

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

INFORME DE EVALUACIÓN ANTIBIOTICA

N° DE REGISTRO DEL ANÁLISIS: 690-05
SOLICITANTE: AGROVET MARKET S.A.
REFERENTE: Umberto Calderón Ojeda

IDENTIFICACION DE PRODUCTO

Nombre Comercial: Tylo-Combisone
Principio Activo: Tilosina (150 mg) + Gentamicina (60 mg)
Presentación: Frasco Vidrio x 50 ml
N° de Lote: 0051375
Fecha de fabricación: Mayo 2005
Fecha de expiración: Mayo 2008

ENSAYO SOLICITADO: EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA

FECHA DE RECEPCION: 11 - 06 - 05

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

PROTOCOLO DE ANÁLISIS

1.- Método de Difusión en Placa según Kirby-Bauer aceptado por la NCCLS (National Comite for Clinical Laboratory Standards)

Se trabajaron con 06 cepas bacterianas y 01 cepa de Micoplasma; todas aisladas de diferentes cuadros patológicos de campo . Los géneros y especies enfrentados fueron los siguientes:

1. *Escherichia coli*
2. *Streptococcus zooepidemicus*
3. *Pasteurella multocida*
4. *Clostridium perfringes*
5. *Pseudomona aureginosa*
6. *Haemophyllus paragallinarum*
7. *Mycoplasma gallisepticum*

- El medio de cultivo utilizado para las bacterias sin requerimientos específicos ha sido agar Mueller-Hinton (MHA), con una profundidad de $4,0 \pm 0,5$ mm.

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

- El medio para *Haemophyllus paragallinarum* fue el Agar Chocolate con una profundidad de $4,0 \pm 0,5$ mm., enriquecido con 1% de NADH.
- El medio para el *Mycoplasma gallisepticum* fue el Agar de PPLO, enriquecido con 10 % de suero porcino, 1% RPM1640 y 2 % NADH.

Se prepararon discos de 6 mm de diámetro con papel filtro, que fueron esterilizados y con ellos se produjeron discos de difusión con tres tipos de antibiótico:

- Discos de Gentamicina 10 ug (Gentamicina sulfato 65.8%)
- Discos de Tilosina 10 ug (Tilosina Tartrato 92.7%)
- Discos de Tylo-Combisone 22.5 ug (10 ug Gentamicina + 12.5 ug Tilosina)

ANALYSIS PROTOCOL

1.- Kirby-Bauer disk-diffusion method accepted by NCCLS National Committee for Clinical Laboratory Standards)

The work was done on six bacterial strains and one mycoplasma strain, all of them isolated from different field pathological cases. The types and species encountered were:

1. *Escherichia coli*
2. *Streptococcus zooepidemicus*
3. *Pasteurella multocida*
4. *Clostridium perfringes*
5. *Pseudomona aureginosa*
6. *Haemophyllus paragallinarum*
7. *Mycoplasma gallisepticum*

- The culture media used for bacteria without specific requirement was Agar Mueller-Hinton (MHA), with a depth of 4.0 ± 0.5 mm.
- The media for *Haemophyllus paragallinarum* was Chocolate Agar with a depth of 4.0 ± 0.5 mm., enriched with 1% NADH.
- The media for *Mycoplasma gallisepticum* was PPLO Agar enriched with 10% porcine serum, 1% RPM1640 and 2% NADH.

6 mm diameter disks were prepared with filter paper, sterilized and used for the preparation of diffusion disks with three types of antibiotic

- Disks of Gentamicin 10 ug (Gentamicin sulfate 65.8%)
- Disks of Tylosin 10 ug (Tylosin Tartrate 92.7%)
- Disks of Tylo-Combisone 22.5 ug (10 ug Gentamicin + 12.5 ug Tylosin)

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



I. INTRODUCCIÓN

Con todas las cepas bacterianas a excepción del *M. gallisepticum*, inicialmente se sembró el microorganismo en caldo Brain Heart Infusión (BHI) hasta alcanzar una turbidez de 0,5 McFarland. La cepa de *M. gallesepiticum* se sembró en Caldo PPLO enriquecido.

Con una torunda impregnada en este caldo se sembró la placa petri mediante tres pasadas sobre su superficie, girando la placa 60° entre cada pasada. Se dejaron pasar diez minutos y a continuación se colocaron sobre la superficie de la placa los discos con contenido de Tylo-Combisone y los antibióticos gentamicina y tilosina. En cada placa y para cada cepa testada se colocaron los tres discos preparados dos aplicaciones de la formulación Tylo-Combisone conteniendo 22.5 µg del antibiótico. Después se incubaron en una estufa a 35° C durante dieciocho horas. La lectura e interpretación de las placas se realiza midiendo los diámetros de los halos de inhibición con una plantilla preparada especialmente para ello con una precisión de ± 1 mm. Se obtuvieron las medias de 04 repeticiones realizadas.

Las medias de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos se compararon con los valores estándares del diámetro de la zona de inhibición antimicrobiana (mm) de sensibilidad para verificar si alcanzaban con los valores indicados en la norma M100-S10 del NCCLS y para verificar si los discos preparados con la formulación Tylo-Combisone producían mayores halos de inhibición que los antibióticos de su fórmula individualmente, comprobando así la potenciación de la combinación de los antibióticos.

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

II. OBJETIVOS

Comprobar si la combinación de antibióticos de la fórmula de Tylo-Combisone (Gentamicina + Tilosina) se potencian y tienen efectividad con las diferentes cepas bacterianas enfrentados.

III. EJECUTANTE

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

IV. METODOLOGÍA

Según la Norma NCCL M37-A2 Development of *In Vitro* Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters for Veterinary Antimicrobial Agents; Approved Guideline—Second Edition (2002).

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

V. RESULTADOS

Cepa enfrentada: *Escherichia coli*

DISCO DE DIFUSIÓN ANTIBIOTICO	Rango Standard de Sensibilidad (mm)	Media de Halos de Inhibición de la Prueba (mm)	Calificación
Gentamicina 10 ug	≥ 15	19	Sensible
Tylosina 10 ug	≥ 18	00	Resistente
Tylo-Combisone (22.5 ug)	≥ 18	25	Sensible

INTERPRETACIÓN:

- Se observa que la media del halo de inhibición para gentamicina encontrado en la prueba cae en el rango de susceptibilidad, el de la tilosina en el de resistencia y la formulación Tylo-Combisone supera al del halo de gentamicina, lo que muestra su potenciación.

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

Cepa enfrentada: Streptococcus zooepidemicus

DISCO DE DIFUSIÓN ANTIBIOTICO	Rango Standard de Sensibilidad (mm)	Media de Halos de Inhibición de la Prueba (mm)	Calificación
Gentamicina 10 ug	≥ 15	19	Sensible
Tylosina 10 ug	≥ 18	00	Resistente
Tylo-Combisone (22.5 ug)	≥ 18	25	Sensible

INTERPRETACIÓN:

- Se observa que la media del halo de inhibición para gentamicina encontrado en la prueba cae en el rango de susceptibilidad, el de la tilosina en el de resistencia y la formulación Tylo-Combisone supera al del halo de gentamicina sola.

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

3) Cepa enfrentada: *Pasteurella multocida*

DISCO DE DIFUSIÓN ANTIBIOTICO	Rango Standard de Sensibilidad (mm)	Media de Halos de Inhibición de la Prueba (mm)	Calificación
Gentamicina 10 ug	≥ 15	30	Sensible
Tylosina 10 ug	≥ 18	28	Sensible
Tylo-Combisone (22.5 ug)	≥ 18	32	Sensible

INTERPRETACIÓN:

- Se observa que la media del halo de inhibición para gentamicina y tilosina encontrado en la prueba caen en el rango de susceptibilidad y la formulación Tylo-Combisone supera a ambos mostrando un efecto de potenciación.

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

Cepa enfrentada: Clostridium perfringens

DISCO DE DIFUSIÓN ANTIBIOTICO	Rango Standard de Sensibilidad (mm)	Media de Halos de Inhibición de la Prueba (mm)	Calificación
Gentamicina 10 ug	≥ 15	18	Sensible
Tylosina 10 ug	≥ 18	17	Sensible
Tylo-Combisone (22.5 ug)	≥ 18	21	Sensible

INTERPRETACIÓN:

- Se observa que la media del halo de inhibición para gentamicina y tilosina encontrado en la prueba caen en el rango de susceptibilidad y la formulación Tylo-Combisone supera a ambos mostrando una efecto de potenciación.

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

Cepa enfrentada: Pseudomona aureginosa

DISCO DE DIFUSIÓN ANTIBIOTICO	Rango Standard de Sensibilidad (mm)	Media de Halos de Inhibición de la Prueba (mm)	Calificación
Gentamicina 10 ug	≥ 15	16	Sensible
Tylosina 10 ug	≥ 18	00	Resistente
Tylo-Combisone (22.5 ug)	≥ 18	21	Sensible

INTERPRETACIÓN:

- Se observa que la media del halo de inhibición para gentamicina encontrado en la prueba cae en el rango de susceptibilidad y el de la tilosina en el rango de resistencia mientras que la formulación Tylo-Combisone supera al del halo de gentamicina mostrando un efecto potenciador.

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

6) Cepa enfrentada: *Haemophyllus paragallinarum*

DISCO DE DIFUSIÓN ANTIBIOTICO	Rango Standard de Sensibilidad (mm)	Media de Halos de Inhibición de la Prueba (mm)	Calificación
Gentamicina 10 ug	≥ 15	23	Sensible
Tylosina 10 ug	≥ 18	18	Sensible
Tylo-Combisone (22.5 ug)	≥ 18	28	Sensible

INTERPRETACIÓN:

- Se observa que la media del halo de inhibición para gentamicina y tilosina encontrados en la prueba caen en el rango de susceptibilidad y el de la formulación Tylo-Combisone supera a ambos mostrando una efecto de potenciación.

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

7) Cepa enfrentada: *Mycoplasma gallisepticum*

DISCO DE DIFUSIÓN ANTIBIOTICO	Rango Standard de Sensibilidad (mm)	Media de Halos de Inhibición de la Prueba (mm)	Calificación
Gentamicina 10 ug	≥ 15	00	Resistente
Tylosina 10 ug	≥ 18	22	Sensible
Tylo-Combisone (22.5 ug)	≥ 18	25	Sensible

INTERPRETACIÓN:

- Se observa que la media del halo de inhibición para gentamicina encontrado en la prueba cae en el rango de resistencia, el de la tilosina en el de sensibilidad y la formulación Tylo-Combisone supera al halo de tilosina, lo que muestra su efecto potenciador.

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

VI. RESUMEN

La formulación del Tylo-Combisone (tilosina + gentamicina) mostró ser EFECTIVA contra las 07 cepas probadas, mientras que los antibióticos individualmente mostraron no tener efectividad contra algunas cepas.

VII. CONCLUSIÓN

- La combinación tilosina + gentamicina del producto Tylo- Combisone tienen efecto potenciador y mejora la efectividad individual de ambos antibióticos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, así como contra Micoplasmas.

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

VIII. FUENTES DE INFORMACIÓN

- 1.- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Eleventh Informational Supplement, M100-S11. NCCLS Vol 21, N° 1
- 2.- NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria USA. 2002.

Lima, 22 de Junio de 2005

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

QF MSc. Olga Li Elías
Resp. del Lab. de Patología Clínica
FMV - UNMSM