

Nº 158
ZEL.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIBACTERIANA
IN VITRO DE LA GENTAMICINA, ACIDO NALIDIXICO
Y SU COMBINACION EN CEPAS AVIARES DE
E. coli AISLADAS DE BROTES DE CAMPO.**

Tesis Presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
Para la obtención del Título de
Médico Veterinario Zootecnista
por la
P.M.V.Z. Nora Carla Martínez del Campo Juárez



A s e s o r e s :

**M.V.Z. Lilia Ana Páez García
M.V.Z. Héctor Sumano López**

México, D. F.

Febrero 1992

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Hipótesis.....	7
Objetivo.....	7
Material y Métodos.....	7
Resultados.....	13
Discusión.....	15
Literatura citada.....	20
Cuadros.....	22
Figuras.....	28

RESUMEN

Martínez Del Campo Juárez, Nora Carla. EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LA GENTAMICINA, ACIDO NALIDIXICO Y SU COMBINACION EN CEPAS AVIARES DE E. coli AISLADAS DE BROTES DE CAMPO. (Bajo la asesoría de la MVZ Lilia Ana Páez García y el MVZ Héctor Sumano López).

Se evaluó mediante la prueba de valoración microbiológica la eficacia in vitro de la gentamicina (G), ácido nalidixico (N) y su combinación (GN), utilizando cepas de Escherichia coli aisladas de brotes de campo. Para cada uno de los tres fármacos se emplearon tres niveles de concentración catalogados como bajos (b), medios (m) y altos (a). Cada nivel de concentración se enfrentó a 30 cepas de E. coli divididas en tres grupos de 10 cepas cada uno y catalogadas a su vez como cepas altamente sensibles (++) , cepas sensibles o intermedias (+) y cepas poco sensibles o resistentes (-). La lectura se efectuó midiendo el halo de inhibición producido por el fármaco (expresado en mm) y los resultados se sometieron a análisis de varianza múltiple. Comparativamente fue posible observar un efecto aditivo al utilizar la combinación gentamicina-ácido nalidixico con respecto a su uso por separado. Finalmente se observó que existe una interacción directa entre el tratamiento empleado y el grado de sensibilidad de las cepas utilizadas al encontrarse diferencias significativas entre estas dos variables.

INTRODUCCION

Se ha determinado que uno de los principales problemas a los que se enfrenta el clínico es la creciente generación de cepas resistentes a los antibióticos (6, 12, 13, 15). Desde su descubrimiento en 1963, la gentamicina ha sido muy utilizada en medicina humana y veterinaria (6, 7, 13, 21) y en particular en esta última, su uso clínico ha sobrepasado las expectativas que se tenían de ella para el tratamiento de múltiples enfermedades infecciosas (6, 7, 21).

La gentamicina es un antibiótico perteneciente al grupo de los aminoglicósidos y es la mezcla de tres sustancias pseudo-oligosacáridas isómeras llamadas gentamicina C₁, C_{1a} y gentamicina C₂ (8). Se comercializa en forma de sulfato de gentamicina que es producido por el crecimiento del hongo Micromonospora purpurea, su presentación comercial es en forma de polvo color blanco o ligeramente pardusco, de textura homogénea y muy fina, es muy soluble en agua y termoestable, característica que confiere a las preparaciones farmacéuticas una adecuada estabilidad no requiriendo refrigeración (5, 6, 8). Su pureza equivale a cuando menos 590 microgramos (mcg) de gentamicina base por miligramo (mg), calculada sobre base anhidra (8).

Se sabe que la gentamicina posee una notable actividad antibacteriana con amplio espectro, cuyo mecanismo de acción consiste en atravesar la membrana bacteriana por difusión simple e inhibir la síntesis protéica bacteriana a nivel de la unidad ribosomal 30 S, alterando así la fidelidad del código genético por lo que la bacteria no es capaz de sintetizar proteínas o las sintetiza en forma anormal, produciendo de esta manera un efecto bactericida (6, 12, 21). Su espectro antibacteriano a una dosis mínima promedio de 0.3 - 0.5 mcg/ml abarca algunas bacterias Gram positivas susceptibles como Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes y fecalis además de bacterias Gram negativas que incluyen principalmente Escherichia coli, Enterobacter sp., Proteus sp., Salmonella sp., Pseudomonas sp., Pasteurella multocida, Klebsiella sp. y Serratia sp. (13, 17, 21). No obstante, se ha informado que con dosis de 5 a 10 mg/ml las concentraciones plasmáticas pueden llegar a los 3.0 - 5.0 mcg/ml (2, 5, 20, 21).

Después de más de dos décadas de uso intensivo es factible asumir que la actividad antibacteriana inicialmente mostrada por la gentamicina ha sufrido una merma de magnitud desconocida hasta ahora. Esta última idea se basa en la generación relativamente fácil de cepas resistentes que ocurren con la estreptomycinina, primer aminoglicósido estrechamente relacionado con la gentamicina (12, 15, 21), y también en la idea expresada

por algunos autores de que el uso continuo de un antibiótico induce a una reducción de su capacidad antibacteriana (7, 15).

Por otro lado, uno de los grupos antibacterianos que más desarrollo han experimentado en la década de los ochentas es el de las fluoroquinolonas y quinolonas, de las cuales destacan la enoxacina, enrofloxacina, ciprofloxacina, ácido oxanílico, ácido pipemídico, norfloxacina (18, 23) y como caso particular se cuenta con el ácido nalidíxico. Este fármaco es una quinolona de primera generación (19, 21) que se presenta en forma comercial como polvo cristalino de color blanco o crema pálido, de textura fina e insoluble en agua, cuya pureza no debe ser menor a 98% ni mayor a 102 % de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ (8).

Se sabe que el ácido nalidíxico actúa principalmente contra gérmenes Gram negativos inhibiendo la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN) con lo que se evita la replicación bacteriana mediante el bloqueo de la girasa, enzima requerida durante los procesos de replicación, transcripción o recombinación del ADN interfiriendo por lo tanto la información genética (11, 12, 14, 19, 21, 23). El ácido nalidíxico tiene una actividad especialmente eficaz contra Shigella spp., Escherichia coli (6, 13, 19, 23) y con buenos resultados contra Salmonella sp., Enterobacter sp., Klebsiella sp. y Proteus sp. (6, 12, 21, 23). Además, la experiencia de los clínicos de

campo* y la apreciación de parte de la industria farmacéutica** señalan al ácido nalidixico como una opción de gran potencial.

Tanto por los informes de la literatura como por las tendencias clínicas de campo, se reconoce en la actualidad que la gentamicina es uno de los antibióticos de primera elección por su eficacia y por representar grandes ganancias a la industria farmacéutica en el rubro de tratamiento de enfermedades bacterianas (6, 21). Si se considera que por su parte el ácido nalidixico tiene un lugar importante en la terapéutica de enfermedades infecciosas de las aves, es posible pensar que la mezcla de la gentamicina con el ácido nalidixico puede producir sinergia, potencialización o cuando menos un efecto aditivo.

Esta observación se fundamenta tanto en las experiencias clínicas de campo como en el hecho de que en la literatura especializada no se reconoce que estos medicamentos sean antagonicos (7, 13, 21).

Como se mencionó anteriormente la gentamicina y el ácido nalidixico actúan evitando la síntesis protéica bacteriana (11, 14, 15, 21, 22), por lo tanto, ambos actúan sobre un mismo

* M.V.Z. Bernardo Lozano DuBernard (Expresidente de ANECA)

** MALIDIXIN-VROT, Laboratorio VROT, S. A., Frontuario de Especialidades Veterinarias, 1989.

nivel del metabolismo bacteriano. En términos generales se reconoce que una sinergia de antibióticos ocurre cuando los dos fármacos involucrados actúan sobre una misma vía metabólica o una función en particular de la bacteria (1, 3, 21). Considerando esto, fué factible pensar que el uso combinado del ácido nalidixico con la gentamicina diera lugar a una sinergia.

Se ha propuesto que para optimizar el uso de antimicrobianos en veterinaria, se documente con precisión la farmacología de los mismos (1, 7, 10, 21), por lo que se pensó en la evaluación de la eficiencia in vitro del ácido nalidixico, la gentamicina y su combinación utilizando para ello cepas aviares de E. coli aisladas de brotes de campo.

Asimismo, resultó congruente pensar que un estudio de desafío con cepas aisladas de brotes de campo pudieran ofrecer una perspectiva de la tendencia de la gentamicina, del ácido nalidixico y de la mezcla de ambos en la clínica de las aves, además de representar por sí mismo datos que pudieran incorporarse como elementos de juicio para la toma de decisiones en la elección de antibacterianos en la clínica diaria.

HIPOTESIS

La combinación de la gentamicina con el ácido nalidixico induce sinergia, potencialización o adición in vitro para cepas aviarias de E. coli aisladas de brotes de campo.

OBJETIVO

Evaluar si la combinación de la gentamicina con el ácido nalidixico brinda respuestas de sinergismo, potencialización, adición o antagonismo a través de pruebas microbiológicas in vitro, utilizando para ello cepas de E. coli aisladas de brotes de campo.

MATERIAL Y METODOS

La evaluación de la capacidad antibacteriana in vitro se realizó mediante la prueba de valoración microbiológica utilizando la gentamicina (G), el ácido nalidixico (N) y la mezcla de ambos (G-N), en una formulación tal que les confiere una solubilidad y estabilidad satisfactorias. Para cada fármaco se emplearon tres niveles de concentración, siendo agrupados

como bajos (b), medios (m) y altos (a), los cuales se encuentran referidos en el cuadro 1. Las concentraciones se catalogaron en función de los informes de niveles plasmáticos en la literatura (4, 6, 7, 19, 21).

A su vez cada nivel de dosificación se enfrentó a cepas de Escherichia coli de sensibilidad variable, mismas que fueron donadas por Diagnósticos Clínicos Veterinarios, S. A. de C. v.*

Se utilizaron 30 cepas de E. coli para cada nivel de concentración de los dos antibióticos y su combinación. Las cepas se probaron previamente con discos de antibiograma comerciales, y se eligieron de acuerdo a la sensibilidad mostrada hacia los dos antibióticos clasificándolas de la siguiente manera :

- 10 cepas altamente sensibles (++)
- 10 cepas sensibles o intermedias (+)
- 10 cepas poco sensibles o resistentes (-)

Los desafíos se realizaron por duplicado en pruebas in vitro mediante el método de valoración microbiológica adaptado del procedimiento establecido por Bennet et al. (4, 8, 18),

* Maíz No. 18, Col. Granjas Esmeralda, México 13, D.F.

modificado de acuerdo al material y equipo disponible en nuestro país.

Dicho método consiste en :

- a) Preparación y limpieza de la placa
 - b) Preparación de la capa base
 - c) Preparación de la capa siembra
 - d) Colocación y llenado de penicilindros
 - e) Soluciones del antibiótico a probar
 - f) Lectura de los halos de inhibición
-
- a) Preparación y limpieza de la placa.

Se utiliza una placa de vidrio resistente al calor de 20 x 20 cm y 5 cm de altura, cuyo borde superior es esmerilado. La placa se limpia haciendo un primer lavado con una solución de alcohol al 70 %, después un segundo lavado con alcohol y acetona flameando la misma, y se une con su borde superior a una tapa de vidrio esmerilada utilizando para ello resina epóxica o silicón; se envuelve en papel estaño esterilizándola por lo menos 24 horas antes de usarse.

b) Preparación de la capa base.

Se esteriliza 200 ml de agar Mueller-Hinton y se vacía en la placa de vidrio sobre una superficie totalmente plana. Una vez solidificado el agar, se tapa la placa colocando silicón estéril entre el borde de ésta y la tapa, de tal forma que cierre herméticamente. Se incuba durante 24 horas a 37°C para comprobar su pureza.

c) Preparación del germen de prueba e inoculación del agar (capa siembra).

Se utiliza una cepa de E. coli previamente obtenida en cultivo puro. La bacteria se resiembra 24 horas antes de usarse en tubos inclinados con agar infusión cerebro-corazón para obtener bacterias viables el día de la preparación de la capa siembra. Una vez obtenido el crecimiento se hace un lavado con 5 ml de solución salina fisiológica estéril, agitando en forma suave; posteriormente se hacen las diluciones bacterianas de la siguiente manera: en varios tubos de ensaye se colocan aproximadamente 2.6 ml de solución salina fisiológica estéril (SSF) y se añade una cantidad determinada de lavado bacteriano que generalmente es de 0.2 a 0.4 ml del mismo y se agita perfectamente. Se utiliza un

espectrofotómetro Bausch & Lomb a 530 nm de longitud de onda con luz visible. Se introduce una celdilla con SSF (celdilla blanco) para ajustar la lectura a 100 % de transmitancia; se quita la celdilla blanco y se colocan otras celdillas que contengan las diluciones bacterianas hechas previamente para escoger aquella que de una lectura del 25 % de transmitancia.

Se esteriliza 100 ml de agar infusión cerebro-corazón y se deja enfriar a temperatura de mejilla. Una vez cumplido este requisito se toma con una pipeta serológica estéril 0.5 ml de la suspensión bacteriana ajustada para ser agregada a este matraz homogeneizando perfectamente con el medio; hecho esto se vacía y extiende sobre toda la superficie del agar y se deja solidificar.

d) Colocación y llenado de penicilindros.

Sobre la superficie del agar inoculado se colocan con pinzas estériles 20 penicilindros que deben estar equidistantes 3 cm uno de otro para que no haya intersección entre los halos de inhibición al realizar la lectura. Utilizando una micropipeta se llena cada penicilindro con 250 microlitros (mcl) de la soluciones del antibiótico (dosis administrada) a probar.

- e) Soluciones estándar del antibiótico a probar.

A partir de la preparación farmacéutica se obtienen por medio de diluciones las concentraciones establecidas según el antibiótico del que se trate, para lo cual se utilizan matraces volumétricos, pipetas volumétricas, una micropipeta y solución buffer de fosfatos estéril.

- f) Lectura de los halos de inhibición.

La lectura se realiza después de 24 horas de incubación a 37° C, midiendo con un vernier el diámetro de cada halo o zona de inhibición del crecimiento bacteriano.

Los valores de los halos de inhibición expresados en milímetros, que se lograron con los dos antibacterianos y su combinación a tres niveles de concentración, enfrentados a 30 cepas de variable sensibilidad, fueron comparados mediante análisis de varianza múltiple (9) evaluando la interacción existente entre el tratamiento y el grado de sensibilidad de las cepas empleadas (9, 16).

RESULTADOS

Los resultados para cada tratamiento del cuadro 1 fueron obtenidos mediante la técnica de valoración microbiológica llevando a cabo para ello 540 evaluaciones en dos réplicas para 30 cepas de E. coli aisladas de brotes de campo, las cuales fueron mostradas anteriormente como cepas altamente sensibles, cepas sensibles o intermedias y cepas poco sensibles o resistentes.

En la figura 1 y cuadro 2 se presenta en forma resumida el promedio de los halos de inhibición de manera global a los tres niveles de concentración por fármaco empleado, sin tomar en cuenta el grado de sensibilidad de las cepas utilizadas.

En la figura 2 a 5 y cuadro 3 se presentan los datos concernientes a los halos de inhibición logrados para los dos antibióticos y su combinación contra tres grupos de cepas de diferente sensibilidad.

En la figuras 6 y 7 se presentan en forma gráfica las diferencias del halo de inhibición logrado por los dos antibacterianos solos y en combinación en donde se observa una interacción casi lineal entre la sensibilidad de la cepa bacteriana y la concentración del fármaco. El resultado

estadístico de la interacción existente entre las nueve opciones antibacterianas (gentamicina, ácido nalidíxico y la combinación gentamicina-ácido nalidíxico a baja, media y alta concentración) contra el grado de sensibilidad (véase cuadro 1), mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos de los cuales se encontraron como mejores aquellos que correspondían a la combinación antibiótica y a altas concentraciones.

Los datos relevantes del análisis estadístico se resumen en los cuadros 4 y 5 donde se muestra el análisis de varianza y la interacción entre tratamiento vs. sensibilidad respectivamente.

DISCUSION

Dada la homogeneidad de los resultados obtenidos en cuanto a halos de inhibición se refiere y en virtud de lo reducido de las desviaciones estándar, es posible inferir que la implementación del método cuantitativo bacteriológico de Bennet *et al.* (4) fue lograda con un buen margen de reproducibilidad. De hecho, la ventaja del método radica en que detecta fracciones libres del antibacteriano cuando las muestras provienen de sueros, por lo que puede implementarse para llevar a cabo tanto los estudios realizados aquí, como a nivel de individuos para ensayos con fines de eficacia farmacológica y de concentraciones mínimas inhibitorias.

Con referencia al análisis estadístico de los resultados, se puede postular que las acciones de la gentamicina y del ácido nalixídico son dependientes de la concentración, excepto en el caso del ácido nalidíxico con respecto a las cepas poco sensibles o resistentes en donde se encontró una correlación muy pobre entre el aumento de la concentración y la sensibilidad bacteriana (véase figura 3 a 5).

Cuando se probaron las diferentes concentraciones de ácido nalidíxico y gentamicina en combinación, se observó que seguían la misma tendencia dosis dependiente para los tres grados de

sensibilidad empleados; esto es que a mayor concentración de los dos fármacos se mostró mayor inhibición del crecimiento bacteriano (véase figura 1 y 2).

Comparativamente la mezcla de gentamicina con ácido nalidíxico mostró mayor efectividad que al utilizar cada fármaco individualmente. Esta efectividad se mantuvo al emplear las tres concentraciones establecidas para cada fármaco contra tres diferentes grados de sensibilidad bacteriana (véase figura 2 a 5).

Tomando en cuenta la sensibilidad de las cepas, aun en las tres concentraciones empleadas, la combinación antibiótica mostró una efectividad más notable cuando se enfrentó al grupo de cepas poco sensibles o resistentes (véase figura 3 a 5). En forma global se observaron los halos de inhibición menores con cepas poco sensibles o resistentes y los mayores con cepas altamente sensibles, lo cual confirma la interacción entre sensibilidad y antibacteriano empleado (véase figuras 3 a 5).

Al realizar el análisis de varianza buscando la interacción TRATAMIENTO vs. SENSIBILIDAD se pudo observar que existe dicha interacción al encontrarse diferencias altamente significativas entre los nueve tratamientos trabajando a un nivel de confianza del 99% (véase cuadro 4 y figuras 6 y 7). Al

emplear cepas poco sensibles o resistentes (R), la gentamicina mostró mayor efectividad que el ácido nalidixico a los tres niveles de concentración, pero la combinación antibiótica logró aún mejores efectos con las mismas cepas. Para las cepas sensibles o intermedias (I) se observó lo contrario, el ácido nalidixico fué más efectivo que la gentamicina a los tres niveles de concentración empleados y nuevamente la combinación antibiótica obtuvo mejores resultados dentro de cada nivel de concentración. Al utilizar cepas altamente sensibles (S) se observó el mismo comportamiento que para cepas de sensibilidad intermedia pero con un mayor efecto para cada nivel de concentración por antibiótico empleado (véase cuadro 6 y 7).

Enfocándose al nivel bajo de concentración se observó que el mejor tratamiento corresponde a la combinación antibiótica seguida del ácido nalidixico para cepas sensibles e intermedias y la gentamicina para cepas resistentes. Este comportamiento se repite para los niveles medios y altos en los que el mejor tratamiento corresponde a la combinación antibiótica seguida del ácido nalidixico para cepas sensibles e intermedias y la gentamicina para cepas resistentes, siendo siempre mejor el nivel de concentración alto, seguido del medio y del bajo.

En forma global la combinación antibiótica a los tres niveles de concentración demostró ser la mejor opción para los

tres grados de sensibilidad de las cepas E. coli probadas (véase cuadro 6 y 7).

Los resultados obtenidos finalmente por los tres grupos incluyendo en cada uno las múltiples variables ya conocidas demostraron que la combinación antibiótica supera en efectividad a cada una de las posibles comparaciones que puedan realizarse, ya sea entre grado de sensibilidad o concentración del antibiótico.

De acuerdo al concepto clásico de interacción medicamentosa y evaluando mediante la técnica de valoración in vitro, la mezcla gentamicina-ácido nalidíxico tiene características de adición farmacológica (3).

Los estudios conducidos en este ensayo revelan que la experiencia empírica de los clínicos de campo resulta ser parcialmente confirmada en el caso de cepas poco sensibles o resistentes. Diferentes resultados en la práctica de campo se pueden deber al grado de sensibilidad de la cepa problema, a la condición fisiológica de los animales, al medio ambiente, al estado nutricional, edad y otros factores que pueden modificar la percepción entre la eficacia clínica e "in vitro".

Sin embargo los resultados in vitro se pueden alterar si los fármacos se distribuyen estratégicamente en el organismo, es decir, cubriendo todos los posibles tejidos y órganos afectados por una infección. Por otro lado en este ensayo solo se evaluó la posible sinergia de estos dos antibacterianos contra la E. coli; pero quizás se comporte de otra manera con otros patógenos a las aves como Pasteurella, Salmonella, Haemophilus, etc. En futuros estudios será interesante buscar la interacción tratamiento vs. sensibilidad utilizando dichos géneros bacterianos y de ser positivo el resultado, sería recomendable evaluar la sensibilidad bacteriana de cepas resistentes utilizando la combinación gentamicina-ácido nalidixico u otra quinolona como la flumequina, la enoxacina y la ciprofloxacina.

LITERATURA CITADA

- 1 - Albert, A. : The selectivity of drugs. Chapman and Hall LTD, Londres, 1975.
- 2 - Baggot, J. D. : Principles of drug disposition in domestic animals. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1977.
- 3 - Berenbaum, M. C. : What is synergy?. Pharmacol Rev., **41**: 93-141 (1989).
- 4 - Bennet, J. V., Brodie, J. L., Benner, E. J. and Kirby, W. M. : Simplified accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. Appl. Microbiol., **14** : 170-177 (1966).
- 5 - Bird, J. E., Mieller, K. W., Larson, A. A. and Duke, G. E. : Pharmacokinetics of gentamicin in birds of prey. Am. J. Vet. Res., **44** : 1245-1247 (1983).
- 6 - Booth, N. H. and McDonald, L. D. : Veterinary Pharmacology and therapeutics. 5th. ed., Iowa State Press, 1982.
- 7 - Brander, G. C. Pugh, D. M. and Bytway, R. J. : Veterinary applied pharmacology and therapeutics. 5th. ed., Bailliere Tindall and Cassel, London, 1981.
- 8 - Comisión Revisora Permanente de la Farmacopea Nacional : Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos. 4a. ed., Dirección de Control de Alimentos, Bebidas y Medicamentos, D. F., 1974.
- 9 - Daniel, W. N. : Bioestadística : base para el análisis de las ciencias de la salud. Limusa, Mexico, 1987.
- 10 - Goldstein, A., Aronow, L. and Kalman, S. M. : Principles of drug action : the basis of pharmacology. 2nd ed., John Wiley & Sons, U. S. A., 1974.
- 11 - Deitz, W. H., Bailey, J. H. and Foelich, E. J. : In vitro antibacterial properties of nalidixic acid, a new drug active against gram-negative organism. Antimicrob. Agents Chemother., **6** : 583-587 (1964).

- 12 - Gómez, J. J., Mosqueda A. y Ocampo, L. : Terapéutica avícola. Mendoza e hijos, México, 1989.
- 13 - Goodman, A., Goodman, L. y Gillman, A. : Las bases farmacológicas de la terapéutica. 6a. ed., Ed. Médica Panamericana, México, 1981.
- 14 - Goss, W. A., Deitz, W. H. and Cook, T. H. : Mechanism of action of nalidixic acid on Escherichia coli., J. Bacteriol., 88 : 1112-1118 (1964).
- 15 - Goth, A. : Farmacología médica. 9a. ed., Compañía Editorial Continental, México, 1979.
- 16 - Lic, C. C. : Introducción a la estadística experimental. Omega , Barcelona, 1978.
- 17 - Haddad, N. S., Ravis, W. R., Pedersoli, W. M. and Casron, R. L. : Pharmacokinetics of single doses of gentamicin given by intravenous and intramuscular routes to lactating cows. Am. J. Vet. Res., 47 : 808-813 (1986).
- 18 - M. P. C. Authority of the United States Pharmacopeia. Mark Printing Company, Easton, 1985.
- 19 - Osol, C. A. : Reminton's pharmaceutical sciences. 16th. ed., Mack Publishing Company, Pennsylvania, 1980.
- 20 - Rioud, J. L., Dix, L. P. and Riviere, J. E. : Influence of thyroid function on the pharmacokinetics of gentamicin in pigs. Am. J. Vet. Res., 47 : 2141-2145 (1986).
- 21 - Sumano, H. y Ocampo, L. : Farmacología vaterinaria. McGraw Hill, México, 1988.
- 22 - Vázquez, R. F. y col. : Mecanismo de acción de los inhibidores de las girasas. Man. Tec. (Bayer) : 21-26 (1988).
- 23 - Wolfson, I. S. and Hooper, D. C. : Fluoroquinolones : Structures, mechanism of action and resistance and spectra of activity in vitro. Aq. Chemother., 28 : 581-586 (1985).

Cuadro 1.

Distribución de los grupos de antibacterianos evaluados en pruebas de desafío con Escherichia coli.

TRATAMIENTO	ANTIBACTERIANO	NIVELES DE CONCENTRACION (mcg/ml)	CEPAS UTILIZADAS
1	G	b 1.0	++, +, -
2	G	m 3.0	++, +, -
3	G	a 7.0	++, +, -
4	N	b 3.57	++, +, -
5	N	m 10.71	++, +, -
6	N	a 25.0	++, +, -
7	G-N	b 1.0-3.57	++, +, -
8	G-N	m 3.0-10.71	++, +, -
9	G-N	a 7.0-25.0	++, +, -

G gentamicina
N ácido nalidixico
G-N combinación gentamicina y ácido nalidixico
b nivel bajo de concentración del antibiótico
m nivel medio de concentración del antibiótico
a nivel alto de concentración del antibiótico
++ cepa altamente sensible
+ cepa sensible o intermedia
- cepa poco sensible o resistente

Las concentraciones se catalogaron en función de los informes de niveles plasmáticos en la literatura (4, 6, 7, 19, 21).

Cuadro 2.

Promedio de los halos de inhibición alcanzados con los dos antibióticos y su combinación a tres niveles de concentración enfrentados a 30 cepas de E. coli (Se considera su repetición).

NIVEL DE CONCENTRACION	GENTAMICINA	ACIDO NALIDIXICO	GENTAMICINA + ACIDO NALIDIXICO
BAJO	15.2 mm	17.9 mm	20.1 mm
MEDIO	17.9 mm	20.6 mm	24.1 mm
ALTO	20.3 mm	23.4 mm	27.3 mm

Cuadro 3.

Promedio de los halos de inhibición de 10 determinaciones y su repetición de los dos antibióticos y su combinación a tres niveles de concentración contra tres diferentes grados de sensibilidad de las cepas empleadas.

ANTIBIOTICO	NIVEL DE CONCENTRACION (mcg/ml)	GRADO DE SENSIBILIDAD DE LAS CEPAS EMPLEADAS		
		(-) PROMEDIO DE DIEZ CEPAS POCO SENSIBLES O RESISTENTES	(+) PROMEDIO DE DIEZ CEPAS SENSIBLES O INTERMEDIAS	(++) PROMEDIO DE DIEZ CEPAS ALTAMENTE SENSIBLES
GENTAMICINA	b 1.0	11.72 mm	15.47 mm	18.42 mm
	m 3.0	14.57 mm	18.10 mm	21.30 mm
	a 7.0	16.50 mm	19.85 mm	23.75 mm
ACIDO NALIDIXICO	b 3.57	9.50 mm	20.97 mm	23.33 mm
	m 10.71	10.15 mm	24.32 mm	27.45 mm
	a 25.0	11.10 mm	28.22 mm	30.93 mm
GENTAMICINA + ACIDO NALIDIXICO	b 1.0-3.57	14.02 mm	21.90 mm	24.50 mm
	m 3.0-10.71	17.15 mm	26.15 mm	28.95 mm
	a 7.0-25.0	20.25 mm	29.02 mm	32.65 mm

Cuadro 4.

ANALISIS DE VARIANZA

Variable

Dependiente : HALO

Fuente de Varianza	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Valor de F	Pr > F
TRT	8	3265.25439	408.15680 **	24.38	0.0001
Sensibilidad	2	6773.94003	3386.97001 **	202.32	0.0001
TRT vs Sensib.	16	1219.95040	76.24690 **	4.55	0.0001
ERROR	243		16.740668		

** Se trabajó con un nivel de confianza del 99%

Cuadro 5.

DATOS OBTENIDOS DEL ANALISIS DE VARIANZA CONSIDERANDO LA INTERACCION EXISTENTE ENTRE EL TRATAMIENTO CONTRA LA SENSIBILIDAD DE 30 CEPAS DE E. coli DE VARIABLE SENSIBILIDAD ENFRENTADAS A NUEVE TRATAMIENTOS DIFERENTES.

		R	I	S
ANTIBIOTICO	NIVEL DE CONCENTRACION	CEPAS POCO SENSIBLES O RESISTENTES	CEPAS SENSIBLES O INTERMEDIAS	CEPAS ALTAMENTE SENSIBLES
GENTAMICINA	bajo	11.6 mm	15.4 mm	18.4 mm
	medio	14.5 mm	18.1 mm	21.2 mm
	alto	16.5 mm	19.8 mm	23.7 mm
ACIDO NALIDIXICO	bajo	9.5 mm	20.9 mm	23.3 mm
	medio	10.1 mm	24.3 mm	27.4 mm
	alto	11.1 mm	28.2 mm	30.9 mm
GENTAMICINA + ACIDO NALIDIXICO	bajo	14.0 mm	21.9 mm	24.5 mm
	medio	17.1 mm	26.0 mm	28.9 mm
	alto	20.3 mm	29.1 mm	32.5 mm

Cuadro 6.

CORRELACION TRT VS. SENSIBILIDAD

**MEDIAS DE LOS HALOS DE INHIBICION POR TRATAMIENTO EN
ORDEN DE MAYOR A MENOR :**

TRT 9 - 27.325*
TRT 8 - 24.083^{de}
TRT 6 - 23.142^{cd}
TRT 5 - 20.642^{bcd}
TRT 7 - 20.141^{bc}
TRT 3 - 20.033^{bc}
TRT 2 - 17.992^{ab}
TRT 4 - 17.942^{ab}
TRT 1 - 15.192*

* abcde

Las medias con distinta literal son estadísticamente diferentes, dentro de un nivel de confianza del 95%.

1*4*2*3*7*5^{bcd}6^{cd}8^{de}9*

- Se observaron diferencias muy significativas entre tratamientos siendo los tres mejores el 9, el 8, y el 6. El tratamiento 9 fué el mejor y 8 el intermedio entre el 9 y el 6.

FIGURA 1.

PROMEDIO DE LOS HALOS DE INHIBICION DE 30 DETERMINACIONES Y SU REPETICION ALCANZADOS CON CADA ANTIBIOTICO Y LA COMBINACION DE AMBOS A TRES NIVELES DE CONCENTRACION.

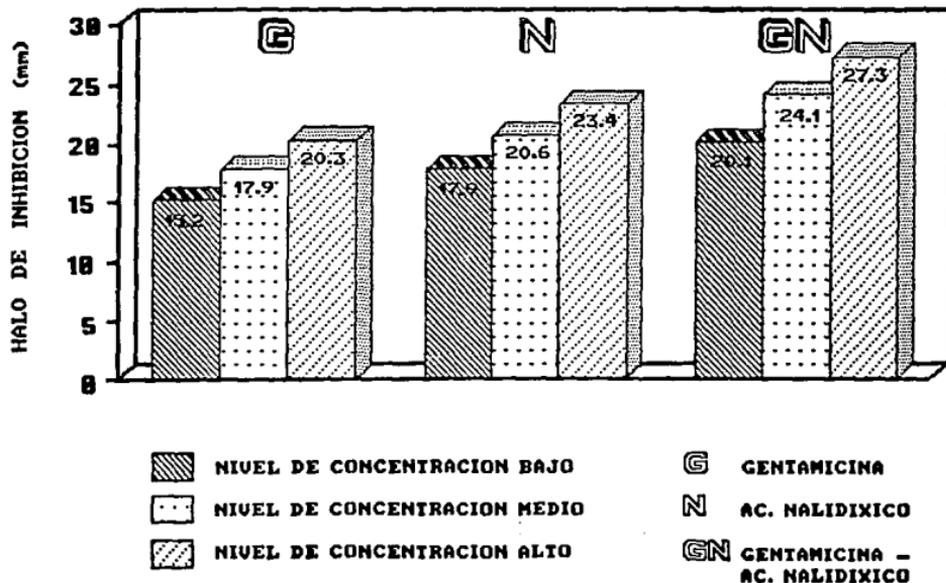


FIGURA 2.

PROMEDIO DE LOS HALOS DE INHIBICION DE 10 DETERMINACIONES UTILIZANDO DOS ANTIBIOTICOS Y SU COMBINACION A TRES NIVELES DE CONCENTRACION CONTRA TRES DIFERENTES GRADOS DE SENSIBILIDAD DE CEPAS DE E. coli.

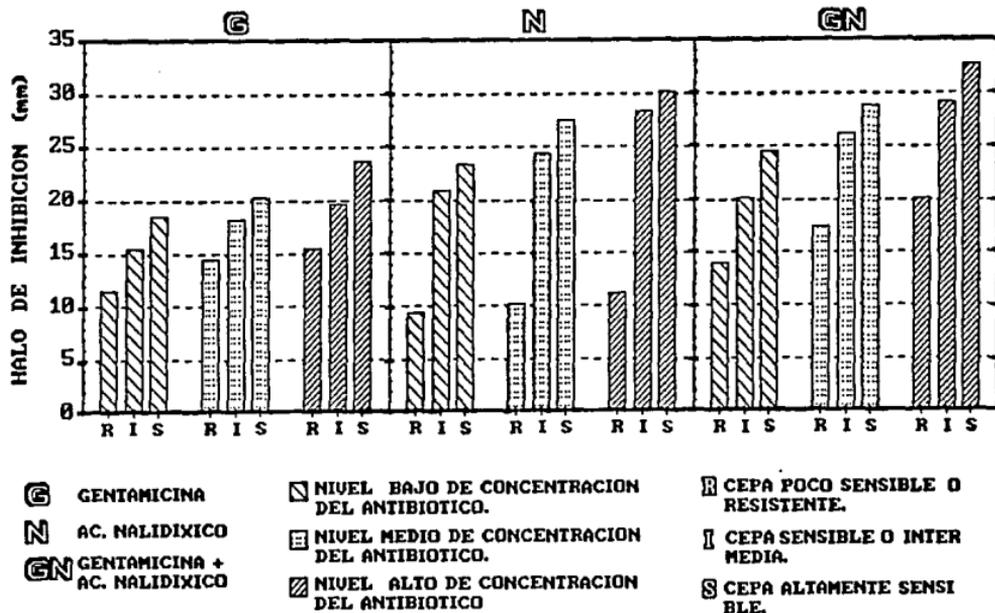


FIGURA 3.

PROMEDIO DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LOS ANTIBIOTICOS Y LA COMBINACION EN EL NIVEL BAJO DE CONCENTRACION EMPLEADO CONTRA TRES DIFERENTES GRADOS DE SENSIBILIDAD DE LAS CEPAS BACTERIANAS.

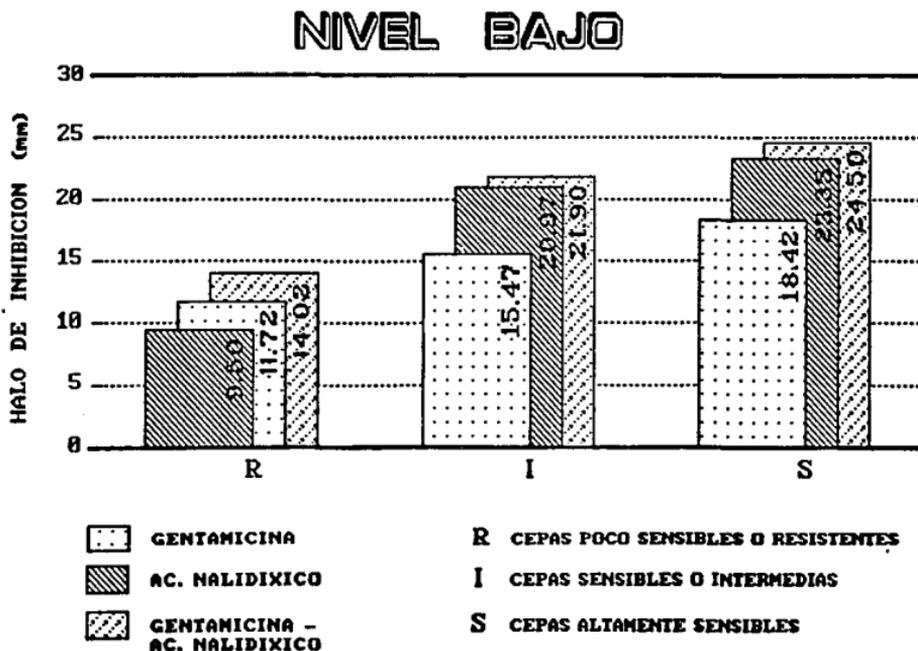


FIGURA 4.

PROMEDIO DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LOS ANTIBIOTICOS Y LA COMBINACION EN EL NIVEL MEDIO DE CONCENTRACION EMPLEADO CONTRA CEPAS DE *E. coli* DE DIFERENTES GRADOS DE SENSIBILIDAD.

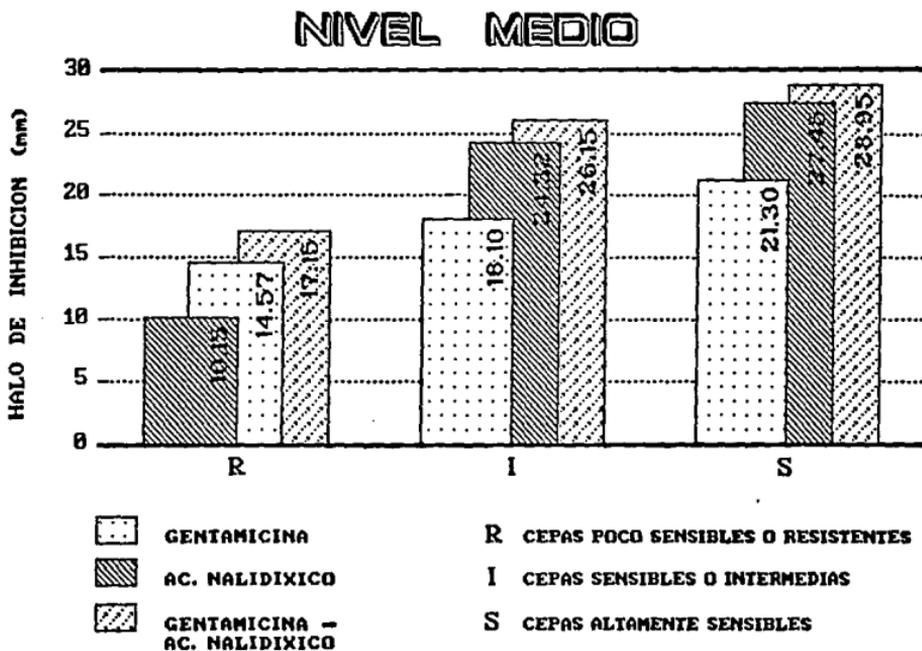


FIGURA 5.

PROMEDIO DE LOS HALOS DE INHIBICION DE LOS ANTIBIOTICOS Y LA COMBINACION EN EL NIVEL ALTO DE CONCENTRACION EMPLEADO CONTRA TRES DIFERENTES GRADOS DE SENSIBILIDAD DE LAS CEPAS BACTERIANAS.

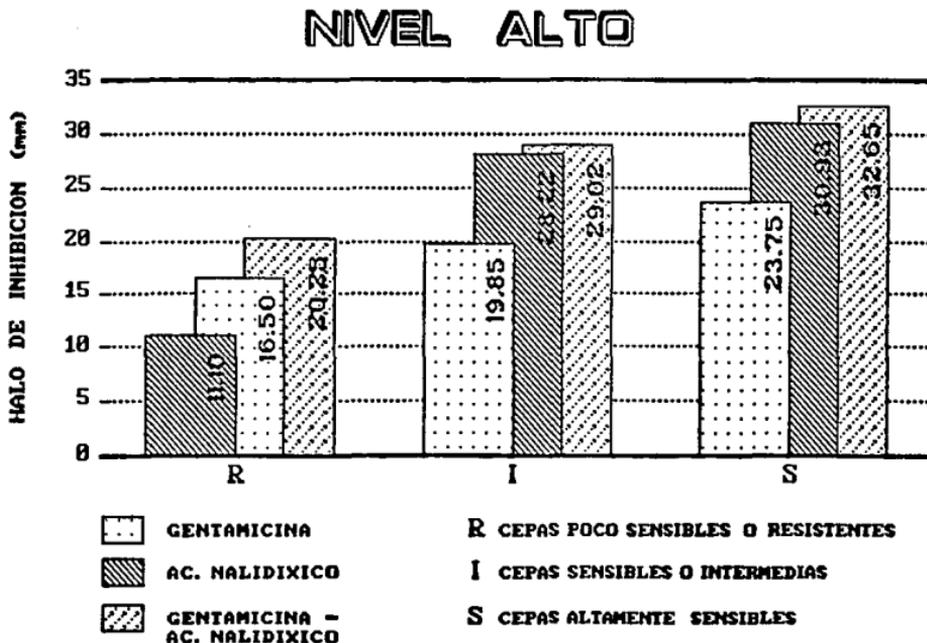


FIGURA 6.

**COMPORTAMIENTO DE LA INTERACCION EXISTENTE ENTRE TRATAMIENTO
US. SENSIBILIDAD DE 30 CEPAS DE E. coli DE VARIABLE SENSIBILIDAD
ENFRENTADAS A NUEVE TRATAMIENTOS DIFERENTES.**

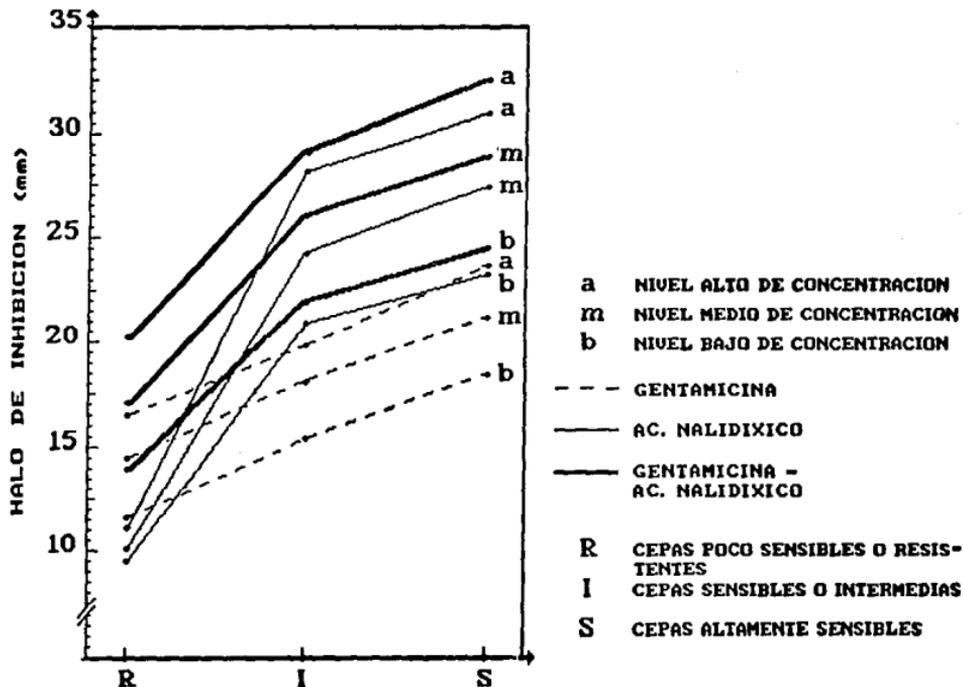


FIGURA 7.

COMPORTAMIENTO DE LA INTERACCION EXISTENTE ENTRE TRATAMIENTO US. SENSIBILIDAD DE 30 CEPAS DE E. coli DE VARIABLE SENSIBILIDAD ENFRENTADAS A NUEVE TRATAMIENTOS DIFERENTES.

