

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**MÉTODOS COMPARATIVOS PARA LA VALORACIÓN  
DEL SULFATO DE GENTAMICINA**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A :**

**CAROLINA DOMÍNGUEZ CRUZ  
QUERÉTARO, QRO. 1978**

Reg. H53607

TS

as. 574.192 46

D671m

A MIS PADRES

EZEQUIEL Y RANULFA

A MIS HERMANOS

A GABRIELA

A MIS MAESTROS Y AMIGOS

## C O N T E N I D O

- I .- INTRODUCCION
- II .- CONSIDERACIONES GENERALES
- III .- MATERIALES Y METODOS
- IV .- DISCUSIONES Y RESULTADOS
- V .- CONCLUSIONES Y BIBLIOGRAFIA



**BIBLIOTECA CENTRAL**

CAPITULO \* I \*

---

## I N T R O D U C C I O N .-

Al inicio del producto "Isopto Gent", surge la idea de realizar el siguiente trabajo, con el propósito de encontrar un método de análisis para el principio activo de dicho producto, el método a encontrar nos debe proporcionar, rapidez, exactitud y principalmente confiabilidad.

El principio activo de este producto es el antibiótico que dentro de la Quimioterapia está adquiriendo con rapidez una aceptación amplia y principalmente en las infecciones oculares graves, especialmente en la úlceras de la córnea e infecciones intraoculares provocadas por organismos, como son las bacilo gram-negativos, éste antibiótico es el "Sulfato de Gentamicina".

Además de la valoración del "Sulfato de Gentamicina", se llevan a cabo las siguientes pruebas con el fin de llevar un buen producto al mercado de la Industria Farmacéutica y son las siguientes pruebas: pH, punto crioscópico, irritabilidad en el ojo del conejo y prueba de esterilidad.

Los métodos de análisis son microbiológico y espectrofotométrico.

Espero que este trabajo sea de utilidad a los Laboratorios Oftasa, S.A. de C.V., donde se lleva a cabo la elaboración de este producto y realización de dicho trabajo.

CAPITULO \* II \*

-----

C O N S I D E R A C I O N E S   G E N E R A L E S .-

Ch. Darwin, sentó las bases para la investigación científica del problema de la selección natural y la lucha entre las especies, fueron observadas por primera vez por L. Pasteur en 1887, quien demostró que las bacterias de la pústula maligna secumben rápidamente en cultivos mixtos con microbios de la -- putrefacción.

Las causas fundamentales de este antagonismo pueden ser, la concurrencia por el oxígeno o las sustancias nutritivas, la eliminación en el líquido de cultivo de sustancias ácidas o básicas, que dificultan el crecimiento y la acumulación de sustancias químicas, con ayuda de las cuales unas especies microbianas inhiben el crecimiento de otras especies.

La esencia de éste fenómeno consiste en que el proceso de la evolución de los organismos vegetales y animales se formaron lo más diferente, dispositivos sutiles que reflejan la ley general de la lucha por la existencia, que como indicó I. Mechnikov, tiene un carácter más universal y se debe extender a los micro-organismos, pudiendo ser utilizada para el tratamiento y la profilaxis de las enfermedades infecciosas de los animales y del hombre. I. Mechnikov fué el fundador de la doctrina del antagonismo microbiano y del empleo práctico de éste fenómeno, habiendo utilizado las bacterias ácido lácticas para inhibir el crecimiento de la microflora nociva del intestino.



Por tal razón considero importante abundar sobre el tema.

Antibióticos.- Agente antiséptico de origen natural al menos en el momento de ser descubierto.

Waksman, nos dice que el nombre de antibiótico debe reservarse a los agentes de origen microbiano y por extensión a sustancias que primeramente descubiertas en microorganismo, son después obtenidas por síntesis.

Los antibióticos, también se le aplica este término a sustancias producidas por microhongos, algas, líquenes, vegetales superiores, aunque raramente también a productos de tejido animal.

Un antibiótico puede ser sintetizado por diversos microorganismos, y aún microorganismos pueden elaborar varios antibióticos diferentes.

La palabra antibiótico no implica de modo alguno la existencia de actividad terapéutica; entre los innumerables antibióticos aislados o descritos, pocos son los utilizados en quimioterapia y de interés en la medicina.

Para que un antibiótico actúe como agente quimioterápico debe reunir las siguientes características:

1.- Debe ser suficientemente estable y activa en presencia en tejido humorales del organismo.

2.- Debe ser rápido y eficazmente absorbido y convenientemente distribuido en el organismo.

3.- No debe eliminarse muy de prisa ni acumularse en exceso.

4.- No es indispensable que su actividad microbiana sea extremadamente elevada pero si es importante su toxicidad que debe ser selectiva. Alta para el parasito que se combate y lo más baja posible para las células del paciente.

5.- El modo de acción de los antibióticos es poco conocida y difiere para las diversas sustancias consideradas.

El mecanismo fundamental de un antibiótico, casi siempre se trata de demostrar que tienen acción inhibidora sobre un proceso metabólico determinado o sobre la actividad de un sistema enzimático.

La demostración de que un antibiótico inhibe un proceso enzimático, no implica necesariamente que se haya encontrado la razón de su efecto antimicrobiano; por consiguiente es necesario demostrar:

1.- Que la inhibición se efectúa con diluciones comparables a aquellos a los cuales ejerce un efecto bacteriostático o bactericida.

2.- Que la inhibición de este sistema enzimático ha tenido lugar específicamente en las células sensibles y ha causado perturbaciones suficientes para explicar una reducción significativa de la rapidez de crecimiento del microorganismo.

3.- Que las modificaciones hechas a la estructura química del antibiótico afecta de la misma manera sus efectos antimicrobianos y enzimáticos.

Una gran mayoría de los agentes antibióticos que se han aislado no presentan el requisito de la selectividad para su empleo en el tratamiento de las enfermedades infecciosas.

El mecanismo de acción de los antibióticos, se han señalado varios sitios, anatómicos y bioquímicos como puntos de ataque de los diversos agentes, que son los que a continuación se mencionan.

A) Pared celular.- Por las características peculiares de la pared celular bacteriana, es un sitio particularmente vulnerable para la actividad antimicrobiana selectiva. La pared bacteriana no sólo es una cubierta rígida de soporte sin la cual los organismos no pueden sobrevivir a menos que se le coloque en medio de tonicidad aumentada, sino también posee componentes únicos que no se encuentran en las células de vegetales y animales superiores.

B) Membrana celular.- De estructura muy organizada de gran importancia vital, distinta de la pared celular tiene tres funciones principales, que son las siguientes:

1.- Oponer una barrera osmótica a la libre difusión entre los medios internos y externos.

2.- Concentra los elementos nutritivos y metabólicos dentro de la célula.

3.- Sirve de sitio de localización para diversas enzimas respiratorias y para la biosíntesis de algunos componentes celulares.

Se ha demostrado que varios antibióticos alteran una ó más de éstas funciones con trastornos importantes en el metabolismo y en la viabilidad de la célula.

C) Antibióticos que afectan a la síntesis de las proteínas. En la síntesis de las proteínas hay varios puntos en los cuales pueden actuar los inhibidores e impedir el proceso en su totalidad. Dicha inhibición puede dar como resultado final el cese de la síntesis proteínica.

D) Antibióticos que inhiben el metabolismo del ácido nucleico. Ciertos números de agentes microbianos interfieren en el metabolismo del ácido nucleico pero ninguno es lo suficientemente tóxico para su uso clínico. Esto es probablemente debido a la universalidad de las reacciones.

Entre los antibióticos que interfieren con la síntesis de proteínas tenemos, neomicina, Kanamicina, paromicina, viomicina y Sulfato de Gentamicina.

Sulfato de gentamicina: es el resultado del descubrimiento hecho por -- Weinatein y Cols en 1963, que lograron extraerla de dos nuevas especies de hongos, los cuales pertenecen al género de la micromonospora purpurea en los tejidos de fermentación sumergidos.

Los sinónimos del sulfato de gentamicina son: garamicina, rifobacina, - cortirifobacina. Pertenece al grupo de los aminoglucidos, es una substancia que posee propiedades antibióticas.

Los aminoglucidos forman un grupo de medicamentos que comparten sus características antimicrobianas, farmacológicas y tóxicas, todos inhiben la síntesis de proteínas adheriéndose a la unidad de 30s, la síntesis de proteínas en la célula es evidente que el fenómeno pueda alterarse en muchos niveles diferentes, por ejemplo, la síntesis de proteínas podría ser afectada por agentes que actuaran sobre el DNA, la transcripción del DNA, el MRNA, el SRNA los ribosomas o el RNA ribosómico y los ácidos aminados y su metabolismo.

En los estudios in vitro, ha demostrado poseer una acción bactericida - acompañada de un espectro de acción amplio, tanto contra microorganismos gram po sitivos como contra gram negativos.

Otra de sus características principales es que se está empleando en apli caciones tópicas en el campo de la oftalmología, ya que ha demostrado poseer una bajísima capacidad para inducir fenómenos de sensibilidad en los tejidos ocula - res.

### CARACTERISTICAS QUIMICAS Y FISICOQUIMICAS DEL SULFATO DE GENTAMICINA

El sulfato de gentamicina está constituido por pseudo oligosacáridos isó meros estrechamente relacionados entre ellos y la forma compleja de los sulfatos, solubles en agua da una solución incolora estable al calor.

La preparación se forma por un complejo constituido por 3 componentes - amorfos los cuales poseen la misma actividad en vitro indicados como C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>. Para los cuales los análisis espectrales de masa y los microanálisis indican pe - sos moleculares respectivos de 477, 463 y 449, difieren principalmente en el con tenido de grupo metilo su fórmula molecular condensada es la fig. 1

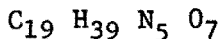
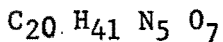
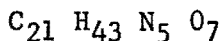


Fig. 1

La fórmula estructural para el sulfato de gentamicina propuesta por Rinehar es la fig. 2 .

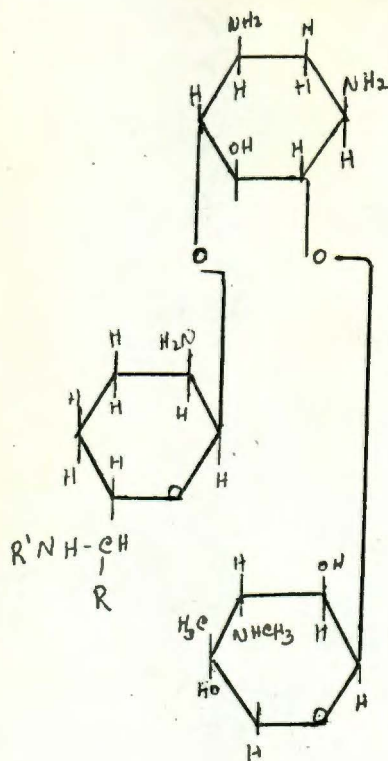


Fig. 2

<u>GENTAMICINA</u>	<u>R</u>	<u>R'</u>
C <sub>1</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
C <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	H
C <sub>1A</sub>	H	H

Renhart afirma que estos son una nueva familia de antibióticos aminoglu-  
cidos pertenecientes a la clase de las desociestreptaminas y a la subclase de los  
1.3 si sustituidos, para los cuales, J. Cooper y Cols proponen las estructuras -  
parciales que se muestran en la fig. 3

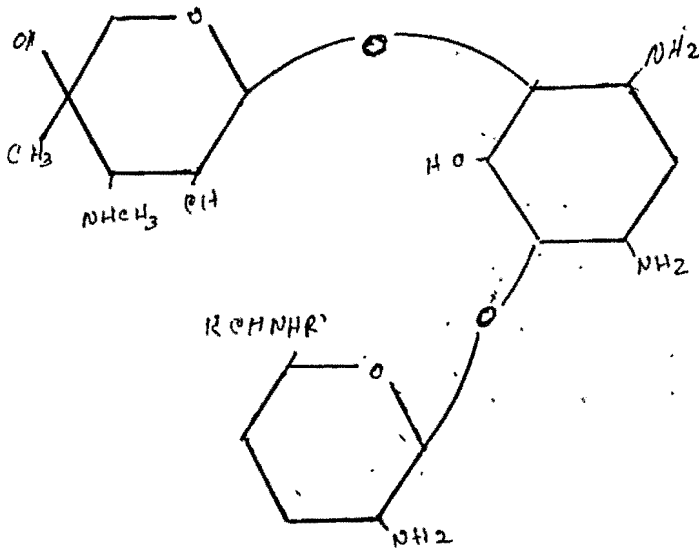


Fig. 3

ESTRUCTURAS PARCIALES DE LOS COMPONENTES C DE LA GENTAMICINA

- C<sub>1</sub> R=R' = CH<sub>3</sub>
- C<sub>2</sub> R=CH<sub>3</sub> R' = H
- C<sub>1A</sub> R=R' = H

PROPIEDADES FISICAS DEL SULFATO DE GENTAMICINA

1.- Descripción.- El sulfato es un polvo blanco, muy soluble en agua, insoluble en alcohol, acetona, cloroformo, benceno y éter.

2.- Rotación específica de +107 a +121, calculada en relación a la sustancia anhidra.

3.- Una muestra contiene 647 ug. de base por mg. de sulfato.

4.- pH - es de 3.5 a 5.5 en una solución acuosa al 4%.

5.- Conservación, al abrigo del calor y la humedad. Las soluciones resisten esterilización por autoclave durante 30 minutos.

#### ESTABILIDAD DEL SULFATO DE GENTAMICINA

Este antibiótico tiene como característica principal según la información que nos dan en sus resultados obtenidos Oden y Cols. Para obtener una estimación o una idea de la estabilidad del compuesto en estado sólido el autor emprendió estudios en donde el estándar se había almacenado a temperaturas de 45° y 37° a temperatura ambiente y a las temperaturas de 5° y 15° durante dos semanas de los cuales ninguno mostro diferencias al final de las pruebas, en el laboratorio se llevaron a cabo pruebas semejantes confirmando lo dicho anteriormente relacionado con la estabilidad del sulfato de gentamicina.

#### MECANISMO DE ACCION

Debido a que la gentamicina posee una estructura aminoglucida, está dotada de mecanismos de acción similares al de la estreptomina y de otros aminoglucidos.

En concentraciones de 0.5-5 ug/ml la gentamicina es rápidamente bactericida para muchas bacterias grampositivas y gramnegativas, la actividad es favorecida en pH alcalino cercano a 8. 10 mg/ml de sulfato de gentamicina inhiben in vitro

la mayor parte de cepas de estafilococo, organismos coliformes y Pseudomonas aeruginosa, así como a muchos otros proteus y serratia.

La acción bactericida se debe probablemente a la inhibición a la síntesis



bacteriana de proteínas. Se une a una proteína superficial de la sub-unidad de 30S de los ribosomas bacterianas, lo cual distorciona la región de reconocimiento del ribosoma causando así una lectura errónea del mensaje que lleva el RNA<sub>m</sub>.

Lo que da por resultado la inserción de amino ácidos inapropiados y la síntesis de proteínas no funcionales.

Los estudios efectuados por Hahn y Cols, sobre la gentamicina y sus mecanismos de acción presentados en 1969 en Illinois, demostraron la potente acción bactericida de este antibiótico que asociada a su capacidad de inhibir el desarrollo de los microorganismos produce un incremento de su densidad bacteriana.

Los experimentos realizados por Hahn y Cols se ha podido observar que en un cultivo bacteriano de control, sin antibiótico, se incrementaba la densidad, duplicándose en un tiempo de 53' y en el cultivo experimental en el cual se agregó gentamicina en el tiempo 0 no se encontró ningún incremento.

En base a los resultados anteriores se formuló la hipótesis de que la presencia de gentamicina en el cultivo bacteriano impide la biosíntesis de las proteínas, caso típico de los antibióticos que están dotados de un amplio espectro de acción. Para verificar la exactitud de esta hipótesis, se llevaron a cabo, siempre por Hahn y Cols, experimentos sobre la inhibición de la biosíntesis proteica. Los resultados han demostrado que la introducción de la gentamicina en el campo de los cultivos inhibe completamente la incorporación de la fenilalanina, estudiada con C<sup>14</sup>, a las proteínas mientras que el cultivo de control, sin antibiótico, mostraba típica incorporación del aminoácido indicado, como función del tiempo.

Un mínimo de concentración inhibitoria de la gentamicina como han sido -

reportados a partir de 0-0.3 a 6 ug/ml para muchas bacterias gram positivas y de 0-0.8 ug para muchas bacterias gram negativas.

La gentamicina demostró ser activa contra los 15 Klebsellas p.p. los 36 proteus spp.

La mayoría de las enterobacterias fueron probadas y cerca del 50% de los ps aeruginosaé fueron susceptibles a 2 ug por mililitro de gentamicina.

### ESPECTRO DE ACCION

La gentamicina tiene un amplio espectro de acción en aquellos microorganismos conocidos como causantes principales de las más graves infecciones del globo ocular.

La gentamicina va a actuar contra varias especies de bacterias como ya mencionamos anteriormente gram positivas, entre ellos estreptococos hemolíticos alfa y beta, estreptococos no hemolíticos y estafilicocos, así como gram negativos que son causantes de severas infecciones.

El amplio espectro de acción es una característica que coloca a la gentamicina en una posición terapéutica potencialmente única, ya que abarca un area -- donde antes no era posible aplicar un único antibiótico con una utilidad significativa.

Además de un amplio espectro la gentamicina tiene actividad bactericida -- contra aquellos gérmenes que lentamente se vuelven resistentes a otros antibióticos

Los estudios efectuados por Furgiuele y Cols sobre el empleo de la gentamicina

micina administrada por la vía tópica en forma de gotas y por vía local en forma de inyecciones subconjuntivales, para tratar infecciones experimentales corneales en conejo, causadas por Pseudomonas aeruginosa, por lo que podemos afirmar que la gran importancia que reviste el empleo de este antibiótico, en el campo oftálmico, consiste en la marcada actividad que tiene contra pseudomonas, escherichia coli y aerobacter, asociada a la ausencia de fenómenos de toxicidad local.

La actividad de la gentamicina se ha comparado con aquella de otros medicamentos, con los que puede asociarse, o con los cuales se compara por su acción antibacteriana. Mediante los estudios realizados en vitro la adición de elevadas concentraciones de sulfacetamida de sodio a la gentamicina resultaron en un aumento significativo de la concentración bacteriana mínima contra treinta y siete cepas de pseudonoma aeruginosa, mientras que en la concentración inhibitoria mínima, no tuvo ningún efecto, sin embargo, la adición de altas concentraciones de sulfisoxazol diolamina disminuye significativamente la C.I.M. de la gentamicina en contra de doce cepas de pseudomonas aeruginosa, pero no tiene efectos apreciables sobre la mínima concentración bactericida (M.C.B.). Por lo que hace suponer que ni la sulfacetamida sódica ni el sulfizoxal diolamina pueden ser empleados conjuntamente con la gentamicina para el tratamiento de las infecciones causadas por pseudomonas aeruginosas.

En estudios realizados por Bohigian y Cols, las combinaciones de Gentamicina y de Carbenicilina actúan sinérgicamente en vitro pseudomonas aeruginosas -- mientras que no sucede lo mismo en vivo en conejo, administrando la combinación -- por medio de inyecciones subconjuntivales.

Los estudios realizados por Furgiule mediante método comparativo entre Gentamicina, Polimixina B, Neomicina, Gramidina y Colestina, ha descubierto que la gentamicina no sólo se encuentra al mismo nivel al comparar las notables mejo

rias producidas en casos de infecciones de la córnea en conejo provocadas por pseudomonas, sino que también es superior, aunque ni marcadamente a los otros antibióticos. Estudios hechos en el laboratorio han demostrado mayor actividad en vitro de la gentamicina en relación a otros antibióticos de uso común como son Cloramfenicol, Tetraciclina, Cefalítina, Colestina, Carbenicilina, Kanamicina, - contra bacterias gram positivas y gram negativas.

### ABSORCION, METABOLISMO Y EXCRECION

La gentamicina no es absorbida importantemente después de administración oral. Después de inyección intramuscular, la gentamicina es rápidamente absorbida y ampliamente distribuida a los tejidos. Cerca del 25 - 30% del medicamento se une a las proteínas del plasma. Con las dosis usuales, los niveles séricos son de 3-5 ug/ml en personas con funcionamiento normal de los riñones, pero puede haber acumulación marcada del medicamento en presencia de azoemia. El medicamento es excretado en gran parte por filtración glomerular a través de los riñones hacia la orina. Las concentraciones en ésta pueden ser 10-100 a veces mayores que en suero. La gentamicina no penetra bien el SNC ni al LCR siendo necesario a la inyección para lograr una elevada concentración en este último.

La gentamicina puede ser instalada en las cavidades articulares o de los abscesos porque la difusión a éstos espacios desde el suero es inadecuada.

### TOLERANCIA, TOXICIDAD Y RESISTENCIA

El empleo de la gentamicina por vía sistemática, permite el desarrollo de efectos nefrotóxicos y ototóxicos.

Los efectos nefrotóxicos con las dosis recomendadas y en ausencia de insuficiencia renal pre-existente, se dice que la nefrotoxicidad es rara. Se debe seguir por medio de pruebas de la depuración de creatinina como monitor. Si hay evi

dencia de una depuración reducida de la creatinina o de retención aumentada de nitrógeno, la dosis se debe reducir y alargar el intervalo entre las inyecciones. Se cree que los efectos nefrotóxicos de la gentamicina, son reversibles si el medicamento se discontinua a tiempo.

Los efectos ototóxicos, con las dosis que se recomiendan y en ausencia de acumulación del medicamento, se estima que 2-3% de los pacientes presentan signos de ototoxicidad debido a la gentamicina. Estos se manifiestan principalmente como difusión vestibular, atribuible tal vez a la destrucción de las células pilosas. Sin embargo, también ocurre pérdida de la audición y ocasionalmente ha sido completa e irreversible. Se estima que la concentración sérica de 12 ug/ml es ototóxica.

Debido a estos efectos generalmente se utiliza sistemáticamente para tratar los casos de infecciones más graves o casos en los cuales no se puede determinar rápidamente su etiología.

Los estudios farmacológicos efectuados en el hombre por Black y Cols han permitido certificar que la gentamicina administrada por vía intramuscular en perros obtiene buenos niveles sanguíneos.

En campo de la oftalmología, cuando la gentamicina es usada por vía tópica, no se encuentra toxicidad de importancia de orden sistemático.

Las pruebas efectuadas en clínicas y laboratorios por algunos investigadores, han documentado ampliamente esta ausencia de toxicidad de orden tópico al usar la gentamicina, lo cual ha sido bien tolerada por los tejidos oculares.

Furguiele en sus estudios realizados nos dice que la administración del -

antibiótico en exámen en forma de gotas al 1%, cada dos horas durante 5 días, contra infecciones causadas por pseudomonas aeruginosas, ha reconfirmado la ausencia de fenómenos de toxicidad local.

Los enterocos son resistentes a la gentamicina. Se ha encontrado ocasionalmente cepas resistentes entre las especies susceptibles, pero la exposición de las poblaciones bacterianas in vitro por lo general no da por resultado la rápida adquisición de resistencia excepto en los medios hospitalarios. Las bacterias resistentes a la gentamicina parecen tener protefnas ribósomicas alteradas. Los microorganismos vueltos resistentes a la gentamicina tienen generalmente resistencia cruzada a la kanamicina-neomicina pero la inversa no es cierta. Algunas bacterias inactivan a la gentamicina por fosforilación y esta propiedad se puede transmitir por plasmidios (factores de transferencia de la resistencia FTR) de una especie bacteriana a otra.

#### USOS

El sulfato de gentamicina es utilizado en el tratamiento de infecciones causadas por las clases sensitivas de Escherichia coli, klebbsiella, pseudomonas así como por otros microorganismos susceptibles. Con el fin de demorar el desarrollo de resistencia, el sulfato de gentamicina, es administrado en conjunto con la Carbenicilina para el tratamiento de infecciones que son sensitivas a ambos antibióticos.

Aplicaciones locales de gentamicina (0-1 a 0-3% ) son utilizadas en el tratamiento de infecciones de los oídos y la piel. Unguentos conteniendo 0-1 a 0-3% han sido usados en los orificios nasales portadores de estafilococos.

Uso de gentamicina en tratamiento de quemaduras usandola como unguento al 0.1% resulto ser más efectivo que el acetato mafenido 10% utilizado como crema ó

la solución de nitato de plata 0.5% para reducir el porcentaje de mortalidad debido a pseudomona toxaemia y septicemia, solamente las quemaduras cubrían más del 20% de la superficie del cuerpo y estas pudieron ser tratados tópicamente y sistemáticamente con gentamicina. Sin embargo, una dosis de 1.5 a 3 mg por kilogramo de peso administrada diariamente intramuscularmente en 63 pacientes no produjo ototoxicidad ni nefrotoxicidad.

En infecciones oculares.- En 36 pacientes que padecían conjuntivitis bacterial, fueron tratados con gentamicina, solución oftálmica (gotas) al 0.3% administrada cuatro o cinco veces al día y continuada por lo menos durante tres días después de la cesación de los síntomas. Un alivio sintomático fué obtenido por veinte pacientes dentro de 24 horas; por otros siete pacientes dentro las 48 horas y por otros 5 pacientes más a las 72 horas; 4 de los pacientes mostraron una pobre respuesta. Organismos gram negativos respondieron más prontamente. Además, dos pacientes con las cuencas oculares infectadas reportaron ausencia de descarga dentro de los 3 ó 4 días y dos pacientes con cataratas seniles maduras y cultivos positivos oculares resultaron tener cultivos negativos dentro de la primera semana de tratamiento.

CAPITULO \* III \*

---



## MATERIALES Y METODOS

Para la valoración del principio activo del producto "Isopto Gent", Sulfato de gentamicina, se llevo a cabo por dos métodos, el espectofotométrico y el microbiológico.

Métodos microbiológicos, existen varias técnicas microbiológicas para la determinación de antibióticos como son: técnica en tubo, técnica en medio sólido y técnica en placa. El que se utilizó para la práctica de este trabajo fué la técnica de cilindro placa para la determinación de antibióticos F.D.A.

## DETERMINACION MICROBIOLOGICA DE SULFATO DE GENTAMICINA

### MATERIAL

Tubos de ensayo de 15x2 con tapón de rosca.

Cajas petry 20x100 con tapadera de porcelana.

Pipetas serológicas de 10 ml., 5 ml., 0.5 ml.

Mechero.

Colocador de cilindro.

Cilindros de acero con diámetro exterior de 8 mm y diámetro interior de 6 mm y altura de 10 mm.

Baño María de 48°C.

Cepa estafilococo aureus.

### MEDIOS DE CULTIVO

Se utiliza medio de cultivo del No. 1 F.D.A. para la resiembra de la semilla. Para la primera capa de medio que se le adiciona a las cajas petry y a la suspensión del microorganismo.

MEDIO DE CULTIVO No. 1

Peptona .....	6 gr.
Pancreatina digerida de caseina .....	4 gr.
Extracto de levadura .....	3 gr.
Extracto de carne .....	1.5 gr.
Dextrosa .....	1 gr.
Agar .....	15 gr.
Agua destilada c.b.p. ....	1000 ml.

PH final - 6.5 - 6.6

NOTA: Tanto el material como medios de cultivo deben de esterilizarse antes de que se usen.

Por medio de los datos de los estudios anteriores, se observó que la actividad antibiótica de la gentamicina sobre los siguientes microorganismos, sobre todo aquellos que interesan las formas sépticas oculares como son:

Estafilococos Aureus

Estafilococos Epidermidis

Escherichia Coli

Proteus Vulgaris

Pseudomona aeruginosa

Shigella Flexneri

De estos microorganismos el F.D.A. recomienda utilizar el estafilococo - epidermidis. Pero como no se contaba con esta cepa se utilizó el estafilococo aureus

PREPARACION DE LA SUSPENSION DE ESTAFILOCOCO AUREUS

1.- Resembrar de la semilla original en un tubo que contenga medio No. 1 en posición inclinada e incubar a 37°C durante 16-24 horas. Hacer esta resiembra continuamente.

2.- El día que se vaya a utilizar, dos días antes debe resembrarse en la botella de Roux de la siguiente manera.

3.- De los tubos anteriores se lava con solución salina estéril y con ayuda de unas perlas de vidrio..

4.- Se pasa cuidadosamente a la botella de Roux que debe contener 300 ml de medio No. 1 e incubar de 32-35°C durante 16-24 horas.

5.- Lavar el crecimiento producido durante las 16-24 horas en el medio de la botella de Roux con 50 ml de solución salina estéril.

6.- Estandarizar la parte que se vaya a utilizar para correr la prueba. La estandarización se efectúa para saber que cantidad de suspensión se le va a adicionar a cada 100 ml de medio para la capa superior de las cajas petry.

7.- La estandarización se hace como enseguida se indica. Se toma un mililitro de la suspensión y se le adiciona 19 ml de solución salina y se lee la transmitancia a una longitud de onda de 655 nm y se verifican los siguientes cálculos:

1 ml - - - - 25 % T

x - - - - 90 % T      X = 3.6 ml por cada 100 ml.

Esta cantidad de suspensión fué la encontrada durante la práctica.

El medio debe tenerse en un baño vapor a 48°C de manera que el medio no se solidifique.

SOLUCION BUFFER pH : 8 F.D.A.

La solución buffer que se debe utilizar para las diluciones de la muestra y el standard, es la que se prepara de la siguiente forma:

FOSFATO DE POTASIO DIBASICO	33.0 gr.
FOSFATO DE POTASIO MONOBASICO	1.5 gr.
AGUA	2000 ml.

PREPARACION DE LA SOLUCION ESTANDARD PARA LA CURVA Y CONCENTRACIONES PARA LA MISMA

Se pesan 10 mg. de sulfato de gentamicina U.S.P. y tomando en cuenta la potencia como gentamicina base se afora con el fin de tener una concentración lo más exacta posible. En el caso de la gentamicina que se uso para esta práctica, la potencia es de 717 mcg-mg. Por lo tanto se le adicionaron 71.7 ml de agua destilada, así tendremos una concentración de 100 mcg/ml.

La concentración de nuestra curva se hará de la siguiente manera. De la solución preparada anteriormente se toman:

6.4 ml	.....	100 ml con buffer
8.0 ml	.....	100 ml con buffer
10.0 ml	.....	100 ml con buffer
15.6 ml	.....	100 ml con buffer
12.5 ml	.....	100 ml con buffer

Por lo tanto vamos a tener las siguientes concentraciones: 6.4 /ml, 8.0 /ml, 10 /ml, 12.5 /ml y 15.6 /ml.

Se va a utilizar como punto de referencia la concentración de 10 /ml.

## PREPARACION DE LA SOLUCION PROBLEMA

El contenido de sulfato de gentamicina en el producto es de 3.0 mg/ml. Por lo que se tomarán 3 ml de solución y se llevará a un aforo de 90 ml para tener una concentración de 100 $\gamma$ /ml. De esta última dilución se toman 10 ml y se afora a 100 ml con solución buffer pH 8 y tendremos una concentración de 10 $\gamma$ /ml. La concentración requerida en la curva con respecto al punto de referencia.

## PREPARACION DE LAS PLACAS

a) Se licúa el medio previamente preparado y esterilizado, se deja enfriar hasta 45-50°C. Sobre una superficie nivelada, se vierten 21 ml de medio en cada una de las cajas que se vayan a utilizar.

b) Se deja que las placas se enfríen con cubierta inclinada, para permitir que el exceso de humedad se evapore con este fin, las placas se pueden incubarse en una estufa a 35-37°C durante o por un lapso mayor a temperatura ambiente. Las placas están listas para usarse tan pronto como la superficie del agar se haya secado y no queden gotas de líquido sobre ella o sobre la tapa (de la caja). Las placas satisfactorias se pueden usar inmediatamente o proceder a su refrigeración. Podrán usarse mientras su superficie permanezca húmeda y no aparezcan signos de deterioro.

A 100 ml. de medio No. 1 se le adicionarán 3.6 ml de la solución estandarizada. De este medio se toman 4 ml y se le adiciona homogéneamente a cada una de las cajas, y se deja reposar durante diez minutos. Transcurrido el tiempo se colocarán los cilindros y se dejan reposar otros 45 minutos contando el tiempo desde el momento que se inició a colocar los cilindros. Al finalizar el tiempo indicado, las cajas quedan listas para inocular nuestros problemas, ya que se inocularon se colocarán las cajas en la incubadora durante 16-24 horas a 37°C.

El diámetro de las zonas de inhibición se lee después de incubación de la placa durante el tiempo ya indicado anteriormente, en este caso se midió con un Fisher Lilly Antibiotic inhibitory zone. En caso de que no se cuente con este aparato, se medirá con un nonio vernier o una regla, y los resultados se anotarán en las hojas para reporte que posteriormente se indicarán.

#### METODO ESPECTOFOTOMETRICO

Se emplearon las técnicas A y B. En el método A, la valoración se llevó a cabo por medio de un barrido de longitud de onda de 220-300 nm como indica la Farmacopea Británica en la identificación de sulfato de gentamicina. Con el fin de encontrar la máxima absorbancia de dicho principio activo, para así poder sacar las concentraciones que tiene el producto.

Para el método B, se utilizó la técnica proporcionada por laboratorio que utiliza en uno de sus productos el Sulfato de gentamicina.

#### METODO ESPECTROFOTOMETRICO "A"

##### MATERIAL

Espectrofotómetro

Pipetas volumétricas de 3 ml.

Matraces aforados de 25 ml.

Pipetas serológicas de 5 ml.

Sulfato de Gentamicina U.S.P.

Agua destilada

Cloroformo

Acido sulfúrico al 4%

Baño de vapor

Embudo de separación de 50 ml.

PREPARACION DEL ESTANDARD

a) Pesar 300 mg de Sulfato de gentamicina y aforar a 100 ml para tener una concentración de 3.0 mg por mililitro.

b) Preparación de la muestra: Tomar 3 ml de muestra y llevarlos a un embudo de separación, adicionar 5 ml de agua y mezclar, adicionar 5 ó 10 ml de cloroformo y agitar, separar la fase acuosa y efectuar dos extracciones con 5 ml de cloroformo cada una. Separando nuevamente la fase acuosa. De la fase acuosa tomar 1 ml y llevarlo a un matríz volumétrico de 25 ml al igual que el estándar, adicionar 1 ml de agua destilada y 5 ml de ácido sulfúrico al 4% y sumergir a baño vapor durante 100 minutos, enfriar y aforar y hacer las lecturas a una longitud de onda de 220 - 300 nm para encontrar la máxima absorbancia del sulfato de gentamicina.

Cálculos:

$$\frac{A_p}{A_s} \times 100 = \% \text{ de sulfato de gentamicina}$$

Donde  $A_p$  = Absorbancia del problema

$A_s$  = Absorbancia del estándar

En caso de que no se pese una cantidad exacta, se hará la corrección necesaria en los cálculos.

METODO ESPECTROFOTOMETRICO "B"

MATERIAL

Espectrofotómetro

Pipetas volumétricas, 1 ml.

Pipetas serológicas de 2 ml, 1 ml

Matraces volumétricos de 50 ml

Agua destilada

Piridina

Baño de vapor

Estandar de Sulfato de gentamicina U.S.P.

Preparación de la solución estándar.- Preparar 25 ml de solución de -- Isopto Gent con sulfato de gentamicina U.S.P. y con todos los componentes de la fórmula, emplear las cantidades y técnica de control dada por manufactura.

Procedimiento para el análisis.- Transferir 1.0 ml de la solución estándar y 1.0 ml de la solución problema a cada uno de los matraces de 50 ml, agregar 2.0 ml de solución acuosa de ninhidrina al 0.2% y 0.5 ml de piridina; mezclar y sumergir los matraces en baño de vapor durante 10 minutos, enfriar y aforar el matrás.

Determinar la absorbancia de las soluciones en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 563 nm, empleando como blanco agua destilada.

Cálculos:

$\frac{A_p}{AST} \times 100 = \% \text{ de sulfato de gentamicina.}$



CAPITULO \* IV \*  
-----

## DISCUSION Y RESULTADOS

La práctica se llevo a cabo en tres lotes piloto efectuándose las pruebas de los métodos espectrofotométricos por triplicado y en el método microbiológico por duplicado, se efectuaron pruebas de estabilidad en el producto, la prueba de estabilidad fué acelerada a 55°C de 32, 64 y 109 días.

### RESULTADOS METODO A

Longitud de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
220	0.014	0.049	0.048	0.049
230	0.055	0.075	0.074	0.074
240	0.138	0.149	0.146	0.149
245	0.192	0.195	0.193	0.194
250	0.241	0.244	0.242	0.243
255	0.284	0.290	0.287	0.298
260	0.311	0.316	0.310	0.312
265 .....	0.316 ...	0.324 ..	0.323 ...	0.324
270	0.298	0.310	0.308	0.311
280	0.209	0.221	0.212	0.210
290	0.043	0.056	0.054	0.050
300	0.017	0.022	0.017	0.020

### Cálculos

$$\frac{0.324}{0.316} \times 100 = 102.53 \%$$

$$\frac{0.323}{0.316} \times 100 = 102.22 \%$$

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ESTABILIDAD ACELERADA A 55°C

LOTE MX-5BK		32 días	
longitud de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
220	0.013	0.015	0.015
230	0.052	0.053	0.052
240	0.136	0.039	0.140
260	0.308	0.310	0.310
265	0.315	0.323	0.323
270	0.397	0.299	0.299
380	0.042	0.048	0.047
300	0.015	0.013	0.016

LOTE MX5BK		64 días	
longitud de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
220	0.013	0.010	0.009
230	0.052	0.012	0.013
240	0.136	0.096	0.094
250	0.238	0.196	0.198
260	0.308	0.257	0.297
265 .....	0.315 ...	0.316 ..	0.318
270	0.297	0.260	0.280
280	0.208	0.158	0.210
290	0.042	0.022	0.036
300	--	--	--

Cálculos

$$\frac{0.316}{0.315} \times 100 = 100.3\%$$

$$\frac{318}{315} \times 100 = 100.9\%$$

LOTE MX-5BK

109 dfas

longitud de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
220	0.013	0.012	0.012;
230	0.052	0.050	0.048
240	0.136	0.130	0.128
250	0.235	0.230	0.232
260	0.306	0.300	0.300
265	0.313	0.303	0.304
270	0.294	0.290	0.287
280	0.205	0.200	0.204
290	0.040	0.032	0.030
300	0.140	0.012	0.010

$$\frac{300}{306} \times 100 = 98.0 \%$$

RESULTADOS METODO ESPECTROFOTOMETRICO TECNICA "A"

LOTE MX-12HL

---

long. de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
220	0.014	0.013	0.14	0.013
230	0.054	0.055	0.056	0.055
240	0.136	0.130	0.129	0.131
250	0.239	0.238	0.235	0.235
260	0.314	0.312	0.310	0.312
265	0.314	0.320	0.321	0.321
270	0.296	0.296	0.297	0.296
280	0.208	0.206	0.206	0.208
290	0.041	0.042	0.041	0.042
300	0.015	0.017	0.018	0.017

---

Cálculos

$$\frac{0.320}{0.314} \times 100 = 101.9 \%$$

$$\frac{0.321}{0.314} \times 100 = 102.23 \%$$

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ESTABILIDAD METODO ESPECTROFOTOMETRICO "A"

	MX-12 HL		32 días
long. de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
220	0.013	0.013	0.013
230	0.052	0.055	0.054
240	0.134	0.136	0.132
250	0.237	0.234	0.239
260	0.310	0.312	0.310
265 .....	0.313 .....	0.307 .....	0.307
270	0.297	0.299	0.298
280	0.210	0.205	0.203
290	0.041	0.038	0.036
360	0.015	0.010	0.010

**Cálculos**

$$\frac{0.307}{0.313} \times 100 = 98.08 \%$$

long. de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
220	0.013	0.012	0.010
230	0.053	0.051	0.052
240	0.134	0.132	0.130
250	0.236	0.235	0.233
260	0.309	0.306	0.302
265 .....	0.313 .....	0.310 .....	0.308
270	0.297	0.296	0.295
280	0.210	0.204	0.202
290	0.042	0.040	0.041
300	0.015	0.012	0.012

## Cálculos

$$\frac{0.310}{0.313} \times 100 = 99.04 \%$$

$$\frac{308}{313} \times 100 = 98.4 \%$$

MX-12HL

109 días

---

long. de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
220	0.012	0.010	0.011
230	0.050	0.047	0.045
240	0.136	0.130	0.129
250	0.237	0.229	0.226
260	0.309	0.299	0.298
265 .....	0.313 .....	0.300 .....	0.297
270	0.297	0.290	0.289
280	0.210	0.200	0.202
300	0.015	0.010	0.009

---

Cálculos

$$\frac{0.300}{0.313} \times 100 = 95.84 \%$$

$$\frac{0.297}{0.313} \times 100 = 94.88 \%$$



RESULTADOS METODO ESPECTOFOTOMETRICO TECNICA "A"

LOTE MX-12 EL

long. de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
220	0.015	0.015	0.016	0.015
230	0.056	0.057	0.058	0.059
240	0.138	0.136	0.135	0.136
245	0.193	0.192	0.192	0.194
250	0.241	0.243	0.240	0.240
260	0.310	0.311	0.312	0.312
265 .....	0.316 .....	0.320 .....	0.320 .....	0.321
270	0.299	0.298	0.297	0.297
280	0.209	0.208	0.206	0.208
290	0.044	0.047	0.045	0.040
300	0.017	0.015	0.013	0.013

Cálculos

$$\frac{0.320}{0.316} \times 100 = 101.26 \%$$

$$\frac{0.321}{0.316} \times 100 = 101.58\%$$

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ESTABILIDAD ACELERADA TECNICA "A"

LOTE MX-12EL		32 días	
long. de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
220	0.015	0.013	0.011
230	0.054	0.053	0.052
245	0.190	0.192	0.192
250	0.240	0.241	0.241
260	0.309	0.311	0.311
265 .....	0.314 .....	0.317 .....	0.316
270	0.296	0.298	0.296
280	0.255	0.252	0.250
290	0.041	0.043	0.040
300	0.016	0.015	0.014

$$\frac{0.317}{0.314} \times 100 = 100.95 \%$$

$$\frac{0.316}{0.314} \times 100 = 100.63 \%$$

long. de onda	St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
220	0.016	0.012	0.016
230	0.053	0.050	0.051
240	0.135	0.136	0.135
250	0.190	0.190	0.187
260	0.240	0.238	0.241
265 .....	0.314 .....	0.310 .....	0.308
270	0.297	0.289	0.293
280	0.208	0.200	0.202
290	0.040	0.038	0.037
300	0.015	0.013	0.012

Cálculos

$$\frac{0.310}{0.314} \times 100 = 98.72 \%$$

$$\frac{0.308}{0.314} \times 100 = 97.52 \%$$

RESULTADO DEL METODO "B"

LOTE MX-5BK			
St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.412	0.412	0.413	0.412

Cálculos

$$\frac{0.412}{0.412} \times 100 = 100.0 \%$$

$$\frac{0.413}{0.412} \times 100 = 100.24 \%$$

LOTE MX-5BK		32 días	
St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.412	0.410	0.411	0.411

Cálculos

$$\frac{0.410}{0.412} \times 100 = 99.51\%$$

$$\frac{0.411}{0.412} \times 100 = 99.76\%$$

LOTE MX-5BK		64 días	
St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.412	0.411	0.410	0.410

Cálculos

$$\frac{0.411}{0.412} \times 100 = 99.75 \%$$

$$\frac{0.410}{0.412} \times 100 = 99.51 \%$$

	LOTE MX-5BK	109 días	
St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.413	0.411	0.410	0.410

Cálculos

$$\frac{0.411}{0.413} \times 100 = 99.52\%$$

$$\frac{0.410}{0.413} \times 100 = 99.3\%$$

- 48 -

RESULTADOS METODO ESPECTROFOTOMETRICO METODO "B"

LOTE MX-12HL

---

St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.411	0.429	0.428	0.428

---

Cálculos

$$\frac{0.429}{0.411} \times 100 = 104.37$$

$$\frac{0.428}{0.411} \times 100 = 104.13$$

LOTE MX-12HL

32 días

---

St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.409	0.420	0.419	0.420

---

Cálculos

$$\frac{0.420}{0.409} \times 100 = 102.68 \%$$

$$\frac{0.419}{0.409} \times 100 = 102.44 \%$$

LOTE MX-12HL

64 días

---

St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.409	0.418	0.417	0.417

---

Cálculos

$$\frac{0.418}{0.409} \times 100 = 102.22 \%$$

$$\frac{0.417}{0.409} \times 100 = 101.95 \%$$

- 47 -

RESULTADOS DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO TECNICA "B"

LOTE MX-12EL

---

St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.414	0.415	0.414	0.414

---

Cálculos

$$\frac{0.415}{0.414} \times 100 = 100.24 \%$$

$$\frac{0.414}{0.414} \times 100 = 100.0 \%$$

LOTE MX-12EL

32 días

---

St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.412	0.410	0.411	0.410

---

Cálculos

$$\frac{0.410}{0.412} \times 100 = 99.5 \%$$

$$\frac{0.411}{0.412} \times 100 = 99.75 \%$$

LOTE MX-12EL

64 días

---

St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.412	0.408	0.406	0.406

---

Cálculos

$$\frac{0.408}{0.412} \times 100 = 99.03 \%$$

$$\frac{0.406}{0.412} \times 100 = 98.54 \%$$

LOTE MX-12EL

109 días

---

St.	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
0.413	0.406	0.405	0.405

---

Cálculos

$$\frac{0.406}{0.413} \times 100 = 98.30 \%$$

$$\frac{0.405}{0.413} \times 100 = 98.06 \%$$



DETERMINACION MICROBIOLOGICA DE ANTIBIOTICOS

METODO CILINDRO PLACA

CURVA ST.								
Caja No.	pR	a	pR	b	pR	d	pR	e
	24.2	22.6	24.1	23.5	24.1	24.4	24.2	24.9
	24.1	22.5	24.2	23.6	24.1	24.5	24.1	24.8
	24.2	21.9	24.2	23.4	24.3	24.6	24.1	24.9
	24.2	22.5	24.1	23.2	24.2	24.6	24.3	24.9
	24.3	22.5	24.2	23.4	24.4	24.6	24.2	25.1
	24.1	22.5	24.4	23.3	24.3	24.0	24.2	25.1
	24.2	22.6	24.3	23.6	24.2	24.5	24.3	24.9
	24.3	22.6	24.1	23.2	24.1	24.6	24.2	25.0
	24.2	22.8	24.2	23.4	24.3	24.5	24.2	25.0
Promedio	24.2	22.5	24.2	23.4	24.22	24.6	24.2	24.95
Promedio ajustado		24.2		24.2		24.98		25.7

Punto de corrección = Pc 24.2

Punto bajo = L =  $\frac{3a + 2b + 3c - e}{5} =$

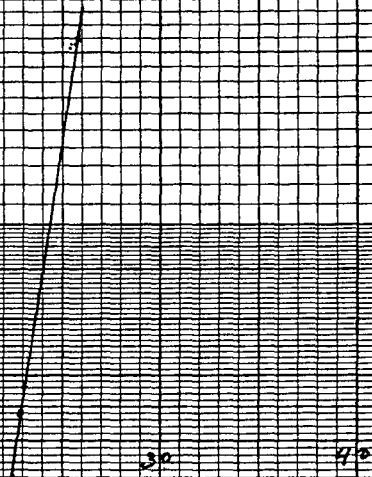
$$\frac{(3 \times 24.2) + (2 \times 24.2) + (3 \times 24.2) - (25.7)}{5} = 23.9$$

Punto Alto = H =  $\frac{3e + 2d + c - a}{5} =$

$$\frac{(3 \times 25.7) + (2 \times 24.98) + (24.2) - (24.2)}{5} = 25.4$$

Muestra St. MX-5BK Promedio \_\_\_\_\_

Curvas del Sit.



Lote - 142 - 5BK

DETERMINACION MICROBIOLOGICA DE ANTIBIOTICOS

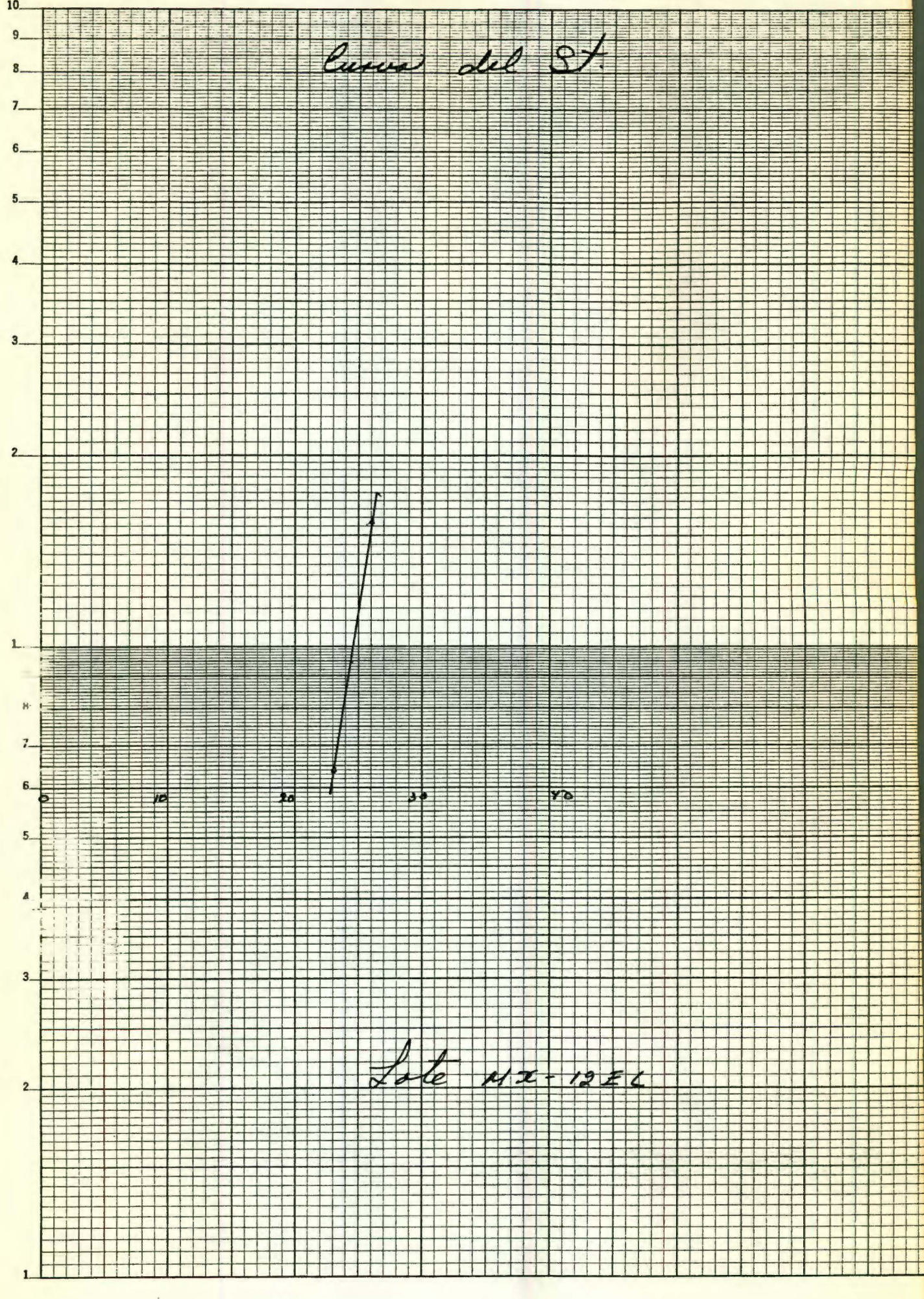
METODO CILINDRO PLACA F.D.A.

St.	M1	St.	M2
24.2	24.2	24.0	24.2
24.1	24.3	24.2	24.3
24.0	24.2	24.4	24.3
24.3	24.2	24.2	24.1
24.3	24.1	24.1	24.2
24.4	24.0	24.3	24.1
24.2	24.4	24.1	24.4
24.2	24.2	24.3	24.1
24.3	24.1	24.2	24.2
218.0	217.7	217.8	217.9
24.22	24.19	24.2	24.21

MUESTRA MX-5BK      PROMEDIO 99.9%



Curvas del ST.



Late 11X-12EL

DETERMINACION MICROBIOLOGICA DE ANTIBIOTICOS

METODO CILINDRO PLACA F.D.A.

St.	M1	St.	M2
24.2	23.8	24.2	24.2
24.3	24.2	24.1	24.0
24.3	24.0	24.3	--
24.1	24.0	24.2	24.2
24.0	24.3	24.1	24.6
24.2	24.4	24.3	24.1
24.3	24.2	24.3	24.0
24.3	24.4	24.1	24.3
24.1	24.2	24.2	24.2
24.18	24.16	24.2	24.2
24.2	24.2	24.2	24.2

MUESTRA MX-12EL PROMEDIO 100%

DETERMINACION MICROBIOLÓGICA DE ANTIBIÓTICOS

METODO CILINDRO PLACA F.D.A.

64 días

St.	M1	St.	M2
24.3	24.1	24.3	24.2
24.2	24.2	24.1	23.1
24.4	24.0	24.4	24.4
24.3	23.2	24.2	--
24.3	23.6	24.6	24.6
--	23.8	24.2	23.6
24.4	23.7	24.3	24.2
24.3	24.2	24.3	23.6
24.3	24.2	--	23.4
24.3	23.96	24.3	23.95

MUESTRA MX-12EL PROCEDIMIENTO 98.6 %

DETERMINACION MICROBIOLOGICA DE ANTIBIOTICOS

METODO CILINDRO PLACA

Si pc pR se ( - )

pc pR se ( + )

CURVA ST.								
Caja No.	6.4		8		12.5		15.6	
	pR	a	pR	b	pR	d	pR	e
1	24.4	23.2	24.4	24.4	24.0	24.7	24.3	24.8
2	24.0	23.3	24.2	23.7	24.0	24.6	24.2	25.9
3	24.3	23.2	24.2	24.3	24.2	24.6	24.0	26.0
4	24.3	23.6	24.2	24.2	24.4	24.6	24.2	25.9
5	24.3	23.2	24.3	24.1	24.4	24.7	24.2	25.9
6	24.5	23.3	24.3	24.0	23.8	24.6	24.2	26.1
7	24.5	23.6	24.0	24.0	24.2	24.6	24.3	25.9
8	24.3	23.2	24.2	24.0	--	24.6	24.2	25.9
9	24.3	23.3	24.3	24.1	--	24.6	--	--
Promedio	24.32	23.32	24.23	24.0	24.142	24.62	24.2	25.8
Promedio ajustado		23.22		23.99		24.692		25.82

Punto de corrección = Pc = 24.22

Punto bajo = L =  $\frac{3a + 2b + 3c - e}{5} =$

$$\frac{(3 \times 23.22) + (2 \times 23.99) + (3 \times 24.22) - (25.82)}{5} = 23.28$$

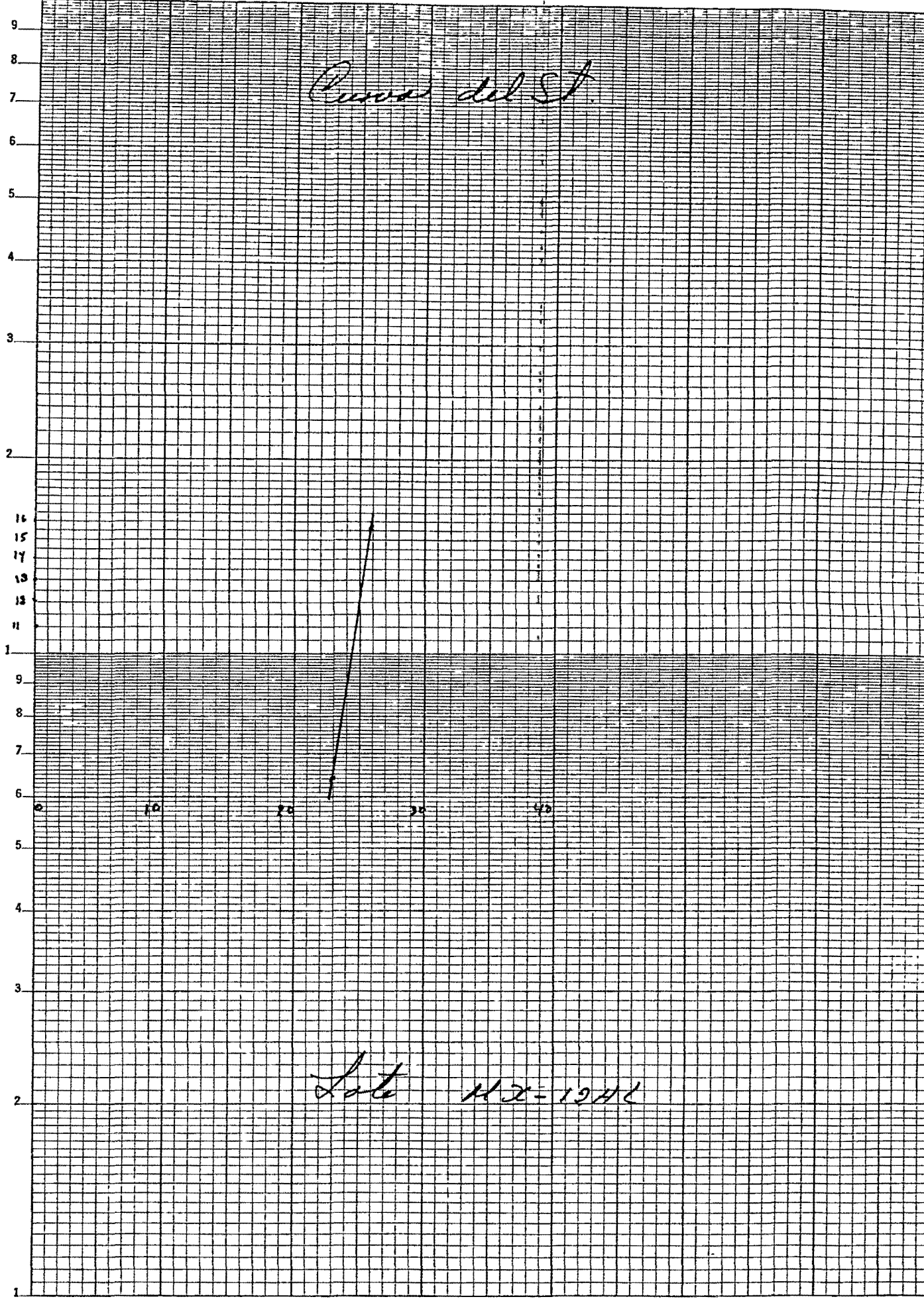
Punto alto = H =  $\frac{3e + 2d + c - a}{5} =$

$$\frac{(3 \times 25.82) + (2 \times 24.692) + (24.22) - (24.32)}{5} = 25.05$$

MUESTRA St. MX-12HL PROMEDIO 25.05



Curva del ST



Sete 11.2.1946

DETERMINACION BIOLÓGICA DE ANTIBIÓTICOS

METODO CILINDRO PLACA

<u>St.</u>	<u>M1</u>	<u>St.</u>	<u>M2</u>
24.2	25.6	24.2	25.7
24.1	25.4	24.1	25.7
24.1	25.4	24.2	25.6
24.3	25.5	24.1	25.6
24.3	25.3	24.1	25.7
24.2	25.4	24.4	25.4;
24.2	25.4	24.2	25.1
24.2	25.5	24.3	25.5
24.2	25.6	24.2	25.5
24.2	25.45	24.2	25.53

MUESTRA MX-12HL      PROMEDIO 105.1% - 105.5%

CAPITULO \* V \*

-----

## CONCLUSIONES Y BIBLIOGRAFIA

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo y teniendo en cuenta los factores anteriormente mencionados (rápidez, exactitud confiabilidad) se llegó a las siguientes conclusiones.

RAPIDEZ.- El método cilindro placa es un método laborioso el cual exige más tiempo en la determinación.

Con respecto a los métodos espectrofotométricos, el método B es más rápido con respecto al método A, por el período de incubación en baño vapor.

EXACTITUD.- Con respecto a este término los métodos efectuados, pienso que el método de mayor exactitud es el espectrofotométrico B, ya que este método fué el que coincidió con los resultados del método microbiológico, aunque los resultados de los dos métodos espectrofotométricos son aceptados por especificaciones del producto.

CONFIABILIDAD.- La confiabilidad nos la va a dar la realización de los dos métodos tanto el B como el microbiológico.

Cumpliendo con estos tres factores señalados y las pruebas a realizar señaladas al inicio de este trabajo, podemos concluir que se tiene un producto de buena calidad.

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- THE UNITED STATES PHARMACOPEA. Eighteenth revisión USP XVIII.
- 2.- THE NATIONAL FORMULARY N.F. XII 1975. Thirteenth edition.
- 3.- THE MERCK INDEX. Eight edition.
- 4.- BRITISH PHARMACOPEIA 1973.
- 5.- MARTINDALE. THE EXTRA PHARMACOPEIA. Twenty sixth edition.
- 6.- MEDICAMENTA No. 3. GUIA TEORICO PRACTICA PARA FARMACEUTICO Y MEDICOS.  
Dr. P. FONT QUER. 7a. edición Tomo III.
- 7.- REMINGTONS PHARMACEUTICAL SCIENCES.
- 8.- MICROBIOLOGIA MEDICA. ZINSSER. 4a. edición.
- 9.- MICROBIOLOGIA. K. PIATKIN. Moscú 1968.