entre las que nos encontramos las producidas por las especies de *Fasciola*. Los costos podrían ser estimados en términos de ausentismo, hospitalización, tratamientos, incapacidad y pérdidas

económicas agrícolas.⁸ El costo directo para los sistemas de salud de los países en desarrollo es enorme, los ⁸ tratamientos (que a menudo se repiten a causa de las reinfecciones por trematodos) es una carga para los países endémicos, así mismo la fasciolosis hepáticas se asocia a infecciones bacterianas crónicas, además de la presencia de anemia, colangitis, litiasis y focos ectópicos.⁹⁸

Las pérdidas asociadas con la Fasciolosis aguda, especialmente entre animales, incluyen una reducción en la producción de leche y en la calidad de la misma, disminución en la producción de lana y una menor ganancia de peso en la producción de carne entre los principales efectos perniciosos. En África ⁹⁹ estudiaron la importancia económica de las pérdidas causadas por la Fasciolosis bovina en Kenia. Se calculó la prevalencia de la Fasciolosis como el número de ganado infectado por *Fasciola* y se expresó como un porcentaje del número total de ejemplares sacrificados. Usando el peso medio y el precio de mercado del hígado bovino, las pérdidas económicas ocurridas en una década ascendían a 2,6 millones de US \$, (100) calcularon que la significancia económica debido a la fasciolosis en Kenia ascendía a unas pérdidas de 54, 5 millones de US \$.

En Europa,¹⁰¹ estimaron las pérdidas debidas a la Fasciolosis bovina en Suiza donde la prevalencia de infección por *F. hepática* en el ganado se encontraba por encima del 16%, lo que hacen estos autores es un estudio en profundidad de la literatura existente respecto a este tema estimando que las pérdidas económicas se sitúan en 52 millones de francos suizos (CHF), lo que representa una pérdida promedio de 299 CHF por animal infectado. Las principales pérdidas ocurren por una reducción en la fertilidad y en la producción de leche; otras pérdidas menores son a causa de la disminución en la producción de carne y en el decomiso de hígados.

En relación a la salud pública, la Fasciolosis humana era considerada como una zoonosis secundaria, con poco más de 2000 casos encontrados en el periodo de 1970 a 1990.⁷ Este hecho provocó que esta Fasciolosis se incluyera en el grupo de enfermedades olvidadas o huérfanas. Sin embargo, la situación cambió cuando la OMS comenzó a sospechar que podría ser más frecuente de lo que se creía, relanzando nuevas actividades de investigación para conocer hacia donde avanzaba la enfermedad.²

Se calcula que el número de personas con Fasciolosis asciende a 2,4 millones.⁸ Sin embargo como la infección puede ser asintomática y tanto los signos como los síntomas no son patognomónicos, el número actual de casos humanos es indudablemente mucho mayor,⁶⁷ en estudios posteriores se estima que la cifra es bastante más elevada, encontrándose 91,1 millones de personas en riesgo de infección por *Fasciola spp.*¹⁰²

2.4. Áreas endémicas humanas

Se recuerda que aun hoy las enfermedades tropicales olvidadas (NTDs) siguen siendo las infecciones más comunes de las personas pobres que habitan en América Latina y la región del Caribe (LAC).¹⁰³ La Fasciolosis humana sigue siendo una importante zoonosis asociada a la ganadería en el Altiplano andino,^{2, 104 y 105} al igual que en diferentes partes del Caribe, incluyendo Cuba, República Dominicana y Haití.^{106, 107} La epidemiología de las principales áreas endémicas humanas, fueron descrita por Mas Coma.⁶⁷

Los países que presentan los principales problemas de salud relacionados con la Fasciolosis, incluyendo áreas endémicas humanas son los países andinos (Bolivia, Perú, Chile y Ecuador), las áreas caribeñas (Cuba), el norte de África (Egipto), oeste de Europa (Portugal, Francia y España) y el área del Caspio (Irán y países vecinos).² Un hecho a resaltar es que las altas prevalencias encontradas en humanos no necesariamente están relacionadas con las altas prevalencias en ganadería. En Sudamérica son bien conocidas las principales áreas hiperendémicas humanas del Altiplano en Bolivia ¹⁰⁸ y del Altiplano Peruano, valle de Cajamarca 15%,¹³ y valle Mantaro en Perú.^{12, 109}



Fig. 3. Cajamarca zona endémica en *F. hepatica*.

Fuente: Mas-Coma *et al.*, 1999.

Como se mencionó en la introducción, se trata de zonas en las que se han encontrado las mayores prevalencias humanas. En Cuba, más de 10,000 personas estaban infectadas entre 1947- 1948,¹¹⁰ en 1983 un brote de la enfermedad afectó a más de 1000 sujetos,^{111, 113} detectándose otro brote en 1995 afectando a 81 sujetos,¹¹⁴ se siguen diagnosticando pacientes.¹¹⁵

Francia es considerada una importante área endémica humana.¹¹⁶ La primera gran epidemia humana de Fasciolosis ocurrió en 1956 ¹¹⁷ y entre 1950 y 1983, fueron descritos 3297 casos.¹¹⁸ La mayoría de los casos se informó en las áreas de Lyon, Bretana, Norte de Calais, y en el sudoeste de Francia, hacen referencia a más de 300 casos.¹¹⁹ El estudio de Danis 1985, que informa de 5863 casos de humanos registrados de 9 hospitales entre 1970 y 1982. La isla de Córcega mantiene una baja hipo endemia.¹²⁰ En Portugal, descrita como zona endémica la parte norte del país ¹²¹ informaron 1011 casos diagnosticados en Porto entre 1970 y 1992, en

España, la Fasciolosis humana parece estar subestimada y está distribuida por el norte.¹²² Además, casos importados se da en los autóctonos.¹²³

En África, han sido hallados numerosos casos humanos en muchos distritos de Egipto.^{5, 124} Las estimaciones iniciales de 830,000 sujetos afectados en la región del delta del Nilo¹²⁵ seguramente subestiman la situación real si se tiene en cuenta las altas prevalencias encontradas en las poblaciones, del 18 % al 19 %.⁵

En Oriente Medio Irán, los casos humanos se concentran mayoritariamente en Gilan, en el Mar Caspio, donde han acontecido varias epidemias importantes, incluyendo miles de casos humanos, desde el final de los 80 y durante los 90.^{126, 128} En Mazandran, la Fasciolosis ha demostrado ser un serio problema de salud pública.¹²⁹ La detección del 1,8% de prevalencia humana en un pueblo en el este de Turquía¹³⁰ sugiere que la zona endémica pueda extenderse alrededor del mar Caspio. En Asia oriental, en Japón y Corea son esporádicos, pero datos recientes de Vietnam son preocupantes.¹³¹ Más de 500 casos de Fasciolosis humana han sido diagnosticados entre el año 1997 y 2009.¹³²

2.5. Control de la Fasciolosis con Bencimidazoles

Es natural pensar que debe haber diversos métodos para convatir una enfermedad parasitaria, bien sea de interés económico o zoonótico. La necesidad de controlar estas parasitosis se ha desarrollado numerosas moléculas con actividad antihelmíntica, como los Imidotiazoles, Tetrahidropirimidinas, Benzoimidazoles y Probenzoimidazoles, los cuales se han utilizado con éxito, tanto en medicina humana como en veterinaria, de todos estos antiparasitarios, los Benzimidazoles (BZD) son uno de los grupos con mayor espectro de actividad, con una elevada efectividad y seguridad.

Estos fármacos son polvos blancos cristalinos, con puntos de fusión ligeramente altos, baja solubilidad en agua, alta solubilidad en medio orgánico, y con naturaleza anfotérica. Los BZD presentan una estructura bicíclica compuesta por un anillo de benceno que se fusiona en las posiciones 4 y 5 de un anillo imidazólico formando el anillo benzimidazólico.¹³³ Los distintos BZD difieren

en los sustituyentes que se encuentran en la posición 2 y 5 del anillo Benzoimidazol. De acuerdo con estos sustituyentes, los BZD antihelmínticos se pueden clasificar en:

1. **Metilcarbamatos:** Albendazol, Albendazol sulfóxido, Parabendazol, Mebendazol, Flubendazol, Ciclobendazol, Oxibendazol, Luxabendazol, Febendazol y Oxfendazol.
2. **Tiazólicos:** Tiabendazol, Cambendazol.
3. **Tiol halogenado:** Triclabendazol.

Su baja solubilidad en el agua es la principal limitación para su formulación, lo que obliga a su preparación en forma de suspensiones, pastas o gránulos para su administración por vía enteral. Para compensar su baja solubilidad, se han sintetizado fármacos probenzoimidazoles como el tiofanato, febantel y netobimin, que presentan una mayor solubilidad en agua, y su actividad depende de su conversión en el organismo a un BZD metilcarbamato o etilcarbamato.¹³⁴

En general se administran por vía oral o intraruminal en forma de suspensiones o pastas a los animales poligástricos; y por vía oral en forma de suspensiones o en comprimidos a los animales monogástricos. El tratamiento de los animales poligástricos se realiza con la administración de una dosis única, mientras que el de los monogástricos se realiza en pautas de dosificación múltiple y frecuentemente se preparan piensos medicados. Posteriormente estos son absorbidos mayoritariamente a nivel del abomaso y del intestino delgado. En rumiantes esta absorción es más lenta que en los monogástricos. Este retraso puede ser causado por las diferencias existentes en la velocidad de disolución del fármaco, debidas a las características morfofisiológicas del tracto gastrointestinal entre estos dos tipos de animales.

Una vez absorbidos, los BZD llegan a la circulación donde presentan un grado de unión a las proteínas plasmáticas superior al 50 %, con un volumen de distribución relativamente alto¹³⁴, alcanzando tejidos bien irrigados y periféricos. La mayor parte de estos fármacos son metabolizados en el hígado en dos fases, dando lugar a metabolitos con actividad antihelmíntica e inactivos.²⁰ Algunos, también son metabolizados en el tracto gastrointestinal.¹³⁴ Los metabolitos formados en el

hígado en la primera fase son productos resultantes de procesos oxidativos e hidrolíticos que, en la fase siguiente, son glucurono o sulfato conjugados, incrementando su polaridad estos BZD y sus metabolitos son excretados por vía biliar y urinaria.

Estos fármacos presentan una buena actividad antihelmíntica frente a nemátodos, céstodos y tremátodos, gracias a su capacidad para inhibir la polimerización de la tubulina durante la mitosis. También presentan un efecto inhibitor del metabolismo energético de los parásitos.¹³⁵ Han demostrado ser eficaces contra formas adultas y larvas de nemátodos, céstodos y tremátodos. También se ha visto que presentan en muchos casos una cierta acción ovicida.

Todos los BZD poseen una actividad antihelmíntica similar, pero presentan diferencias en la potencia y en el espectro de acción frente a los diferentes grupos de parásitos. Probablemente estas variaciones en el efecto antihelmíntico sean debidas a diferencias en la disponibilidad del fármaco en el organismo y por tanto a su concentración en el lugar de acción.¹³⁶

La seguridad de estos fármacos cuando son administrados a los animales es generalmente elevada. Su baja solubilidad y el hecho de que se administran por vía oral hacen difícil el estudio de la toxicidad aguda cuando son administrados por la vía recomendada. Sin embargo, cuando se administran por vía oral durante el primer tercio de gestación pueden desarrollar toxicidad embrionaria, posiblemente derivada de su capacidad de unión a la tubulina durante el desarrollo embrionario.¹³⁵ Esta toxicidad puede llegar a provocar malformaciones congénitas, e incluso, la muerte del embrión. En humanos se han observado algunas reacciones adversas no muy frecuentes asociadas al tratamiento con BZD, como efectos gastrointestinales de carácter leve, alopecia reversible, aumento de las transaminasas del suero, proteinuria y neutropenia.¹³⁷

2.5.1. El tratamiento con Triclabendazol

El Triclabendazol (TCBZ), es un antiparasitario activo contra *F. hepatica*, juveniles como adultos pertenece a la familia de los Benzimidazoles, los cuales se caracterizan por su amplio espectro de actividad y un margen

grande de seguridad, y con una alta eficacia.¹³⁸ Tiene una estructura inusual para un Benzimidazol ya que contiene un anillo clorado benzeno, y no tiene el grupo carbamato benzimidazol.¹³⁹ También tiene una actividad inusual, ya que a diferencia de otros Benzimidazoles los cuales muestran solamente una actividad parcial contra *Fasciola*, la eficacia de TCBZ parece estar restringida a *F. hepatica*, *F. gigantica* y *Fascioloides magna*. No tiene efectividad contra nematodos, céstodos y contra otros tremátodos, incluyendo *Dicrocoelium dendriticum*, *Schistosoma mansoni* y *Paramphistomum spp.*^{25, 140} Es un fasciolicida importante porque tiene una alta eficacia contra *F. hepatica*.¹⁶

De los BZD actualmente comercializados, el TCBZ es el que mayor eficacia antiparasitaria presente. Parte de su eficacia es atribuida a la acción de su metabolito TCBZ sulfóxido (TCBZ.SO), que presenta una actividad contra *F. hepatica*. Recientes estudios han demostrado que esta molécula presenta una buena actividad anti fasciolicida, pero al igual que otros BZD tiene capacidad de causar trastornos durante el desarrollo embrionario.^{141, 142} La molécula de TCBZ presenta en su estructura química un centro asimétrico quiral en la posición del átomo de Cl, dando lugar a la existencia de dos enantiómeros, el positivo (+) TCBZ.SO y el negativo (-) TCBZ.SO₂ en función de su actividad óptica (Fig. 5).

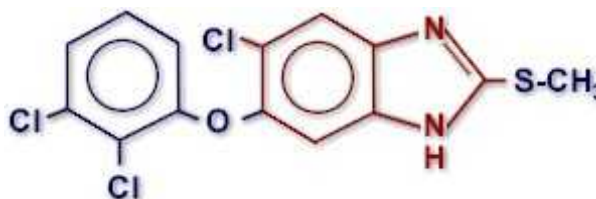
2.5.2. Características fisicoquímicas

Las características fisicoquímicas, es polvo cristalino de color blanco a ligeramente beige, insoluble en agua, soluble en metanol y etanol, soluble en grado variable en otros solventes orgánicos, punto de fusión entre 175 y 176° C. Pérdida por secado, no más del 1%. Residuos por ignición, no más del 0,5%.

Denominación Química. 5- cloro- 6-(2,3, diclorofenoxi)-2-metil-tiol- 1H; Benzimidazole.

Fórmula Química. C₁₄ H₉ Cl N₂ OS.

Fórmula Geométrica.



El TCBZ, es uno de los compuestos químicos de mayor uso y eficacia para el tratamiento de *F. hepatica*, ejerce un efecto fasciolicida, eliminando fasciolas jóvenes como adultas.¹⁴³

2.5.3. Mecanismo de Acción del TCBZ

TCBZ; 6 – cloro – 5 - (2,3 - diclorofenoxi) – 2 – metil - tiobenzimidazol) es altamente efectivo para el tratamiento de las formas juveniles como adultas de *F. hepatica* y *Fasciola gigantica* en todas las especies de rumiantes y el ser humano,¹⁴⁴ similar ha otros BZD, tras su administración por vía oral o intrarruminal en bovinos y ovinos TCBZ se oxida extensamente a sus correspondientes metabolitos; TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ por acción de las enzimas hepáticas la flavin monooxigenasa y el Citocromo P-450,¹⁴⁴ por lo que no es posible detectar el TCBZ en la circulación general. Su metabolito, TCBZ.SO es activo, siendo este el responsable de la actividad fasciolicida,²² a diferencia de otros BZD que solamente ejercen su acción uniéndose a la -tubulina de los parásitos, TCBZ, mediante su metabolito TCBZ.SO también actúa interfiriendo reacciones enzimáticas que involucran núcleos purinas produciendo la disrupción de la síntesis de adenosín trifosfato (ATP) dando como resultado la muerte del parásito,¹⁴⁵ (Fig. 5).

Este mecanismo de acción determina que la actividad de TCBZ y TCBZ.SO esté condicionada por el tiempo durante el cual los parásitos están expuestos a los principios activos,¹⁴⁶ por lo que el éxito de la terapéutica radica en el mantenimiento de concentraciones efectivas de TCBZ y TCBZ.SO en el sitio de localización de la *F. hepatica* por tanto tiempo como sea posible, en este sentido juega un importante papel el rumen que actúa como un sistema

biológico de liberación sostenida del TCBZ hacia el tracto digestivo posterior en donde es absorbido el TCBZ.SO se une en un 90-95 % a la albúmina plasmática²² por la que presenta una afinidad específica y mayor que la reportada para otros agentes BZD cuyo porcentaje de unión a proteínas plasmáticas no supera el 50%.²²

2.5.4. Inhibición del metabolismo energético

El TCBZ, inhibe el metabolismo energético de la *F. hepatica* gracias a su capacidad de actuar sobre los sistemas enzimáticos y sobre la captación de sus fuentes energéticas, esta interferencia provoca una disminución en la disponibilidad de la energía necesaria para el funcionamiento normal de los órganos vitales de *F. hepatica*, lo cual conduce a un agotamiento de sus fuentes energéticas provocando su muerte por acción del metabolito activo TCBZ.SO.¹⁴⁷

Estudios realizados han establecido que TCBZ, mata a la gran mayoría de las fasciolas juveniles en el ganado ovino en un plazo de 3 días y todas a los 4 días posteriores al tratamiento. El nivel de las alteraciones que provoca en la superficie de las fasciolas se intensifica con el paso de las horas, y culmina con la pérdida total del sincitio tegumentario y lesiones más profundas en la lámina basal. Se piensa que la interrupción de los procesos de transporte en el tegumento lleva a un intenso daño progresivo de la superficie tegumentaria, lo que conlleva finalmente a la pérdida total del tegumento.¹⁴⁴

2.5.5. Inhibición de la polimerización de la tubulina

En el caso de BZD el mecanismo de acción más estudiado en los helmintos es la despolimerización de los microtúbulos (Mt) aunque dicho mecanismo en *F. hepatica* aún no ha sido resuelto completamente existiendo probablemente algún otro fenómeno que podría explicar el porqué de su acción sobre el trematodo siendo ineficaz sobre otros helmintos parásitos.¹⁴⁸

En los últimos años se ha avanzado con respecto a la ubicación de los Mt y a la variedad de funciones que realizan dentro de las células de los diferentes helmintos. En adultos de *F. hepatica* se ha determinado que sus Mt están involucrados en varios procesos dentro del parásito. Los Mt están formados por tubulinas que se ensamblan como heterodímero de dos subunidades globulares unidas (α y β tubulina) con un peso molecular de 50-55 Kd cada una. Hasta el presente, a partir de su estudio en cerebro de mamífero han sido identificadas diferentes isoformas para cada subunidad siendo algunas de ellas producto de diferentes genes, adicionalmente otras isoformas son la consecuencia de modificaciones postraduccionales tales como la detirosinación que ocurre sobre β tubulina, siendo esta modificación la que más atención ha recibido en los últimos años debido a la particularidad de realizarse con la participación de dos enzimas altamente específicas. A pesar de que dicha modificación postraducciona ya fue descrita en varias especies alejadas entre sí en la escala zoológica, hasta el presente se desconoce si en *F. hepatica* se manifiesta dicho isotipo.

En *F. hepatica*, ya ha sido descrita la presencia de los Mt en el sincicio y en los cuerpos celulares del tegumento y sus conexiones con la superficie del sincicio en consecuencia, debería esperarse que *F. hepatica* fuera susceptible al efecto antiparasitario de la mayoría de los BZD, antihelmínticos pero solo a TCBZ, y otras drogas benzimidazólicas son relativamente inactivas contra esta especie de parásitos; sugiriendo que la tubulina en *F. hepatica* puede ser diferente en algunos aspectos a la que se encuentra presente en céstodos y nematodos.¹⁴⁹

2.5.6. Actividad Fasciolicida

Los resultados del tratamiento con TCBZ, utilizado en la práctica veterinaria desde 1983 y en los seres humanos desde 1989, indican que es un fármaco de elección contra *F. hepatica*. Su actividad es alta frente a parásitos adultos localizados en los conductos biliares, pero también contra los estadios juveniles que migran hacia el hígado, desde las 2 a 4 primeras semanas post

infección. La entrada de un fármaco en el parásito puede depender principalmente en la superficie de difusión, la gradiente de la concentración a través de la membrana, la relación pH/pK y lipofilia de la molécula.¹⁷ TCBZ es el más potente fasciolisida compuesto, aunque en el organismo vivo transtegumental difusión en adulto de *F. hepatica* mostró ser significativamente baja que la observada para el albendazol.¹⁸

Ensayos de difusión de drogas (5 nmol ml⁻¹) son necesarias para detectar por cromatografía productos metabólicos de TCBZ. De hecho, la presencia de fasciolas incubados con concentraciones de TCBZ.SO tan altas como 140 nmol ovemicida se ha divulgado recientemente.¹⁵⁰ Alternativamente otros relacionados con TCBZ producto final que identificado hasta ahora, han sido generados por los parásitos del hígado sin ser detectados en las actuales condiciones analíticas. Cuando se comparó la difusión transtegumental de todas las moléculas que se ensayaron en cada tiempo de incubación, el acceso de los derivados hidroxilados al parásito tiende a ser más baja que la de TCBZ, TCBZ.SO y TCBZ.SO₂, a pesar de la diferencia no alcanza significación estadística. Sin embargo, estimación de la cantidad total de la droga recuperada en el parásito como ABC demostró a los padres TCBZ fármaco y sus metabolitos TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ tienen una significativa mayor capacidad para penetrar en *F. hepatica* en comparación con los hidroxilados metabolitos.

Los estudios muestran que la principal vía de adquisición de antihelmínticos de amplio espectro a parasitos objetivo parece ser por difusión pasiva a través de su superficie externa. La tasa de penetración de un fármaco principalmente depende en el coeficiente de partición lípido agua intrínseca de la molécula,¹⁷ relación pH/pK, tamaño molecular, gradiente de la concentración y la superficie de contacto entre el fármaco y parásito. Solubilidad en lípidos es un factor importante determinación de la penetración de la droga a través de la cutícula del nematodo, tegumento de cestodos y trematodos.^{17, 151}

Esto se correlaciona con la capacidad de la droga para alcanzar fines terapéuticos relevantes concentraciones dentro del parásito blanco. TCBZ,

TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ son más lipofílicos (mayor PC octanol-agua), por lo tanto, más soluble en el caso la superficie de las membranas de los parásitos helmintos, que son sus respectivos polares hidroximetabolitos (baja el PC octanol-agua). Tal fenómeno representa la mayor disponibilidad de las moléculas no hidroxiladas dentro el parásito trematodo incubado, confirmado por la elevada correlación observadas entre transtegumental difusión de moléculas relacionadas con el TCBZ en *F. hepatica* y drogas lipofílica (expresado como log *P*). En un estudio en el organismo vivo y ex vivo de TCBZ, y sus metabolitos en *F. hepatica* TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ fueron los únicos metabolitos detectados en plasma ovino con una concentración máxima (10,8 y 12,6 ug/ml respectivamente) alcanzadas a las 24 horas post tratamiento.¹⁵²

2.5.7. Farmacocinética y Farmacodinámica

2.5.7.1. Vías de administración

El TCBZ se formula para su administración por vía oral, intrarruminal o subcutánea. Debido a la importancia del metabolismo gastrointestinal en la disposición y efectividad de los BZD y a su mala solubilidad, la principal vía para la administración de TCBZ, es la oral o la intrarruminal.

En rumiantes jóvenes, la administración intrarruminal presenta una mejor disposición y eficacia que la oral. Estas diferencias pueden ser debidas al paso directo del fármaco hasta el abomaso, a través de la existencia de la gotera esofágica, acelerándose el paso del fármaco por el tracto digestivo.

2.5.7.2. Absorción y distribución

Como se ha descrito anteriormente, la vía de administración de elección de TCBZ es generalmente la vía oral. Una vez

administrado este se disuelve en los fluidos gastrointestinales y es absorbido hasta alcanzar la circulación general.

El proceso de absorción de TCBZ.SO involucra la disgregación de las partículas de TCBZ, la disolución de las mismas, el pasaje lento y sostenido de estos al sitio de absorción, la oxidación a TCBZ.SO, posterior a TCBZ.SO₂ en el hígado y el pasaje de este a la circulación sistémica. En consecuencia, en lugar de hablar de un estudio de absorción lo más adecuado es hablar de la aplicación de un modelo asociado a un proceso de orden cero para el estudio del perfil de incremento de concentraciones plasmáticas de TCBZ.SO y TCBZ.SO₂, aunque son demasiados procesos para ser explicados simplemente por una constante de velocidad (k_o), esta se justifica por el hecho de ser la resultante de la liberación de TCBZ, desde el rumen en forma de una serie de pulsos que junto con los fenómenos de biotransformación presistémica dan como resultado un perfil de absorción asimilable a un ingreso a débito constante. En este caso, el hecho más importante es la evidencia del rumen como un reservorio de fármaco que actúa como un eficaz sistema fisiológico de liberación sostenida. Donde el tiempo en el cual se producen las concentraciones plasmáticas inmediatas anteriores a la fase de eliminación como el tiempo observado de duración del proceso de absorción. Este tiempo es diferente en las especies siendo mayor en bovinos ($30 \pm 6,6$ h) que en ovinos ($22 \pm 3,1$ h).

En un estudio extravascular las diferencias halladas entre los valores de Vd. pueden ser debidas tanto a diferencias entre; los valores F, diferencias entre los volúmenes de líquidos corporales, diferencias en el patrón de distribución del TCBZ.SO en los líquidos y tejidos corporales de especies y diferencias entre especies de la capacidad de TCBZ.SO.

No obstante, lo anterior, no se ha reportado diferencias significativas entre las especies bovina y ovina en los valores de pH entre plasma y los distintos segmentos del tubo digestivo como

para inferir un diferente patrón de distribución de TCBZ.SO. Igualmente TCBZ.SO presenta diferencias en su patrón de difusión a través de membranas biológicas en especies filogenéticamente tan cercanas como en el caso de bovinos y ovinos es poco sustentable. Se infiere que las diferencias halladas en los valores de Vd. del TCBZ.SO podrían ser atribuidas a diferencias en los valores de F .¹⁵³

La distribución en el ganado bovino y ovino tratados con dosis orales de TCBZ, muestra periodos de eliminación en 2 días, estos residuos son producidos en niveles más altos en el hígado y riñón, los niveles más bajos se encuentran en músculo y grasa en periodos de 28 días constataron que residuos de similares podrían encontrarse en músculo, hígado y riñón los marcadores de cada uno de los metabolitos de TCBZ, de residuos en los tejidos de especies en estudio no ha sido reportado. La mayoría de estudios señalan en un marcador total y no individuales.¹⁵⁴

2.5.7.3. Metabolismo

Después de la administración de TCBZ, independientemente de la vía, éste es metabolizado en el hígado y en el tracto digestivo. Ambas vías metabólicas han demostrado tener una importancia primordial en la disposición en el organismo de TCBZ. En este punto se analizan las características principales de cada una de estas vías metabólicas y sus implicaciones en el perfil cinético del TCBZ.

2.5.7.4. Metabolismo gastrointestinal

El TCBZ, así como los BZD son metabolizados en los fluidos gastrointestinales y en los enterocitos.¹⁵⁵ En rumiantes, el rumen además de actuar como reservorio de los fármacos administrados

por vía oral, participa en su metabolismo, el hecho más importante es la evidencia del rumen como un reservorio de fármaco que actúa como un eficaz sistema fisiológico de liberación sostenida. Donde el tiempo en el cual se producen las concentraciones plasmáticas inmediatas anteriores a la fase de eliminación como el tiempo observado de duración del proceso de absorción. No se han reportado diferencias significativas entre las especies bovina y ovina en los valores de pH entre plasma y los distintos segmentos del tubo digestivo como para inferir un diferente patrón de distribución de TCBZ.SO. Igualmente TCBZ.SO₂ presente diferencias en su patrón de difusión a través de membranas biológicas en especies filogenéticamente tan cercanas como en el caso de bovinos y ovinos es poco sustentable.¹⁵³

En un estudio realizado en bovinos y ovinos, el comportamiento farmacocinético de TCBZ.SO. Las curvas de fracción de fármaco remante en el sitio de absorción aparente en función del tiempo fueron construidas con el método de Wagner-Nelson,¹⁵⁶ el cual es un método modelo independiente. Estas curvas pusieron en evidencia dos fenómenos asociados con la administración oral. En primer lugar, los valores de las fracciones remanentes en el sitio de absorción en función del tiempo decrecen en forma proporcional al tiempo transcurrido desde la administración, por lo que en bovinos y ovinos estas curvas pueden ser adecuadamente descritas mediante una ecuación de primer grado.

Algunos estudios han puesto de relieve la importancia del metabolismo del BZSO en los fluidos gastrointestinales. Estos autores observaron en estudios en el laboratorio y en condiciones anaerobias que cuando se incubaba el BZSO en los fluidos ruminal e ileal de ovejas y terneros, éste era oxidado a BZSO₂. Esta capacidad metabólica del rumen también fue observada en estudios en el laboratorio incubando ABZ (que se oxidaba a ABZSO). Estos autores observaron que los procesos de reducción eran más eficientes que los de oxidación y que los fluidos ruminales eran

más eficientes que los fluidos ileales. Esta última diferencia podría ser debida al elevado potencial reductor que presenta el rumen.¹⁵⁷

2.6. Triclabendazol en humanos (Egaten tabletas/ 250 mg)

El TCBZ, en humanos se administra por vía oral en Fasciolosis: *F.hepatica*, *F. gigantita* y Paragonimiasis: *Paragonimus westermani*. Adultos: Fasciolosis, 10 mg/Kg una sola dosis, el tratamiento puede repetirse después de 2 semanas ó 6 meses si el tratamiento fuera necesario. La OMS recomienda 20 mg/Kg, 12 h después de la única dosis, en casos severos y Paragonimiasis: 5 mg/Kg 1 vez/día por 3 días o 10 mg/Kg en una dosis única.

La OMS recomienda 20 mg/Kg/día dividido en dos dosis en un solo día. Dosis máxima: 38 mg/Kg. Niños, Fasciolosis: la dosis exacta no se ha establecido; se sugiere: 10 mg/Kg dosis única. En Paragonimiasis, la dosis exacta no se ha establecido; se sugiere 10 mg/Kg dosis única. La OMS recomienda 20 mg/Kg dividido en dos dosis en un solo día.

2.6.1. Farmacocinética

El Triclabendazol se absorbe en el TGI, este se incrementa después de los alimentos, es oxidado a sulfóxido (primer metabolito) y sulfona, formándose en las primeras 24 h, se distribuye en elevada concentración a nivel de bilis e intestino, Cmax 8 h después de la administración, 95% del fármaco se excreta de forma inalterada por las heces y cerca del 2% a nivel renal.¹⁵⁸

2.6.2. Precauciones

Embarazo: No hay estudios adecuados ni controlados en humanos.
Riesgo/beneficio.

Lactancia, menos del 1% de la dosis se distribuye en la leche materna.
Pediatría, no hay estudios adecuados ni controlados en humanos.

Riesgo/beneficio. Geriátría: No hay estudios controlados en este grupo de edad. Insuficiencia hepática, limitada información.

Insuficiencia renal: Limitada información.

Reacciones adversas, generalmente es bien tolerado: Problemas gastrointestinales, diarrea, dolor de estómago y cefalea.

Contraindicaciones:

Hipersensibilidad al triclabendazol.

Tratamiento de sobre dosis y de efectos adversos graves, no reportado.

Interacciones, alimentos mejora la biodisponibilidad, almacenamiento y estabilidad no reportada, información básica para el paciente reportar las reacciones adversas

Advertencia complementaria, Chequeo físico después de terminada la terapia.

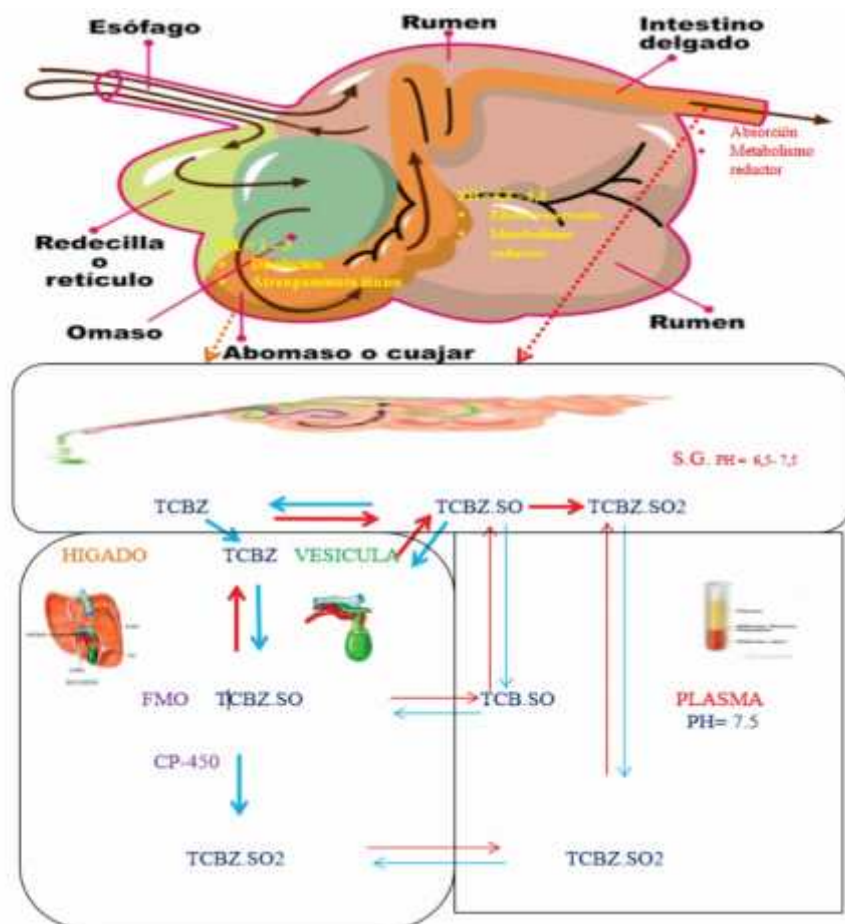


Fig. 4. Representación esquemática del metabolismo y distribución del Triclabendazol (TCBZ) y sus metabolitos TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ en bovinos.

Fuente: Elaboración Propia.

La biotransformación gastrointestinal tiene un papel importante en la eficacia de los BZD. En estudios realizados,¹⁵⁹ se observó que frente a parásitos gastrointestinales resistentes a los BZD como son *Trichostrongylus colubriformis* y *Haemonchus contortus*, la administración intraabomasal del ABZ era más eficaz que la administración intraruminal. Estas diferencias en la respuesta antihelmíntica estaban relacionadas con diferencias en el perfil cinético entre las dos vías. En el mismo estudio se observó que la administración de ABZ por vía ruminal presentaba una ABC plasmática del metabolito ABZSO (44,9 µgh/mL) superior al de la administración abomasal (32,2 µgh/mL). Las ABC abomasales de este metabolito también eran superiores en la administración intrarruminal.¹⁶⁰

2.6.3. Metabolismo hepático

La vía principal del metabolismo de TCBZ, es el hígado mediante la sulfonación, esta reacción metabólica es el resultado de una oxidación de TCBZ por las enzimas hepáticas. Esta metabolización ocurre en un proceso lento e irreversible, en este punto se ha señalado que la flavin monooxigenasa FMO y el citocromo P-450 son los responsables fundamentales de la metabolización del TCBZ en sus principales metabolitos activos.¹⁷

La participación relativa de ambos sistemas enzimáticos puede estimarse después de la inactivación de FMO deja el citocromo P450 sistema capaces de metabolizar TCBZ o TCBZ.SO. Así, la FMO mediante sulfoxidación representaron aproximadamente el 62% de TCBZ.SO y alrededor del 48% de formación de TCBZ.SO₂, mientras que el citocromo P-450 contribuyó

con el 38% (TCBZ.SO) y 52% (TCBZ.SO₂) de los metabolitos oxidados. Además, la mayor capacidad era en el hígado de oveja para TCBZ sulfoxidación más TCBZ.SO. A pesar de ello, la capacidad del hígado para producir el metabolito sulfona del fármaco principal TCBZ parecía ser mayor que muestras de Albendazol en un trabajo previo realizado bajo similares condiciones experimentales.¹⁶¹

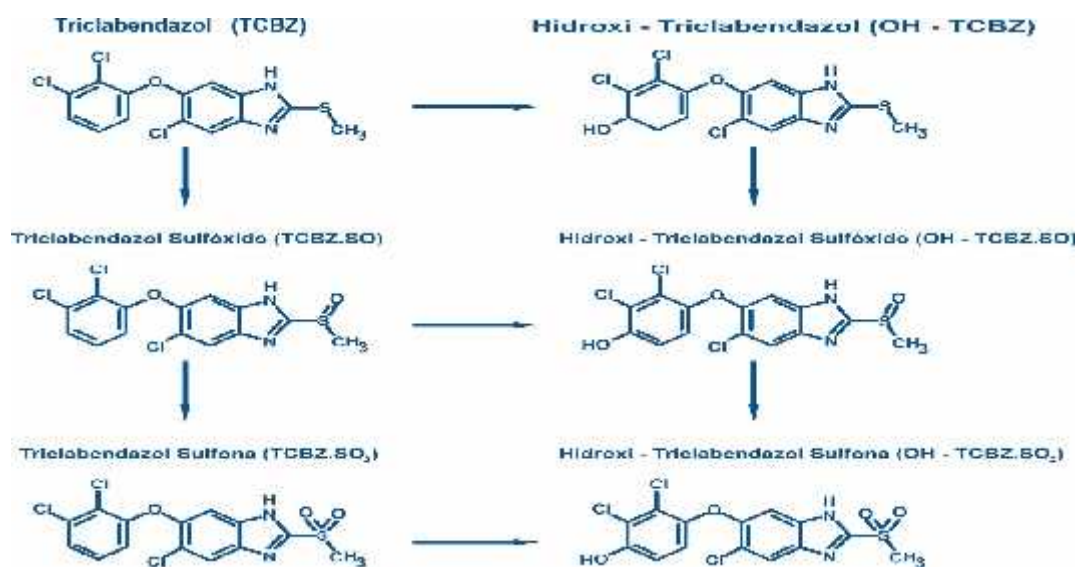


Fig. 5. Estructura Química de TCBZ y sus Metabolitos.

Fuente: Halferty *et al.*, 2008.

2.6.4. Excreción

La excreción de los metabolitos TCBZ, se realiza principalmente por vía biliar y heces, tras absorberse entra en el ciclo entero hepático, desde el tracto

gastrointestinal pasa al plasma y de ahí al hígado para volver al plasma y a la luz intestinal.

Estudios farmacocinéticos realizados en ratas, conejos, perros, ovejas, vacas, cabras y seres humanos indican similitudes en el metabolismo con sulfóxido, sulfona, cetonas, y el 4-hidroxi-derivados de TCBZ en el plasma y las heces; el único metabolito identificado en orina fue de 2 - benzimidazolona. Tras una administración oral, en estudios de plasma se demostró que el sulfóxido predomina en los conejos, ovejas y seres humanos, y la sulfona en caballos, perros y ganado. El Tmax en plasma para el TCBZ.SO, fue de alrededor de 6-12 horas en la mayoría de las especies, 22 horas en el ganado bovino, a dosis de 10-12 mg de TCBZ /Kg de peso. Mientras que el Tmax en plasma de TCBZ.SO2 fue de alrededor de 12-30 horas en la mayoría de las especies y 72 horas en el ganado, la eliminación urinaria representa el 2,2% y un 76% por vía fecal de una dosis de 12 mg/Kg.¹⁶²

En ganado vacuno tratado con una dosis oral de 12 mg/Kg de peso, sacrificados a los 2 y 42 días post tratamiento, los marcadores de TCBZ, TCBZ.SO y TCBZ.SO2 a los 2 días presentó los niveles de 5870, 4300, 1420 y 2470 mg/Kg en hígado, riñón, músculo y grasa, a los 42 días los marcadores se encontraron en los niveles de 80, 75, 100 y mayor a 60 mg/Kg en hígado, riñón, músculo y grasa. En un segundo estudio en bovinos administrados una dosis vía oral de TCBZ, 12 mg/Kg de peso, a los 2 días los niveles de 3250, 3050, 875 y 1800 mg/Kg de peso en hígado, riñón, músculo y grasa. A los 28 días los marcadores residuales presentaron los niveles de 52, 47, 23, y mayor a 3 mg/Kg en hígado, riñón, músculo y grasa.¹⁵⁴

2.7. Reacciones adversas

La administración de TCBZ, así como de BZD, en general cuando es usado durante la preñez temprana, administrar la dosis recomendada, de particular interés es que algunos metabolitos benzimidazólicos son más tóxicos que el principio básico de las drogas, el Hydroxymebendazol (MBZOH) se ha encontrado que es más embriotóxico que MBZ, en ratas. OFZ, en ratones es

teratogénico en cerca de uno y medio reportado del nivel no teratogénico para FBZ. El TCBZ produce una mínima irritación en piel, y no produce irritabilidad ocular. Dosis repetidas en ratas conteniendo 10, 100 o 1000 mg/Kg de peso corporal de TCBZ, revelaron un menor efecto hematológico y algunos como incremento en la albúmina sanguínea, colesterol, fueron vistos en dosis altas como 100 mg/Kg de peso. En ovinos con una sola dosis oral de TCBZ de 250, 500 o 1000 mg/Kg de peso, causó la muerte en 1/20, 6/20 y 5/5 animales respectivamente. A dosis de 125 mg/Kg de peso fue bien tolerado y no reporta efectos adversos.

En estudios en ratas, ovinos y en conejos no hubo datos evidentes de teratogenicidad, sin embargo, hubo bajo peso del feto, en dosis de 50 mg/Kg de peso en ovinos machos y hembras no hubo efectos sobre la reproducción. En estudios realizados en ratones y ratas utilizando TCBZ no hubo significancia estadística en los efectos de incidencia a tumores con cualquier dosis o cualquier otro parámetro, a una dosis de 300 mg/Kg en la dieta.

2.7.1. Toxicidad

En ovinos una dosis igual o superior a 100 mg/Kg de peso mostró: reducción del apetito y aumento del nitrógeno úrico en sangre. En becerros una dosis oral única de 200 mg/Kg causó inapetencia, pérdida de peso transitoria y efectos leves en la actividad motora, anorexia, vómito, mareo, anemia, diarrea y prurito, inflamación de la piel y ubre ¹³⁹ teratogénico y embriotóxico, anemia en perros, después de un prolongado tratamiento con TCBZ.

2.7.2. Advertencias

No administrar a pacientes con hipersensibilidad al principio activo de la fórmula. Evitar su uso en animales gestantes. No utilizar al producto 28 días antes del sacrificio de animales destinados para consumo humano. La carne de los equinos tratados no es apta para consumo humano. No se use en ganado de producción de leche, porque los residuos están por sobre el

Codex Internacional. Manténgase fuera del alcance de los niños.
Consérvese en un lugar fresco, seco y protegido de la luz solar directa.

2.8. Factores que modifican la disposición del fármaco en el organismo

La disposición de los fármacos en el organismo de los animales puede ser influenciada por diversos factores. En el caso de los BZD y TCBZ, hay estudios que han puesto en evidencia la influencia de la alimentación, parasitismo, edad y sexo sobre la cinética y eficacia antiparasitaria de estos fármacos, se analiza con detalle cada uno de los factores y como pueden éstos modificar el perfil cinético del TCBZ.

2.8.1. Alimentación

La alimentación desempeña un papel importante en los procesos fisiológicos que ocurren en el tracto gastrointestinal. Los cambios en la alimentación pueden modificar tanto las condiciones básicas de pH en el tracto gastrointestinal, como la velocidad del tránsito digestivo. En los animales monogástricos, al poseer una velocidad de tránsito gastrointestinal de los alimentos relativamente alta, los cambios de pH en el tracto digestivo puede que no sean tan críticos para la disposición de los fármacos como lo es el propio tránsito digestivo.

Otro factor importante relacionado con la alimentación es la posible interacción entre los fármacos y los componentes de la dieta. En un estudio realizado en cerdos, con diferente tipo de alimentación, a los que se administró una misma dosis de BZD por vía oral, se observaron diferencias en la disposición plasmática de los metabolitos del BZD.¹⁶³ Estos autores sugieren que los animales alimentados con pasto son los que mayor disposición plasmática presentaba, seguido de los animales alimentados con pasto y concentrados y por último los que solamente recibían concentrados. Sin embargo, las concentraciones máximas se alcanzaban antes en los alimentados con concentrados que con los alimentados con pasto.

El caso de los animales poligástricos es un poco más complejo. Las características anatómicas del tracto gastrointestinal de estos animales hacen que la disposición de los fármacos administrados por vía enteral tenga una serie de elementos especiales a considerar, como son el alto volumen del contenido digestivo, el lento tránsito digestivo, y la alta concentración de microorganismos que mantienen un cierto equilibrio fisiológico y condicionan el pH del medio mediante sus fermentaciones, teniendo poder metabólico sobre algunos fármacos. Todas estas características pueden verse modificadas por cambios en la dieta, alterando consecuentemente la biodisponibilidad de los fármacos. Por una parte, el rumen actúa como reservorio de los fármacos que son administrados por vía enteral y por otra puede biotransformarlos. También se sabe que el tiempo de permanencia de los fármacos en el rumen depende de la velocidad de vaciado ruminal que está condicionada por el tipo, cantidad y frecuencia de ingesta de los alimentos.¹⁵⁷

La dieta es, probablemente, el factor que más influye sobre las proporciones de las distintas especies de microorganismos que se encuentran en el rumen y que pueden estar implicadas en la fermentación.¹⁵⁷ Por ejemplo, cuando hay un cambio brusco hacia una dieta rica en concentrados, se observa una sucesión de cambios en la población microbiana del rumen durante el periodo de adaptación de forma específica en aquellas bacterias que producen y utilizan el lactato. Las bacterias que utilizan el lactato, sensibles al ácido, son reemplazadas por otras que utilizan lactato y son resistentes al ácido. Durante el periodo de adaptación hay una incapacidad de las especies que emplean el lactato para incrementar lo suficiente su número y evitar la acumulación de lactato producido por otras poblaciones bacterianas, lo que lleva a su acumulación en el rumen, con el consecuente descenso del pH.¹⁵⁷ Como la solubilidad de los BZD aumenta al disminuir el pH, el incremento de la acidez ruminal debido a la alimentación con concentrados aumenta su disolución en los fluidos gastrointestinales, esto facilitaría la absorción y consecuentemente incrementaría sus concentraciones plasmáticas y su disposición tisular.

A si mismo, el volumen de alimentos consumidos también puede modular el tránsito del contenido ruminal, condicionando el tiempo de permanencia del fármaco y su disolución en los fluidos ruminales.¹⁶⁰ En animales en ayunas, el tránsito gastrointestinal se retrasa, prolongándose el tiempo de disolución y absorción de las moléculas. En ovejas y terneros mantenidos en ayunas antes de la administración oral del ABZ, se observaron valores de tiempo medio de residencia y tiempo de vida media de eliminación superiores a los observados en animales alimentados a libitum.^{164, 166} Por otra parte, el consumo de grandes cantidades de alimentos, particularmente pastos verdes, induce a un rápido tránsito gastrointestinal, incrementando la velocidad de absorción de la droga.¹⁶⁰

La influencia del tipo de dieta sobre la acidez ruminal y el metabolismo de BZD ha sido descrita en ovejas.¹⁶⁷ Estos autores observaron que los fluidos ruminales procedentes de animales alimentados con concentrados presentaban mayor grado de acidez y mayor capacidad reductora de BZD, que los fluidos procedentes de animales alimentados con heno. Por otra parte, se observaron que la dieta influenciaba la disposición plasmática de los metabolitos de BZD, siendo los animales alimentados con concentrado los que presentaban mayores concentraciones plasmáticas de los metabolitos del BZD en relación a los animales alimentados con pasto natural.¹⁶⁸ Varios estudios han demostrado variaciones en el perfil plasmático de los metabolitos del ABZ producto de cambios en la dieta en cerdos,¹⁶³ en ovejas ¹⁶⁶ y en terneros.¹⁶⁸ Efectos similares también fueron observados para los metabolitos de Fenbendazol en terneros y búfalos.¹⁶⁹

La condición nutricional también puede afectar el metabolismo y el perfil cinético de los BZD,¹⁷⁰ como la condición nutricional afectaba negativamente el sistema NADPH del que dependen las oxidasas hepáticas, inhibiendo el metabolismo del BZD. Este retraso implicaba una mayor permanencia de los metabolitos en el organismo en animales mal nutridos. Estas variaciones en el metabolismo pueden afectar tanto la eficacia como la toxicidad del fármaco.

Los factores como el ayuno, alimentación, y condición corporal, pueden influenciar la disposición plasmática del fármaco, a través de la modificación del pH, la ionización gástrica y la absorción. Por lo tanto, animales enfermos que pueden fácilmente presentar anorexia, disminución de volumen de agua ingerida, etc., pueden presentar niveles plasmáticos más bajos, así como menos distribución tisular y modificaciones en el tiempo de espera de las formulaciones administradas.

2.8.2. Parasitismo

El parasitismo es un factor influyente en la disponibilidad de un fármaco pudiendo asimismo repercutir en su eficacia, independientemente de la vía de administración. Una infestación parasitaria a nivel gastrointestinal, puede afectar la funcionalidad de la mucosa y el pH gastrointestinal condicionando la disolución y la absorción de los fármacos.

En el hígado, la infestación parasitaria también puede afectar la actividad enzimática de los hepatocitos o causar una obstrucción de los conductos biliares. Una disminución de las enzimas que participan en el metabolismo de los BZD o una inhibición de la eliminación de sus metabolitos por obstrucción de los conductos biliares, puede modificar el perfil cinético del fármaco en el organismo ¹⁷¹ observaron que la reacción de sulfonación del metabolito en los hepatocitos de ovejas infectadas con *F. hepatica*, era muy reducida ya que se producía una disminución significativa de los niveles de actividad del Cit. P450. Sin embargo, la actividad de la FMO no se veía afectada manteniéndose prácticamente los procesos de sulfoxidación. Asimismo, en humanos con Equinocosis, se observó que el MRT y el ABC del metabolito eran mayores que en los individuos sanos.¹⁷² Estos valores elevados fueron atribuidos a la obstrucción que el parásito causa en los conductos biliares. En principio, este aumento del MRT y del ABC daría un aumento de efectividad antiparasitaria a nivel sistémico debido al contacto durante un prolongado periodo de tiempo de mayores concentraciones del fármaco con el parásito.

En 1997 Álvarez ¹⁷³ observaron, en ovejas, que la infestación parasitaria afectaba la disposición plasmática y abomasal después de la administración intraruminal de BZD. Los animales infectados natural o artificialmente con *Haemonchus contortus*, presentaban valores de ABC plasmáticas del metabolito sulfoxido mayores (64 µg.h.ml para infección artificial y 79,3 µg.h.ml para natural) que en los animales no infectados (41,8 µg.h.ml).

El aumento de los niveles plasmáticos del metabolito en los animales infectados iba acompañado de una disminución de las concentraciones abomasales; esta podría ser debida al incremento del pH abomasal causada por los parásitos. Como consecuencia del aumento del pH, disminuye la disociación del fármaco en los fluidos gastrointestinales disminuyendo con esto la distribución del fármaco hacia el tracto gastrointestinal, haciendo que las concentraciones plasmáticas sean superiores mientras que las abomasales sean inferiores en los animales infectados que en los sanos. Esto podría llevar a la disminución de la actividad antiparasitaria a nivel gastrointestinal y al aumento de la misma a nivel sistémico.

2.8.3. Edad

La edad de los animales puede influenciar los procesos metabólicos de muchos xenobióticos. Factores como el pH gástrico, la motilidad gastrointestinal, el área de absorción, la población microbiana y el consumo de la leche, son determinantes en los procesos de absorción de los fármacos desde el tracto gastrointestinal en neonatos. No obstante, la evolución de la composición corporal y de la actividad hepática y renal con la edad puede llevar a importantes variaciones en la distribución de los fármacos, presentado diferencias farmacológicas entre los animales jóvenes y adultos. En general, los individuos recién nacidos presentan déficit de las enzimas que participan en el metabolismo inespecífico hepático. Este déficit puede implicar una significativa reducción de la velocidad metabólica y por tanto un incremento del tiempo de permanencia de los fármacos en el organismo. Por ejemplo, las vías metabólicas como la glucuronoconjugación

prácticamente no existen en animales recién nacidos, y las oxidativas están muy limitadas. Por ello, algunos fármacos con tiempo de vida media corto, pueden incrementar el valor de este parámetro en animales recién nacidos, con el consiguiente riesgo de toxicidad. No obstante, en un estudio realizado en ovejas de diferentes edades a las que se les administró, BZD y metabolito sulfóxido, no se observaron diferencias en los parámetros cinéticos de sulfóxido y sulfona.¹⁷⁴ Esta falta de diferencias podría ser debida al hecho de que las vías metabólicas de los ovinos sean precoces,¹⁷¹ no habiendo diferencias metabólicas entre los animales adultos y jóvenes. En cuanto a los animales viejos, aunque algunas vías metabólicas en ellos no sean funcionales, se carece de estudios al respecto.

2.8.4. Sexo

Los parámetros cinéticos de cualquier fármaco, y en particular de los BZD utilizados como antihelmínticos en la práctica veterinaria, pueden presentar ciertas diferencias en función del sexo de los animales. De hecho, las hormonas sexuales, las proteínas plasmáticas, los ácidos grasos, el agua corporal, y la composición de algunas enzimas pueden variar entre animales machos y hembras. Estas variaciones pueden provocar cambios en el volumen de distribución, en la unión a proteínas plasmáticas y en el metabolismo hepático, causando variaciones en el perfil cinético del fármaco y de sus metabolitos, entre machos y hembras.¹⁷⁵

Estas diferencias han sido observadas¹⁷⁶ en ovejas tratadas con BZD. Estos autores observaron al incubar metabolito sulfóxido en el plasma de ovejas, que la unión a las proteínas plasmáticas era mayor en las hembras que en los machos, con valores de un 87% y un 50%, respectivamente. Estos factores pueden afectar el volumen de distribución de las drogas lipófilas. En el mismo trabajo se observó que después de una administración oral de BZD, los parámetros cinéticos de eliminación del metabolito sulfóxido y de metabolito sulfona presentaban diferencias significativas entre machos y hembras, siendo los machos los que las eliminaban más rápidamente. Estos

autores sugieren que estas diferencias en la eliminación podrían estar relacionadas con diferencias en el metabolismo del metabolito sulfóxido, teniendo en cuenta que este fármaco es metabolizado por el Cit. P450 y que la actividad de este enzima puede estar regulada por las hormonas sexuales. Se ha observado en ratas machos un nivel relativamente más elevado que en hembras de una de las isoenzimas del Cit. P450 de la familia 3A (CYP3A), lo que podría llevar a una más rápida metabolización de los fármacos que utilizan estas vías metabólicas, y consecuentemente a una mayor velocidad de eliminación en machos frente a hembras.¹⁷⁷ Así mismo, numerosos autores han observado como algunas enzimas que participan en el metabolismo hepático pueden ser modulados por las hormonas sexuales, existiendo mayor actividad en un sexo respecto al otro.

En estudios realizados en laboratorio, se ha demostrado como algunos isoenzimas del Cit. P450 son modulados por las hormonas sexuales.^{178, 179} También es posible que hormonas como la testosterona, actúen como inductores enzimáticos de algunas vías metabólicas.¹⁸⁰ En microsomas hepáticos de ratas ¹⁸¹ detectaron diferencias entre sexos relacionadas con las características y la actividad catalítica del Cit. P450. También se ha visto que existen diferencias en la estructura anatómica entre machos y hembras,¹⁷⁷ los machos pesan más que las hembras. Esta diferencia en el peso produce diferencias en la composición muscular, el flujo sanguíneo, y en la cantidad de agua corporal. Además, las hembras tienen una tendencia a poseer un mayor porcentaje de grasa corporal.

2.8.5. Gestación

El proceso de gestación, comporta una serie de cambios en el funcionamiento y composición corporal de los animales, a nivel del sistema gastrointestinal, se verifica una disminución de las secreciones ácidas y de la motilidad intestinal, afectando por una parte la velocidad de tránsito de los fármacos administrados por vía oral, y por otra parte, el grado de solubilidad y absorción causado por variaciones en la secreción de los jugos

gástricos que conllevan modificaciones del pH gástrico. El sistema circulatorio también se ve afectado por el aumento del flujo sanguíneo y débito cardíaco lo que incrementa la velocidad de distribución y aclaramiento renal, pudiendo con esto disminuir el tiempo de permanencia de los fármacos en el organismo. Asimismo, el aumento del agua corporal que se produce en las hembras gestantes, provoca significativos cambios en la pauta de distribución de los fármacos en el organismo.

Una de las principales alteraciones que se observan en el periodo de la gestación, es la composición de las proteínas plasmáticas, se produce un aumento de las globulinas y disminución de las albúminas. Incluso en valores porcentuales se puede decir que hay una disminución de la cantidad total de proteínas plasmáticas. Esta disminución en los niveles de proteínas plasmáticas podría ser debido al aumento del agua corporal y del volumen plasmático que se produce durante la gestación. Algunos estudios han demostrado que la síntesis de las proteínas se mantiene, sin embargo, no es lo suficiente para compensar el incremento del volumen sanguíneo.¹⁸² La hipoproteinemia puede causar un aumento en la distribución tisular, debido al incremento en la cantidad de fármaco libre, lo que causaría cambios en los efectos farmacológicos (cinéticos y dinámicos) de los fármacos administrados durante la gestación. Además de estos cambios funcionales en la hembra gestante, también se observa la presencia de nuevos compartimentos como son los tejidos y fluidos fetales, y placentarios. Estos nuevos compartimentos pueden afectar la distribución de los fármacos en el organismo.

También, se producen cambios hormonales como son el incremento de los niveles de progesterona. Es conocido que el metabolismo hepático a nivel del Cit. P450 puede verse modificado por la presencia de progesterona que puede interactuar con el metabolismo de los fármacos. Numerosos autores han descrito modificaciones en la cinética de los fármacos durante la gestación, así el fenobarbital, presenta una depuración más rápida durante la gestación, debido a una posible inducción de la actividad metabólica,¹⁸³ la teofilina es eliminada más lentamente debido a una posible inhibición de su metabolismo hepático¹⁸⁴. En la literatura, hay pocos estudios sobre el

efecto de la gestación en la disponibilidad de los BZD. En un estudio¹⁷⁶ en ovejas a las que se les administró BZD, en diferentes periodos de gestación, no se observaron diferencias en la disponibilidad del metabolito sulfóxido y de su metabolito sulfona. No obstante, estos autores señalan que el complicado metabolismo de estas sustancias en los rumiantes, podría enmascarar las posibles modificaciones provocadas por la gestación.

2.8.6. Especie

La capacidad del organismo para metabolizar y eliminar los xenobióticos puede variar con la especie, estando condicionados por las características morfo fisiológicas de los animales. Numerosos ejemplos corroboran estas diferencias y los fármacos BZD no son la excepción al respecto. En un estudio realizado en humanos, ratas, y perros después de la administración de una dosis de 10 mg/Kg de BZD por vía oral se observaron diferencias en los parámetros farmacocinéticas del metabolito sulfóxido y metabolito sulfona.¹⁸⁵ Estos autores encontraron diferencias en las concentraciones máximas alcanzadas, siendo las más altas las observadas en ratas, seguidas de los perros y por último los humanos. Asimismo, las ABC del metabolito sulfóxido fueron de 39,2; 10,6 y 3,5 µgh/mL para rata, perro y humanos, respectivamente. Al comparar el perfil cinético del metabolito sulfóxido obtenido después de la administración de una misma dosis de BZD a cerdos¹⁶³, en terneras¹⁶⁸ alimentados con pasto, se observaron diferencias en los valores obtenidos de las ABC, siendo estos significativamente mayores para cerdos (23,7±3,43 µgh/ml) que para terneras (12,7±1,20 µgh/mL).

Las diferencias entre especies también pueden ocurrir al nivel del metabolismo. En estudios realizados *in vitro* en los que se incubó el BZD, y metabolito sulfóxido en fluido ruminal e ileal procedente de terneras y ovejas, se observó que la capacidad oxidativa era mayor en terneras que en ovejas, sin embargo, los fluidos gastrointestinales procedentes de ovejas presentaban mayor capacidad reductora¹⁸⁶. Asimismo, las diferencias relacionadas con la especie también se observaron en el metabolismo

hepático de BZD. Estos autores observaron que la capacidad oxidativa a nivel de las microsomas hepáticas de la oveja era mayor que de la ternera. Estas diferencias metabólicas pueden ocurrir tanto en el proceso de sulfoxidación como en la sulfonación¹⁸⁷ observaron que, al administrar BZD por vía oral a ovejas y a terneras, la relación de las ABC entre sulfóxido y sulfona diferían presentando valores de 3,2 y 0,6 para ovejas y terneras, respectivamente. Similares diferencias también fueron encontradas entre animales mono gástricos a los que se les administró una misma dosis de BZD, observándose una relación de las ABC entre sulfóxido y sulfona de 5,6 para ratas, 10,0 para perros y de 7,3 para humanos.¹⁸⁵ En definitiva la capacidad metabólica de los enzimas hepáticos puede variar significativamente entre las diferentes especies animales, afectando de esta manera el perfil cinético de los BZD y sus metabolitos.

2.9. Cromatografía líquida de alto poder (HPLC)

La Cromatografía líquida de alta eficacia o High performance liquid chromatography (HPLC) es un tipo de cromatografía en columna utilizada frecuentemente en bioquímica y química analítica. También se la denomina a veces Cromatografía líquida de alta presión o High pressure liquid chromatography. El HPLC es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica.¹⁸⁸

En el HPLC isocrática el compuesto pasa por la columna cromatográfica a través de la fase estacionaria (normalmente, un cilindro con pequeñas partículas redondeadas con ciertas características químicas en su superficie) mediante el bombeo de líquido (fase móvil) a alta presión a través de la columna. La muestra a analizar es introducida en pequeñas cantidades y sus componentes se retrasan diferencialmente dependiendo de las interacciones químicas o físicas con la fase estacionaria a medida que adelantan por la columna. El grado de retención de los componentes de la muestra depende de la naturaleza del compuesto, de la composición de la fase estacionaria y de la fase móvil.

El tiempo que tarda un compuesto a ser eluido de la columna se denomina tiempo de retención y se considera una propiedad identificativa característica de un compuesto en una determinada fase móvil y estacionaria.

La utilización de presión en este tipo de cromatografías incrementa la velocidad lineal de los compuestos dentro la columna y reduce así su difusión dentro de la columna mejorando la resolución de la cromatografía. Los disolventes más utilizados son el agua, el metanol y el acetonitrilo. El agua puede contener tampones, sales, o compuestos como el ácido trifluoroacético, que ayudan a la separación de los compuestos.¹⁸⁹

Una mejora introducida a la técnica de HPLC descrita es la variación en la composición de la fase móvil durante el análisis, conocida como elución en gradiente. Un gradiente normal en una cromatografía de fase reversa puede empezar a un 5% de acetonitrilo y progresar de forma lineal hasta un 50% en 25 minutos.

El gradiente utilizado varía en función de la hidrofobicidad del compuesto, el gradiente separa los componentes de la muestra como una función de la afinidad del compuesto por la fase móvil utilizada respecto a la afinidad por la fase estacionaria. El acetonitrilo los compuestos más hidrofílicos eluirán a mayor concentración de agua, mientras que los compuestos más hidrofóbicos eluirán a concentraciones elevadas de acetonitrilo.¹⁹⁰

La Cromatografía es un método físico de separación para la caracterización de mezclas complejas, la cual tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia y la física. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes.

Las técnicas cromatográficas son muy variadas, pero en todas ellas hay una fase móvil que consiste en un fluido (gas, líquido o fluido súper crítico) que arrastra a la muestra a través de una fase estacionaria que se trata de un sólido o un líquido fijado en un sólido. Los componentes de la mezcla interaccionan en distinta forma con la fase estacionaria. De este modo, los componentes atraviesan la fase

estacionaria a distintas velocidades y se van separando. Después de que los componentes hayan pasado por la fase estacionaria, separándose, pasan por un detector que genera una señal que puede depender de la concentración y del tipo de compuesto.

La Cromatografía puede cumplir dos funciones básicas que no se excluyen mutuamente:

- . Separar los componentes de la mezcla, para obtenerlos más puros y que puedan ser usados posteriormente (etapa final de muchas síntesis).
- . Medir la proporción de los componentes de la mezcla (finalidad analítica). En este caso, las cantidades de material empleadas son pequeñas.¹⁸⁸

2.9.1. Términos empleados en Cromatografía

Analito. Es la sustancia que se va separar durante la Cromatografía.

Cromatografía analítica. Se emplea para determinar la existencia y posiblemente también la concentración de un analito en una muestra.

Fase enlazada. Es una fase estacionaria que se une de forma covalente a las partículas de soporte o a las paredes internas de la columna.

Cromatógrafo. Es el equipo que permite una separación sofisticada. Un Cromatógrafo de gases o un Cromatógrafo de líquidos.

Cromatografía. Es el método físico de separación en el cual los componentes que se van a separar se distribuyen entre dos fases una de las cuales es estacionaria (fase estacionaria) mientras la otra (fase móvil) se mueve en una dirección definida.

Efluente. Es la fase móvil que atraviesa la columna.

Serie eluotrópica es una lista de disolventes clasificados según su poder de dilución.

Fase inmobilizada. Es una fase estacionaria que esta inmobilizada sobre partículas de soporte, o en la pared interior del tubo conector o columna.

Fase Móvil. Es la fase que se mueve en una dirección definida. Puede ser un líquido (Cromatografía de líquidos o CEC), un gas (Cromatografía de gases) o un fluido (super crítico). La fase móvil consiste en la muestra que está siendo separada, analizada y el disolvente, que se mueve por el interior de la columna. En la Cromatografía líquida de alta resolución, HPLC, la fase móvil es un disolvente no polar como el hexano (fase normal) o bien algún disolvente polar (Cromatografía de fase reserva) y la muestra que va a ser separada. La fase móvil se mueve a través de la columna de Cromatografía (fase estacionaria) de forma que la muestra interacciona con la fase estacionaria y se separa.

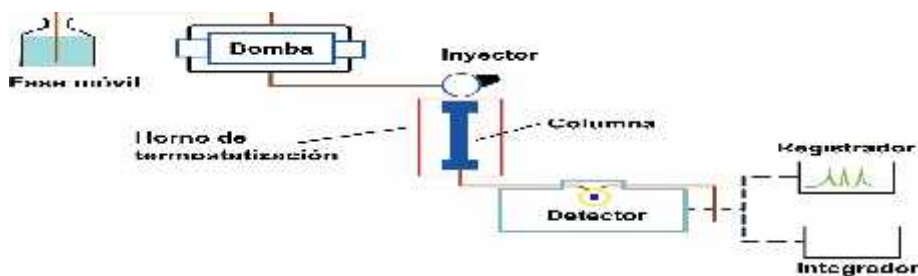


Fig. 6. Esquema del Cromatógrafo de fase líquida.

Fuente: www.mncn.scic.es.

Cromatografía preparativa. Se usa para purificar suficiente cantidad de sustancia para un uso posterior, más que para análisis.

Tiempo de retención. Es el tiempo característico que tarda un analito particular en pasar a través del sistema (desde la columna de entrada hasta el detector) bajo las condiciones fijadas.

Muestra. Es la materia que va a ser analizada en la cromatografía. Puede consistir en un simple componente o una mezcla de varios. Cuando la mezcla es tratada en el curso del análisis, la fase o fases que contienen los analitos de interés es llamada igualmente muestra mientras el resto de sustancias cuya separación no resulta de interés es llamado residuo.

Soluto. Es cada uno de los componentes de la muestra que va ser separado.

Disolvente. Es toda sustancia capaz de solubilizar a otra, y especialmente la fase líquida móvil en Cromatografía de líquidos.

Fase estacionaria. Es la sustancia que esta fija en una posición en el procedimiento de la Cromatografía. Como en la capa de sílica en la Cromatografía en capa fina.

La Columna. Es el elemento fundamental de un Cromatógrafo de líquidos puesto que es en ella donde tiene el lugar de la separación; por lo tanto, resulta fundamental una correcta elección de la columna adecuada para cada separación y que con una columna inadecuada o de mala calidad nunca se obtendrá buenos resultados aún que se disponga del mejor instrumental. Las columnas más utilizadas en Cromatografía de líquidos es la de relleno, en la actualidad se introducido la Cromatografía de líquidos capilares en la que se usa como columna los tubos de sílice de un diámetro interno muy pequeño (entre 200 y 500 μm).

Las características de la columna que influyen sobre su capacidad de separación son: Diámetro Interno, longitud, conexiones (reducciones), relleno tamaño de partícula del relleno.

Cromatograma. Es el resultado gráfico de la Cromatografía. En el caso de la separación óptima, los diferentes pisos o manchas del cromatograma corresponden a los componentes de la mezcla separada.

En el eje X se representa el tiempo de retención y en el eje Y una señal (obtenida a partir de un espectrofotómetro de masas o cualquier otro de los

diversos detectores) correspondiente a la respuesta creada por los diferentes analitos existentes en la muestra. En el caso de un sistema óptimo, la señal es proporcional a la concentración del analito específico separado.¹⁹¹

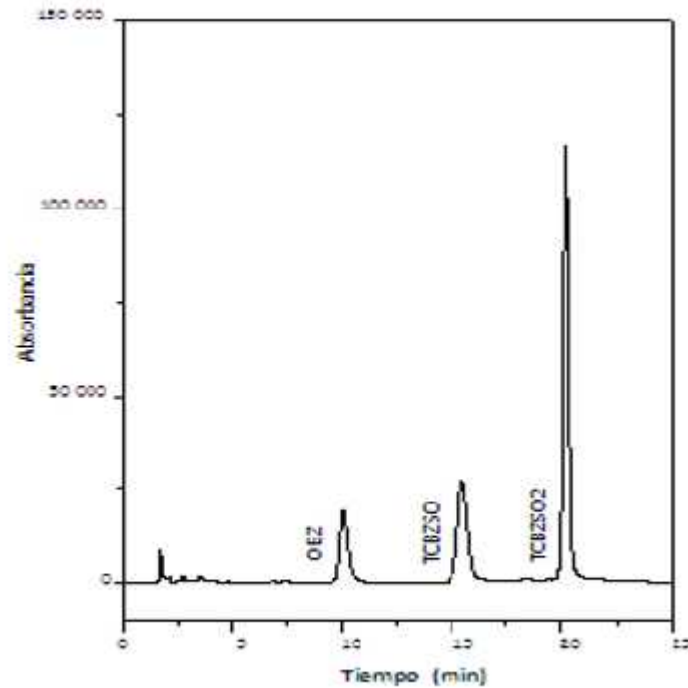


Fig. 7. Representación de Cromatograma (elución).

Fuente: Elaboración Propia.

2.10. Parámetros Farmacocinéticos

2.10.1. Biodisponibilidad

La biodisponibilidad es la velocidad y extensión con que una sustancia activa es entregada desde una forma farmacéutica a la circulación general, la cual puede verse afectada por cambios relativamente discretos en su formulación. Factores como los constituyentes adicionales, pequeños cambios en la concentración de cualquier componente que da

por resultado grandes cambios en la biodisponibilidad y por tanto en su efecto terapéutico. Los estudios de biodisponibilidad se llevan a cabo para demostrar que dos formulaciones diferentes de productos farmacéuticos son similares entre sí en términos de su beneficio terapéutico (eficacia) y la de sus defectos secundarios no deseados (seguridad y tolerancia) a lo que se llama bioequivalencia.²⁴

2.10.2. Bioequivalencia

La equivalencia química, cuantitativa y cualitativa, de formas farmacéuticas similares de una droga no garantiza, la misma eficacia terapéutica. Equivalencia química se refiere a las preparaciones que contienen el mismo compuesto. Bioequivalencia se refiere a los equivalentes químicos que cuando son administrados al mismo individuo en la misma dosificación, resulta en concentraciones equivalentes de la droga en la sangre; es decir tienen la misma biodisponibilidad.²⁴

Es importante resaltar que la rápida caída de las concentraciones plasmáticas de un fármaco no siempre está relacionada al elevado aclaramiento del mismo. Sin embargo, el fármaco es metabolizado con lentitud en este caso, la desaparición del fármaco de plasma está relacionada con un importante fenómeno de distribución y/o redistribución desde el plasma hacia los tejidos (favorecido por la elevada liposolubilidad de la molécula) y no a un eficaz metabolismo. Para discriminar si el fármaco desaparece del plasma por distribución o por eliminación, deberíamos estudiar las concentraciones del mismo en orina y/o materia fecal.¹⁵³ Un estudio de bioequivalencia debe llevarse a cabo mediante un diseño paralelo y/o cruzado, en un número adecuado de sujetos clínicamente sanos.¹⁹²

2.10.3. Concentración máxima (Cmax)

Este parámetro se refiere a la concentración más alta del fármaco que se mide o detecta en plasma, tejido o fluido corporal bajo estudio. Si analizamos una curva concentración plasmática vs tiempo, la Cmax se referirá a la máxima concentración plasmática, entonces nos referiremos a las concentraciones más altas alcanzadas en el tejido, fluido bajo estudio. La máxima concentración que un fármaco alcance en el plasma, estará determinada por la velocidad y cuantía de su absorción. La Cmax se expresa en unidades de concentración (mg/l, µg/ml, ppm, ppb, mg/Kg, etc.).¹⁹³

Tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima (Tmax). Como su nombre lo indica, este parámetro expresa el tiempo en el cual se obtuvo la máxima concentración del fármaco en el plasma, tejido o fluido corporal bajo estudio. En este caso, la velocidad de absorción será un factor determinante en el valor del Tmax obtenido. Si la velocidad de absorción es elevada, el Tmax obtenido será corto. Las unidades en las cuales se expresa este parámetro son unidades de tiempo (h, min, días, etc.).²⁴

2.10.4. Área bajo la curva Concentración vs Tiempo (ABC)

Este parámetro define la superficie por debajo de la curva concentración vs tiempo obtenido para un determinado fármaco. Dicha superficie se puede calcular utilizando el método de los trapecios, en el cual se divide la superficie total en diferentes trapecios por el trazado de líneas verticales. Posteriormente se calcula la superficie de cada trapecio y la de los triángulos formados en los extremos de la curva. Tras sumar las diferentes superficies (trapecios + triángulos) obtenemos el valor de ABC. Las unidades en las cuales se expresan son las resultantes de calcular la superficie de los trapecios, multiplicar un lado (concentración) y otro (tiempo) de los mismos, en µg h/ml, mg, días. Este parámetro es utilizado comúnmente para definir la biodisponibilidad de un fármaco.

Si bien el concepto de biodisponibilidad implica la velocidad y cuantía de absorción, cuando se habla que un fármaco formulado de una determinada forma tiene una biodisponibilidad oral del 80%, no se tiene en cuenta la velocidad de absorción del mismo. Podemos definir dos tipos diferentes de biodisponibilidad: absoluta y relativa. La biodisponibilidad absoluta implica comparar el ABC plasmática de un fármaco tras su administración iv (no hay absorción, el 100% del fármaco accede a la circulación sistémica) con el ABC plasmática obtenida para el mismo fármaco administrado por una vía diferente a la intravenosa (oral, intramuscular, etc.).¹⁹⁴

La biodisponibilidad relativa compara los valores de ABC para un mismo fármaco por diferentes vías (por ejemplo, oral vs intramuscular, subcutánea vs rectal, etc., quedando excluida en este cálculo las vías vasculares), o los valores de ABC para dos formulaciones diferentes de un mismo fármaco administrado por una misma vía (no-vascular). En este último caso el valor de biodisponibilidad relativa obtenido es utilizado para la determinación de la bioequivalencia farmacéutica junto con los valores de Tmax y Cmax. Es decir que para que dos formulaciones de un mismo fármaco fabricadas por diferentes proveedores sean bioequivalentes, debe demostrarse en un estudio farmacocinético que los valores de ABC, Cmax y Tmax sean similares.¹⁵³

2.10.5. Tiempo lag (Tlag, lag observado)

Es el tiempo que media entre la administración de un fármaco y su detección en un compartimento dado, el cual por lo general es el plasma. Si el método de detección no es sensible (detecta únicamente concentraciones relativamente altas del fármaco), puede suceder que el Tlag resulte de 10 h, cuando en realidad el fármaco aparece en plasma en concentraciones menores a las que podemos detectar a las 3 h. Este parámetro se expresa en unidades de tiempo (h, min, días, etc.).¹⁹⁵

2.10.6. Período de detección (PD)

Indica el intervalo de tiempo en el cual detectamos el fármaco tras su administración en el plasma, tejido o fluido orgánico bajo estudio. La absorción, distribución, metabolismo y eliminación determinarán el tiempo en el cual la droga se encontrará en el organismo. Nuevamente, la sensibilidad de los métodos analíticos utilizados para la determinación de las concentraciones del fármaco, van a influir directamente en el periodo de detección. Se expresa en unidades de tiempo o un rango de las mismas (h, días, etc. ó 2-72 h, etc.).¹⁹⁵

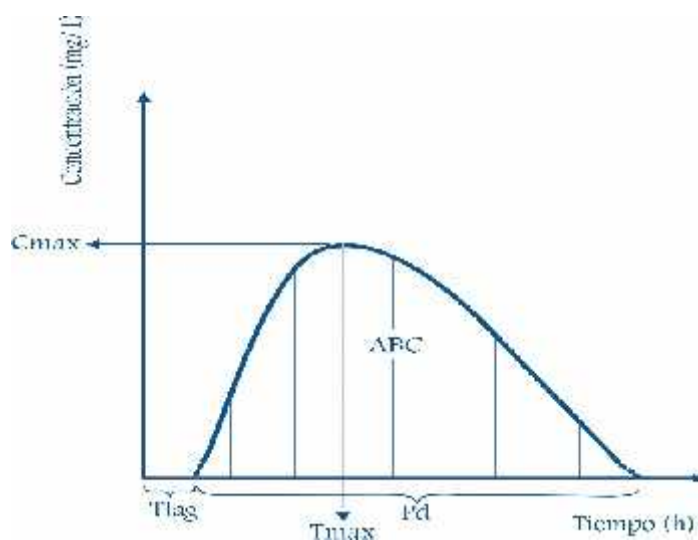


Fig. 8. Área bajo la curva de un fármaco-concentración plasmática vs tiempo.

Fuente: Botana *et al.*, 2002.

2.11. El Enfoque de la FDA – Unión Europea

Los principios en que se basa la evaluación de bioequivalencia y equivalencia terapéutica en los Estados Unidos han evolucionado a lo largo de muchos años, y fueron codificados en la ley de “restauración de la competencia en el precio de drogas y restauración de plazos de patentes” de 1984. El principio fundamental es que una droga aprobada (generalmente la formulación del producto innovador) existe con características de calidad y performance reproducibles. El

fabricante de un producto genérico puede establecer adecuada química, manufactura y controles para un producto, y elaborado de acuerdo con las buenas prácticas de manufactura (GPM), el requerimiento regulatorio restante es documentar la bioequivalencia entre la formulación genérica y la innovadora. Alcanzar tal objetivo, definido brevemente como “ausencia de diferencias significativa entre la velocidad y extensión de absorción entre el producto testigo y el de referencia,” se considera innecesario repetir los estudios de eficacia y seguridad requeridos al producto innovador de referencia.

Los puntos que se requieren un tratamiento técnico científico especial incluyen los siguientes:

Comparación entre las sustancias activas en las formulaciones: perfil de pureza, grado de hidratación y polimorfismo. Compatibilidad de los excipientes, incluyendo el potencial de interacciones, droga excipientes. Determinación de perfiles de concentración de droga cuando las concentraciones de droga o metabolito activo no son medibles en fluidos biológicos accesibles. Selección del producto innovador apropiados. Métodos estadísticos para evaluar la Bioequivalencia de nuevas formas farmacéuticas.⁶⁹

HIPÓTESIS

Hipótesis de investigación: Existe diferencia en la biodisponibilidad relativa de diferentes formulaciones comerciales conteniendo como principio activo TCBZ en bovinos mediante el análisis de HPLC.

VARIABLES

Variable Independiente

Diferentes formulaciones comerciales conteniendo TBZ y TCBZ de referencia. Triclabendazol es un benzimidazol halogenado.

Variable Dependiente

Biodisponibilidad relativa de TCBZ y sus metabolitos de las formulaciones comerciales. Es la cantidad de fármaco que llega de forma activa a la circulación sistémica y a la velocidad a la que accede.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ámbito de Estudio

Laboratorio de Inmunología e investigación Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca - Perú y Laboratorio de Farmacología, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA); Campus Universitario (7000) Tandil, Argentina. Este trabajo se realizó de agosto a diciembre del 2008.

3.1.2. Animales Experimentales

Para estudiar el perfil farmacéutico de TCBZ y sus metabolitos TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ en bovinos se utilizaron 30 terneras hembras de la raza Holsteín con un peso promedio de 249.899 Kg. Los animales pertenecieron a un fundo del valle de Cajamarca (Cajamarca - Perú). Estos animales dispusieron de forraje de buena calidad, se administró concentrado y libre acceso al agua y se encontraban en un óptimo estado sanitario.

3.1.3. Materiales de Laboratorio

Tubos de vacutainer de 7 ml

Tubos para suero de 3 ml

Centrífuga

Refrigeradora -18° C

Agitador

Sistemas de extracción de la fase sólida

Bomba de vacío

Columna cromatográfica: (Kromasil C18, EE.UU)

3.1.4. Sistema cromatográfico

El sistema cromatográfico utilizado fue un HPLC (Series HP Waldbrom, Alemania) constituido por:

Bomba cuaternaria

Desagitador

Inyector automático refrigerado

Horno para columna

Detector espectrofotométrico diodo de Array

3.1.5. Fármacos (Productos Químicos)

Normas Puras (97-99 %), TCBZ de referencia y sus metabolitos TCBZ.SO y TCBZS.O2 fueron proporcionadas por Novartis Animal Health (Basilea-Suiza). Oxibendazol, usado como patrón interno fue de (IS) Sigma- Aldrich Co (St Louis, Mo, EE.UU).

Los siguientes productos comerciales utilizados en el experimento conteniendo como principio activo TCBZ. El producto pionero Fasinex® (TCBZ 10%, Novartis, Perú) se consideró la formulación de referencia (Grupo I), el cual fue el producto pionero original y autorizado con un expediente completo. Las formulaciones testigo utilizadas fueron: Bilevon (12% suspensión, Bayer S.A., Perú); Trisan (12% suspensión, Montana S.A., Lima, Perú), Zolinex Dorado, (12.5% de suspensión Biomont S.A., Lima, Perú); y Zoliplus 12% de suspensión, Innova Andina, Lima, Perú).

3.1.6. Diseño experimental

Para el estudio farmacocinético de TCBZ y sus metabolitos TCBZSO y TCBZSO2 en terneras se utilizó un diseño paralelo. Los animales se dividieron al azar en 5 grupos experimentales (n=6). Todos los animales fueron tratados con TCBZ por vía oral a dosis de 12 mg/Kg de peso corporal.

La dosis fue calculada individualmente de acuerdo al peso. Uno de los grupos tratados se dosificó con la formulación de referencia (Fasinex®, Grupo I), mientras que los otros 4 grupos testigo se dosificaron con formulaciones comerciales genéricas, fueron adjudicadas al azar (Grupo II, III, IV y V, respectivamente). Las formulaciones comerciales copia empleadas (en orden alfabético) fueron Bilevon® (TCBZ, suspensión 12% p.v.); Trisan® (TCBZ, suspensión 12 %); Zoliplus® (TCBZ, suspensión 12%) y Zolinex Dorado (TCBZ, suspensión 12,5%). El procedimiento del protocolo animal se llevó a cabo de acuerdo con la política de bienestar animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Cajamarca - Perú (www.unc.edu.pe).

3.1.7. Obtención de Muestras

Muestras de sangre (5 ml) fueron obtenidas por punción de la vena yugular de cada animal en tubos heparinizados (Vacutainer®, Becton Dickinson, N.J., USA) previo al tratamiento y a los siguientes tiempos post-tratamiento: 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 h post-tratamiento.

3.1.8. Unidad de Análisis

Las muestras de sangre fueron centrifugadas (3000 rpm, durante 15 min). El plasma obtenido se colocó en tubos de plástico fue identificado y congelado (-20° C) hasta el momento de su análisis por HPLC.

3.2. Estudio Farmacocinético

3.2.1. Metodología analítica

El dosaje de TCBZ/metabolitos en plasma bovino se realizó siguiendo la metodología analítica desarrollada en el laboratorio de Farmacología y Fisiopatología del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Campos Universitario (7000) Tandil Argentina, que ha sido extensamente validada y probada en los últimos años. Los métodos empleados para la

cuantificación de TCBZ/metabolitos en plasma bovino, fueron sometidos a un exhaustivo proceso de validación analítica siguiendo normas internacionalmente reconocidas. Para ello, se determinaron los siguientes parámetros de validación: especificidad, estabilidad, linealidad, porcentaje de recuperación, precisión analítica (repetibilidad y reproducibilidad), exactitud y límites de detección y cuantificación.

3.2.2. Extracción físico-química

Para la extracción físico-química de TCBZ/metabolitos de plasma bovino se procedió de la siguiente forma:

1 ml de plasma + 20 µl de estándar interno (oxibendazole, 50 µg/ml) + 2 ml de acetonitrilo. Esta mezcla se procesó según detalle:

1. Agitar 20 minutos (velocidad máxima)
2. Centrifugar 15 minutos (4000 rpm, 4° C)
3. Recuperar el sobrenadante
4. Evaporar
5. Re suspender con 200 µl de acetonitrilo
6. Agitar 5 minutos (velocidad 5)
7. Adicionar 300 µl de agua (ultra pura)
8. Agitar 5 minutos (velocidad 5)
9. Centrifugar 5 minutos (3000 rpm, 4° C)
10. Trasvasar a viales e inyectar en HPLC.

3.2.3.- Condiciones cromatográficas

1. Fase móvil:

- a) Acetato de amonio 0.025 M (pesar 1,93 g/l de agua) + ácida sódica (0,1g)

Ajustar el pH a 6,6 y filtrar

b) acetonitrilo calidad HPLC

2. Columna cromatográfica: Kromasil C18 (4,6 x 25 cm)

3. Método cromatográfico

Tiempo	% acetonitrilo (B)
0-5 min	52
5-6 min	64
6-12 min	64
12-13 min	52
13-16 min	52
16 min	STOP

3. Flujo: 1,2 ml/min

4. Lectura: 300 nm

3.2.4. Parámetros de validación

3.2.4.1. Especificidad

Se determinó la especificidad del método comparando cromatogramas de muestras de plasma blanco (n= 6) con cromatogramas de muestras de plasma suplementadas con los analitos, demostrando la capacidad del mismo de resolver los analitos ante la presencia de posibles compuestos endógenos en la elusión.

3.2.4.2. Linealidad

La linealidad se analizó midiendo la relación concentración de droga/respuesta del detector. Se analizaron patrones de

TCBZ/metabolitos extraídos desde el plasma por triplicado de las siguientes concentraciones: 0.1, 0.5, 1, 3, 5 y 15 µg/ml. Se realizaron análisis de regresión lineal utilizando el método de los cuadrados mínimos (INSTAT 3.0, Graph Pad Software Inc. San Diego, USA), obteniéndose los respectivos coeficientes de correlación. Las concentraciones de TCBZ/metabolitos se calcularon comparando las áreas bajo el pico de los analitos con la del estándar interno (oxibendazol) utilizando el software Class LC10 (Shimadzu-10A, Kyoto, Japón). Las relaciones de áreas fueron interpoladas en las respectivas curvas de calibración y las concentraciones calculadas de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$Y = a \cdot X + b$$

Donde,

Y = área analito (TCBZ.SO-TCBZ.SO₂)/área OBZ (estandar interno)

a = pendiente de la línea de regresión

X = concentración de droga en plasma

b = intersección de la recta

3.2.4.3. Porcentaje de recuperación

El porcentaje de recuperación absoluto desde el plasma bovino se determinó a partir de la comparación de las áreas absolutas obtenidas de muestras blanco de plasma fortificadas con TCBZ/metabolitos a tres niveles de concentración (0,5; 1 y 3 µg/ml) (n = 6 para cada concentración) con aquellas obtenidas por inyección directa de estándares en fase móvil.

3.2.4.4. Precisión analítica

La repetibilidad (variabilidad intra-día) del método analítico se evaluó determinando el coeficiente de variación (CV) obtenido tras la extracción química y análisis cromatográfico en un mismo día de muestras blanco de plasma bovino fortificadas con TCBZ/metabolitos a tres niveles de concentración (0,5; 1 y 3 µg/ml) (n = 6 para cada concentración). Los correspondientes CV se obtuvieron según la siguiente ecuación:

$$cv = \frac{\text{Desvio estándar}}{\bar{X}} * 100$$

3.2.4.5. La reproducibilidad

La reproducibilidad (variabilidad inter-día) se evaluó determinando el coeficiente de variación (CV) obtenido tras la extracción química y análisis cromatográfico, en diferentes días de trabajo, de muestras blanco de plasma bovino fortificadas con TCBZ/metabolitos a tres niveles de concentración (0.5, 3 y 15 µg/ml) (n=6 para cada concentración).

3.2.4.6. Exactitud

La exactitud representa la proximidad del valor de concentración encontrado al valor verdadero. Para su determinación se llevó a cabo la extracción química y análisis cromatográfico de muestras blanco de plasma bovino fortificadas con TCBZ/metabolitos a tres niveles de concentración (0.5, 3 y 15 µg/ml) (n = 6 para cada concentración). El cálculo de la misma corresponde al error relativo (valor aceptado ± 20%) obtenido con la siguiente fórmula:

$$E = \frac{Y - V}{V} * 100$$

Donde,

E = exactitud

Y = valor de concentración encontrado y,

V = valor nominal considerado como verdadero.

3.2.4.7. Límite de detección y cuantificación

Se consideró límite de detección (LD) al promedio del ruido de la línea de base más 3 desvíos estándar obtenidos tras el análisis de muestras blanco (n = 6) de plasma bovino. Se consideró límite de cuantificación (LC) a la mínima concentración analizada de TCBZ/metabolitos que tuviese un coeficiente de variación < 20%, un porcentaje de recuperación 70% y una exactitud de ± 20%.

3.3. Análisis Farmacocinético

El análisis farmacocinética se realizó utilizando el programa PK solutions (Summit Research Services, USA). La biodisponibilidad relativa de los diferentes productos comerciales conteniendo TCBZ fue determinada comparando los parámetros de área bajo la curva concentración plasmática vs tiempo (ABC), concentración plasmática máxima (Cmax) y tiempo en que se obtiene el Cmax (Tmax).

3.3.1. Criterios de Bioequivalencia

Para la determinación de la bioequivalencia y/o no bioequivalencia de las formulaciones estudiadas, se siguieron los criterios detallados en las “Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary

medicinal products” emitidas por *The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products* (EMA/CVMP/016/00-corr-FINAL). Dicho documento establece que para el parámetro Área Bajo la curva concentración vs tiempo (ABC) y concentración máxima (C_{max}), teniendo en cuenta un intervalo de confianza del 90%, el cociente entre los valores obtenidos para el producto a evaluar y el producto de referencia debe ser contenido entre 80-125%.

3.3.2. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticas obtenidos, métodos para métricos (ANOVA + Tuckey) o no para métricos (Mann-Whitney) según el caso fueron empleados. Un valor de $P < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Validación Metodológica

La metodología analítica utilizada para el dosaje de los metabolitos de TCBZ en plasma fue adecuadamente validada. Se presentan los resultados obtenidos para los metabolitos TCBZ.SO y TCBZ.SO₂, dado que la droga madre no es detectada en plasma en ningún tiempo post-tratamiento. El método fue específico para detectar TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ en plasma, no encontrándose compuestos endógenos que interfirieran con la cuantificación del analito ambos metabolitos se midieron hasta 168 horas después del tratamiento. La linealidad se determinó usando análisis de regresión lineal por el método de los cuadrados mínimos, obteniéndose coeficientes de correlación de 0.999.

La Tabla 1 muestran las concentraciones evaluadas para verificar la linealidad (TCBZ.SO y TCBZ.SO₂). Las Figuras 9 y 10 muestran las rectas de calibración obtenidas junto con las ecuaciones correspondientes. Las Tablas 2, 3, 4 y 5 muestran los resultados de la repetibilidad y reproducibilidad para TCBZ.SO y TCBZ.SO₂. El porcentaje de recuperación se muestra en las Tablas 6 y 7. La exactitud del método se muestra en la Tabla 8 (TCBZ.SO) y 9 (TCBZ.SO₂). En las Tablas 10 y 11 se muestra el cálculo del límite de detección. El límite de cuantificación fue establecido como la menor concentración utilizada al evaluar la linealidad. Estos resultados se encuadran dentro de las especificaciones mínimas expresadas para establecer dicho límite.

4.2. Concentraciones Plasmáticas y Análisis Farmacocinético

Las Tablas 12 a 21 muestran las concentraciones de TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ en cada uno de los animales de los grupos experimentales evaluados (Grupo I a V, Anexo).

Las figuras 11 a 14 muestran las concentraciones plasmáticas promedio de TCBZ.SO en el grupo de referencia (Grupo I) en forma comparativa con las concentraciones de metabolitos obtenidos en los grupos experimentales (Grupos II a V). Las tablas de la 22 a 31 muestran los parámetros farmacocinéticos obtenidos para TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ en los diferentes grupos experimentales.

Las tablas de la 32 a 34 muestran los parámetros farmacocinéticos obtenidos de bioequivalencia para TCBZ.SO en los diferentes grupos experimentales.

La tabla 35. Se resume los parámetros de validación obtenidos para TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ después de administración oral de las diferentes formulaciones y la de RF.

La tabla 36. Se resume los parámetros farmacocinéticos del plasma obtenidos para TCBZ.SO después de la administración oral de las formulaciones analizadas donde la prueba II, no fue diferente a la formulación Pionera (RF) para los parámetros evaluados, en las formulaciones de análisis (Prueba III, IV y V) existen diferencias significativas para el análisis de comparación ABC₀- LOQ, en comparación con la de RF.

La tabla 37. Se muestra los parámetros obtenidos para TCBZ.SO₂ donde no se observan diferencias entre la RF, y los III, IV y V pruebas testigos.

La tabla 38. Muestra el resumen de biodisponibilidad relativa y bioequivalencia de las formulaciones evaluadas con el producto de referencia (RF). Mediante las relaciones de medias geométricas, C_{max} y ABC₀- LOQ para TCBZ.SO que estuvo dentro de los parámetros de 0.8 y 1.25 para la prueba II, en las que las estimaciones puntuales y el IC del 90% de los parámetros farmacocinéticos evaluados. Las pruebas III, IV y V no se encuentran bajo estos parámetros de ABC y límite de confianza.

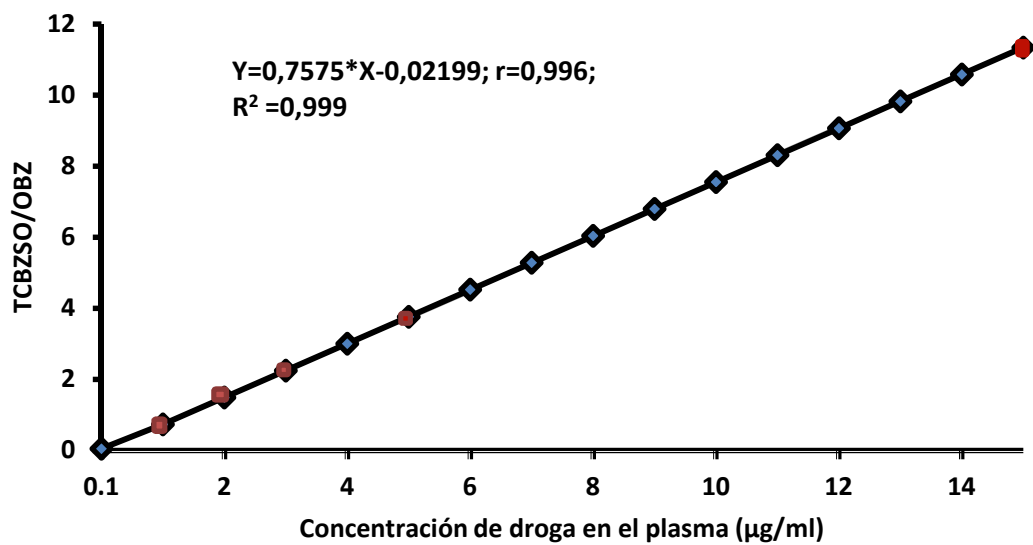


Fig. 9. Curva de Calibración obtenida tras el análisis de patrones de TCBZ.SO extraídos desde el plasma por triplicado de las siguientes concentraciones: 0,1, 0,5, 1, 3, 5 y 15 µg/ml.

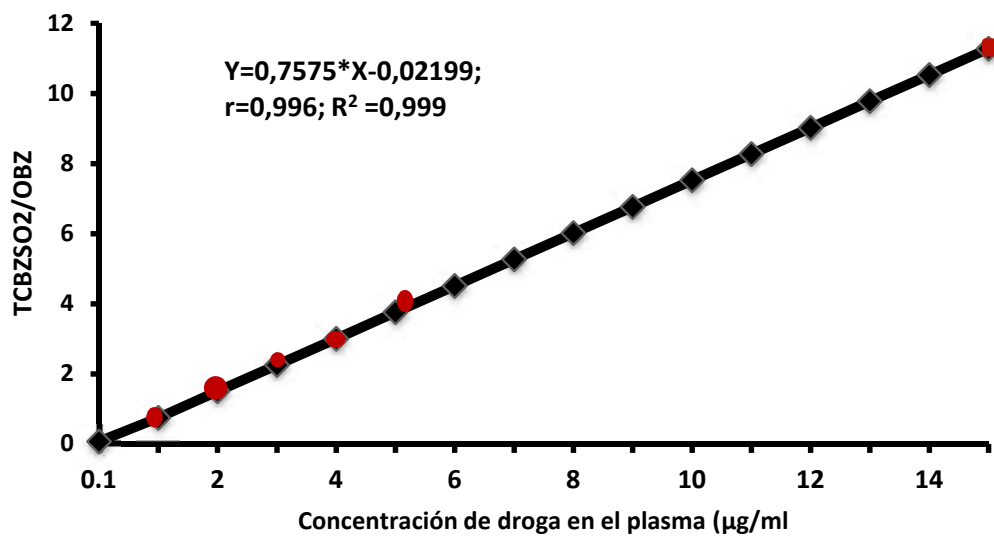


Fig. 10. Curva de Calibración obtenida tras el análisis de patrones de TCBZ.SO2 extraídos desde el plasma por triplicado de las siguientes concentraciones: 0,1, 0,5, 1, 3, 5 y 15 µg/ml.

Tabla 1. Linealidad de la respuesta del detector obtenida tras la inyección de patrones de TCBZ.SO y TCBZ.SO2 desde 0,1 hasta 5 µg/ml en plasma bovino (rango de calibración).

Concentración TCBZSO/SO2 (µg/ml)	TCBZSO/OBZ (*)	TCBZSO2/OBZ (*)
0,10	0,05	0,06
	0,07	0,07
	0,06	0,06
0,50	0,38	0,39
	0,36	0,37
	0,35	0,37
1,00	0,70	0,73
	0,69	0,72
	0,70	0,73
3,00	2,36	2,36
	2,13	2,15
	2,09	2,10
5,00	3,74	3,72
	3,80	3,78
	4,07	4,09
15,00	11,15	11,09
	11,36	11,29
	11,45	11,38

(*) Relación de áreas de los picos obtenidos para TCBZSO/SO2 y el estándar interno Oxibendazol (OBZ) en plasma bovino.

Tabla 2. Repetibilidad (variación intra – día) del método de extracción química y análisis por HPLC para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en plasma bovino (n = 6). Repetibilidad promedio (3 determinaciones): 3,89

Concentración TCBZ.SO (µg/ml)	TCBZSO / OBZ (*)	Promedio	Repetibilidad CV (%)
0,5	0,28 0,32 0,30 0,31 0,31 0,31	0,30	3,97
3,0	2,33 2,15 2,09 2,32 2,29 2,25	2,24	4,34
15,0	12,05 11,41 10,93 11,12 11,40 11,49	11,40	3,36

(*) Relación de áreas de los picos obtenidos para TCBZ.SO y el estándar interno oxibendazol (OBZ) en plasma bovino. CV: coeficiente de variación.

Tabla 3. Repetibilidad (variación intra – día) del método de extracción química y análisis por HPLC para Triclabendazol Sulfona (TCBZSO₂) en plasma bovino (n = 6). Repetibilidad promedio (3 determinaciones): 4,13

Concentración TCBZ.SO (µg/ml)	TCBZSO / OBZ (*)	Promedio	Repetibilidad CV (%)
0,5	0,30 0,35 0,33 0,33 0,32 0,33	0,30	4,99
3,0	2,37 2,18 2,14 2,33 2,32 2,26	2,26	4,09
15,0	12,04 11,41 10,93 11,14 11,42 11,51	11,51	3,31

(*) Relación de áreas de los picos obtenidos para TCBZ.SO y el estándar interno Oxibendazol (OBZ) en plasma bovino. CV: coeficiente de variación.

Tabla 4. Reproducibilidad (variación inter – día) del método de extracción química y análisis por HPLC para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en plasma bovino (n = 6). Repetibilidad promedio (3 determinaciones): 5,18

Concentración TCBZ.SO (µg/ml)	TCBZ.SO / OBZ (*)	Promedio	Repetibilidad CV (%)
0,5	0,33 0,51 0,32 0,31 0,31 0,37	0,32	3,25
3,0	2,21 1,96 2,01 2,32 2,68 2,47	2,13	7,83
15,0	10,54 10,14 11,24 10,93 14,75 13,27	10,71	4,46

(*) Relación de áreas de los picos obtenidos para TCBZ.SO y el estándar interno Oxibendazol (OBZ) en plasma bovino. CV: coeficiente de variación.

Tabla 5. Reproducibilidad (variación inter – día) del método de extracción química y análisis por HPLC para Triclabendazol Sulfona (TCBZ.SO2) en plasma bovino (n = 6). Repetibilidad promedio (3 determinaciones): 6,04

Concentración TCBZ.SO (µg/ml)	TCBZSO / OBZ (*)	Promedio	Repetibilidad CV (%)
0,5	0,36 0,37 0,34 0,32 0,36 0,40	0,34	6,71
3,0	2,24 2,01 2,04 2,33 2,66 2,56	1,16	7,22
15.0	10,53 10,18 11,22 10,93 14,71 13,25	10,73	4,18

(*) Relación de áreas de los picos obtenidos para TCBZ.SO y el estándar interno Oxibendazol (OBZ) en plasma bovino. CV: coeficiente de variación.

Tabla 6. Porcentaje de recuperación del método de extracción química y análisis por HPLC para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en plasma bovino (n = 6). Recobre promedio general: 90,3

Concentración TCBZ.SO (µg/ml)	ABP en metanol	ABP en plasma	Recuperación (%)
0,5		70841	94,5
		66233	88,4
		71642	95,6
		66489	88,7
		51621	68,9
		73453	98,0
Promedio	74959		89,0
3,0		489040	93,8
		413166	79,3
		470169	90,2
		454472	87,2
		484567	93,0
		479471	92,0
Promedio	521237		89,2
15,0		2297241	90,4
		2224034	87,5
		2426895	95,5
		2329470	91,6
		2333630	91,8
		2540456	99,9
Promedio	2541922		92,8

ABP: Área bajo el pico cromatográfico.

Tabla 7. Porcentaje de recuperación del método de extracción química y análisis por HPLC para Triclabendazol Sulfona (TCBZ.SO₂) en plasma bovino (n = 6). Recobre promedio general: 92,2

Concentración TCBZ.SO (µg/ml)	ABP en metanol	ABP en plasma	Recuperación (%)
0,5		76586	96,7
		77899	98,3
		74828	94,4
		68563	86,5
		58552	73,9
		79334	100,1
Promedio	79228		91,7
3,0		496665	95,7
		422935	81,5
		471532	90,8
		457180	88,1
		480813	92,6
		497097	95,8
Promedio	519066		90,7
15,0		2306734	92,1
		2233758	89,1
		2423061	96,7
		2329656	93,0
		2328062	92,9
		2537274	101,3
Promedio	2505640		94,2

ABP: Área bajo el pico cromatográfico.

Tabla 8. Exactitud del método de extracción química y análisis por HPLC para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en plasma bovino (n = 6). Recobre promedio general: -5,44

Concentración TCBZ.SO adicionada (µg/ml)	Concentración cuantificada (µg/ml)	Exactitud ⁽¹⁾ (%)
0,5	0,40	- 25,3
	0,45	- 10,9
	0,43	- 17,6
	0,44	- 14,2
	0,44	- 14,2
	0,44	- 14,2
Promedio		- 16,0
3,0	3,11	3,4
	2,87	- 4,6
	2,79	- 7,6
	3,09	3,0
	3,05	1,7
	3,00	- 14,2
Promedio		- 0,7
15,0	15,94	5,9
	15,09	0,6
	14,46	- 3,8
	14,71	- 2,0
	15,03	0,5
	15,20	1,3
Promedio		0,4

(1) Se expresa el porcentaje de desviación de los valores obtenidos respecto a los valores reales.

Tabla 9. Exactitud del método de extracción química y análisis por HPLC para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO₂) en plasma bovino (n = 6).

Recobre promedio general: -4,42

Concentración TCBZ.SO (µg/ml)	Concentración cuantificada (µg/ml)	Exactitud ⁽¹⁾ (%)
0,5	0,40	- 24,7
	0,47	- 6,8
	0,44	- 13,4
	0,44	- 13,4
	0,43	- 16,8
	0,44	- 13,4
Promedio		- 14,7
3,0	3,15	4,9
	2,90	- 3,4
	2,85	- 5,3
	3,10	3,3
	3,09	2,8
	3,01	0,3
Promedio		0,4
15,0	16,02	6,3
	15,13	1,2
	14,54	- 3,2
	14,32	- 1,2
	15,19	1,3
	15,31	2,0
Promedio		1,1

(1) Se expresa el porcentaje de desviación de los valores obtenidos respecto a los valores reales.

Tabla 10. Cálculo del límite de detección para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZSO) en plasma bovino (n = 6).

Muestra de plasma Blanco	Relación área del “ruido” de línea de base al tiempo de detección de TCBZ.SO / área OBZ
1	0,0005
2	0,0010
3	0,0002
4	0,0006
5	0,0012
6	0,0019
Promedio ± DE	0,0009 ± 0,0006
Promedio + 3 DE	0,0018
Límite de detección (µg/ml)	0,031

OBZ: Oxibendazol (estándar interno).

Tabla 11. Cálculo del límite de detección para Triclabendazol Sulfona (TCBZS.O2) en plasma bovino (n = 6).

Muestra de plasma Blanco	Relación área del “ruido” de línea de base al tiempo de detección de TCBZ.SO2 / área OBZ
1	0,0199
2	0,0195
3	0,0074
4	0,0240
5	0,0347
6	0,0270
Promedio ± DE	0,0221 ± 0,0091
Promedio + 3 DE	0,0273
Límite de detección (µg/ml)	0,039

OBZ: Oxibendazol (estándar interno).

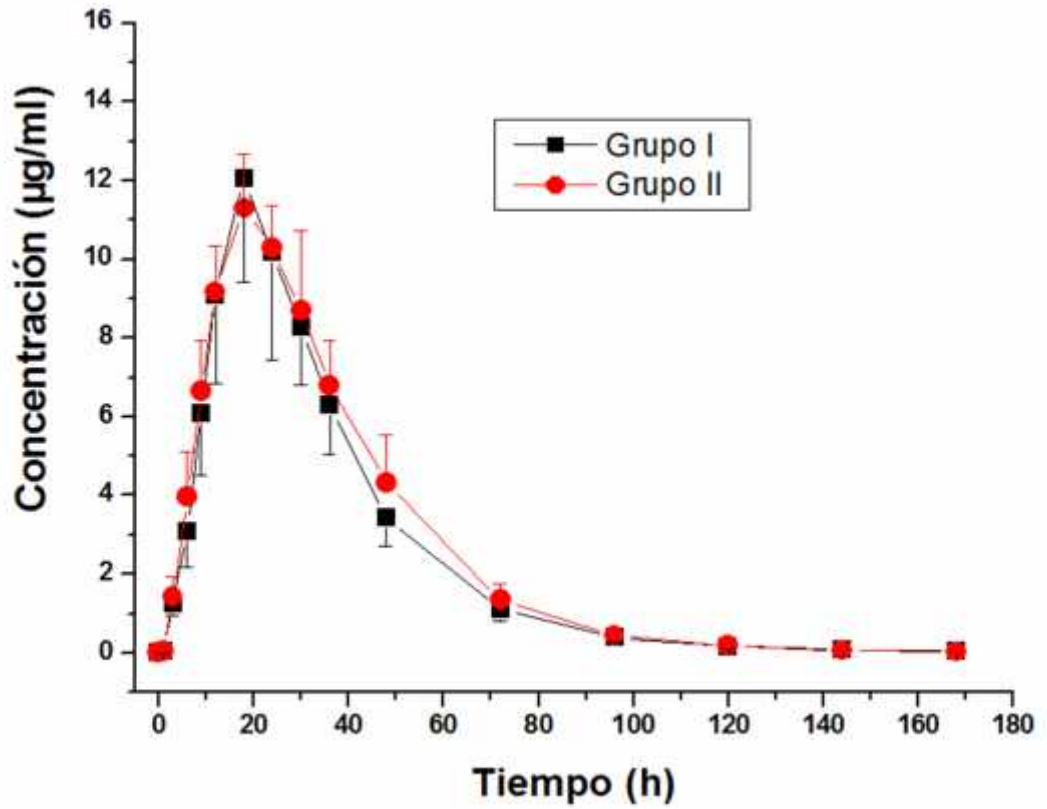


Fig. 11. Concentraciones (Media \pm DE) de Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en el plasma de bovinos tratados con Fasinex® (Grupo I, Producto de referencia) y Bilevon® (Grupo II).

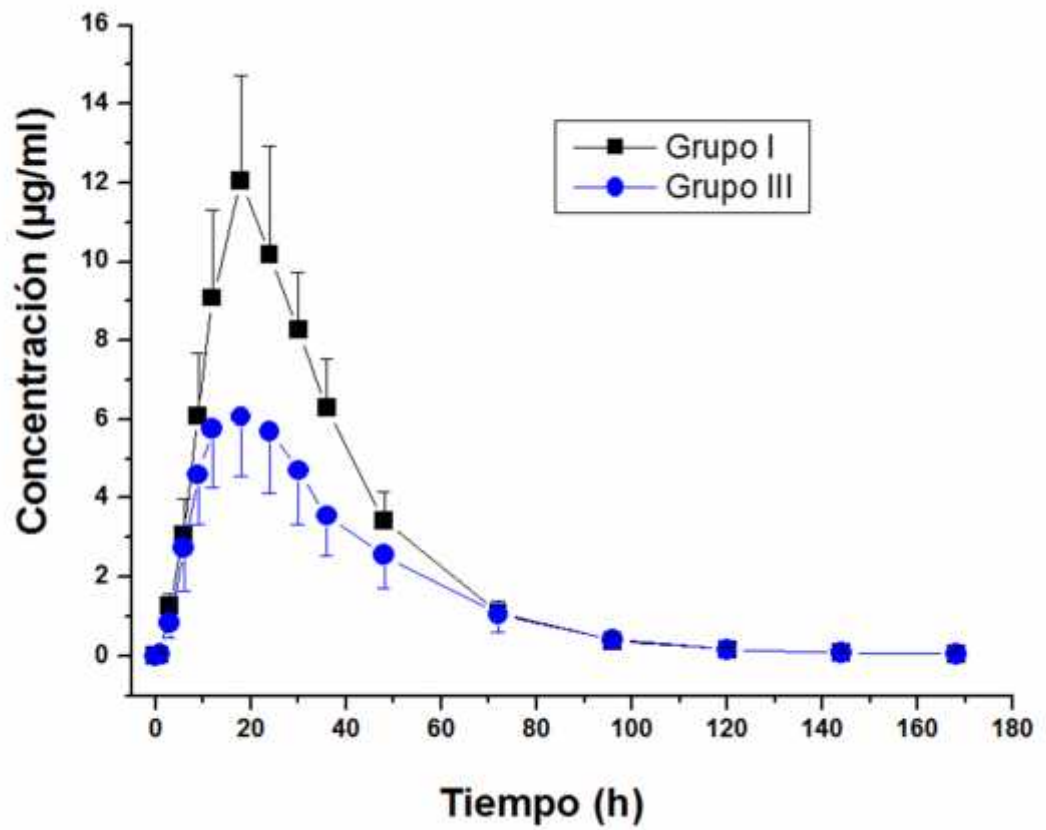


Fig. 12. Concentraciones (media \pm DE) de Triclabendazol Sulfóxido (TCBZSO) en plasma de bovinos tratados con Fasinex® (Grupo I, producto de referencia) o Trisan® (Grupo III).

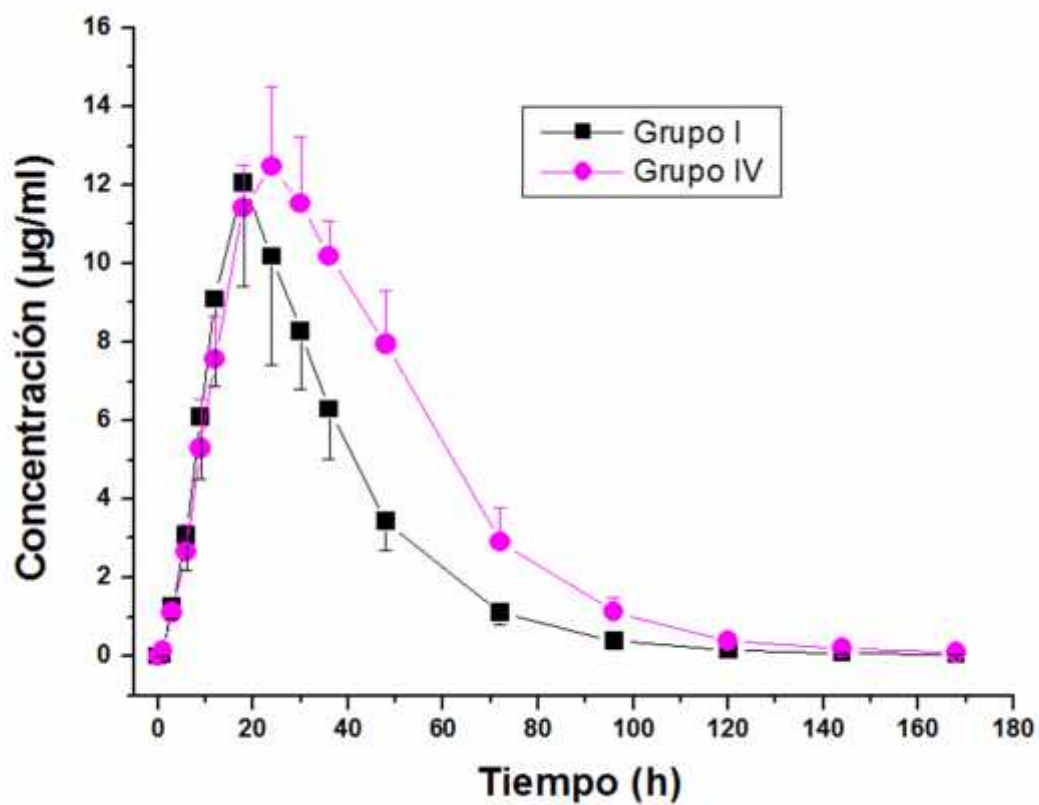


Fig. 13. Concentraciones (media \pm DE) de Triclabendazol Sulfóxido (TCBZSO) en plasma de bovinos tratados con Fasinex[®] (Grupo I, producto de referencia) o Zoliplus[®] (Grupo IV).

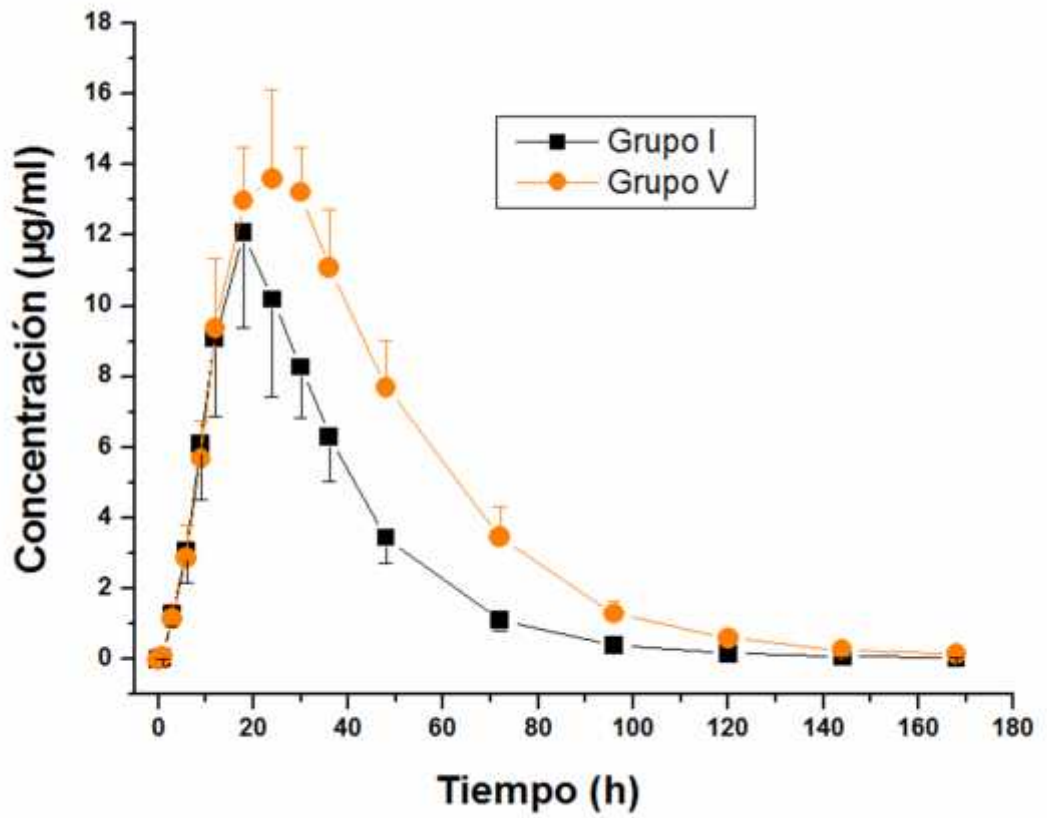


Fig. 14. Concentraciones (media \pm DE) de Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en plasma de bovinos tratados con Fasinex[®] (Grupo I, producto de referencia) o Zolindex dorado[®] (Grupo V).

Tabla 22. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) obtenidos tras la administración oral de Fasinex (Grupo I, Triclabendazol) por vía oral en bovinos.

Parámetros Farmacocinéticos	Animal N°							
	1	2	3	4	5	6	Media	DE
T ½ for /h)	4,62	5,28	4,23	4,94	4,06	7,25	5,06	1,16
Cmax (µg/ml)	14,2	15,7	10,2	13,30	9,90	9,20	12,08	2,67
Tmax (h)	18,0	18,0	18,0	24,0	18,0	18,0	19,00	2,45
ABC_(0-t) (µg.h/ml)	436,2	465,6	418,1	491,1	356,6	331,8	418,1	60,2
TMR (h)	30,8	28,9	36,8	33,6	33,8	35,3	33,2	2,9
T ½ el (h)	15,8	16,0	19,1	16,3	17,3	18,5	17,2	1,4

T ½ for: tiempo medio de formación. **Cmax:** máxima concentración plasmática. **Tmax:** tiempo en que se alcanza el Cmax. **ABC_(0-t):** área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. **TMR:** tiempo medio de residencia. **T ½ el:** tiempo medio de eliminación.

Tabla 23. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para Triclabendazol Sulfona (TCBZS.O2) obtenidos tras la administración oral de Fasínex® (Grupo I, Triclabendazol) por vía oral en bovinos.

Parámetros Farmacocinéticos	Animal N°							
	1	2	3	4	5	6	Media	DE
T ½ for (h)	13,4	14,3	18,5	15,3	16,1	15,4	15,5	1,7
Cmax (µg/ml)	29,0	40,3	28,5	22,8	24,7	21,1	27,7	6,9
Tmax (h)	36,0	36,0	72,0	48,0	48,0	48,0	48,0	13,1
ABC_(0-t) (µg.h/ml)	2666,8	3405,8	2859,3	2104,9	2344,5	1922,5	2550,6	543,3
TMR (h)	95,5	75,0	100,0	92,6	91,5	85,2	90,1	8,5
T ½ el (h)	49,5	33,7	46,5	42,4	42,6	38,2	42,2	5,7

T ½ for: tiempo medio de formación. **Cmax:** máxima concentración plasmática. **Tmax:** tiempo en que se alcanza el Cmax. **ABC_(0-t):** área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. **TMR:** tiempo medio de residencia. **T ½ el:** tiempo medio de eliminación.

Tabla 24. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZSO) obtenidos tras la administración oral de Bilevon® (Grupo II, Triclabendazol) por vía oral en bovinos.

Parámetros Farmacocinéticos	Animal N°							
	1	2	3	4	5	6	Media	DE
T ½ for (h)	5,4	5,5	4,1	6,6	5,6	4,4	5,3	0,9
Cmax (µg/ml)	12,0	12,1	10,2	10,4	13,0	11,2	11,5	1,1
Tmax (h)	18,0	18,0	12,0	24,0	18,0	18,0	18,0	3,8
ABC_(0-t) (µg.h/ml)	507,3	494,8	398,7	451,6	489,5	337,9	446,6	66,3
TMR (h)	33,6	36,1	32,0	35,9	35,8	29,8	33,9	2,6
T ½ el (h)	16,2	17,1	17,1	17,1	16,8	15,0	16,5	0,8

T ½ for: tiempo medio de formación. **Cmax:** máxima concentración plasmática. **Tmax:** tiempo en que se alcanza el Cmax. **ABC_(0-t):** área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. **TMR:** tiempo medio de residencia. **T ½ el:** tiempo medio de eliminación.

Tabla 25. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para Triclabendazol Sulfona (TCBZSO₂) obtenidos tras la administración oral de Bilevon® (GrupoII, Triclabendazol) por vía oral en bovinos.

Parámetros Farmacocinéticos	Animal N°							
	1	2	3	4	5	6	Media	DE
T_{1/2 for} (h)	17,6	17,6	17,7	17,5	20,4	15,5	17,7	1,5
C_{max} (µg/ml)	25,4	21,0	22,1	27,2	24,0	23,6	23,9	2,2
T_{max} (h)	48,0	48,0	48,0	48,0	72,0	48,0	52,0	9,8
ABC_(0-t) (µg.h/ml)	2524,8	1997,0	2340,8	2739,2	2531,2	2176,6	2384,9	269,2
TMR (h)	102,8	95,6	102,3	96,8	96,8	82,1	95,2	7,7
T_{1/2 el} (h)	49,6	44,1	51,0	45,7	45,7	36,6	44,4	5,6

T_{1/2 for}: tiempo medio de formación. **C_{max}:** máxima concentración plasmática. **T_{max}:** tiempo en que se alcanza el C_{max}. **ABC_(0-t):** área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. **TMR:** tiempo medio de residencia. **T_{1/2 el}:** tiempo medio de eliminación.

Tabla 26. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) obtenidos tras la administración oral de Trisan® (Grupo III, Triclabendazol) por vía oral en bovinos.

Parámetros Farmacocinéticos	Animal N°							
	1	2	3	4	5	6	Media	DE
T ½ for (h)	5,4	3,1	4,6	2,5	5,5	3,7	4,2	1,2
Cmax (µg/ml)	7,9	4,6	7,1	7,4	4,6	18,0	8,3	5,0
Tmax (h)	18,0	12,0	24,0	18,0	18,0	5,2	15,9	6,5
ABC_(0-t) (µg.h/ml)	386,2	178,6	320,0	294,1	216,6	217,7	268,9	78,1
TMR (h)	39,2	35,0	38,2	35,7	41,0	34,5	37,3	2,6
T ½ el (h)	20,2	20,1	21,5	19,5	20,8	20,0	20,4	0,7

T ½ for: tiempo medio de formación. **Cmax:** máxima concentración plasmática. **Tmax:** tiempo en que se alcanza el Cmax. **ABC_(0-t):** área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. **TMR:** tiempo medio de residencia. **T ½ el:** tiempo medio de eliminación.

Tabla 27. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para Triclabendazol Sulfona (TCBZSO₂) obtenidos tras la administración oral de Trisan® (Grupo III, Triclabendazol) por vía oral en bovinos.

Parámetros Farmacocinéticos	Animal N°							
	1	2	3	4	5	6	Media	DE
T_{1/2 for} (h)	19,0	13,7	15,7	14,0	15,7	9,9	14,7	3,0
C_{max} (µg/ml)	30,7	26,7	30,8	26,9	30,7	26,5	28,7	2,2
T_{max} (h)	72,0	48,0	48,0	48,0	48,0	48,0	52,0	9,8
ABC_(0-t) (µg.h/ml)	3073,5	2657,5	3237,2	2602,8	2859,5	2476,3	2817,8	293,8
TMR (h)	93,4	94,6	111,7	97,4	97,9	98,1	98,9	6,6
T_{1/2 el} (h)	42,2	48,9	58,9	49,3	46,3	54,0	49,9	5,9

T_{1/2 for}: tiempo medio de formación. **C_{max}**: máxima concentración plasmática. **T_{max}**: tiempo en que se alcanza el C_{max}. **ABC_(0-t)**: área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. **TMR**: tiempo medio de residencia. **T_{1/2 el}**: tiempo medio de eliminación.

Tabla 28. Parámetros farmacocinéticos (media \pm DE) para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZSO) obtenidos tras la administración oral de Zoliplus® (Grupo IV, Triclabendazol) por vía oral en bovinos.

Parámetros Farmacocinéticos	Animal N°							
	1	2	3	4	5	6	Media	DE
T $\frac{1}{2}$ for (h)	6,7	8,0	8,7	7,0	9,4	8,1	8,0	1,0
Cmax (μg/ml)	10,4	11,4	13,5	15,7	13,1	11,7	12,6	1,9
Tmax (h)	18,0	24,0	30,0	24,0	24,0	24,0	24,0	3,8
ABC_(0-t) (μg.h/ml)	493,3	587,5	660,7	621,8	701,6	654,5	619,9	73,0
TMR (h)	37,3	41,1	41,7	37,8	45,1	46,3	41,6	3,7
T $\frac{1}{2}$ el (h)	17,3	18,1	18,7	17,8	21,1	22,2	19,2	2,0

T $\frac{1}{2}$ for: tiempo medio de formación. **Cmax:** máxima concentración plasmática. **Tmax:** tiempo en que se alcanza el Cmax. **ABC_(0-t):** área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. **TMR:** tiempo medio de residencia. **T $\frac{1}{2}$ el:** tiempo medio de eliminación.

Tabla 29. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para Triclabendazol Sulfona (TCBZS.O2) obtenidos tras la administración oral de Zoliplus® (Grupo IV, Triclabendazol) por vía oral en bovinos.

Parámetros Farmacocinéticos	Animal N°							
	1	2	3	4	5	6	Media	DE
T ½ for (h)	16,8	17,4	17,5	20,4	13,6	16,7	17,7	2,2
Cmax (µg/ml)	27,6	25,0	34,2	22,1	33,1	25,4	27,9	4,8
Tmax (h)	48,0	72,0	48,0	48,0	72,0	48,0	56,0	12,4
ABC_(0-t) (µg.h/ml)	2695,6	2681,0	3653,7	2133,9	3484,0	2857,6	2917,6	563,2
TMR (h)	95,5	110,8	128,7	112,0	131,4	155,6	122,3	20,9
T ½ el (h)	44,7	50,8	67,8	53,7	65,4	83,4	61,0	14,1

T ½ for: tiempo medio de formación. **Cmax:** máxima concentración plasmática. **Tmax:** tiempo en que se alcanza el Cmax. **ABC_(0-t):** área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. **TMR:** tiempo medio de residencia. **T ½ el:** tiempo medio de eliminación.

Tabla 30. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) obtenidos tras la administración oral de Zolindex dorado® (Grupo V, Triclabendazol) por vía oral en bovinos.

Parámetros Farmacocinéticos	Animal N°							
	1	2	3	4	5	6	Media	DE
T ½ for (h)	5,3	7,6	8,8	8,0	7,5	6,9	7,3	1,2
Cmax (µg/ml)	14,4	13,3	12,2	14,4	18,2	13,0	14,3	2,1
Tmax (h)	18,0	24,0	30,0	24,0	24,0	24,0	24,0	3,8
ABC_(0-t) (µg.h/ml)	592,9	678,2	668,1	794,2	772,3	594,5	683,4	85,5
TMR (h)	39,1	40,6	47,4	46,1	40,6	41,6	42,6	3,4
T ½ el (h)	19,1	19,4	22,6	22,6	19,8	20,2	20,6	1,6

T ½ for: tiempo medio de formación. **Cmax:** máxima concentración plasmática. **Tmax:** tiempo en que se alcanza el Cmax. **ABC_(0-t):** área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. **TMR:** tiempo medio de residencia. **T ½ el:** tiempo medio de eliminación.

Tabla 31. Parámetros farmacocinéticos (media ± DE) para Triclabendazol Sulfona (TCBZSO₂) obtenidos tras la administración oral de Zolinux dorado® (Grupo V, Triclabendazol) por vía oral en bovinos.

Parámetros Farmacocinéticos	Animal N°							
	1	2	3	4	5	6	Media	DE
T_{1/2} for (h)	13,2	17,3	20,1	12,6	14,9	18,3	16,9	2,7
C_{max} (µg/ml)	32,9	32,8	27,2	33,2	35,6	33,1	32,5	2,8
T_{max} (h)	72,0	48,0	72,0	72,0	36,0	72,0	62,0	15,9
ABC_(0-t) (µg.h/ml)	3111,0	3409,0	2744,7	3620,3	3595,2	3547,0	3337,9	345,9
TMR (h)	89,0	111,9	112,7	123,4	97,1	121,4	109,3	13,6
T_{1/2} el (h)	39,0	56,0	54,6	63,5	44,4	61,8	53,2	9,7

T_{1/2} for: tiempo medio de formación. **C_{max}:** máxima concentración plasmática. **T_{max}:** tiempo en que se alcanza el C_{max}. **ABC_(0-t):** área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. **TMR:** tiempo medio de residencia. **T_{1/2} el:** tiempo medio de eliminación.

Bioequivalencia

Tabla 32. Parámetros farmacocinéticos (media \pm DE) de relevancia en el cálculo de la bioequivalencia, para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) obtenidos tras la administración oral de diferentes productos comerciales conteniendo Triclabendazol (TCBZ) y administrados por vía oral en bovinos.

Grupo experimental	Parámetro farmacocinética	
	ABC _(0+t) ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	Cmax ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Grupo I (Fasinex®)	418,1 \pm 60,2 ^a	12,1 \pm 2,67 ^{a, b}
Grupo II (Bilevon®)	446,6 \pm 66,3 ^a	11,5 \pm 1,1 ^{a, b}
Grupo III (Trisan®)	268,9 \pm 78,1 ^b	8,3 \pm 5,0 ^a
Grupo IV (Zoliplus®)	619,9 \pm 73,0 ^c	12,6 \pm 1,9 ^{a, b}
Grupo V (Zolinex dorado®)	683,4 \pm 85,5 ^c	14,3 \pm 2,1 ^b

Cmax: máxima concentración plasmática **ABC_(0+t)** área bajo la curva concentración vs tiempo entre las 0 y 168 h post-tratamiento. Diferentes letras entre parámetros farmacocinéticos indican diferencias significativas a $P < 0,05$.

Tabla 33. Criterio para la determinación de bioequivalencia entre las formulaciones estudiadas. Se evalúa el parámetro área bajo la curva concentración vs tiempo (ABC) para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO). Los límites de confianza superior o inferior para los cocientes entre valores de ABC entre grupos experimentales con un intervalo de confianza del 90% deben estar comprendidos entre el 80-125% para ser considerados bioequivalentes.

Grupos experimentales	Cociente Valores ABC (medias geométricas)	Límites de confianza superior e inferior	Bioequivalencia
G II / G I	1,07	1,20 / 0,95	SI
G III / G I	0,63	0,74 / 0,53	NO
G IV / G I	1,49	1,65 / 1,34	NO
G V / G I	1,54	1,81 / 1,48	NO
G III / G II	0,59	0,70 / 0,49	NO
G IV / G II	1,39	1,55 / 1,25	NO
G V / G II	1,54	1,71 / 1,38	NO
G IV / G III	2,37	2,80 / 2,01	NO
G V / G III	2,54	3,42 / 2,00	NO
G V / G IV	2,10	1,21 / 1,01	SI

Tabla 34. Criterio para la determinación de bioequivalencia entre las formulaciones estudiadas. Se evalúa el parámetro concentración máxima (Cmax) para Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO). Los límites de confianza superior o inferior para los cocientes entre valores de ABC entre grupos experimentales con un intervalo de confianza del 90% deben estar comprendidos entre el 80-125% para ser considerados bioequivalentes.

Grupos experimentales	Cociente Valores ABC (medias geométricas)	Límites de confianza superior e inferior	Bioequivalencia
G II / G I	0,97	1,10 / 0,85	SI
G III / G I	0,62	0,83 / 0,47	NO
G IV / G I	1,06	1,21 / 0,92	SI
G V / G I	1,19	1,37 / 1,04	NO
G III / G II	0,64	0,84 / 0,49	NO
G IV / G II	1,09	1,20 / 1,00	NO
G V / G II	1,24	1,35 / 1,13	NO
G IV / G III	1,70	2,34 / 1,30	NO
G V / G III	1,92	2,52 / 1,47	NO
G V / G IV	1,13	1,25 / 1,02	SI

Tabla 35. Parámetros de validación de la metodología analítica para la determinación de los metabolitos de Triclabendazol (TCBZ.SO y TCBZ.SO₂) en plasma Sanguíneo de Bovinos (n =6) post administración oral de Triclabendazol (10 mg/Kg) ya sea como una formulación de referencia (RF, Fasinex Novartis) o diferentes formulaciones de prueba disponibles en el mercado.

Parámetros de Validación	TCBZ.SO	TCBZ.SO₂
Linealidad (R²)	0,999	0,999
Correlación (r)	0,996	0,996
Coefficiente de Variación	4,54	5,09
Porcentaje de Recuperación (%)	90,3	92,2
Exactitud (E.M) (%)	-5,44	-4,42
Límite de Detección (LD,µg/ml)	0,031	0,039
Repetibilidad Promedio	5,18	6,04

R²: Correlación; r: coeficiente de determinación, C.V: Coeficiente de Variación, %: de Recuperación, E.M: error medio, DL: Limite de Detención µg/ml, RP: Repetibilidad Promedio.

Tabla 36. Parámetros farmacocinéticos. (Media \pm DE), del plasma de Triclabendazol Sulfóxido, obtenidas después de la administración oral de Triclabendazol (12 mg/Kg) para las terneras (n = 6 por grupo), ya sea como una formulación de referencia (RF, Fasinex®, Novartis), o diferentes formulaciones de prueba disponibles en el mercado. Importancia de la diferencia entre las formulaciones de prueba y RF se da entre paréntesis.

TCBZ.SO

Parámetros Farmacocinéticos	G I/RF	G II	G III	G IV	G V
T1/2(for /h)	5,06 \pm 1,16	5,3 \pm 0,9 (0,80)	4,2 \pm 1,2 (0,001)	8,0 \pm 1,0 (0,05)	7,3 \pm 1,2(< 0,01)
Cmax (μg / ml)	12,1 \pm 2,67	11,5 \pm 1,08 (0,954)	8,32 \pm 1,59 (< 0,001)	12,6 \pm 1,88 (0,966)	14,3 \pm 2,11(0,196)
Tmax (h)	19,0 \pm 2,45	18,0 \pm 3,80 (0,982)	15,9 \pm 6,46 (0,528)	24,0 \pm 3,79 (0,159)	24,0 \pm 3,79 (0,159)
ABC0 LOQ (μg.h/ml)	418,1 \pm 60,2a	446,6 \pm 66,3a (0,901)	268,9 \pm 78,1b (0,005)	619,9 \pm 73,0c (< 0,001)	683,4 \pm 85,5c(< 0,001)
ABC0 (μg.h / ml)	419,0 \pm 60,2	447,4 \pm 66,5 (0,906)	270,5 \pm 78,6 (0,006)	622,8 \pm 74,5 (< 0,001)	687,8 \pm 86,7(< 0,001)
MRT (h)	33,2 \pm 2,90	33,9 \pm 2,57 (0,986)	37,3 \pm 2,60 (0,093)	41,6 \pm 3,67 (< 0,001)	42,6 \pm 3,36 (< 0,001)
T1 / 2 (h)	17,2 \pm 1,40	16,5 \pm 0,78 (0,803)	20,4 \pm 0,70 (0,001)	19,2 \pm 1,97 (0,055)	20,6 \pm 1,57(< 0,001)

T ½ for: tiempo medio de formación. Cmax: concentración en plasma; Tmax tiempo máximo de concentración en plasma; ABC0- LOQ: área bajo la curva de concentración frente momento desde 0 hasta el límite de cuantificación; ABC0- : área bajo la curva de concentración frente al tiempo extrapolado el infinito; MRT: tiempo medio de residencia; T 1/2: Vida Media de eliminación. Letras diferentes en una misma fila indican diferencia significativa (P<0,05)

Tabla 37. Parámetros farmacocinéticos (Media ± DE), del plasma para Triclabendazol Sulfona, obtenidas después de la administración oral de triclabendazol (12 mg/Kg) para las terneras (n = 6 por grupo), ya sea como una formulación de referencia (RF, Fasinex®, Novartis), o diferentes formulaciones de prueba disponibles en el mercado. Importancia de la diferencia entre las formulaciones de prueba y RF se da entre paréntesis.

TCBZ.SO2

Parámetros Farmacocinéticos	GI/RF	G II	G III	G IV	G V
T1 /2for (h)	15,5 ± 1,7	17, 7 ± 1,5 (0,97)	14,7 ± 3,0 (0,372)	17,7 ± 2,2(0,003)	16,9 ± 2,7 (0,122)
Cmax (µg/ml)	27,7 ± 6,89	23,9 ± 2,23 (0,975)	28,7 ± 2,21 (0,372)	27,9 ± 4,80 (0,965)	32,5 ± 2,79 (0,122)
Tmax (h)	48,0 ± 13,2	52,0 ± 9,80 (0,825)	52,0 ± 9,80 (0,825)	56,0 ± 12,4 (0,619)	62,0 ± 16,0 (0,227)
ABC0- LOQ (µg.h/ ml)	2551 ± 543 a	2385 ± 269 a (0,900)	2818 ± 294 b (0,648)	2918 ± 563 c (0,384)	3338 ± 346 c (0,012)
ABC0- (µg.h/ ml)	2848 ± 582	2700 ± 336 (0,978)	3277 ± 399 (0,545)	3807 ± 930 (0,033)	4056 ± 548 (0,006)
MRT (h)	90,1 ± 8,50	95,2 ± 7,69 (0,893)	98,9 ± 6,58 (0,580)	122,3 ± 20,9 (< 0,001)	109,3 ± 13,6 (0,048)
T1 /2 (h)	42,2 ± 5,67	44,4 ± 5,60 (0,975)	49,9 ± 5,86 (0,372)	61,0 ±14,1(0,003)	53,2± 9,69 (0,122)

T 1/2 for: tiempo medio de formación. Cmax: concentración en plasma; Tmax: tiempo de concentración en plasma; ABC0- LOQ: área bajo la curva de concentración frente momento desde 0 hasta el límite de cuantificación; ABC0- : área bajo la curva de concentración frente al tiempo extrapolado el infinito; MRT: tiempo medio de residencia; T1/2 el: Vida Media de eliminación.

Tabla 38. Evaluación de bioequivalencia para diferentes formulaciones de Triclabendazol evaluados después del tratamiento oral de terneras (n = 6 por tratamiento). Las estimaciones puntuales son relaciones de las medias geométricas de los parámetros farmacocinéticos de TCBZ.SO. Las formulaciones fueron bien una formulación de referencia (RF, Fasinex®, Novartis), o diferentes formulaciones de prueba disponibles en el mercado.

Grupos	Parámetros		IC 90%	valor de p	Bioequivalencia
	Farmacocinético	Punto de estima.			
	Cmax	0,97	0,85-1,10	0,734	Sí
Prueba II/RF	ABC0-LOQ	1,07	0,95-1,20	0,479	Sí
Prueba III /RF	Cmax	0,47	0,83 0,62	0,058	No
	ABC0-LOQ	0,63	0,53-0,74	0,005	No
Prueba IV /RF	Cmax	1,06	0,92-1,21	0,616	Sí
	ABC0-LOQ	1,49	1,34-1,65	<0,001	No
Prueba V /RF	Cmax	1,19	1,04-1,37	0,281	No
	ABC0-LOQ	1,64	1,81-1,48	<0,001	No

Cmax: máxima concentración plasmática pico, ABC0-LOQ: área bajo la curva de concentración frente al momento desde 0 hasta el límite de cuantificación; donde los parámetros evaluados nos indica que no son Bioequivalentes a $P < 0.05$.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

5.1. Cinética Cromatográfica Concentración de Metabolitos del Plasma bovino tratado con TCBZ

En el presente trabajo de investigación demuestra que los parámetros como la linealidad de validación en relación de la concentración droga/respuesta del detector, analizando los patrones de TCBZ, y sus metabolitos extraídos desde el plasma bovino con las concentraciones de 0.5, 1, 3, 5 y 15 $\mu\text{g/ml}$ procedimientos analíticos de TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ establecieron coeficientes de determinación y correlación (Figura 9 y 10) que fueron superiores a 0.99 (Cercanos a la Unidad), lo cual indica que existe una relación directamente proporcional entre la respuesta del detector (valor de área) y la cantidad teórica correspondiente a la concentración de analitos presente en plasma bovino.

Así mismo, los coeficientes de variación (Tabla 35) en el plasma estudiados en ambos metabolitos fueron inferiores al 6%, siendo los valores menores de 10% clasificados de bueno a muy bueno.²⁰³ Indicando la uniformidad del experimento, demostrado por el bajo valor de porcentaje obtenido en la exactitud de -5,44% para TCBZ.SO y -4,42% TCBZ.SO₂, donde el valor aceptado es hasta $\pm 20\%$. La extracción de los metabolitos desde el plasma permitió obtener adecuados porcentajes de recuperación (Tabla 35), comportándose dentro de los valores óptimos (90,3 y 92,2%). Los que fueron superiores a los obtenidos para TCBZ, su principal metabolito en los tejidos comestibles del bovino tales como el hígado, riñón, músculo y grasa, mediante la HPLC.²⁶ Por lo que presenta una afinidad específica y mayor a lo reportado por otros agentes BZDS cuyo porcentaje de unión a proteínas plasmáticas no superan el 50%.²²

El TCBZ, se ha convertido en el compuesto fasciolisida más usado en el Perú y en el mundo, se administra generalmente por vía oral, por lo tanto los fluidos gastrointestinales son los primeros que interaccionan con el fármaco, el

proceso absorción de TCBZ, involucra la disgregación en sus metabolitos, el pasaje lento del nivel intestinal condiciona la cinética plasmática, a TCBZ.SO en el hígado y el paso de este a la circulación sistémica. El perfil farmacocinético de TCBZ, en plasma se ha descrito en diferentes especies, y seres humanos.^{22, 23} En bovinos el rumen (Fig. 4) con un PH de 5,5-6,5 se comporta como un reservorio de reducción de TCBZ luego pasa al abomaso con un PH de 1-3 el cual tiene una acción de disolución y atrapamiento iónico, en el intestino con un PH de 6,5-7,5 interviene con un metabolismo reductor y es el lugar donde se da la absorción.

La participación de las enzimas, flavín monooxigenasa (FMO) y el citocromo (P-450) en la biotransformación hepática de TCBZ siguen siendo desconocidos. La acción de ambas enzimas en sulfoxidación de TCBZ a TCBZ.SO y posteriormente a TCBZ.SO₂ fue demostrada después de la inactivación de la FMO,¹⁹⁶ así esta enzima mediante la sulfoxidación representó aproximadamente el 62% de TCBZ.SO y alrededor del 48% de formación de TCBZ.SO₂, mientras que el citocromo P-450 contribuye con el 38% TCBZ.SO y 52 % TCBZ.SO₂ de los metabolitos oxidados. Así mismo el metabolito sulfona se a identificado en *F. hepatica*, incubada con TCBZ.SO sobre 3-12 h.¹⁵⁰

5.2. Calidad Farmacocinética de los Productos Comerciales Conteniendo TCBZ y sus Metabolitos.

El análisis farmacocinética realizado mediante el programa PK solutions (Summit Research Services, USA). Con la finalidad de conocer la biodisponibilidad de las formulaciones genéricas en estudio de TCBZ, en términos de absorción, distribución, eliminación y excreción a partir de los parámetros de concentración plasmática vs el tiempo ABC, C_{max} y T_{max}, de los metabolitos TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ luego de la administración oral en bovinos. Los resultados en el GI, de RF (Fasinex®) y los grupos II, III, IV, y V, se presentaron en plasma los metabolitos en tiempos diferentes (Tabla 36 y 37) debido a que el proceso de absorción de TCBZ.SO involucra la

disgregación de las partículas de TCBZ, la disolución de las mismas, el pasaje lento y sostenido de estos al sitio absorción, la oxidación en el hígado por acción de las enzimas FMO a TCBZ.SO y P-450, a TCBZ.SO₂²² donde la formación de TCBZ.SO en la circulación sistémica se aprecia primero que TCBZ.SO₂. En el GI de RF, Fasinex® después de 10,44 h; GII, 12,7 h; GIII, 10,5 h y GV, 9.6 h; siendo la excepción el GIV, 0,7 h antes que el TCBZ.SO,²⁴ estos resultados nos indica que las formulaciones genéricas de TCBZ que existen en Perú no tienen los mismos parámetros, calidad farmacocinética, biodisponibilidad, bioequivalencia y eficacia tanto contra trematodos juveniles como en adultos en su uso generalizado en las especies de rumiantes porque supuestamente no tiene un control de calidad a través de HPLC que exige máxima garantía seguridad y eficacia.

Así mismo, como se ha informado de otros medicamentos antiparasitarios de uso común, hay muchos países en los que varias formulaciones genéricas están disponibles comercialmente, que se ha relacionado con baja dosificación y pobre eficacia clínica.^{197, 198} La situación del mercado farmacéutico veterinario en Perú, donde TCBZ está disponible como diferentes formulaciones de nombre comercial con una composición similar, se ha tomado como un ejemplo ilustrativo en el trabajo de investigación. El objetivo no estaba dirigido a identificar la mejor preparación de TCBZ, por el contrario, el enfoque científico tenía la intención de demostrar la necesidad de llevar a cabo estudios farmacocinéticos y/o bioequivalencia comparativas en la especie animal de estudio durante el proceso de aprobación de medicamentos. La cinética de disposición plasmática comparativos y bioequivalencia de cinco formulaciones orales de TCBZ en bovinos fueron evaluados mantenido condiciones de campo locales. Sin embargo, la situación del mercado en veterinaria en muchos países de todo el mundo es complejo con la disponibilidad de un gran número de formulaciones comerciales similares, que no son necesariamente similares en la aparente absorción, la disponibilidad sistémica o la eficacia clínica.

En el Perú existe un promedio de 15 formulaciones de TCBZ disponibles para su uso en el ganado. El objetivo principal no fue establecer la bioequivalencia de algunas de las diferentes formulaciones orales de TCBZ disponible, pero para evaluar su biodisponibilidad relativa, para detectar diferencias en sus patrones de absorción y la exposición sistémica. Una dificultad adicional relacionada con la determinación de la bioequivalencia de las formulaciones de TCBZ estaba relacionada con el patrón metabolito del compuesto fasciolicida de RF.

De hecho, no se detecta el fármaco original en el torrente sanguíneo después de su administración oral, como los metabolitos sulfóxido y sulfona, son los únicos analitos identificados en el plasma de animales tratados con TCBZ, después de la absorción, TCBZ se sulfoxida principalmente a TCBZ.SO y luego se sulfona a TCBZ.SO₂ en ovejas²² y ganado.¹⁶⁹ Como la tasa de aparición de metabolito puede ser determinada principalmente por la absorción del fármaco y/o la tasa de formación de metabolitos,¹⁹⁹ la bioequivalencia se debe determinarse a través del metabolito primario TCBZ.SO, que paradójicamente, cuenta sólo con el 20% del importe total de los metabolitos de TCBZ que se encuentran en el plasma. Por lo tanto, consciente de la debilidad del diseño experimental, paralelo permitió evaluar la exposición sistémica comparativa simultánea de TCBZ después de su administración oral como diferentes formulaciones en bovinos.

Existe una escasa disponibilidad de información relacionada con este tema en la literatura científica internacional. La comparación de la exposición sistémica del fármaco después de tratar a las ovejas con diferentes formulaciones genéricas albendazol ha mostrado grandes diferencias entre las formulaciones.²⁰⁰ Además, los factores relacionados con la calidad del ingrediente activo se han asociado con fracaso terapéutico de formulaciones Rafoxanide genéricos contra *Haemonchus contortus* en ovejas.¹⁹⁷ Aunque limitada por el uso de un diseño paralelo, la comparación actual de TCBZ pionero y formulaciones genéricas en terneras debe crear conciencia sobre la necesidad de un mayor control de calidad para la aprobación de medicamentos

en el sector farmacéutico veterinario. En general, el producto genérico para ser considerado al de referencia debe contener los mismos ingredientes activos e inactivos de la misma forma farmacéutica y la concentración, tener el mismo pH y las características físico-químicas como un producto pionero aprobado.¹⁹² Esto es particularmente relevante para el control de *F. hepatica* en ganado, que se enfrenta a la grave amenaza de la evolución mundial de la resistencia.

5.3. Máxima Concentración Plasmática y Tiempo Máximo que alcanza los metabolitos TCBZ.SO y TCBZ.SO2.

En el presente estudio la C_{max} de TCBZ.SO, se observada diferencia significativas entre las formulaciones aplicados (Tabla 36), registrando concentraciones mayores el GV, (14,3±2,1 µg/ml) en 24±3,8 h, así mismo el GV, (12,6±1,9 µg/ml) en 24 h; GI/RF,Fasinex® (12,08±2,67 µg/ml) en 19±2,45 h y el GII, (11,5±1,1 µg/ml) en 18,0±3,8 h, registrando una menor concentración el GIII (8,3±5 µg/ml) en 15,9±6,5 h, obteniendo una relación directamente proporcional los valores de C_{mx} y T_{mx} que alcanza esta concentración durante el proceso. Los valores son mayores con tiempo similar a los registrados por,¹⁵³ quienes realizaron un estudio farmacocinético comparativo de TCBZ administrado por vía oral en bovinos a dosis de 10 mg/Kg, registrando valores de concentración máxima de 10,7±2,32 µg/ml en 15±3,29 h, y diferente a lo mencionado por ¹³⁹ quien manifiesta que la administración de TCBZ, ocasiona una C_{mx} sanguínea de 15 ppm de TCBZ, entre 24 y 36 hs después de la aplicación; esto puede ser debido a la concentración del fármaco.

La C_{mx} de TCBZ.SO2 de las formulaciones aplicados (Tabla 37), se registran en orden descendiente el GIV con (27,9±4,8 µg/ml) en 56.0±12,4 h, GIII, GI, GV, y el GII (23,9±2,2 µg/ml) en 52±9,8 h, los valores de C_{mx} promedio son mayores con tiempo similar a los registrados por ¹⁵³ quienes registraron valores de C_{mx} de 15,6±2,3 µg/ml en 42±6,6 h. De acuerdo con los datos cinéticos obtenidos previamente en vacas,¹⁶⁹ TCBZ.SO y TCBZ.SO2 fueron los principales metabolitos recuperados en el plasma después de la administración oral de TCBZ, que se ha relacionado a una oxidación de primer paso que se

produce principalmente en el hígado. TCBZ.SO representó el 14% del total de los analitos que se encuentran en el plasma después de la administración oral de RF en el estudio actual. El porcentaje de metabolitos de plasma difiere de la reportada después de la administración intra-ruminal u oral de TCBZ a ovejas²² y cabras,²⁰⁰ en el que TCBZ.SO representados 37 y 45%, respectivamente, de los metabolitos de TCBZ totales recuperados en el torrente sanguíneo. Ambos metabolitos fueron recuperados en el plasma durante un periodo de 168 horas después del tratamiento en el presente estudio. La gran persistencia de altas concentraciones de TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ en el plasma en comparación con otros antihelmínticos de benzimidazol usados en el ganado tales como fenbendazol,¹⁴⁶ Netobimina²⁰¹ y albendazol,¹⁶⁵ puede ser debido a la fuerte unión de ambos metabolitos a las proteínas plasmáticas.²² Esta propiedad farmacológica ofrece alguna ventaja a TCBZ en comparación con otros antihelmínticos Benzimidazoles para su actividad en sangre, la alimentación de trematodos adultos, in vivo con TCBZ acumulación de metabolito en *F. hepatica*, parece estar relacionada a su exposición al fármaco sistémico.²⁰² Además, TCBZ, TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ eran capaces de perturbar al parasito adulto in vitro,¹⁴⁵ lo que indica que la acción de TCBZ puede ser debido a los efectos aditivos del compuesto original y sus metabolitos principales disponibles sistémicamente.

5.4. Área Bajo la Curva Concentración vs Tiempo (ABC), entre 0 y 168 h pos Tratamiento de TCBZ y sus Metabolitos

En el presente estudio los parámetros farmacocinéticos para TCBZ y sus metabolitos de las diferentes formulaciones administradas por vía oral en bovinos, a la misma dosis la superficie ABC, vs el tiempo entre la interpolación de 0 a 168 h, la C_{mx} plasmática fueron para el GV, 683,4±85,5 µg.h/ml, GIV, 619,7±73 µg.h/ml, registrando los mayores tiempos medio de residencia de 41,6±3,7 y 42,6±3,4 h, respectivamente, valores diferentes al GI/RF, Fasinex® 418,1±60,2 µg.h/ml y el GII, 446,6±66,3 µg.h/ml, cuyos tiempos de residencia fue menores a los anteriores con 33,2±2,9 y 33,9±2,6 h. Siendo la menor el

GIII, ($268,9 \pm 78,1$ $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$) con un tiempo de residencia media de $37,3 \pm 2,6$ h con una probabilidad $P < 0,05$, (Tabla 36). Siendo posible a partir de estudios extravasculares obtener esta información que nos permite conocer el comportamiento de las formulaciones genéricas en estudio así como establecer diferencias y similitudes farmacocinéticas, los datos obtenidos están cercanos a los registrados por,¹⁵³ quienes registraron valores de concentración bajo la curva de $525,7 \pm 100,8$ $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ con un tiempo medio de residencia extrapolado al infinito de $49,9 \pm 3,88$ h tras la administración oral de TCBZ a terneros como suspensión comercial (Biofasiolex® Biogénesis S.A. Argentina) a dosis de 10 mg/Kg.

El tiempo medio de eliminación de los fármacos, el GV, tiene mayor tiempo medio de eliminación ($20,6 \pm 1,6$ h) seguido por el GIII, ($20,4 \pm 0,7$ h), GIV, ($19,2 \pm 2$ h), GI/RF, Fasinex® ($17,5 \pm 1,4$ h) y el GII, ($16,5 \pm 0,8$ h), respectivamente, valores menores a los registrados por,¹⁵³ quienes encontraron el tiempo de semivida de eliminación de $23,8 \pm 3,85$ h en terneros tras la administración oral de TCBZ como suspensión comercial (Biofasiolex® Biogénesis S.A. Argentina) a la dosis de 10 mg/Kg. Siendo importante resaltar que la rápida caída de las concentraciones plasmáticas de un fármaco no siempre está relacionada al elevado aclaramiento del mismo. Así mismo, el fármaco es metabolizado con lentitud, la desaparición del plasma está relacionada con un importante fenómeno de distribución y/o redistribución desde el plasma hacia los tejidos (favorecido por la elevada liposolubilidad de la molécula) y no a un eficaz metabolismo, para discriminar si el fármaco desaparece del plasma por distribución o por eliminación, deberíamos estudiar las concentraciones del mismo en orina y/o materia fecal;¹⁵³ donde la curva de depleción tiene una vida media de 22 a 24 h. Más del 95% de la dosis se elimina en las heces, aproximadamente 2% en la orina y menos del 1% en la leche.¹³⁹

El comportamiento farmacocinético de TCBZ.SO₂, de las diferentes formulaciones farmacéuticas administrados a los bovinos (Tabla 37) son para los grupos V, IV, III, I Fasinex®, y el grupo II, registrando los tiempos medio de residencia de $109,3 \pm 13,6$ con un tiempo medio de eliminación de $44,4 \pm 5,6$

h, de las formulaciones estudiadas. Los datos obtenidos son menores a los mencionados por,¹⁵³ quienes registraron valores de concentración ABC, de $1516,7 \pm 697 \mu\text{g.h/ml}$ con un tiempo medio de residencia extrapolado al infinito de $99,5 \pm 11$ con una semivida de eliminación de $52,9 \pm 8,5$ h en terneros tras la administración oral de TCBZ como suspensión comercial (Biofasiolex® Biogénesis S.A. Argentina) a la dosis de 10 mg/Kg.

Sin embargo, la concentración de las diferentes formulaciones de TCBZ evaluados en el ensayo actual variaron desde 10 hasta 12,5%, al de RF que tiene la concentración más baja (10%). Estas diferencias en la calidad de los procedimientos de fabricación, por ejemplo, tamaño de partícula, superficie de la estructura de cristal del ingrediente activo, tipo y calidad de excipientes aplicados para la elaboración de la formulación final (suspensión) puede afectar drásticamente la cantidad de fármaco activo disponible lo cual influyen en la absorción a nivel gastrointestinal después del proceso de disolución de las partículas,¹⁴³ una buena comprensión de los fundamentos de los sistemas dispersos es esencial en el desarrollo de una suspensión farmacéutica adecuada, donde la dosificación sigue un camino complicado, la selección de los excipientes adecuados, tales como agentes tensioactivos, de viscosidad y la distribución del tamaño de partícula en la forma de dosificación producto farmacológico final es un parámetro crítico que pueda afectar a la biodisponibilidad y farmacocinética del producto final.

El gran número de formulaciones comerciales disponibles en muchos países de todo el mundo se enfrenta al problema de la falta de información sobre sus patrones de farmacodinámica ABC, Cmx y Tmx. Esto es importante, dado la posibilidad de diferencias en los procesos de fabricación y calidad de los componentes que puedan existir entre las formulaciones, estas diferencias pueden afectar sustancialmente la disolución del fármaco y la absorción gastrointestinal, que a su vez podría afectar a la eficacia del fármaco. Es necesario seguir investigando para asegurar la bioequivalencia de Antihelmínticos antes de su introducción en el mercado, esto es fundamental,

teniendo en cuenta la propagación en todo el mundo de fracasos terapéuticos relacionados con la resistencia en el control de parásitos y *F. hepatica*.

5.5. Bioequivalencia

La biodisponibilidad de un fármaco se define como el porcentaje del mismo que alcanza la circulación sistémica, luego de su administración por una vía diferente a la intravascular (biodisponibilidad 100 %). La biodisponibilidad es un aspecto relevante para la mayoría de las formulaciones, dado que desde la circulación sistémica los principios activos alcanzan su sitio de acción específico y ejercen su efecto. La biodisponibilidad de un fármaco en particular, se vincula con la velocidad y cantidad con que un principio activo es liberado de su forma farmacéutica, y queda disponible para su absorción. Las concentraciones de fármaco en el sitio de acción o biofase (“ambiente” que rodea el receptor específico), son por lo general difíciles de determinar. En consecuencia, las concentraciones de fármaco se determinan generalmente en la circulación sistémica, dado que las mismas están directamente relacionadas con las alcanzadas en la biofase. Diferencias en el tipo de formulación y la posología empleadas, son dos aspectos relevantes en la biodisponibilidad y persistencia de un fármaco en el organismo.

Los estudios de bioequivalencia, biodisponibilidad relativa son conceptualmente diferentes. Un estudio de bioequivalencia establece la comparación entre dos formulaciones que contienen el mismo principio activo. Si las mismas resultan bioequivalentes, la velocidad y cuantía con que el fármaco se absorbe es similar, independientemente de la formulación considerada. Dos formulaciones bioequivalentes son, en un contexto terapéutico, intercambiables entre sí. Los estudios de bioequivalencia implican la comparación entre formulaciones de dos parámetros farmacocinéticos básicos que caracterizan la absorción, como son el C_{max} y el ABC. El ABC refleja la cantidad de fármaco absorbido, independientemente de la velocidad del proceso de absorción, y la C_{max} indica la cantidad y velocidad de dicho proceso. Adicionalmente, el parámetro T_{max} puede ser considerado en el análisis. Los estudios de biodisponibilidad relativa comparan básicamente el

ABC de un fármaco administrado como una misma formulación farmacéutica por dos vías no vasculares diferentes, y/o por la misma vía pero bajo la forma de dos formulaciones diferentes.

La bioequivalencia de las diferentes formulaciones evaluadas en relación a la considerada de referencia, se estimó a partir de los parámetros farmacocinéticos ABC y Cmax. Dado que la droga madre (TCBZ) no se detecta en plasma, la bioequivalencia se estimó tomando en consideración el primer producto metabólico de TCBZ, TCBZ.SO. Para que dos productos sean considerados bioequivalentes, los límites de confianza superior e inferior (90%) para los cocientes de los valores de Cmax, ABC0-LC, y ABC0- entre la Formulación Test/Formulación de RF, deben estar comprendidos entre el 0,8-1,25 (Tabla-38). Los resultados obtenidos demuestran que únicamente la formulación utilizada en el grupo II resultó bioequivalente con la de referencia, con IC para el ABC comprendidos entre 0,95-1,20 y para el Cmax entre 0,85-1,10. No pudo demostrarse bioequivalencia entre el resto de las formulaciones evaluadas y la formulación de referencia. Estos resultados muestran una importante diferencia en la biodisponibilidad de TCBZ de acuerdo al producto comercial utilizado. Dichas diferencias pueden atribuirse a la calidad de los principios activos, la concentración real de TCBZ en cada producto, la calidad de los excipientes y/o diferencias en los procesos de elaboración por lo que definir un medicamento como bioequivalente frente a otro es una innegable relevancia desde el punto de vista de la salud pública. Sin dudas, asegurar una similar exposición plasmática de el/los principios activos tras la administración de diferentes productos comerciales “similares” es fundamental para optimizar el tratamiento de *F. hepatica*.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

1. La evaluación de la biodisponibilidad relativa y cinética cromatográfica concentración de metabolitos en plasma bovino tratado con TCBZ, para la cuantificación de TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ fue validado siguiendo estándares internacionales del Laboratorio de Farmacología y Fisiopatología del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Tandil Argentina.
2. Tras la administración por vía oral de TCBZ en bovinos, TCBZ.SO y TCBZ.SO₂ fueron los únicos analitos detectados en el plasma mediante el análisis de HPLC. Las formulaciones genéricas evaluadas no presentaron la misma biodisponibilidad relativa para los parámetros farmacocinéticos de RF,
3. La formulación de RF, Fasinex[®] y el GII, fueron los únicos bioequivalentes, para ABC, Cmx y Tmx, con un intervalo de confianza de 90%, las formulaciones genéricas resultaron diferentes (biodisponibilidad), GIII, GIV y GV. Las formulaciones GIV y GV, se observó una mayor biodisponibilidad de TCBZ.SO comparado con el producto de referencia (Fasinex[®]). Pero no tuvo las mismas concentraciones de los parámetros farmacocinéticos al de RF.
4. De acuerdo a los criterios de bioequivalencia, la única formulación de prueba que podría considerarse equivalente a la de RF fue la formulación de prueba II, que demostró una exposición sistémica equivalente al metabolito TCBZ.SO, lo que indica realizar trabajos de investigación antes de introducir un fasciolicida en el mercado farmacéutico Veterinario del Perú y el mundo.
5. Esta comparación de TCBZ pionero, entre los parámetros de confianza superior e inferior 0.8 y 1.25, y formulaciones de ensayo en el ganado aumenta la conciencia y necesidad de controlar la calidad y

biodisponibilidad de sus metabolitos de TCBZ, mecanismo de acción y tratamiento de *F. hepatica*, en muchas regiones del mundo.

RECOMENDACIONES

1. Realizar trabajos de investigación similares en otras especies considerando un patrón de referencia ampliamente conocido.
2. Sugerir la utilización de otros fármacos de calidad farmacocinética que compitan por las vías metabólicas que *Fasciola hepatica* utiliza para metabolizar el TCBZ.
3. Investigación científica de una nueva molécula que forme parte de una droga más eficaz que las formulaciones genéricas en el tratamiento de *F. hepatica*.
4. Buscar nuevas formulaciones sinérgicas de variación farmacocinética y diferente mecanismo de acción para el tratamiento de la Fasciolosis que causa grandes pérdidas económicas.
6. No usar frecuente el TCBZ que es la única droga con alta efectividad para el tratamiento de *F. hepatica* en humanos.
7. Concientizar que no se debe usar en ganado en producción por los residuos de los metabolitos que queda en leche, queso que están por sobre el límite permisible del Codex Internacional.
8. Investigación científica con productos biológicos que apoye a la estimulación inmunológica del hospedero definitivo y al control de la *F. hepatica*.
9. A las instituciones ligadas a la actividad pecuaria incorporar los trabajos de investigación para difundir los resultados y educar a la población en el uso racionado de TCBZ, que es relevante en la salud pública.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Claxton J, Zambrano H, Ortiz P, Delgado E, Clarkson J. The epidemiology of the Fasciolosis in the inter - Andean Valley of de Cajamarca, Perú. *Parasitology International*, 1997. 46: 281-5.
2. Mas - Coma S. A. VM, Bargues MD. Climate change effects on trematodiasis, with emphasis on zoonotic Fascioliasis and schistosomiasis. *Vet Parasitol*, 2009: 163: 264-80.
3. Bargues M, Vigo M, Horak P, Dvorak J, Patznea R, Pointier J. et al. European Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), intermediate hosts of trematodiasis, based on nuclear. *Bull Soc Fr Parasitol*. 2001: 7: 217-24.
4. Rojo-Vázquez FA, Ferre-Pérez I. Parasitosis hepáticas. Fasciolosis. In: *Parasitología Veterinaria* 1999:p 260-72.
5. Esteban G, Gonzales C, Cuartele F, Valero A, Bargues D, Engels D, et al. Hyperendemic fascioliasis associated with schistosomiasis in villages in the Nile Delta of Egypt. *Am J Trop Med Hyg.* 2003: 69: 429- 37.
6. S. M-C, M.D. B, A.M. M, R.C N. Hepatic Trematodiasis. In: *Pathology of infectious Diseases, Helminthiasis* . Armed Forces Institute of Pathology and American Registry of Pathology, Washinton DC (WM Meyers, RC Neafie, AM Marry DJ Wear eds). 2000;Vol. 1: Pp. 69-92.
7. Chen MG, Mott KE. Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection: a review of recent literature. *Trop Dis Bull.* 1990: 87: R1-R38.
8. Rim HJ, Farag HF, Sornmai S, J.H. C. Food-borne trematodes: ignored or emerging *Parasitol. Today*. 1994: 10: 207-9.
9. Hopkins DR. Homing in on helminths. *Am J Trop Med Hyg*. 1992: 46: 626-34.
10. Who. Report of the Who Informal Meeting on use of Triclabendazole in fascioliasis control. World Health Organization: Who/CDS/NTD/PCT/12007.
11. Valencia N, Pariona A, Huamán M, Miranda F, Quintanilla S, Gonzalez A. Sero prevalencia de Fasciolosis en escolares y en ganado vacuno en la provincia de Huancavlica, Perú. *Rev. Perú*. 2005. 22(2): 102 p.
12. Knobloch J, Delgado E, Alvares A, Reymnn U, Bialek R. Human Fascioliasis in Cajamarca/Peru. I. Diagnostic methods and treatment with praziquantel. *Trop Med Parasitol*. 1985:36: 88-90.
13. Ortiz P, Cabrera M, Jave J, Claxton J, Willams D. Human Fasciolosis: Prevalence and treatment in a rural area of Perú. *Infect Dis Rev* 2 (1): 2000. p. 42-6.
14. Ortíz P. Estado actual de la infección por *Fasciola hepatica* en Cajamarca - Perú. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca, Cajamarca, Perú 2012. p. *Biomédica* 2011;31(sup.3):3-315.

15. Morales-Montor J, Cavarria A, Sánchez EN, Vargas JA, Hernandez H, Flores M. Host gender in parasitic infections of mammals: an evaluation of the female host supremacy paradigm. *J Parasitol*. 2004;90: 531-46.
16. Boray JC. Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. *Veterinary Record*. 1983;113: 315-7.
17. Mottier L, Virkel G, Solana H, Alvares L, Salles J, Lanusse C. Triclabendazole biotransformation and Comparative diffusion of the parent drug and its oxidized metabolites into *fasciola hepatica*. 2004.
18. Alvarez L, Mottier, Lanusse C. Comparative assessment of the access of albendazole, Febendazole, and Triclabendazole to *Fasciola hepatica* Plasma: effect of vile in de incubation medium. 2004. 128: 73. p.
19. Bennett J y K, P *Fasciola hepatica*: action in vitro of Triclabendazole on immature and adult stages. *Parasitologia Experimental*. 1987;63(19): 49 - 57.
20. Gottschall DWT, V. J; Wang, R. The metabolism of benzimidazole anthelmintics. .1990. 6:118-24 p.
21. Alvinerie M, Galtier P. Assay of the Triclabendazole and its main metabolits in plasma byhigh, performance liquid chromatography. *Journal of chromatography*. 1986;374: 409-12.
22. Hennessy D, Lacey E, Steel W, Prichard K. The Kinetic disposition of Triclabedazole disposition in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1987;10: 64-72.
23. Bogan J, L. K, Strong M, Formica C, Galtier P, Alvinieri M. Pharmacokinetics of Triclabendazole in cattle sheelp, goats, horses, ponies, donkeyes, pigs, and man. . In proceedings of the Congress of the European Associaton for Veterinary Pharmacology and toxicology, Budapest, Hungary 1988:159-63.
24. Botana M, Landoni F. *Farmacología Terapeutica Veterinaria*. 2002.
25. Dalton P. *Fasciolosis*1998.
26. Palma C, Godoy C, Arboix M, Pérez R. Determinación de residuos de Triclabendazole en tejidos bovinos. *Arch. Med.Vet (online)*. 38(3): 265-271. (citado 2009.02-22). 2006.
27. Fairweather I. Triclabendazole Progress report and advancement of learning.y, . *Juornal of Helmitolog*. 2009;83: 139-50.
28. Leuckart R. Zur Entwicklungs geschichte des Leberegels (*Distomum hepaticum*). *Archiv. Naturgesch.*, 1: 80-119. Lacey, E. 1988. The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazole. *International 18: Journal for Parasitology* 1982:885-936.
29. Thomas AP. The life history of the liver fluke *Fasciola hepatica.*, *Quart J Microbiol Sci*. 1983;23: 99-133.
30. Andrews SJ. The life cycle of *Fasciola hepatica*. In: *Fasciolosis* (J.P. Dalton, ed). Pp. 1-29. Wallingford Oxon, UK: CAB. International Publishing. Wallingford Oxon, UK: CAB International Publishing. 1999:Pp. 1-29.

31. Náquira F, Rojas MR. Fasciolosis. Marcial-Rojas, ed. Pathology of protozoal and helminthic diseases with Clinical Correlation. New York: Krieger Publishing Co 1975. p. 477-89.
32. Catchpole B, Snow D. Human ectopic Fascioliasis. The Lancet 1952;2:711-2.
33. Blancas G, Terasima A, Magaña V, Alvarez H. Fasciolosis humana. Revista de Gastroenterología del Perú. V.24 n. 2 Lima, abr./Junio 2004 versión impresa ISUN1022-5129. Rev. (9/10/2012). 2004.
34. Yamaguti S, Biebero D, Ringold G, Mansour T. The Digenic Trematodes of Vertebrates. Y.1958.
35. Pantelouris E. The Common liver fluke *Fasciola hepatica*. Oxford: L. Pergamon Press. 1965.
36. Taylor EL. La Fasciolosis y el Distoma Hepático. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO Estudio Agropecuario no 64, 1965. p. Roma: 264 p.
37. Schell SC. Trematodes of North America. University Press of Idaho, Moscow Idaho 1985. p. 263 pp.
38. Borchet A. Parasitología Veterinaria 1981.
39. Boray JC. Fascioliasis. In Handbook Series in Zoonoses. 1982.
40. Boch J, Supperer R. Parasitología en Medicina Veterinaria. Editorial Hemisferio Sur SA, Buenos Aires, editor 1982.
41. Euzeby J. Les parasites humains d'origine animale. Caractères épidémiologiques. Flammarion Medecine-Science, Paris. 1984:324 p.
42. Urquhart G, Armour J, Duncan J, Dunn A, Jennings F. Veterinary Parasitology 1987.
43. Mas – Coma S, Esteban JG, Bargues MD. Epidemiology of human fascioliasis: a review and proposed new classification. Bull. World Health Organ. 1999; 77: 340-6.
44. Boray JC. Fasciolosis and other trematode infections. I. Recent advances in research on *Fasciola* and other trematodes of animals. In: Review of Advances in Parasitology (W Slusarskyn ed) Polish Scientific Publishers, Warsaw 1981:p. 317-39.
45. Beaver P, Jung R, EW C. Parasitología Clínica. 1986. 427 pp. p.
46. Ramalingam K. Chemical nature of the egg shell in helminths. II Mode of stabilization of egg shells of monogenetic trematodes Exp Parasitol 1973. p. 34: 115-22.
47. Wharton DA. The production and functional morphology of helminth eggshells. 1983. 86: 5-97. p.
48. Smyth JD, Halton DW. The Physiology of Trematodes. 1983. 446 p.

49. Valero MA, Navarro M, Garcia-Bodelo MA, Marcilla A, Morales M, Hernandez JL, et al. High risk of bacterobilia in advanced experimental chronic Fasciolosis. *Acta Trop*, 2006. p. 100: 17-23.
50. BT U. Fasciolosis o Fasciolasis. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. 2011.
51. Roberts EW. Studies on the life-cycle of *Fasciola hepatica* (Linnaeus) and of its snail host, *Lymnaea* (Galba) *trunculata* (Muller), in the field and under controlled conditions in the laboratory. *Ann Trop Med Parasitol*. 1950;44: 187-206.
52. Rojo Vásquez FA. Epizootiología de la Fasciolosis en España. 1991. I 245-6 p.
53. Rowan WB. The mode of hatching of the egg of *Fasciola hepatica*. II Colloidal nature of the viscous cushion *Exp Parasitol*. 1957. p. 6: 131-42. 242.
54. Al-Habbib WMS. The effect of constant and changing temperatures on the development of the larval stages of *Fasciola hepatica*. 1974.
55. Wilson RA, Smith G, Thomas MR. Fascioliasis. In: Population dynamics of infectious diseases. Theory and applications. 1982. p. 262-361 p.
56. Barlow CH. The life cycle of the human intestinal fluke *Fasciolopsis buski* (Lankester). *Am J Hyg (Monog Series)*. 1925;4: 1-984.
57. Bargues M, Arteaga P, Mera y Sierra R, Poinier J, Mas - Coma S. Characterization of *Lymnaea cubensis*, *L. viatrix* and *L. neotropican. sp.*, the main vectors of *Fasciola hepatica* in Latin America, by analysis of their ribosomal and mitochondrial DNA. *Ann Trop Med Parasitol*. 2007;101: 621-41.
58. Olsen OW. Longevity of metacercariae of *Fasciola hepatica* on pastures in the upper coastal region of Texas and its relationship to liver fluke control. *J Parasitol*. 1974;33: 113-31.
59. Dawes B, Hugues DL. Fasciolosis: the invasive stages in mammals. 1970. 8: 259-74. p.
60. Dixon KE. Encystment of the cercaria of *Fasciola hepatica*. 1968. 14: 689-701. p.
61. Mas-Coma S, Bargues MD, Marty AM, Neafie RC. Hepatic Trematodiasis. In: Pathology of infectious Diseases, Vol. 1 Helminthiasis (W.M. Meyers, R. C. Neafie, A.M. Marty D.J Wear eds). Armed Forces Institute of Pathology and American Registry of Pathology, Washinton DC 2000. p. Pp. 69-92.
62. Lapage G. Some Trematoda parasitic in farm animals. 2nd edition (G. Lapage ed) ed. Edinburgh and London.: In: Veterinary Parasitology, Oliver y Boyd. 1968.
63. Facey RV, Marsden PD. Fascioliasis in man: an outbreak in Hampshire. *Brit Med J*, ii:1960:619-25.

64. Acosta-Ferreira W, Vercelli-Retta J, Falconi M. *Fasciola hepatica* human infection. Histopathological study of sixteen cases. *Virchows Arch A Anat Histol.* 1979;383: 19-27.
65. Mas-Coma S, Bargues MD, Esteban JG. Human Fasciolosis. *Fasciolosis* JP Dalton Wallingford, Oxon, UK. CAB International Publishing. 1999: Pp. 411-34.
66. Smither R. Fascioliasis and other trematode infections. 1982. p 608-21 p.
67. Mas-Coma S, Bargues MD, Valero MA. Plant-Borne Trematode Zoonoses: Fascioliasis and Fasciolopsiasis. In: *Food-Borne Parasitic Zoonoses, Fish and Plan-Borne Parasites. World Class Parasites, Vol. 11.* (D. Murrell B. Fried eds) New York. Springer Verlag. 2007.
68. Martínez S, Domenech CI, Millán M, Pino S. Fascioliasis: Revisión clínico-epidemiológica y diagnóstico. *Rev Cubana Hig Epidemiol* Disponible en: http://scielosldcu/scielophp?script=sci_arttext&pid=S1561-30032012000100011&lng=es. 2012;50(1): 88-96.
69. Chen B, Makay MH, Williams R. Bioequivalencia determination. En: *International Open Conference on Dissolution, Bioavailability, and Bioequivalence.* (June 15-18, 1992, Toronto, Canada). Uni States pharmacopeial Convention. 1992:pp 13-4a.
70. Boray C. Experimental Fascioliasis in Australia. *Adv Parasit.* 1969;7: 95-210.
71. Valero MA, Pérez-Crespo I, Periago MV, Khoubbne M, Mas-Coma S. Fluke egg characteristics for the diagnosis of human and animal Fascioliasis by *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. *Acta Trop* 2009. p. 111: 50-59.
72. Soulsby L. *Helminths.* Blackwell Scientific. 1965. 530-76. 260. p.
73. Sisaay M, Uggla A, J. W. Prevalence and seasonal incidence of nematode parasites and fluke infections of sheep and goats in eastern Ethiopia. *Trop Anim Health Prod* 2007. p. 39: 521-31.
74. Makay O, Gurcu B, Caliskan C, Nart D, Tuncyurek M, Korkut M. Ectopic fascioliasis mimicking a colon tumor. *World J Gastroenterol.* 2007;13: 2633-5.
75. Garcia R, E. A, Ugart G, Pierard E. The clinical case of the month. Cutaneous Fascioliasis. *Rev. Med. Liege;* 2004. p. 59: 552-4.
76. Xuan T, Huang T, Waikagul J. Cutaneous fascioliasis: a case report in Vietnam. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;72: 508-9.
77. Cho Y, Yang N, Kong Y, Kim C, Shin W, KS. Intraocular fascioliasis: a case report. *Am J Trop Med Hyg.* 1994: 50: 349-53.
78. Zhou LLLYCWBXJLLHXCB. Multiple brain hemorrhages and hematomas associated with ectopic fascioliasis in brain and eye. *Surg Neurol,* 2008. 69: 516-5 21.
79. Dalimi A, M. J. *Fasciola hepatica* in the human eye. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2005;99: 798-800.

80. Totev T, Georgiev E. Fascioliasis, a cause of mechanical jaundice. *Khirurgiya* (Sofiya), 1979. p. 32: 357-8.
81. Park I, Kim H, Ro Y, Gutierrez Y. Human ectopic Fascioliasis in the cecum. *Am J Surg Pathol*. 1984;8: 73- 7.
82. Chinchon S, Mitarnum W, Ratananikom N. *Fasciola hepatica* in human pancreas, a case report. *J Med Ass Thailand*. 1982: 65: 345-9.
83. Zali MR, Ghaziani T, Shahraz S, Hekmatdoost A, Radmehr A. Liver, spleen, pancreas and kidney involvement by human fascioliasis: imaging findings. 2004. 4: 15. p.
84. Arjona R, Riacho A, Angulo M, Saler R, González –Macías J. Fascioliasis in developed countries: a review of classic and aberrant forms of disease. *Medecine* (Baltimore),1995:74: 13-23.
85. Prociv PW, C. Whitby M. Human ectopic fascioliasis in Australia. first case reports *Med J Aust*. 1992. p. 156: 349-51.
86. Aguirre- Errasti C, Merino J, Angulo J, Flores, Torres M, A. R. Unusual forms of *Fasciola hepatica* infestation. Report two cases. ed. *Clin*. (Barc.). 1981. p. 76: 125-8.
87. Mangos P, Menzies S. Human Fascioliasis in Australia. *Med J Aust*. 1973:1: 295-306.
88. Espino M, Díaz A, Pérez A, Finlay M. Dynamics of antigenemia and coproantigens during a human *Fasciola hepatica* outbreak. *J Clin Microbiol*. 1998: 36: 2723-6.
89. Aliaga L, Díaz M, Quiga J, Arejola M, Prieto J. Enfermedad pulmonar eosinófila por *Fasciola hepatica*. Descripción de un caso y revisión de la literatura. *Med. Clin. (Barc.)*, 82:764-767; 1984.
90. Hardman H, Domino E, Seevers M. *Pharmacol*. 1971:Rev- 23, 295 - 315.
91. APT W, Auilera X, Vega F, Miranda C, Zulantay I, Pérez C, et al. Treatment of human chronic Fascioliasis with triclabendazol: drug efficacy and serologic response. *Am J Trop Med Hyg*, 1995: 52: 532-5.
92. Gil-Benito A, Ciolkovitch A, S M-C, 5 QM. Enquete sur la distomatose a *Fasciola hepatica* en Corse. *Méditerr Méd Marseille* 1991. p. 403: 21-2.
93. Khorsandi O. Obstructive jaundice due to *Fasciola hepatica*. Report of two cases. *Bull. Soc. . Pathol Exot* 1977:70: 626- 8.
94. Wong H, Peura A, L M, A H, Birnst T, Johnson F. Hemobilia and liver flukes in a patient from Thailand. *Gastroenterology*. 1985. p. 88: 1958-63.
95. FAO. Corporate Document Repository. The epidemiology of helminthparasites. [citado 20 Nov 2009]; Disponible en: URL: <http://www.fao.org/wairdocs/ILRI/x5492E/x5492e04.htm>. 2009.
96. Leguía G. Distomatosis hepática en el Perú. *Epidemiología y control*. Lima: . Ciba Geigy - Hoescht 1991. p. 45 p.

97. Salud. Md. Fasciolosis. En: Animales del Seminario Internacional de Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Lima. Programa Nacional de Zoonosis, Ministerio de Salud. 1989. p. 90.
98. Valero MA, Girones N, Garcia-Bodelon MA, Periago MV, Chicago-Calero M, Khoubbane M, et al. Anaemia in advanced chronic fasciolosis. *Acta Trop.* 2008. p. 108: 35-43.
99. Kithuka JM, Maingi N, Njeruh FM, J.N. O. The prevalence and economic importance of bovine Fasciolosis in Kenia-an analysis of abattoir data. *Onderstepoort J Vet Res.* 2002:69: 255-62.

100. Mungube EO, Bauni SM, Tenhagen BA, Wamae LW, Nginy JM, Mugambi JM. The prevalence and economic significance of *Fasciola gigantica* and *Stilesia hepatica* in slaughtered animals in the semi-arid coastal Kenya. *Trop Anim Health Prod.* 2006:38: 475-83.
101. Schweizer G, Braun U, Deplaze P, Torgerson PR. Estimating the financial losses due to bovine Fasciolosis in Switzerland. . *Vet Rec*2005. p. 157: 88-93.
102. Keiser J, Utzinger J. Emerging foodborne trematodiasis. *Emer Infect Dis.* 2005:11: 1507-14.
103. Hotez PJ, Bottazzi ME, Franco-Paredes C, Ault SK, Periago MRT. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008:2: 300.
104. Marcos LA, Maco V, Samalvides F, Terahima A, Espinoza JR. Risk factors for *Fasciola hepatica* infection in children: a case-control study. *Trans. R. Soc. Trop Med Hyg.* 2006. p. 100: 58-66.
105. Parkinson M, Neil SM, Dalton JP. Endemic human fasciolosis in the Bolivian altiplano. 2007. 135: 669-74. p.
106. Keiser J, Utzinger J. Food-borne trematodiasis: current chemotherapy and advances with artemisinins and synthetic trioxolanes. *Trends Parasitol.* 2007:23: 555-62.
107. Blaise J, Raccurt C. Hepatobiliary fascioliasis and echinococcosis/hidatidosis in domestic animals in Haiti. 2007.
108. Angeles R, Strauss W, Ramírez S, Esteban JG, Mas-Coma S. Human fascioliasis in Bolivia: coprological surveys in different provinces of the Department of La Paz. *Res Rev Parasitol.* 1997:57: 33-7.
109. Marcos LR, L.A., Flores V.M., Terashima A., Samalvides F, Miranda E, Tantalean M, Espinoza J.R., Gotuzzo E. Hyperendemicity of human fasciolosis in the Mantaro Valley, Peru: factors for infection with *Fasciola hepatica*. . *Rev Gastroenterol Peru,* 2004. p. 24: 158-64.
110. Mitterpak J. Specific problems of epizootology of fascioliasis in the tropical conditions in Cuba. *Wiad.* 1968. 14: 503-7 p.

111. González JFP O, Rodríguez G, Arus E, Lastre M. Fascioliasis humana epidémica, Cuba. 1983. VI. Estudio clínico de 44 adultos del Hospital General de Fomento GEN,1985. p. 39: 276-81.
112. González JFP, R Pérez, O González, Torre R, Lastre M, Brito E, Díaz J. Fascioliasis humana epidémica. Cuba 1983. II Estudio epidemiológico GEN. 1987. p. 41: 53-7.
113. Díaz J, Pina B, Lastre M, Rivera L, Pérez O. 1990. Fascioliasis humana epidémica. Cuba 1983. VI Estudio clínico de 40 niños del Hospital Provincial de Sagua La Grande. GEN. Cuba 1983. VI Estudio clínico de 40 niños del Hospital Provincial de Sagua La Grande. GEN.1990. p. 44: 385-8.
114. Pérez A, Celestino M, Millán JC, Finlay CMB. Brote de *Fasciola hepatica* en humanos: estudio epidemiológico. XIII Congreso Latino Americano de Parasitología (La Habana, Cuba), Resúmenes 1997. p. 122-3.
115. Millan JC, Mull R, Freise S, J. R. The efficacy and tolerability of triclabendazole in Cuban patients with latent and chronic *Fasciola hepatica* infection. Am J Trop Med Hyg. 2000:63: 264-9.
116. Anonymous. Hepatic distomiasis caused by *Fasciola hepatica*. Who, Weekly Epidemiological Record. 1988:63: 109-11.
117. Coudert J, F. T. Recherche de l'épidémiologie de la distomatose humaine a *Fasciola hepatica*. A propos d'une epidemie recente de 500 cas Revue d'Hygiène,1958: 6: 840- 64.
118. Gaillet P, Liance M, Rivollet D. Situation de la fasciolose humaine en France enquete retrospective portant sur les 30 dernieres annes. Houin, R Bull Soc Fr Parasitol. 1983. p. 1: 79-82.
119. Giap LH. Distomatose hepatiche a *Fasciola hepatica*. 1987.
120. Gitard RCP, Silicany V, Blanc B, Nicoli R.M. La Distomatose humaine a *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 en Corse. Bull. Soc. Pathol Exot. 1965: 3: 471- 4.
121. Sampaio-Silva ML, Correia-Acosta. JM, Viana- Da Costa AM, Pires MA, Opes SA, Castro AM, et al. Antigenic components of excretory-secretory products of adult *Fasciola hepatica* recognized in human infections Am J Trop Med Hyg. 1996:54: 146-8.
122. Sorribes J, Aubary MJ, Bargues MD, Mas-Coma S. Revisión de los casos humanos de Fascioliasis en España entre los años 1970 y 1989. . In: Congreso de Zoonosis 1º Interautonómico Reunión de la International Zoonoses Association (IZA) (Valencia, Spain), Resúmenes 1990. p. 186.
123. Turrientes MC, Sáenz A, Ceballos E, Díaz M, Bareno M, Muro A, et al. Fasciolosis importada y autoctona. Enf Emer. 2004. p. 6: 188. 233.
124. Cuartele F, Hassanein E, A. W, Mas-Coma S, Montresor A. Distribution of human Fascioliasis by age and gender among rural population in the Nile Delta, Egypt. J Trop Pediatr. 2003: 49: 264-8.

125. WHO. Control of Foodborne Trematode Infections. WHO Technical Report Series, . World Health Organization, Geneva No 849/1995. p. 1-157.
126. Massoud J. Fascioliasis outbreak of man and drug test (Triclabendazole) in Caspian littoral, northern part of Iran, 1989. Bull. : Soc. Fr. Parasitol., 8 (suppl 1). 1990.
127. Massoud J. Present status of human fascioliasis in Iran. In: Food-borne trematodes, World Health Organization, WHO Manual, Manila, Mimeogr Rep Sch/SG/93 1993. p. w, p. 19.

128. Ashrafi K, Massoud J, Houlakuei K, Mahmoodi M, A V, Fuentes V, et al. Evidence suggesting that *Fasciola gigantica* may be the most prevalent causal agent of fascioliasis in the endemic province of Gilan, northern Iran. Iranian J Public Health. 2004;33: 1-7.
129. Moghaddam S, Massoud J, Mahmodi M, Mahvi H, Periago V, Artigas P, et al. Human and animal fascioliasis in Mazandaran province, northern Iran. Parasitol Res. 2004;94: 61-9.
130. Yilmaz H, Godekmerdan A. Human fasciolosis in Van province. Turkey Acta Trop. 2004. p. 92: 161-2.
131. Mas-Coma S, Bargues D, Valero A. Fascioliasis and other plant-borne trematode zoonoses. Int J Parasitol. 2005: 35 : 1255-78.
132. De V, Murrell D, Cong D, Cam D, Chau V, Toan D, et al. The food-borne trematode zoonoses of Vietnam. Southeast Asian . J Trop Med Public Health. 2003;34: 12-34.
133. Townsend LB, Wise DS. The synthesis and chemistry of certain anthelmintic benzimidazoles. Parasitology Today. 1999: 6: 107-12.
134. Lanusse CE, Prichard RK. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. 1993. 49: 123-58. p.
135. Lacey E. Mode of action of benzimidazoles. Parasitology Today. 1990.
136. Mckellar QA, Scott EW. The benzimidazole anthelmintic agents-a review. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 1990;13: 223-47.
137. Reuter S, Jensen B, Buttenschoen K, Kratzer W, Kern P. Benzimidazoles in the treatment of alveolar echinococcosis: a comparative study and review of the literature. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2000;46: 451-6.
138. Merck y Col. I. El Manual de Merck de Veterinaria, 1993.
139. Sumano H, Ocampo. Farmacología Veterinaria1. 1997.
140. Coles GC. Treatment of fascioliasis in human infections. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2006;100: 87.

141. Cristófol C, Carretero A, Fernández M, Navarro M, Sautet J, Ruberte J, et al. Transplacental transport of netobimin metabolites in ewes. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 1995;20: 167-71.
142. Delatour P, Garnier F, Benoit E, L CH. A correlation of toxicity of albendazole and oxfendazole with their free metabolites and bound residues. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 1984;7: 139-45.s.
143. Pérez R. *Farmacología Veterinaria*. Universidad de Concepción. 2010. 399-402p p.
144. Halferty L, Brennan P, Hanna B, Edgar W, Meaney M, McConville M. et al. Tegumental surface Changes in juvenile *Fasciola hepatica* in response to treatment in vivo with triclabendazole veterinary *Parasitology* 2008. p. 155: 49-58.
145. Halferty L, Brennan G, Trudgett A, Hoey L, Fairweather I. Actividad relativa de metabolitos triclabendazol contra la *Fasciola hepatica*. *Fasciola hepatica Veterinaria Parasitología*. 2009. p. 159 , 26-38.
146. Princhard R, Hennessy D, Acero J, Lacey E. Las concentraciones de metabolite en plasma después del tratamiento de Ganado con cinco antielmínticos. *Investigación en Ciencias Veterinarias*. 1985. p. 39, 78-113.
147. Virkel G, Lifschitz A, Sallovitz J, Pis A, Lanusse C. Assessment of the main metabolism pathways for the flukicidal compound Triclabendazole in sheelp. *Journal of veterinary Pharmacology and therapeutics*. 2006;29: 213-23.
148. Brennan G, Fairweather I, Trudgett A. Understanding triclabendazole resistance (Review) 2007. 82 (2):104-9. p.
149. Solana H, Scarcella S, Virkel G, Ceriani C, Rodríguez J, C L. Albendazole enantiomeric metabolism and binding to cytosolic proteins in the liver fluke, *Fasciola hepatica*. *Vet ResCommun*2009. p. 33:163-73.
150. Robinson MW, Lawson J, Trudgett A, Hoey EM, Fairweather I. The comparative metabolism of Triclabendazole sulphoxide by Triclabendazole – susceptible and Triclabendazole - resistant *fasciola hepatica*. *Parasitology Research*. 2004;92: 205-10.
151. Álvarez LI, Sánchez SF, Lanusse CE. In vivo and ex vivo uptake of de Abendazole and its sulphoxide metabolite by cestode parasites: relationship with their kinetic behavior in sheep. *Journal of de veterinary pharmacology and therapeutics*. 1999;22: 77-86.
152. Ceballos L, Moreno L, Shaw L, Fairweather I, Alvarez L, Lanusse C. Jornadas Latinoamericanas XIII, de Farmaco - Toxicología Veterinaria. Universidad de Buenos Aires, Argentina. 2008.
153. Formentini A, Mestorino N, Pesoa M, Lucas M, Reggiardo E, Diaz M, et al. Estudio farmacocinético comparativo de Triclabendazole en bovinos y ovinos; *Revista FAVE Ciencias Veterinarias* 2004. p. 3: 45-9.
154. Danaher M, De Ruyck H, Crooks R, Dowling G, Keeffe M. Reniew of methodology for the determination of benzimidazole residuos en biological matrices *Journal of Chromatography*. 2007: B: 845: 1-37.

155. Lanusse CEG, L. H, Prichard R. K. Gastrointestinal distribution of albendazole metabolites following netobimin administration to cattle: relationship with plasma disposition kinetics. *Journal of Veterinary Pharmacology and therapeutics*. 1993;16: 38-47.
156. Wagner J, Nelson E. Per cent absorbed versus time from blood levels and urinary excretion. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1963;52: 610-1.
157. Yokoyama MT, Johnson KA. Microbiology of the rumen and intestine. In: Church, D. C. (ed.) *the ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. Prentice Hall, New Jersey. 1998. p. p 125-44.
158. Moore T. Ivermectin in Kucer's *Use of Antibiotics*, : 6th ed, M L Grayson et al (eds). London, Oxford University Press. 2010.
159. Steel JW, Hennessy DR. Influence of ruminal by pass on the pharmacokinetics and efficacy of benzimidazole anthelmintics in sheep. *International Journal for Parasitology*. 1999;29: 305-14.
160. Hennessy DR. Pharmacokinetic disposition of Benzimidazole drugs in the ruminant gastrointestinal tract. *Parasitology Today*. 1993;9: 329-33.
161. Virkel GL, Sallovitz J, Pis A, Lanusse C. Comparative hepatic and extra-hepatic enantioselective sulfoxidation of benzimidazole and Febendazole in sheep and cattle. *Drug metabolism and disposition*. 2004. p. 32: 536- 44.
162. Products TEAftEoM. Triclabendazole; Noviembre 1997.
163. Álvarez LI, Saumell CA, Sanchez SF, Lanusse CE. Plasma disposition kinetics of albendazole metabolites in pigs fed different diets. *Research in Veterinary Science* 1996;60: 151-6.
164. Lifschitz A, Virkel G, Mastromarino M, Lanusse C. Enhanced plasma availability of the metabolites of albendazole in fasted adult sheep. *Veterinary Research Communications*. 1997;21: 201-11.
165. Sánchez S, Álvarez LIM, Lanusse CE. Fasting-induced changes to the pharmacokinetics behavior of albendazole and its metabolites in calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 1997;20: 38-47.
166. Singh D, Sanyal PK, Swarnkar CP, Khan FA, Bhagwan PSK. Influence of diet type and pretreatment fasting on the disposition kinetics of albendazole in sheep. *Veterinary Research Communications*. 1999;23: 229-40.
167. Virkel GL, Pis A, Lanusse C. Influence of diet on the pattern of gastrointestinal biotransformation of netobimin and Albendazole sulphoxide in sheep. *European Journal of Drug metabolism and Pharmacokinetics*. 1999;24: 31-7.
168. Sánchez S, Álvarez L, Pis A, Quiroga M, Lanusse C. Differences in plasma and abomasal kinetics of Albendazole and its metabolites in calves grazed on pasture or fed grain-based diet. *Research in Veterinary Science*. 1999: 66: 223-30.

169. Sanyal PK, Knox MR, Singh DK, Hennessy DR, Steel JW. Influence of diet type on the kinetic disposition of triclabendazole in cattle and buffalo. *International Journal for Parasitology*. 1995;125: 1201-5.
170. Sánchez S, Álvarez LIM, Lanusse CE. Nutritional condition affect the disposition kinetics of Albendazole in cattle. *Xenobiotica*. 1996;26: 307-20.
171. Galtier P, Alvinerie M, Plusquellec Y, Tufenkji AE, Houin G. Decrease in Albendazole sulphonation during experimental fascioliasis in sheep. *Xenobiotica*. 1991. p. 21: 917-24.
172. Cotting J, Zeugin T, Steiger U, Reichen J. 1990. Albendazole kinetics in patients with echinococcosis: delayed absorption and impaired elimination in cholestasis. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1990;38: 605-8.
173. Álvarez LI, Sánchez SF, Lanusse CE. Modified plasma and abomasal disposition of Albendazole in nematode- infected sheep. 1997.
174. McKellar QA, Jackson F, Coop RL, Baggot JD. Plasma profiles of albendazole metabolites after administration of netobimin and Albendazole in sheep: effects of parasitism and age. *British Veterinary Journal*. 1993: 149: 01-13.
175. Mulder GJ. Sex differences in drug conjugation and their consequences for drug toxicity, sulfation, glucuronidation and glutathione conjugation. *Chemical and Biological interations* 1986;57: 1-15.
176. Cristófol C, Franquelo C, Navarro, Carretero A, Ruberte J, Arboix M. Comparative pharmacokinetics of netobimin metabolites in pregnant ewes. *Research in Veterinary Science*. 1997;62: 117-20.
177. Harris RZ, Benet, L. Z; Schwartz J. B. Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Drugs*. 1995. p. 50: 222-39.
178. Dannan GA, Guengerich FP, Waxman DJ. Hormonal regulation of rat liver microsomal enzymes. Role of gonadal steroids in programming, maintenance, and suppression of steroid 5 α reductase, flavin-containing monooxygenase, and sex-specific cythochromes P-450. *Journal of Biological Chemistry*. 1986.
179. Waxman DJ, Light DR, Walsh C. Chiral sulfoxidations catalyzed by rat liver cytochromes P-450. 1982. 21: 2499-507. p.
180. Witkamp RF, Nijmeijer SM, Mennes WC, Rozema AW, Noordhoek J, Van-Miert AS. Regioselective O-demethylation of scoparone (6,7-methoxycoumarin) to assess cytochrome P450 activities in vitro in the rat. Effect of gonadal steroids and the involvement of constitutive P450 enzymes. *Xenobiotica*. 1993: 23: 401-10.
181. Kamataki TM, Yamazoe Y, Nagai T, Kato R. Sex difference of cytochrome P-450 in the rat: purification, characterization, and quantification of constitutive forms of cytochrome P-450 from liver microsomes of male and female rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1983: 225: 758-70.
182. Notarianni L. J. Plasma protein binding of drugs in pregnancy and in neonates. 1990.

183. Högstedt S, Lindberg B, Peng, D. R., Regard C. G., Rane A. Pregnancy-induced increase in metoprolol metabolism. 1985. 37: 688-92 p.
184. Gardner MJ, Schatz M, Cousins L, Zeiger R, Middleton E, Jusko WJ. Longitudinal effects of pregnancy on the pharmacokinetics of theophylline. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1987;31: 289-95.
185. Delatour P, Benoit E, Besse S, Boukraa A. Comparative enantioselectivity in the sulphoxidation of albendazole in man, dogs and rats. *Xenobiotica*. 1991; 21: 217-21.
186. Lanusse CE, Nare B, Gascon LH, Prichard RK. Bioconversion of netobimin pro-drug by gastrointestinal fluids of ruminants. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 1992;17: 121-8.
187. Delatour P, Garnier F, Benoit E, Caude I. Chiral behaviour of the metabolite albendazole sulphoxide in sheep, goats and cattle. *Research in Veterinary Science* 1991;50: 134-8.
188. Valcarcel M. Técnicas analíticas de separación. 1988. 335-6, 597-613. p.
189. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos 2000. 17 - 25, 8-9, 101 -4, 50-51, 79-83, 247 p.
190. Murray P, D. Methods in enzymology volume 182, Guide To protein Purification. Academic Press Inc San Diego California, United States of America 1990. p. 309-80.
191. Lawrence A, Kaplan, Pesce J. Química clínica: Técnicas de laboratorio, fisiopatología, métodos de análisis. Teoría, análisis y correlación. Editorial Médica Panamericana. Junin, Buenos Aires. 1986.
192. Anónimo. Guía para la industria, la orientación de bioequivalencia: http://www.fda.gov/downloads/Animal_Veterinary/guidance_compliance/Enforcement/Guidance_for_Industry/ucm052363.Pdf 2006 [cited 2012].
193. Cid Camaro E. Introducción a la farmacocinética. Secretaria general de organización de los estados Americanos programa regional de Desarrollo Científico y tecnológico, Washington, EEUU. 1982.
194. Gibaldi MP, D. Pharmacokinetics. Editorial Marcell Dakker, Nueva York, EE.UU. 1982.
195. Riviere L. Comparative Pharmacokinetics, principals techniques and applications. 1999.
196. Dixit A, Roche T. E. Spectrophotometric assay of the flavin-containing monooxygenase and changes in its activity in female mouse liver with nutritional and diurnal conditions. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1984;233, 50-63.
197. Van Wyk J, Malan F, Van Rensburg L, Oberem P. Control de calidad de antihelmínticos Genéricos. 1997. 72, 157-65. p.
198. Elasmí A, Rasondy A, Mesky B, Shamas G. Bioequivalencia de una suspensión oral de Albendazol producido en Irán y en un producto de

referencia en ganado ovino. Revista internacional de Investigación aplicada en Medicina Veterinaria ,4, 14-119; 2006.

199. Martines M, Berson M. Biodisponibilidad / Bioequivalencia. Desarrollo y formulación de formas de dosificación de Veterinaria. 1998.
200. Kinabo L, Bogan J. Farmacocinética y eficacia de triclabendazol en cabras con Fascioliasis inducido. 1988.
201. Lanusse CEN, Gascon LH, Prichard R. K. Metabolism of Albendazole and Albendazole Sulphoxide by ruminal and intestinal fluids of sheep and cattle. Xenobiotica. 1992; 22: 419-26.
202. Alvarez L, Imperiale M, Sánchez S, Murno G, Lanusse C. La captación de sulfóxido de Albendazol y Albendazol por *Haemonchus contortus* y *Fasciola hepatica* en ovinos. 2000.
203. EMEA. In. Albendazol sulphoxide. Summary report-Final. Committee for Veterinary Medical products. The European Agency for the evaluation of Medicinal Products. Veterinary Medicines Evaluation Unit London. 1998.

ANEXO

Tabla 12. Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) de Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en plasma tras la administración oral de *Fasinex*[®] en bovinos.

GRUPO I (*Fasinex*[®])

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
1	0,00	0,05	0,04	0	0,041	0,05	0,03	0,03
3	0,81	1,64	1,61	1,18	1,27	1,08	1,26	0,32
6	2,00	4,49	3,79	3,01	2,55	2,65	3,08	0,91
9	6,52	8,87	6,09	5,69	5,26	4,16	6,10	1,58
12	11,11	12,09	8,34	8,85	8,21	5,91	9,08	2,22
18	14,21	15,67	10,23	13,18	9,86	9,19	12,06	2,66
24	10,36	13,60	8,57	13,28	6,94	8,35	10,18	2,75
30	8,59	8,83	7,52	10,71	7,25	6,70	8,27	1,45
36	7,61	6,33	6,16	7,84	5,04	4,78	6,29	1,26
48	3,40	2,80	3,98	4,64	2,90	2,94	3,44	0,73
72	0,86	0,81	1,64	1,23	1,05	1,03	1,10	0,30
96	0,23	0,28	0,57	0,42	0,424	0,35	0,38	0,12
120	0,09	0,13	0,23	0,14	0,169	0,22	0,16	0,05
144	0,05	0,05	0,12	0,07	0,079	0,08	0,08	0,02
168	0,03	0,03	0,05	0,04	0,028	0,04	0,04	0,01

Tabla 13. Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) de Triclabendazol Sulfona (TCBZ.SO₂) en plasma tras la administración oral de *Fasinex*[®] en bovinos.

GRUPO I (*Fasinex*[®])

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
1	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,02	0,01	0,01
3	0,26	0,56	0,42	0,15	0,36	0,30	0,34	0,14
6	0,84	2,58	1,65	0,72	1,20	1,12	1,35	0,68
9	2,96	5,91	3,51	1,77	3,00	2,30	3,24	1,44
12	5,79	10,70	5,80	3,35	5,44	3,83	5,82	2,61
18	12,60	20,01	11,17	7,32	10,35	8,28	11,62	4,53
24	17,32	30,43	14,95	12,20	12,53	13,00	16,74	6,98
30	23,96	36,30	19,87	16,92	21,48	18,22	22,79	7,06
36	29,02	40,26	24,02	20,03	21,84	19,77	25,82	7,85
48	27,52	38,86	26,68	22,82	24,66	21,10	26,94	6,31
72	25,25	31,47	28,54	20,50	21,83	18,81	24,40	4,92
96	16,84	19,53	19,9	14,09	15,84	11,72	16,33	3,16
120	11,67	12,13	14,9	9,90	10,95	8,59	11,36	2,17
144	7,97	7,58	10,06	6,39	7,45	5,08	7,42	1,66
168	5,64	4,29	6,73	4,29	4,52	3,23	4,78	1,22

Tabla 14. Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) de Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en plasma tras la administración oral de *Bilevon*[®] en bovinos.

GRUPO II (*Bilevon*[®])

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
1	0,08	0,00	0,08	0,05	0,11	0,00	0,05	0,04
3	2,09	0,94	1,70	1,34	1,74	0,76	1,43	0,51
6	5,13	3,29	5,70	3,50	3,42	2,81	3,97	1,15
9	8,21	6,05	8,19	6,61	5,45	5,36	6,64	1,29
12	10,89	8,90	10,24	8,87	7,91	8,19	9,17	1,17
18	12,02	12,07	9,89	9,46	13,04	11,25	11,29	1,38
24	11,48	10,04	9,22	10,41	11,54	9,06	10,29	1,07
30	9,60	10,05	6,41	8,08	11,49	6,61	8,71	2,02
36	7,50	7,63	5,60	7,44	7,49	5,15	6,80	1,12
48	5,26	5,75	3,48	4,87	4,09	2,51	4,33	1,21
72	1,51	1,68	1,11	1,46	1,65	0,60	1,34	0,41
96	0,45	0,49	0,37	0,57	0,59	0,18	0,44	0,15
120	0,14	0,19	0,13	0,21	0,39	0,08	0,19	0,11
144	0,05	0,09	0,05	0,07	0,08	0,03	0,06	0,02
168	0,04	0,04	0,03	0,04	0,03	0,02	0,03	0,01

Tabla 15. Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) de Triclabendazol Sulfona (TCBZ.SO₂) en plasma tras la administración oral de *Bilevon*[®] en bovinos.

GRUPO II (Bilevon[®])

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
1	0,02	0	0,07	0,03	0,02	0	0,02	0,03
3	0,42	0,18	0,42	0,30	0,39	0,24	0,32	0,10
6	1,43	0,91	1,917	1,29	1,36	1,39	1,38	0,32
9	3,22	2,08	4,18	3,22	2,89	3,15	3,12	0,68
12	5,73	3,87	7,00	6,09	5,38	5,96	5,67	1,03
18	9,39	7,80	10,59	9,59	10,87	12,48	10,12	1,58
24	12,85	9,63	15,18	15,54	13,65	16,29	13,86	2,43
30	16,65	14,26	15,19	17,78	22,56	19,33	17,63	3,02
36	19,65	15,70	19,66	25,22	21,00	23,56	20,80	3,34
48	25,39	21,04	22,05	27,24	21,75	23,58	23,51	2,40
72	22,51	19,18	20,75	24,09	24,02	20,22	21,79	2,06
96	19,14	14,09	17,00	20,95	18,69	14,13	17,33	2,80
120	13,36	9,91	11,48	13,77	15,06	8,75	12,05	2,43
144	9,35	7,30	9,29	10,18	7,92	5,69	8,29	1,64
168	6,03	4,05	5,50	5,60	4,50	3,29	4,83	1,06

Tabla 16. Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) de Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en plasma tras la administración oral de *Trisan*[®] en bovinos.

GRUPO III (*Trisan*[®])

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
1	0,07	0	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,02
3	1,45	0,68	1,03	0,76	0,40	0,67	0,83	0,36
6	4,46	2,38	3,52	2,42	1,27	2,48	2,75	1,10
9	6,16	3,79	5,55	5,00	2,64	4,45	4,60	1,27
12	7,50	4,63	7,03	6,50	3,67	5,27	5,77	1,49
18	7,93	4,36	6,60	7,43	4,58	5,45	6,06	1,49
24	7,25	3,68	7,12	6,85	4,31	4,92	5,69	1,57
30	6,61	2,94	5,79	5,14	3,85	3,88	4,70	1,38
36	4,90	2,32	4,27	4,07	2,98	2,78	3,55	1,00
48	3,95	1,41	2,87	2,74	2,46	1,98	2,57	0,86
72	1,87	0,63	1,22	0,99	1,03	0,63	1,06	0,46
96	0,69	0,26	0,53	0,36	0,40	0,23	0,41	0,17
120	0,25	0,11	0,23	0,14	0,14	0,09	0,16	0,06
144	0,12	0,05	0,13	0,08	0,07	0,08	0,09	0,03
168	0,07	0,03	0,08	0,05	0,05	0,04	0,05	0,02

Tabla 17. Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) de Triclabendazol Sulfona (TCBZ.SO₂) en plasma tras la administración oral de *Trisan*[®] en bovinos.

GRUPO III (*Trisan*[®])

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
1	0,00	0,00	0,00	0,02	0,03	0,03	0,01	0,01
3	0,51	0,48	0,35	0,28	0,24	0,30	0,36	0,11
6	2,14	2,37	1,67	1,306	1,07	1,64	1,70	0,49
9	4,46	5,48	4,13	3,50	2,86	3,94	4,06	0,89
12	7,36	9,45	7,29	6,07	5,79	6,92	7,14	1,30
18	14,14	16,73	11,85	13,01	11,33	13,83	13,48	1,93
24	21,38	21,26	19,42	18,97	16,95	19,47	19,57	1,64
30	24,14	23,38	24,22	22,63	22,07	22,33	23,13	0,93
36	24,29	25,67	27,05	24,43	24,51	23,32	24,88	1,30
48	28,98	26,75	30,79	26,93	30,67	26,52	28,44	1,98
72	30,72	23,85	28,66	22,86	27,07	20,67	25,64	3,81
96	21,68	15,19	21,27	16,44	19,99	14,39	18,16	3,21
120	14,69	11,89	17,20	12,48	13,44	9,78	13,24	2,54
144	9,76	9,17	14,25	9,03	8,90	11,27	10,40	2,08
168	6,39	5,60	8,54	5,71	6,73	5,00	6,33	1,24

Tabla 18. Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) de Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en plasma tras la administración oral de *Zoliplus*[®] en bovinos.

GRUPO IV (*Zoliplus*[®])

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
1	0,11	0,08	0,11	0,18	0,18	0,16	0,13	0,04
3	0,97	0,85	1,27	1,31	1,08	1,19	1,11	0,18
6	2,75	2,05	2,85	3,75	2,67	1,87	2,66	0,67
9	6,94	4,18	4,94	6,64	5,13	3,91	5,29	1,25
12	8,62	7,86	7,65	8,48	7,17	5,65	7,57	1,08
18	10,43	11,08	11,59	13,40	10,43	11,56	11,42	1,10
24	9,77	11,36	13,26	15,66	13,13	11,68	12,48	2,02
30	8,96	10,76	13,51	12,28	12,96	10,69	11,53	1,70
36	8,73	10,09	10,65	9,66	11,38	10,56	10,18	0,91
48	5,65	7,63	8,49	7,42	9,40	9,10	7,95	1,37
72	1,86	2,96	3,29	1,84	3,99	3,50	2,91	0,88
96	0,63	0,91	1,09	0,99	1,51	1,60	1,12	0,37
120	0,21	0,28	0,41	0,36	0,48	0,55	0,38	0,13
144	0,11	0,14	0,21	0,13	0,28	0,35	0,20	0,10
168	0,04	0,07	0,08	0,07	0,18	0,17	0,10	0,06

Tabla 19. Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) de Triclabendazol Sulfona (TCBZ.SO₂) en plasma tras la administración oral de *Zoliplus*[®] en bovinos.

GRUPO IV (*Zoliplus*[®])

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
1	0,02	0,02	0,05	0,02	0,03	0,03	0,03	0,01
3	0,34	0,27	0,40	0,31	0,28	0,36	0,33	0,05
6	1,33	0,95	1,31	1,19	1,04	0,89	1,12	0,19
9	3,74	1,98	2,60	2,52	2,41	2,09	2,56	0,63
12	6,27	4,06	4,68	3,42	4,02	3,21	4,28	1,11
18	12,38	8,75	9,88	8,65	8,39	8,54	9,43	1,54
24	15,43	11,80	14,94	13,95	14,83	12,15	13,85	1,53
30	18,87	15,40	21,44	15,44	19,70	14,50	17,56	2,82
36	25,05	19,49	24,62	16,69	21,73	18,13	20,95	3,44
48	27,60	24,61	34,25	22,07	29,21	25,35	27,18	4,25
72	24,71	24,95	33,28	15,58	33,15	23,92	25,93	6,63
96	19,57	21,28	26,74	16,91	29,12	22,45	22,68	4,54
120	13,02	14,75	20,66	11,08	18,09	16,88	15,75	3,49
144	8,49	10,86	17,66	8,62	16,36	14,06	12,67	3,94
168	5,84	7,92	12,01	6,55	12,90	12,28	9,58	3,17

Tabla 20. Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) de Triclabendazol Sulfóxido (TCBZ.SO) en plasma tras la administración oral de *Zolinex dorado*[®] en bovinos.

GRUPO V (*Zolinex dorado*[®])

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
1	0,05	0,09	0,04	0,09	0,04	0,05	0,06	0,02
3	1,18	1,65	0,59	1,63	0,87	0,83	1,13	0,44
6	2,70	3,84	1,73	4,17	2,56	2,25	2,87	0,94
9	5,68	7,11	4,46	5,92	6,41	4,50	5,68	1,05
12	9,51	10,66	6,88	8,80	12,39	8,02	9,37	1,96
18	14,38	12,37	10,57	13,55	14,56	12,37	12,97	1,50
24	11,50	13,31	11,29	14,37	18,16	12,96	13,60	2,52
30	13,26	13,13	12,23	13,45	15,45	11,77	13,21	1,27
36	9,01	10,80	10,93	12,16	13,72	9,79	11,07	1,68
48	6,02	8,11	7,95	9,74	7,98	6,43	7,70	1,33
72	2,64	3,02	4,50	4,59	3,29	2,67	3,45	0,88
96	0,87	1,11	1,50	1,86	1,23	1,15	1,29	0,34
120	0,36	0,50	0,71	0,86	0,63	0,48	0,59	0,18
144	0,16	0,19	0,32	0,39	0,26	0,19	0,25	0,09
168	0,09	0,11	0,19	0,22	0,14	0,12	0,14	0,05

Tabla 21. Valores individuales, medios y desviación estándar (DE) de concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) de Triclabendazol Sulfona (TCBZ.SO₂) en plasma tras la administración oral de *Zolinex dorado*[®] en bovinos.

GRUPO V (*Zolinex dorado*[®])

Tiempo (h)	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Media	DE
1	0,05	0,03	0,02	0,04	0,016	0,07	0,04	0,02
3	0,31	0,40	0,14	0,38	0,20	0,22	0,27	0,11
6	1,226	1,36	0,57	1,412	0,91	0,88	1,06	0,33
9	3,02	3,05	1,74	2,78	2,78	2,04	2,57	0,55
12	5,83	5,96	3,66	5,04	6,53	4,38	5,23	1,08
18	14,22	10,95	8,65	11,56	11,87	10,14	11,23	1,87
24	16,33	16,00	12,81	16,96	23,42	15,60	16,86	3,52
30	27,12	23,60	18,60	22,08	28,07	21,88	23,56	3,54
36	28,94	26,88	22,21	27,32	35,57	27,47	28,06	4,33
48	31,16	32,83	23,93	32,93	33,81	32,08	31,12	3,64
72	32,85	32,11	27,23	33,21	33,74	33,12	32,04	2,42
96	19,77	23,29	19,94	25,68	24,04	25,44	23,03	2,61
120	14,74	19,34	15,00	20,79	19,54	20,92	18,39	2,80
144	9,09	13,48	10,90	16,23	12,21	15,26	12,86	2,68
168	5,75	9,55	8,04	11,65	8,06	11,15	9,03	2,21

