

Ustalenie biorównoważności preparatu sulfonamidowego potencjalizowanego trimetoprimem Ditrivet solutio w porównaniu z preparatem referencyjnym u kur brojlerów

CEZARY KOWALSKI, ZBIGNIEW ROLIŃSKI, ARTUR BURMAŃCZUK,
DOROTA KRASUCKA, ZYGMUNT WRONA*, LESZEK KRAKOWSKI*

Zakład Farmakologii Katedry Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

*Zakład Andrologii i Biotechnologii Rozrodu Katedry i Kliniki Rozrodu Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR,
ul. Głębocka 30, 20-612 Lublin

Kowalski C., Roliński Z., Burmańczuk A., Krasucka D., Wrona Z., Krakowski L.

Evaluation of the bioequivalence sulfonamide preparations potentiated with trimethoprim in hen-broilers

Summary

Sulfadiazine combined with trimethoprim is commonly used in the veterinary medicine. According to requirements of the UE the majority of veterinary drugs need pharmacokinetic studies on target animals in order to determine the bioequivalence of an examined preparation. In order to obtain approval of the bioequivalence of the evaluated specimens it is necessary to compare values of two pharmacokinetic parameters: area under the concentration-time (AUC) and maximal concentration (C_{max}). The evaluation of the bioequivalence based on the comparison of mutual proportion of corresponding pairs of parameters (AUC, C_{max} , t_{max}) confirmed that the examined sulfonamide preparations were bioequivalent and that they could be replaced according to the required standard procedures and have similar pharmacokinetic properties.

Keywords: sulfonamide, bioequivalence, hen-broilers

Sulfonamidy są pochodnymi sulfanilamidu, chemicznie stanowią amidy kwasu p-aminobenzenosulfonowego. W lecznictwie stosuje się przeważnie sole sodowe, łatwo rozpuszczalne w wodzie, jako roztwory do stosowania *per os* lub do wstrzykiwań. Sulfonamidy działają wyłącznie bakteriostatycznie (wyjątek stanowią drogi moczowe, gdzie przy wysokiej koncentracji osiągają efekt bakteriobójczy), tzn. hamują podział komórki bakteryjnej. Hamowanie przez sulfonamidy wzrostu bakterii polega na konkurencyjnym antagonizmie z kwasem p-aminobenzoowym (PABA) w procesie syntezy kwasu foliowego, związku niezbędnego do dalszej biosyntezy kwasów nukleinowych. Wysoką wrażliwość na sulfonamidy potencjalizowane obserwowano w odniesieniu do gronkowców i paciorkowców (7, 13). Zakres działania przeciwbakteryjnego nie obejmuje bakterii z rodzaju *Pseudomonas* i *Mycobacterium* (4). Działanie bakteriostatyczne występuje po okresie utajenia, tzn. po upływie czasu, w którym komórka bakteryjna zużyje własne zapasy PABA (4). Sulfonamidy działają tylko na te drobnoustroje, które muszą syntetyzować własny kwas foliowy (11).

Właściwości farmakokinetyczne sulfadiazyny. Podobnie jak większość sulfonamidów związek ten

wchłania się całkowicie z przewodu pokarmowego zwierząt, z wyjątkiem dorosłych przeżuwaczy. Szybkość wchłaniania sulfadiazyny po podaniu doustnym, zależy od takich czynników, jak: wiek, postać leku, gatunek oraz środowisko, w którym zachodzi wchłanianie (6). Sulfadiazyna należy do tzw. średnio-długo działających sulfonamidów, to znaczy stężenie tych związków utrzymuje się powyżej 50 µg/ml w zależności od gatunku zwierząt przez okres 12-24 h od podania (15). Sulfonamidy ulegają rozmieszczeniu we wszystkich tkankach organizmu. Stopień ich rozmieszczenia zależy od stopnia zjonizowania, unaczynienia tkanek, występowania specyficznych barier dla tych związków oraz od stopnia wiązania z białkami krwi. Sulfadiazyna wiąże się z białkami krwi w 90% i tylko niezwiązana frakcja leku podlega stopniowej dystrybucji. Wysoki poziom wiązania sulfadiazyny z białkami podwyższa wartość biologicznego okresu półtrwania tego związku (15). Jest on ściśle skorelowany z wysokością stężenia tych leków we krwi w pierwszym okresie po podaniu (12), a poziom sulfadiazyny w innych płynach ustrojowych (opłucnowym, otrzewnowym, maziowym) może stanowić 50-90% stężenia we krwi. Największe stężenie sulfonamidów występuje w nerkach, wątrobie i płucach.

U większości zwierząt metabolizm sulfonamidów zachodzi w wyniku acetylacji, głównie w wątrobie i płucach. Zacetylowane metabolity są słabiej rozpuszczalne od związków macierzystych, dlatego wzrasta ryzyko uszkodzenia kanalików nerkowych w wyniku wytrącenia skryształizowanych postaci metabolitów (15). Sprzęganie z kwasem glukuronowym i aromatyczna hydroksylacja są dalszymi drogami przemian metabolicznych u zwierząt. Sulfonamidy, które osiągną we krwi stężenia terapeutyczne, są wydalane przez nerki, zarówno w postaci związków macierzystych, jak i powstałych metabolitów. Niskie pH moczu sprzyja kanalikowej reabsorpcji do krwiobiegu i powoduje dłuższe utrzymywanie się sulfonamidów w organizmie, natomiast alkalizacja moczu przyspiesza wydalanie sulfonamidów z moczem w wyniku spowolnienia zależnej od pH biernej reabsorpcji w kanalikach (15).

Trimetoprim (TMP). Jako rozpuszczalna w lipidach organiczna zasada, TMP jest szybko wchłaniany po podaniu doustnym, a następnie ulega dystrybucji do większości tkanek organizmu, gromadzi się zwłaszcza w tkankach o odczynie bardziej kwaśnym niż plazma (12, 15). Metabolizm TMP zachodzi w wyniku procesu utleniania i reakcji sprzęgania, zachodzących w wątrobie. Zarówno TMP niezmienny, jak i powstające metabolity są wydalane z moczem (15). Po stosowaniu doustnym TMP u kurcząt w dawce 4 mg/kg m.c./24 h, wartość biologicznego okresu półtrwania wynosiła $t_{1/2} = 0,63$ h (3).

Zgodnie z dyrektywą UE, prowadzenie badań nad wykazaniem biorównoważności preparatu odtworzonego z lekiem referencyjnym w przypadku większości weterynaryjnych produktów leczniczych wymaga przeprowadzenia badań farmakokinetycznych na zwierzętach docelowych. Uznanie biorównoważności ocenianych preparatów wymaga przede wszystkim porównania wartości dwóch wskaźników farmakokinetycznych: powierzchni pola pod krzywą stężenie–czas (AUC) i stężenia maksymalnego C_{max} w czasie t_{max} (1, 2, 8, 9, 16).

Celem pracy było uznanie biorównoważności pomiędzy preparatem badanym Ditrivet solutio a lekiem referencyjnym Trimetosul 48%.

Materiał i metody

Zwierzęta. Badania wykonano na 65 brojlerach kurzych w wieku 6 tygodni i średniej masie ciała 2,3 kg, pochodzących z fermy RSP – Wola Przybysławska, woj. lubelskie. Brojlery przed doświadczeniem przeszły 7-dniową kwarantannę i zostały oznakowane. Ptaki w okresie kwarantanny i w trakcie doświadczenia były trzymane w drewnianych klatkach o podłodze z siatki metalowej, stojących w dobrze wentylowanych pomieszczeniach wiwarium. Ptaki podzielono na trzy grupy w zależności od przeznaczenia. Pierwsza grupa (30 szt.) otrzymywała preparat badany – Ditrivet solutio, druga grupa (30 szt.) otrzymywała lek referencyjny – Trimetosul 48%, trzecią grupę (5 szt.) stanowiły kurczęta kontrolne, służące jako źródło czystej plazmy. W trakcie kwarantanny i trwania doświadczenia ptaki były żywione paszą bez kok-

cydiostatyków, pochodzącą z wytwórni Agropol S.J. Motycz, woj. lubelskie, oraz otrzymywały wodę *ad libitum*. Krew do badań pobierano z żyły pachowej (*v. axillaris*) w płytkiej narkozie (ketamina 10 mg/kg m.c./i.m./ + pentobarbital 20 mg/kg m.c./i.m./) po upływie 0,45, 1, 3, 4, 6 i 8 h od podania badanych leków. Na przeprowadzenie badań otrzymano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach.

Leki. Badany preparat o nazwie roboczej: Ditrivet solutio stosowany był w postaci roztworu o składzie: sulfadiazyna – 160 mg, TMP – 40 mg w 1 ml, jako leku referencyjnego użyto: Trimetosul 48% Pliva – Kraków w postaci zawiesiny o składzie: sulfadiazyna – 400 mg/ml, TMP – 80 mg/ml. Obydwa preparaty podawano jednorazowo, sondą metalową bezpośrednio do wola w jednakowej dawce 30 mg/kg m.c. w przeliczeniu na substancje aktywne.

Aparatura i sprzęt laboratoryjny. Do oznaczeń zastosowano chromatograf cieczowy firmy Varian z automatycznym systemem zbierania danych, detektor UV o zakresie długości fali 190–700 nm, dozownik Rheodyne o objętości pętli 20 μ l (USA), kolumnę LiChroCart 125-3 purosfer RP-18-e, 5 μ m (Merck, Niemcy), filtr 45 μ PTFE (firmy Phenomenex, USA) i wytrząsarkę typu Vortex (firmy Bosch).

Odczynniki. Wszystkie odczynniki miały czystość chromatograficzną: acetonitryl, cz.d.a. chromatograficznych HPLC (Merck), HCl, cz.d.a. (POCH), NaOH, cz.d.a. (POCH), chlorek metylenu, cz.d.a. chromatograficznych (Merck), KH_2PO_4 , cz.d.a. (POCH), woda oczyszczona otrzymywana metodą podwójnej osmozy przy użyciu systemu Milli-Q plus 185 (Millipore).

Procedura ekstrakcji sulfadiazyny i TMP z próbek plazmy. Do 1 ml próbki plazmy badanej dodawano przy oznaczaniu sulfadiazyny 4 ml 0,05 M roztworu HCl lub 4 ml 0,01 M roztworu NaOH przy oznaczaniu TMP. Mieszaniny odstawiano na 15 min. Następnie próbki homogenizowano przez 1 min. Homogenaty wirowano przez 1 min. (6000 \times g). Następnie 3 ml otrzymanego supernatantu rozcieńczano 3 ml wody oczyszczonej, dodawano 4 ml chlorku metylenu i prowadzono ekstrakcje sulfadiazyny i TMP przez intensywne mieszanie przez 1 minutę, następnie wytrząsając przez dalsze 2 minuty. Mieszaninę schładzano przez 15 min. w temperaturze $\pm 4^\circ C$. Zbierano oddzieloną frakcję emulsji z chlorkiem metylenu i wirowano przy 2500 \times g obrotów przez 2 minuty. Następnie całość frakcji z chlorkiem metylenu przepuszczano przez filtr PTFE i zebraną część w objętości 2 ml odparowywano do sucha w strumieniu powietrza. Suchą pozostałość rozpuszczano w 1 ml fazy ruchomej: 10% acetonitryl + 90% 0,02 M KH_2PO_4 o pH = 2,8.

Procedura analizy chromatograficznej. Oznaczanie sulfadiazyny i TMP w próbkach plazmy kurcząt rzeźnych otrzymujących preparat badany – Ditrivet solutio i preparat referencyjny Trimetosul 48% wykonano przy użyciu chromatografu cieczowego firmy Varian. Analizę chromatograficzną wykonano przy użyciu kolumny LiChroCart 125 purosfer RP-18 e, 5 μ m. Zakres długości fali przy użyciu detektora UV wynosił dla sulfadiazyny 270 nm, a dla TMP 230 nm. Stosowano dwuskładnikową fazę ruchomą: 10% acetonitryl + 90% 0,02 M KH_2PO_4 o pH = 2,8. Objętość nanoszonej próbki – 20 μ l. Szybkość przepływu fazy ruchomej: 1 ml/min.

Obliczanie stężeń sulfadiazyny i TMP. Określenie poziomów stężeń sulfadiazyny i TMP w próbkach plazmy kurcząt doświadczalnych wykonano przy użyciu krzywych kalibracyjnych. Wykreślenie krzywych i obliczanie wyników

przeprowadzono przy użyciu programu Excel. Krzywe stężeń dla sulfadiazyny i TMP przedstawiono na (ryc. 1 i 2). Do przygotowania krzywej kalibracyjnej dla sulfadiazyny i TMP stosowano wzrastające stężenia obu badanych związków, dla sulfadiazyny od 1,5 do 10 $\mu\text{g/ml}$ i dla TMP 0,100, 0,500 i 1,00 $\mu\text{g/ml}$. Powtarzalność i odtwarzalność użytej metody do analiz chromatograficznych została potwierdzona przez określenie względnego odchylenia standardowego (RSD).

Określano również stopień odzysku sulfadiazyny i TMP z próbek plazmy kontrolnej. Średnia wartość odzysku sulfadiazyny z próbek plazmy kontrolnej wynosiła 80,6%, a średnia wartość odzysku TMP – 76,0%.

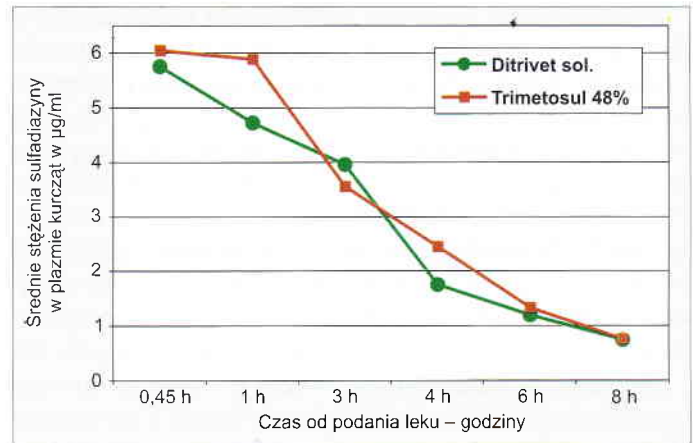
Przeprowadzenie analizy farmakokinetycznej. Wskaźniki farmakokinetyczne dla sulfadiazyny i TMP, służące do określania biorównoważności pomiędzy preparatem Ditrivet solutio a preparatem Trimetosul 48% obliczono przy użyciu metody niekompartmentowej (5, 10), według programu komputerowego PK Solutions 2,0. Określono pole powierzchni pod krzywą stężenie–czas (AUC), wartość stężenia maksymalnego (C_{max}) oraz upływ czasu, po którym to stężenie występuje (t_{max}). Ocena biorównoważności analizowanych produktów leczniczych (badanego i referencyjnego) przeprowadzono przez porównanie statystyczne ewentualnych różnic pomiędzy porównywanymi wskaźnikami.

Oceniane preparaty można uznać za biorównoważne, gdy stosunek porównywanych par parametrów, wyrażony w wartościach rzeczywistych mieści się w granicach 0,80-1,20, a analiza wariancji (Anova) nie wykazuje pomiędzy tymi wskaźnikami statystycznie istotnej różnicy, przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$ (8, 9).

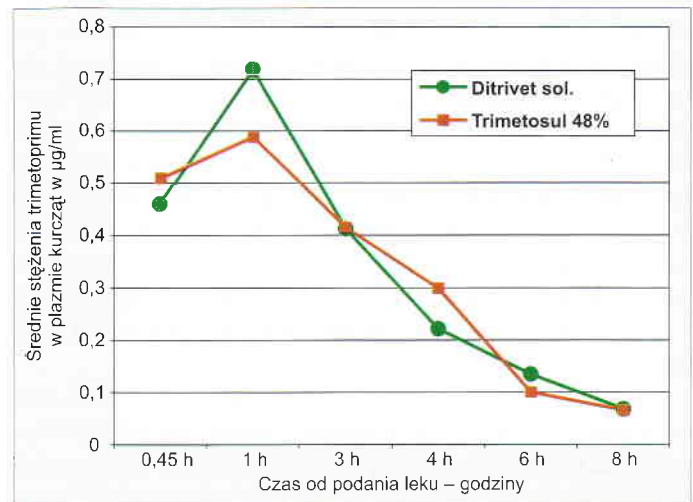
Wyniki i omówienie

Jak wynika z przebiegu krzywych (ryc. 1 i 2) dla stężeń sulfadiazyny i TMP w plazmie po stosowaniu u kurcząt porównywanych preparatów, miały one w okresie 0,45-8 h od podania przebieg równoległy. Najwyższe średnie stężenia sulfadiazyny po stosowaniu obu preparatów stwierdzono już po upływie 0,45 h od podania; wynosiły one: 5,74 $\mu\text{g/ml}$ Ditrivet sol. i 6,04 $\mu\text{g/ml}$ Trimetosul 48%. Po 4 h od podania stężenia sulfadiazyny uległy znacznemu obniżeniu w porównaniu ze stężeniem po pierwszym pobraniu krwi, zachowując zbliżony poziom w przypadku obu preparatów: 1,74 $\mu\text{g/ml}$ Ditrivet solutio i 2,45 $\mu\text{g/ml}$ Trimetosul 48%. Również po 8 h od podania porównywanych leków stężenia sulfadiazyny układały się na zbliżonym poziomie i wynosiły 0,73 $\mu\text{g/ml}$ Ditrivet solutio i 0,75 $\mu\text{g/ml}$ Trimetosul 48%.

Obliczone wskaźniki farmakokinetyczne dla sulfadiazyny i TMP po jednorazowym stosowaniu u kurcząt rzeźnych preparatu badanego – Ditrivet solutio i leku referencyjnego – Trimetosul 48% przedstawiono w tab. 1 i 2.



Ryc. 1. Stężenia sulfadiazyny w plazmie kurcząt rzeźnych po stosowaniu preparatu Ditrivet sol. i preparatu referencyjnego Trimetosul 48% w dawce 30 mg/kg m.c. w przeliczeniu na substancję czynną



Ryc. 2. Stężenia trimetoprimu w plazmie kurcząt rzeźnych po stosowaniu preparatu Ditrivet sol. i preparatu referencyjnego Trimetosul 48% w dawce 30 mg/kg m.c. w przeliczeniu na substancję czynną

Tab. 1. Wskaźniki farmakokinetyczne dla sulfadiazyny obliczone po stosowaniu u kurcząt rzeźnych preparatu Ditrivet solutio i leku referencyjnego Trimetosul 48%

Wskaźniki farmakokinetyczne	Ditrivet solutio	Trimetosul 48%
$t_{1/2\text{ a}}$ (h)	0,323	0,456
$t_{1/2\text{ d}}$ (h)	0,322	0,522
$t_{1/2\text{ el}}$ (h)	2,886	2,451
AUC (0-t, obs. area) ($\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$)	19,8	22,2
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	5,7	6,0
t_{max} (h)	0,7	0,7
MRT (area) (h)	4,0	3,7
Vd (area) (l/kg)	2,3	1,8
Cl (obs. area) (ml/h/kg)	1,517	1,351

Tab. 2. Wskaźniki farmakokinetyczne dla TMP obliczone po stosowaniu u kurcząt rzeźnych preparatu badanego Ditrivet solutio i leku referencyjnego Trimetosul 48%

Wskaźniki farmakokinetyczne	Ditrivet solutio	Trimetosul 48%
$t_{1/2\text{ a}}$ (h)	0,246	0,359
$t_{1/2\text{ d}}$ (h)	1,386	1,500
$t_{1/2\text{ el}}$ (h)	2,985	3,129
AUC (0-t, obs. area) (ng·h/ml)	2340,4	2271,3
C_{max} (ng/ml)	716,9	599,6
t_{max} (h)	1,0	1,0
MRT (area) (h)	3,3	3,9
Vd (l/kg)	1,67	1,8
Cl (obs. area) (ml/h/kg)	2,0	2,8

Objaśnienia: $t_{1/2\text{ a}}$, d, el; $t_{1/2}$ – okres biologicznego półtrwania; a – wchłanianie; d – dystrybucja; el – eliminacja

Tab. 3. Ocena biorównoważności pomiędzy preparatem Ditrivet solutio a lekiem referencyjnym Trimetosul 48% na podstawie określenia wzajemnego stosunku wskaźników farmakokinetycznych dla sulfadiazyny: AUC, C_{max} i t_{max} dla leku badanego i referencyjnego

Analizowane wskaźniki	Lek badany M ± SD	Lek referencyjny M ± SD	Bad./ref.
AUC (µg-h/ml)	19,8 ± 4,8	22,2 ± 5,6	0,89
C_{max} (µg/ml)	5,7 ± 1,7	6,0 ± 2,2	0,95
t_{max} (h)	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	1,00

Wskaźniki dla sulfadiazyny. Wartość wskaźnika AUC (O-t, obs. area) sulfadiazyny wynosiła w przypadku Ditrivet solutio – 19,8 µg-h/ml i 22,2 µg-h/ml dla Trimetosul 48%. Wartość C_{max} i t_{max} dla sulfadiazyny w przypadku obu preparatów wynosiła odpowiednio: 5,7 µg/ml i 0,7 h dla Ditrivet solutio i 6,0 µg/ml i 0,7 h dla Trimetosul 48% (tab. 1).

Wskaźniki dla TMP. Obliczona wartość AUC (O-t, obs. area) dla preparatu badanego wynosiła – 2,34 µg-h/ml, a dla leku referencyjnego – 2,27 µg-h/ml. Wartości C_{max} i t_{max} dla TMP po stosowaniu preparatu Ditrivet solutio wynosiły odpowiednio: 7,16 µg/ml i 1,0 h i dla preparatu Trimetosul 48% – 5,99 µg/ml i 1,0 h (tab. 2).

Ocena biorównoważności preparatu Ditrivet solutio z lekiem referencyjnym Trimetosul 48% na podstawie określenia wzajemnego stosunku wskaźników farmakokinetycznych obliczonych dla sulfadiazyny: AUC, C_{max} i t_{max} . Określanie biorównoważności leków odtwórczych w porównaniu z lekami referencyjnymi (oryginalnymi) przeprowadzono zgodnie z odpowiednimi dyrektywami UE (1, 2), w których wyraźnie sformułowano stwierdzenie, że stężenie porównywanych leków w płazmie stanowi podstawę do oceny biorównoważności. Wynika to z założenia, że jeżeli dwa leki porównywane osiągają podobne stężenia w płazmie, to leki te powinny również wywierać taki sam efekt farmakologiczny (16). Według wspomnianych rozporządzeń, podstawowymi wskaźnikami do oceny biorównoważności są: AUC, C_{max} i t_{max} . Taki wybór jest w pełni uzasadniony. Wskaźniki te najlepiej charakteryzują proces wchłaniania leków do krwi. Większość autorów uważa, że jedną z ważniejszych przyczyn braku równoważności pomiędzy dwoma preparatami, zawierającymi tę samą substancję czynną stanowi różnica w stopniu ich wchłaniania do krwi (14, 16).

Przeprowadzone porównanie wymienionych wskaźników farmakokinetycznych dla dwóch składników czynnych preparatu badanego Ditrivet solutio i leku referencyjnego Trimetosul 48%, pozwala uznać je za biorównoważne. Występowanie biorównoważności pomiędzy porównywanymi preparatami zostało ustalone w wyniku porównania wzajemnego stosunku wartości AUC, C_{max} i t_{max} leku badanego i referencyjnego.

Przeprowadzona analiza stosunku wartości AUC/bad. i AUC/ref.; C_{max} /bad. i C_{max} /ref. i t_{max} /bad. i t_{max} /ref.

Tab. 4. Ocena biorównoważności pomiędzy preparatem Ditrivet solutio a lekiem referencyjnym Trimetosul 48% na podstawie określenia wzajemnego stosunku wskaźników farmakokinetycznych dla TMP: AUC, C_{max} i t_{max} dla leku badanego i referencyjnego

Analizowane wskaźniki	Lek badany M ± SD	Lek referencyjny M ± SD	Bad./ref.
AUC (ng-h/ml)	2340,4 ± 489,3	2271,3 ± 384,5	1,03
C_{max} (ng/ml)	716,9 ± 293,0	599,6 ± 201,2	1,19
t_{max} (h)	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,4	1,00

/ref. porównywanych preparatów wykazała, że oceniane wartości trzech wskaźników obliczonych dla sulfadiazyny i TMP mieszczą się w wymaganych granicach, wyrażonych w wartościach rzeczywistych, to jest od 0,8 do 1,2. Pozwala to na stwierdzenie, że uzyskany w przeprowadzonej analizie zakres dopuszczalnych różnic jest zgodny z dyrektywą Unii Europejskiej (1).

Reasumując, uzyskane wyniki z przeprowadzonej analizy matematycznej obejmującej porównanie par wskaźników farmakokinetycznych (AUC, C_{max} , t_{max}), pozwalają uznać lek badany Ditrivet solutio firmy Biofaktor za biorównoważny w stosunku do leku referencyjnego Trimetosul 48% firmy Pliva – Kraków.

Piśmiennictwo:

1. Anon.: Conduct of bioequivalence studies in animals. Directive 81/8522/EEC, November 1992.
2. Anon.: Bioequivalence Guideline. Center for Veterinary Medicine. Food and Drug Administration. Rockville. MD 1996.
3. Dagorn M., Moulin G., Laurentie M., Delmas J. M.: Plasma and lung pharmacokinetics of trimethoprim and sulphadiazine combinations administered to broilers. Acta Vet. Scand. 1991, 87, 273.
4. Garrod L. P., Lambert H. P.: Antibiotics and Chemotherapy. Churchill, Livingstone 1992.
5. Gibaldi M., Perrier D.: Pharmacokinetics. Marcel Dekker, New York 1982.
6. Haluska M.: Age-related alterations in trimethoprim-sulfadiazine disposition following oral or parenteral administration in calves. Can. J. Vet. Res. 1986, 50, 342-348.
7. Janus K., Deka A., Kostyrka K., Antoszek J., Suszycki S., Grochowina B., Muszyński Z.: Wpływ wieku oraz pory doby na farmakokinetykę sulfamidyny u cieląt. Medycyna Wet. 2004, 60, 292-299.
8. Kaartinen L., Lohonen K., Wiese B., Franklin A.: Pharmacokinetics of sulphadiazine-trimethoprim in lactating dairy cows. Acta Vet. Scand. 1999, 40, 271.
9. Löscher W., Ungemch F. R., Kroker R.: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, Parey Buchverlag, Berlin 2002.
10. Martinez M. N.: Noncompartmental methods of drug characterization: statistical moment theory. JAVMA 1998, 213, 974-981.
11. Prescott J. F., Baggot J. D.: Sulfonamides, trimethoprim, ormetoprim and their combinations, [w:] Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. Iowa State University Press, Ames 1993, 229.
12. Rasmussen F., Nielsen P.: Half-life and renal excretion of trimethoprim in swine. Acta Pharmacol. Toxicol. 1975, 36, 123-127.
13. Rypula K., Klimentowski S., Kotowski K., Śmiełowska-Łoś E.: Wrażliwość na chemioterapeutyki bakterii izolowanych od cieląt i prosiąt ze schorzeniami układu oddechowego i pokarmowego. Medycyna Wet. 1999, 55, 391-396.
14. Schall R., Luus H. G.: Comparison of absorption rates in bioequivalence studies of immediate release drug formulations. Inter J. Clin. Pharm. Therap. Toxicol. 1992, 30, 153-159.
15. Spoo J. W., Riviere J. E.: Sulfonamides. [w:] Veterinary Pharmacology and Therapeutics. (wyd.) Adams H. R., Iowa State University Press, Ames 1995.
16. Tautain P. L., Koritz G. D.: Veterinary drug bioequivalence determination. J. Vet. Pharmacol. Therap. 1997, 20, 79-90.