



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



## **Evaluación de la Efectividad bacteriostática de una Solución Inyectable sobre la base de Oxitetraciclina dihidrato al 30% (Duramycin® 300 L.A.) y su permanencia en plasma en vacunos**

**N° de registro del Análisis** : 990-05

**SOLICITANTE** : AGROVET MARKET S.A.

**REFERENTE** : Dr. José Tang

**DIRECCIÓN LEGAL** : Av. Canadá 3798 San Luis – Lima - Perú  
Telf.: 435-2323

### **IDENTIFICACION DE PRODUCTO:**

**Nombre Comercial** : DURAMYCIN® 300 L.A.

**Principio Activo** : Oxitetraciclina dihidrato (base) 300 mg/ ml

**Presentación** : Frasco Vidrio x 50 ml

**ENSAYO SOLICITADO** : Determinación del tiempo de acción en sangre de bovinos

**FECHA DE RECEPCION** : 26 – 10 – 05

---

### **PROTOCOLO DE LA PRUEBA**

Animales Utilizados : Bovinos

Peso Promedio : 150 Kg ± 30 %

Vía de Administración : Intramuscular

Dosis Utilizada : 1 ml / 10 Kg p.v.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



## RESUMEN

Veinte (20) bovinos de engorde, estabulados, de entre 100 a 200 kg de peso vivo fueron dosificados con una solución inyectable sobre la base de Oxitetraciclina en vehículo de larga acción (**Duramycin<sup>®</sup> 300 L.A.**), con una sola inyección intramuscular en la dosis recomendada por el fabricante del producto (1 mL / 10 kg de peso vivo, equivalente a 30 mg / kg de p.v.), para determinar el tiempo en días que alcanza el antibiótico **Duramycin<sup>®</sup> 300 L.A.** (Oxitetraciclina de larga acción) manteniendo su efectividad, mediante la evaluación de la concentración antibiótica en el suero con actividad bacteriostática luego de una sola aplicación intramuscular. Se concluyó que la aplicación de **Duramycin<sup>®</sup> 300 L.A.** en una sola dosis intramuscular de 30 mg / kg de peso vivo en bovinos, puede alcanzar niveles de concentración en sangre con efectividad inhibitoria de las bacterias sensibles ( $\geq 5$  mcg / mL de plasma), hasta por siete (07) días.

---

## INTRODUCCIÓN

Las tetraciclinas, son antibióticos obtenidos a partir de varias especies de *Streptomices* (clortetraciclina, oxitetraciclina, tetraciclina) o bien por semisíntesis (demeclociclina, metaciclina, doxiciclina y minociclina). Todos los antibióticos del grupo comparten una serie de características comunes (estructura química, espectro antimicrobiano, mecanismo de acción y toxicidad). Las principales diferencias radican en su perfil farmacocinético, lo que permite agrupar a las tetraciclinas en tres categorías: 1°) las de vida media corta (6-8 h), como clortetraciclina, oxitetraciclina, y tetraciclina); 2°) las de vida media intermedia (12-14 h), como demeclociclina y metaciclina; y 3°) las de vida media larga (16-18 h), como doxiciclina y minociclina, que son las más liposolubles.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



Pero con el uso de agentes como la Polividona k17, N-metil pirrolidona y la dimetil-acetamida como coadyuvantes en la formulaciones se logra menor irritación en el sitio de inyección y además son los causantes de una acción prolongada. Gracias a estas fórmulas retardantes, mediante una única inyección se puede realizarse una antibióticoterapia completa, ya que se logran concentraciones sanguíneas eficaces durante más de siete días.

La oxitetraciclina, es un antibiótico bacteriostático que actúa sobre los ribosomas bacterianos inhibiendo la síntesis proteica. Su espectro de acción es muy amplio, abarcando gérmenes Gram positivo, Gram negativos, actinomiceto, protozoos, espiroquetas, rickettsias, micoplasmas y clamidias, en infecciones y enfermedades como: leptospirosis, pododermatitis, cistitis, queratoconjuntivitis, enteritis bacterianas.

La determinación de la actividad bactericida y bacteriostática en el suero es uno de los pocos métodos de sensibilidad "*in vitro*" que valora las interrelaciones existentes entre el antimicrobiano, el microorganismo y el paciente. Permite estudiar la actividad bactericida o bacteriostática de un agente antimicrobiano en presencia de suero y frente al microorganismo responsable del proceso. Para su determinación puede emplearse una técnica de macrodilución o de microdilución.

Aunque no existen estudios controlados, la impresión clínica sería que para que un tratamiento con antibiótico sea efectivo, el suero del paciente en el momento del pico de actividad debe ser bactericida para el microorganismo infectante y esto es, a una dilución de no menor 1:8 (García Rodríguez y col., 2001).

## **OBJETIVO**

El presente estudio fue realizado para determinar el tiempo (en días) que alcanza el antibiótico **Duramycin® 300 L.A.** (Oxitetraciclina de larga acción) manteniendo su



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



efectividad, mediante la evaluación de la concentración antibiótica en el suero con actividad bacteriostática luego de una sola aplicación intramuscular.

## **EJECUTANTE**

Laboratorio de Patología Clínica – Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

**Materiales:** Se usaron tubos vacutainer de recogida de suero. Para la realización del inóculo y preparación de las diluciones del antibiótico se usó el caldo Mueller-Hinton ajustado en cationes en placas de microtitulación de 96 posillos de poliestireno en las cuales también se realizó el enfrentamiento. Se usaron micropipetas y puntas estériles, Vortex, Agitador de placas de microdilución, Estufa de incubación de 35 a 37 °C y cabina de esterilidad.

**Animales:** Se trabajaron con 20 bovinos estabulados de entre 100 a 200 kg de peso vivo a los cuales se les aplicó una sola inyección intramuscular en la dosis recomendada por el fabricante del producto que es de 1 mL por cada 10 Kg de peso vivo (30 mg/ Kg p.v.).

Las muestras de sangre se obtuvieron cada 24 horas exactas, hasta por 07 días, de las cuales se recolectó el suero en un lapso de tres horas de tomada la muestra y se conservó congelado a -20°C hasta el día de la prueba.

**Metodología:** La técnica de microdilución se desarrolló de acuerdo a lo descrito por Griffin 1992, y por el NCCLS, 1998; que siguen las siguientes pautas: Lo fundamental es el empleo de placas de microtitulación y la necesidad de hacerlo por duplicado. Se



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja  
Telf. 435-3348 – Anexo 237



hacen diluciones progresivas de suero de tal forma que queden por pocillo 100  $\mu$ l a los que se añade el inóculo.

Preparado una serie de posillos con 100 uL de caldo Mueller-Hinton, se añade 100 uL de suero al posillo 1, mezclar; luego pasar 100 uL al posillo 2 y luego de este al posillo 3, mezclar y repetir la operación con los siguientes posillos (se usaron un total de 4) y desechar los 100 uL tomado del último posillo. De esta forma se logran las diluciones de 1:2, 1:4, 1:8: 1:16

Se preparan posillos adicionales con 100 uL de caldo Mueller-Hinton que sirva de control de crecimiento y de esterilidad.

Se añaden 10  $\mu$ L del inóculo al fondo de cada uno de los posillos, salvo al de control de esterilidad. El inóculo fue una suspensión del *Staphylococcus aureus* aislado de bovinos y de probada sensibilidad a la oxitetraciclina, ajustado al 0,5 de la escala de MacFarland. La incubación se realizó por 24 horas a 35°C. Las microplacas se cubren para evitar la evaporación.

Tras la incubación se determinó el poder inhibitorio o bacteriostático de las muestras de suero, que es definido como la máxima dilución capaz de inhibir el crecimiento bacteriano y será aquella en la que no aparece la turbidez del crecimiento bacteriano.

Aunque no existe consenso en la interpretación de los resultados, títulos en el valle  $\geq$  1:8 indican un poder bacteriostático adecuado. Por el contrario títulos  $\leq$  2 en las tomas sugieren un poder bacteriostático inadecuado (García y col, 2001).



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja

Telf. 435-3348 – Anexo 237



## RESULTADOS

Los resultados se presentan en los siguientes cuadros:

**Cuadro 1 .- Diluciones de los sueros que alcanzaron efecto bacteriostático (Dilución  $\geq$  1:8), por cada bovino y por día de muestreo.**

N° de Animal	DILUCION ALCANZADA CON INHIBICION DE CRECIMIENTO						
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
01	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8	1:4	1:2
02	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8	1:8
03	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8
04	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8	1:4
05	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8
638	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8
641	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8
643	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16
650	1:16	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8	1:2
651	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8	1:8
636	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8	1:4	1:2
639	1:16	1:16	1:8	1:8	1:2	1:2	1:2
640	1:16	1:16	1:8	1:8	1:8	1:4	1:4
642	1:16	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8	1:4
644	1:16	1:16	1:8	1:8	1:2	1:2	1:2
645	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8	1:4	1:4
646	1:16	1:16	1:8	1:4	1:2	1:2	1:2
647	1:16	1:16	1:16	1:8	1:8	1:8	1:4
648	1:16	1:16	1:8	1:4	1:4	1:2	1:2
649	1:16	1:16	1:8	1:8	1:2	1:2	1:2

De acuerdo con lo establecido previamente, se verifica en el Cuadro 1, los días que alcanzaron efecto bacteriostático; es decir, hasta la dilución de suero  $\geq$  1:8, cada uno de los animales muestreados. Se comprobó que 07 bovinos (35%) alcanzaron hasta el día 7 una concentración inhibitoria requerida, 11 bovinos (55%) alcanzaron hasta el día 6, 15



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja  
Telf. 435-3348 – Anexo 237



bovinos (75%) alcanzaron al día 5, 18 bovinos (90%) alcanzaron hasta el día 4 y los 20 bovinos (100%) llegaron al día 3 con la concentración inhibitoria requerida.

## CONCLUSIÓN

Se puede concluir que la aplicación de **Duramycin® 300 L.A.** en una sola dosis intramuscular de 30 mg / Kg de p.v. en bovinos, puede alcanzar niveles de concentración en sangre con efectividad inhibitoria de las bacterias sensibles, hasta por 07 días.

Lima, 28 de Noviembre de 2005.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja  
Telf. 435-3348 – Anexo 237



## FUENTES DE INFORMACIÓN

- *García Rodríguez, José A. y col.* 2001 Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos.  
<http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia/cap12.htm> obtenida el 20 May 2005 07:14:06 GMT
- *Griffin J.* 1992. Serum inhibitory and bactericidal titers. En: Isenberg HD Clinical Microbiology Procedures Handbook. ASM, Washington, pp. 5.17.1-5.17.19
- *National Committee for Clinical Laboratory Standards.* 1998. Methodology for the serum bactericidal test. Document M 21-A.. NCCLS, Wayne PA.

.....  
**QF MSc Olga Li Elias**  
**Responsable del Laboratorio de**  
**Patología Clínica- FMV – UNMSM**

.....  
**MV Arnaldo Alvarado Sánchez**  
**Área de Microbiología Clínica y**  
**Pruebas Especiales-FMV-UNMSM**



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

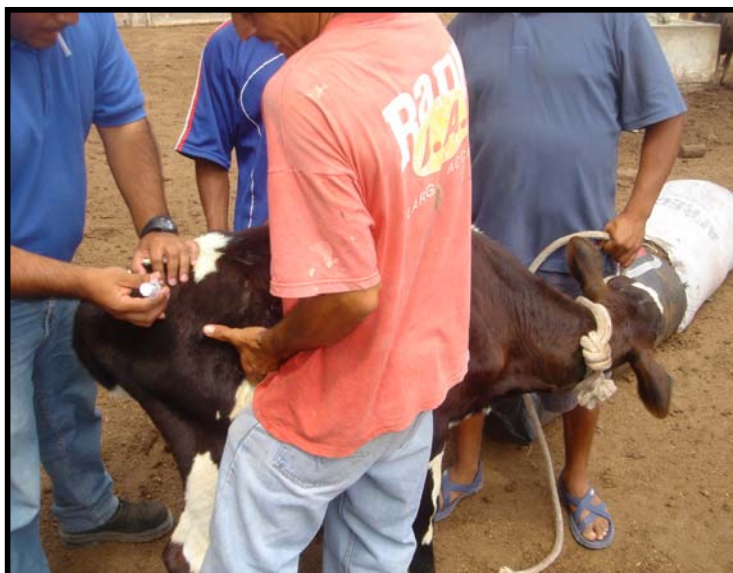
Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja  
Telf. 435-3348 – Anexo 237



**FOTOS ANEXAS**



**Foto 01: Terneros antes del ensayo**



**Foto 02: Aplicación de Duramycin® 300 L.A. vía intramuscular**



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja  
Telf. 435-3348 – Anexo 237



**Foto 03: Sangrado de la vena yugular para coleccionar suero sanguíneo**



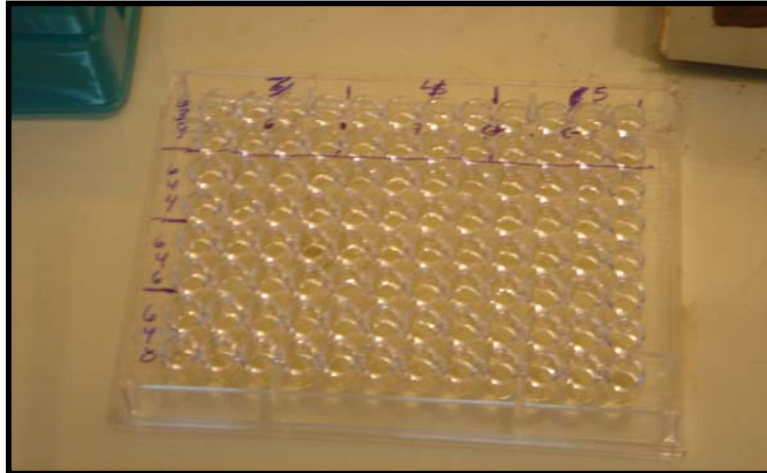
**Foto 04: Materiales de laboratorio para la prueba**



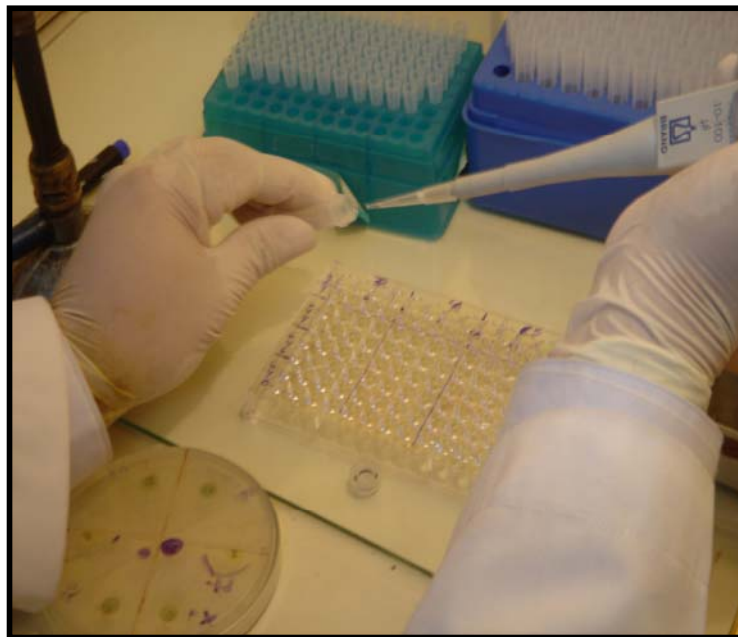
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
**LABORATORIO DE PATOLOGIA CLINICA**

Av. Circunvalación – Cda. 29 San Borja  
Telf. 435-3348 – Anexo 237



**Foto 05: Placas de microtitulación con numeración de animales**



**Foto 06: Diluciones progresivas del suero sanguíneo**