

CONTROL MICROBIOLOGICO DE ANTIBIOTICOS

*Curvas standard, Determinación de potencia y Preparación de Discos
para pruebas de sensibilidad **

JULIO MORALES S.

División de Control del Instituto Nacional de Salud Pública;
Lima, Perú.

INTRODUCCION

No podemos dejar de reconocer que los antibióticos han sido los más grandes descubrimientos efectuados en el campo del laboratorio médico en estos últimos veinte años, a tal punto que han dado lugar en la terapéutica moderna a la denominación de "Era de los Antibióticos".

En realidad han revolucionado la medicina contemporánea no solamente en el concepto terapéutico, sino también en el docente, ya que es la primera vez en la historia de la Medicina que una sustancia terapéutica nueva, con poder sansoniano ha traído abajo los clásicos axiomas, cambiando el concepto del diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las enfermedades, muy especialmente en las infecciones donde la evolución clínica de la temperatura, la duración de la enfermedad, la respuesta inmunológica del antígeno estimulante, el grado de mayor o menor sensibilidad del agente infectante, etc., etc., han sido tremendamente influenciados por estas nuevas sustancias denominadas antibióticos que año tras año vemos aparecer.

Afortunadamente para la ciencia médica y para la humanidad entera, la Penicilina, Estreptomina, Cloramfenicol, las Citilinas de amplio espectro antibacteriano y algunos otros antibióticos últimamente descubiertos y que no alcanzan a superar a los mencionados, han logrado controlar por así decirlo un buen número de enfermedades infecciosas.

* Tesis para optar el grado de Doctor en la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Desde 1939 hasta la fecha, los investigadores organizados en equipos están explorando las cincuenta mil especies de hongos conocidos, en su búsqueda por nuevos antibióticos, así se explica que sean numerosas las sustancias descritas con propiedades antibióticas, pero no más de una veintena las utilizadas en terapéutica; estos pocos pero eficaces productos han dado lugar a una nueva y poderosa industria farmacéutica, especialmente en los Estados Unidos de Norteamérica, con inversiones que representan indudablemente millones de dólares.

Como en la actualidad son numerosos los laboratorios comerciales que preparan antibióticos, se ha establecido una benéfica competencia en su producción, las formas de presentación son múltiples así como también las aplicaciones clínicas; las diferentes dosis, los grados variables de actividad, potencia, toxicidad e inocuidad, han requerido el establecimiento de un organismo estatal regulador y de control, es por esto que dentro del Food and Drug Administration de Washington, se creó la División de Antibióticos, encargada en la actualidad del control riguroso de todos los antibióticos antes de ser introducidos en terapéutica, por procedimientos bacteriológicos y químicos y más tarde cuando son aprobados siguen permanentemente controlados en su consumo, por pesquisas periódicas en los 48 estados que conforman Norte América. De esta misma División, bajo la hábil dirección del Dr. Henry Welch y de sus colaboradores, salen las normas y regulaciones indicando técnicas y nuevos métodos de análisis, los cuales son distribuidos a los laboratorios del Estado y gentilmente proporcionados a todas las demás Naciones o personas que se interesen.

Con esta ocasión, permitidme que haga público mi agradecimiento a los Señores Directores de las Divisiones del Food and Drug Administration de Washington y en especial a todos los Jefes de las distintas ramas de la División de Antibióticos y colaboradores, por haberme dispensado una amable acogida, brindando amplia bibliografía y abierto las puertas de sus laboratorios para hacer un entrenamiento en el mes de febrero del presente año.

Al crearse la División de Control Técnico, dentro del Instituto Nacional de Salud Pública, e iniciar sus funciones en 1956, me cupo la oportunidad de asumir personalmente el control de los antibióticos que aislados o combinados llegan a la División para su análisis, puesto que mi experiencia de algunos años en trabajos sobre antibióticos me lo permitió.

Es así como en el transcurso de estos tres años hemos podido realizar el control microbiológico de los antibióticos que se expenden en el

país en más de 300 formas de presentación y dejar establecidas las técnicas y métodos para controles posteriores, con un cepario bacteriano estandarizado.

Además hemos preparado discos medicados perfectamente establecidos, en tres concentraciones para pruebas de sensibilidad antibióticas.

I. LOS ANTIBIÓTICOS EN EL MOMENTO ACTUAL

No pretendemos bajo esta denominación, hacer una revisión histórica, ni una narración pormenorizada de todos los antibióticos que en la actualidad se emplean, ya que su fecha de descubrimiento, descubridor, composición química, propiedades, espectro de actividad antibacteriana, potencia, toxicidad, inocuidad, etc., etc., se pueden fácilmente encontrar en los libros que tratan sobre la materia (2), (23), (24), (71), (73), (78), y en la bibliografía que al final consignamos; además es un tema tan contemporáneo y conocido por todos los que conformamos, la profesión médica y paramédicas que todo intento sería una repetición infructuosa y deficiente.

Nuestra intención es solamente dar una vista panorámica y hacer una apreciación genérica de la rápida evolución y alcance que han tenido los antibióticos como elementos terapéuticos, agentes antiinfecciosos, profilácticos, etc., en los 17 años de existencia industrializada que llevan hasta la fecha.

Desde el año 1929 en que se comunicó el formidable descubrimiento hecho por FLEMING en sus placas de cultivo contaminadas por un hongo, con manifiesto antagonismo bacteriano y a cuyo principio activo le llamó Penicilina, (3) FLEMING y sus colaboradores utilizaron esta sustancia durante diez años para el aislamiento y diferenciación de bacterias y sólo en raras ocasiones para curar heridas por aplicación tópica. La eficacia terapéutica observada repetidas veces dio lugar a que en 1939 empezaran los trabajos intensivos por CHAIN y FLOREY en Oxford (24), para obtener esta sustancia en mayor proporción y poder utilizarla en terapéutica. Desde entonces transcurrieron cuatro años de intensa investigación y de pequeña producción, de esta droga que dio comienzo al empleo de los antibióticos en terapéutica.

Fue en 1943 que, debido a las gestiones hechas por FLOREY y HEATLEY, se inició en los Estados Unidos de Norte América, el desarrollo de esta nueva y poderosa industria dentro del campo farmacéutico; unos cuantos laboratorios empezaron a producir penicilina cruda para uso terapéutico, el alto costo de producción y el escaso rendimiento

hicieron que la Penicilina fuera por entonces mucho más valiosa que el oro, en realidad 100,000 Unidades costaban 20 dólares (76) y su empleo estaba como es natural por motivos de la guerra limitado a las fuerzas armadas de los Estados Unidos. La producción total en 1943 fue de 13 kilos con un costo aproximado de tres millones de dólares, muy rápidamente la industria se incrementó, surgió la Penicilina Cristalizada, fueron numerosos los laboratorios comerciales que la produjeron y en 1953 la producción alcanzó a 343,909 kilos, se estableció la competencia y llegó a costar la dosis de 100,000 Unidades escasamente dos centavos oro americano, (76), lo cual significa mil veces menos que el precio inicial.

Con este formidable avance se benefició grandemente la humanidad entera, puesto que pudo tener a su alcance este maravilloso y eficaz antibiótico, para poder combatir con escaso número de unidades múltiples enfermedades infecciosas producidas por microorganismos sensibles; fue tan efectivo, que su empleo sobrepasó los linderos terapéuticos y de prescripción facultativa, muy especialmente entre nosotros su uso y abuso indiscriminado y casero ha llegado a condicionar como ya lo hemos demostrado, (45), (46), (47), un incremento enormemente elevado del grado de resistencia de los microorganismos originariamente sensibles a esta droga, con detrimento de ella y con los peligros que desde luego significa la infección con gérmenes resistentes (4), (6), (7), (21), (29), (42), (55), (63), (73), (82), (88).

Las distintas formas farmacéuticas de Penicilina que en la actualidad se producen y cuyos nombres, concentración y productores están mencionados más adelante en los cuadros de determinación de potencia, han brindado al médico la oportunidad del empleo de millones de unidades por vez, para poder alcanzar altos niveles sanguíneos y por tiempo prolongado; esta ventaja y la sensibilidad demostrada por los Treponemas a la Penicilina, han colocado a esta droga como un elemento terapéutico de gran valor en las enfermedades venéreas, muy especialmente en la sífilis, (37), (71), en la actualidad posiblemente todos los sífilólogos han olvidado la terapia con los metales pesados y sus graves consecuencias, por el empleo del eficaz, fácil y poco costoso tratamiento antibiótico (19), (33).

Similar ha sido la evolución de la Estreptomicina descubierta por WACKSMAN en 1943 e introducida en el mercado en 1946 (24), (73), con un campo de actividad espectral para los gérmenes gramnegativos y muy especialmente para el *Mycobacterium Tuberculosis*. En 1946 la producción alcanzó a 1,727 kilos con un costo aproximado de \$ 11'400,000;

el gramo de Estreptomicina se vendía por entonces a 15 dólares; siete años más tarde en 1953 se registró una producción de 170,545 kilos y el precio por gramo fue de 15 centavos de dólar. (76) lo que significa cien veces menos que el precio inicial.

En la actualidad la Estrepto y la Dihidroestreptomicina, solas o asociadas con la Penicilina están al alcance de todos y han rebasado igualmente la prescripción facultativa, siendo muchas veces su empleo indiscriminado y doméstico y como la resistencia bacteriana es proporcional a la difusión de la droga, su empleo ha traído como consecuencia se establezca un elevado grado de resistencia, como lo han demostrado muchos autores (4), (6), (7), (21), (29), y comprobado también en nuestro medio en trabajos anteriores (45), (46), (47), (55), (88). Sin embargo, no podemos dejar de reconocer que con el descubrimiento de la Estreptomicina, se inició una nueva era de progreso en el tratamiento de la tuberculosis, en la actualidad reforzada con el empleo combinado del Ácido paraaminosalicílico y de la Isoniazida y del nuevo antibiótico Cicloserine, las cifras de mortalidad por tuberculosis descenderán en nuestro medio, al igual que lo observado en otros países (18), (32), (33), (71), (73).

Entre los años 1946 y 1953, se han descubierto y producido rápidamente en alta escala, los llamados antibióticos de amplio espectro: Cloramfenicol, Clorotetraciclina, Oxitetraciclina y Tetracina, según los datos mencionados por WELCH, la producción de Cloramfenicol y Ciclinas en 1953 alcanzó a 189,818 kilos, con un costo aproximado de 137 millones de dólares (76). Frente a este tipo de antibióticos hemos podido observar que el incremento de la producción ha sido rápidamente grande, gracias a la experiencia adquirida con la Penicilina y Estreptomicina, la competencia se ha establecido igualmente entre los productores norteamericanos, pero la reducción de precio no ha seguido la misma evolución, pese a la síntesis del Cloramfenicol. Recientemente en los comienzos de este año, estamos viendo que la producción de los competidores italianos nos están brindando estos mismos antibióticos, con igual potencia y altamente activos a un precio más bajo, lo cual creo es necesario dar a conocer y tener en cuenta.

En los últimos 18 años, la búsqueda de sustancias con propiedades antibióticas producidas por hongos, actinomicetos, bacterias, líquenes y algas, ha sido la preocupación de gran número de investigadores (24); sorprendidos mencionamos que a la fecha, las sustancias aisladas y estudiadas con propiedades antibióticas, posiblemente van más allá de las 4,000 que WELCH indica (76); de éstas la mayoría ha sido eli-

minada por tóxicas y otras por poseer escasa actividad antibiótica. Ninguna de las sustancias posteriormente descubiertas y que mencionamos después ha llegado a superar en importancia a las hasta aquí citadas, seguramente porque la mayoría proviene de diferentes especies de hongos pertenecientes al género *Streptomyces* y tiene más o menos las mismas propiedades (17).

Sin embargo si hacemos un recuento de los antibióticos activos que en la actualidad se emplean, podemos decir que de esa paciente labor de investigación de los hombres de laboratorio, nos ha quedado por lo menos un antibiótico eficaz por año como se puede observar en la siguiente lista:

1) Penicilina	1929-1943	11) Eritromicina	1952
2) Tirotricina	1939	12) Tetraciclina	1953
3) Estreptomina	1943	13) Micostatín	1953
4) Bacitracina	1945	14) Spiramicina	1954
5) Cloramfenicol	1947	15) Cicloserina	1955
6) Polimixina	1947	16) Novobiocina	1956
7) Dihidroestreptomina	1948	17) Anfotericina B.	1957
8) Clortetraciclina	1949	18) Ristocetina A. B.	1957
9) Neomicina	1949	19) Oleandomicina	1957
10) Oxitetraciclina	1950	20) Colimicina	1957

Con estos veinte antibióticos de que disponemos y que fácilmente utilizamos, podemos decir que son numerosas las enfermedades infecciosas que están parcial o totalmente controladas (19), (33); sin pretender hacer una lista minuciosa de ellas, creemos conveniente recordar que con la Penicilina se pueden tratar las enfermedades producidas por gérmenes piógenos grampositivos y negativos, como: Estafilococias, Estreptococias, Gonococias, infecciones producidas por neumococos, Meningitis meningocócica; la Difteria, la enfermedad de Carrión y las enfermedades causadas por Treponemas: Sífilis, Pian, Pinta.

Con la Estreptomina se pudo controlar algunas enfermedades ocasionadas por gérmenes gramnegativos, pero el principal campo de aplicación es el tratamiento de la Tuberculosis (32), (33), (45), (52), (73), (78).

El descubrimiento y síntesis del Cloramfenicol como droga de amplio espectro, ha permitido combatir las infecciones urinarias e intestinales, las infecciones quirúrgicas, la Brucelosis, la Peste, la Angina de Vincent, la enfermedad de Carrión y sus complicaciones Salmonelósicas

(12), (19); se le emplea igualmente para combatir a los gérmenes resistentes a la Penicilina o Estreptomicina.

Las Ciclinas y los otros antibióticos que le siguen, han incrementado el arsenal terapéutico y sirven para combatir ciertas enfermedades originadas por virus como: el Tracoma, la Psitacosis, Linfogranuloma venéreo, Pnevmonía atípica primaria, las Rickettsiosis, algunas Micosis (81) y la Trichomoniasis (78). No podemos dejar de mencionar también la gran ayuda que los antibióticos prestan en Oftalmología, Pediatría (78), Cirugía Oral y Odontología, para el tratamiento de cavidades y conductos radiculares (11), (28), (72), (78).

La eficacia de los antibióticos para combatir las infecciones, encontró muy pronto amplio campo de aplicación en Veterinaria, como terapéutico y profiláctico (15), (33), (53), (54), (80). En el campo industrial su empleo es cada vez más frecuente, se les utiliza para la preservación de las aves, carnes, pescados, (13), (56), vegetales, frutas, etc. (80), cosa que ha obligado también a que se establezca dentro del Food and Drug Administration de Washington, regulaciones para su empleo y se controle el residuo de antibióticos en los alimentos, ya que un exceso puede ser perjudicial para la salud de los consumidores; mientras que por otro lado es útil y beneficioso para los industriales y productores.

El auge alcanzado por estos maravillosos productos en un período de tiempo relativamente corto, durante el cual han brindado y siguen brindando tantos beneficios a la humanidad, tiene como todas las cosas en la vida, cuando se trata de hacer un balance, su pro y su contra. Hemos considerado hasta aquí, el lado útil y benéfico; trataremos ahora de esbozar el lado desfavorable, ya que no podemos prejuizar hasta dónde puede llegar, nos limitaremos a señalar lo observado hasta el presente y que está ampliamente descrito en la literatura científica contemporánea (62), (64).

La primera constatación desfavorable del empleo de los antibióticos fue en clínica. Cuando las enfermedades producidas por gérmenes sensibles empezaron a no ceder al tratamiento pese al aumento de dosis terapéutica, se ponía sencillamente de manifiesto la resistencia bacteriana, fácilmente comprobada *in vitro* (4), (6), (7), (21), (42) y que cada vez fue siendo mayor en relación con la difusión y empleo de los antibióticos, (45), (46), (47).

Han transcurrido solamente 17 años del uso de los antibióticos en terapéutica, sin embargo el tema de actualidad en la literatura científica es la tremenda resistencia bacteriana que muestran preferentemente los

estafilococos, proteus y pseudomonas, llegando los primeros a causar verdaderas epidemias dentro de los hospitales, con la alarma consiguiente, por ser microorganismos que muestran carácter epidémico y alto grado de resistencia a múltiples antibióticos. La alarma es tal en los Hospitales de Estados Unidos de Norte América, que entre otras cosas recomiendan, especialmente en las intervenciones quirúrgicas, volver a las técnicas estrictamente asépticas de la "Era Preantibiótica" con el objeto de poder prevenir y erradicar las infecciones estafilocócicas (3), (4), (6), (7), (16), (29), (34), (38), (49), (63), (82), (85), (86), (87).

Otra de las manifestaciones observadas especialmente con la Penicilina, ha sido las reacciones de hipersensibilidad (39), llegando en muchos casos hasta el grado de anafilaxia aguda con la Penicilina Procaína y de las cuales muchas han tenido fatales consecuencias, WELCH cita 55 casos de anafilaxia aguda con 18 muertes, (40), (78); entre nosotros también se han registrado casos fatales de anafilaxia, pero no tengo conocimiento de las cifras.

Otro problema que todavía no está completamente observado, ni se conoce con exactitud el daño que puede ocasionar, es el empleo de los antibióticos como elementos profilácticos para preservar alimentos, tales como: carnes, pescados, aves, vegetales, frutas, etc., o para incluirlos como suplemento en la alimentación de animales; en ambos casos como está demostrado, ocasionan la persistencia de determinadas cantidades de residuo antibiótico en los alimentos, que pueden originar en la especie humana diferentes grados de sensibilidad, alergia o hipersensibilidad, que como es lógico suponer complican grandemente la tarea de la profesión médica (13), (15), (56), (80).

El empleo en Veterinaria, especialmente aquel que se hace para el tratamiento de la mastitis del ganado lechero, causa un rápido pasaje de los antibióticos a la leche y su persistencia en concentraciones apreciables durante días y aún semanas después del tratamiento, sin ser destruidos por el proceso de pasteurización. En Norte América, donde la producción de leche es tan abundante y está tan bien controlada, se prohíbe el consumo de la leche proveniente de vacas tratadas por mastitis, hasta cuando el antibiótico haya sido completamente eliminado (53), (77), (79), (80).

El tratamiento prolongado con antibióticos constituye también una desventaja, por la aparición de *Cándida Albicans*, *Proteus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Paracolon*, en procesos donde anteriormente no existían, ocasionando afecciones crónicas por su elevado grado de resistencia a múltiples antibióticos, (33), (46), (47), (83), (84).

Para terminar esta apreciación diremos también que la literatura médica menciona casos de discracias sanguíneas, debidas a la administración de antibióticos, o en relación con ellos (61), (62), (76).

Hasta el presente, lo expuesto es lo que más o menos conocemos acerca de los antibióticos; esperamos que podrán ser descubiertas nuevas drogas para combatir a los gérmenes resistentes, para atacar a las infecciones producidas por los virus, para controlar las neoplasias con sustancias antitumorales o carcinolíticas ya mencionadas (17), (66); o tal vez si es que no se logran estos avances tan promisorios, o en espera de ellos, tengamos que volver al pasado y encaminar nuestros pasos nuevamente hacia la inmunoterapia específica, relegada un tanto durante estos últimos 20 años.

Ya estamos viendo en la actualidad, que se está empleando la combinación de antibióticos, enzimas y productos biológicos, para poder luchar contra las bacterias y simultáneamente estimular las defensas orgánicas y humores del organismo. Razón tiene MARTÍ IBÁÑEZ, cuando dice, al terminar su apreciación en el artículo "La próxima Media Centuria de los Antibióticos en Medicina" (42): "No olvidemos el simbólico ejemplo de FLEMING, para quien los antibióticos fueron solamente un intervalo científico entre el estudio de la Infección y la Inmunidad".

II. SELECCION DE CEPAS ANTIBIOTICO-SENSIBLES Y DETERMINACION DE CURVAS ESTANDARD

1) SELECCIÓN DE CEPAS ANTIBIÓTICO-SENSIBLES.

La urgente necesidad de la División de Control Técnico del I. N. S. P., de comprobar la exactitud, actividad y potencia de los antibióticos enviados por la Dirección de Farmacia para su análisis, nos obligó a seleccionar cepas bacterianas sensibles para cada tipo de antibiótico.

Las cepas bacterianas utilizadas en este trabajo, han sido todas ellas aisladas en nuestro medio de variados cuadros clínicos, productos patológicos, secreciones y excreciones, e identificadas por los métodos usuales de laboratorio. Después de aislado el germen en cultivo puro, investigamos su grado de sensibilidad frente a catorce antibióticos y seis quimioterápicos, siguiendo el método de los discos medicados (9), (20), (30), (31) y en otra oportunidad descrito por nosotros (46); en la actualidad para cada germen utilizamos tres placas de cultivo como se puede ver en la fotografía que adjuntamos (Lám. I), correspondiente a la cepa 19 (*Estafilococcus albus* coagulasa negativo), cuyo protocolo consta en el cuadro de la página siguiente.

Conocida la sensibilidad de una bacteria a determinado antibiótico, la comprobamos repetidas veces después de subcultivos frente a tres concentraciones diferentes, para ver si el grado de sensibilidad determinado por el diámetro de inhibición en milímetros, es constante en iguales condiciones de temperatura y medio de cultivo.

Las cepas de respuesta invariable, fueron seleccionadas para ser posteriormente estandarizadas con antibióticos enviados gentilmente por el FDA de Washington. De esta manera logramos aislar veintisiete cepas, sensibles a unos y resistentes a otros, con las cuales podemos determinar cuantitativamente la potencia, no solamente de los antibióticos aislados o extraídos previamente, sino también de aquellas formas combinadas, utilizando un germen que es sensible a uno y resistente al otro. Conformado así nuestro cepario con bacterias de sensibilidad conocida, estamos en condiciones de poder determinar la potencia antibiótica de cualquier producto que llegue para su control.

Protocolo de la prueba de sensibilidad de la cepa N° 19

Nº	Antibiótico	Concentración	Lectura
1	Aureomicina	10 ug.	R
2	Basitracina	10 U.	+++
3	Cloromicetina	10 ug.	+++
4	Estreptomicina	10 ug.	R
5	Penicilina	5 U.	+
6	Polimixina	10 ug.	R
7	Iloticina	5 ug.	+++
8	Novobiocina	10 ug.	++++
9	Terramicina	10 ug.	R
10	Tetracina	10 ug.	+
11	Neomicina	10 ug.	R
12	Sigmamicina	10 ug.	++
13	Matromicina	10 ug.	++
14	Gantrisin	150 ug.	R
15	Furadántin	150 ug.	++
16	Furacin	150 ug.	++
17	Thiosulfil	150 ug.	R
18	Sulfadiazina	150 ug.	R
19	Sulfamerazina	150 ug.	R
20	Sulfatiazol	150 ug.	R
21	Triple Sulfa	150 ug.	R

R: Resistente.

+, ++, +++, ++++: Grado de sensibilidad.



EXPLICACION DE LAS FIGURAS

Lámina 1

Fig. 1-3.—Grado de sensibilidad o resistencia de la cepa I.N.S.P. Nº 19 frente a 13 antibióticos y 8 quimioterápicos.

2) DETERMINACIÓN DE CURVAS ESTANDARD.

Antes de determinar la curva standard de nuestras cepas bacterianas, hicimos un estudio comparativo de los métodos actualmente más difundidos para esta clase de trabajos, como son: el de los cilindros en placas de cultivo, el de diluciones en tubos de prueba y el de los discos de papel (5), (8), (9), (35), (57), (36).

Adoptamos el método de los discos, al cual llamamos placa-disco-cultivo, (48). En realidad para nosotros este método ha sido el más conveniente, nos brinda menos factores de error, nos proporciona lecturas más precisas en un menor número de placas, es más fácil y económico. Con este método procedimos a determinar la curva standard de sensibilidad de todas nuestras cepas, con las cuales en la actualidad nos es fácil hacer determinaciones cuantitativas y porcentuales interpolando resultados obtenidos con las muestras problema, como describimos más adelante.

Materiales y métodos.

Materiales. Placas Petri de 100 x 20 mm. con 12 ml. de agar triptosa, discos de papel de filtro de 1 mm. de espesor y 6 mm. de diámetro, esterilizados y capaces de absorber 0.01 ml., soluciones buffer estériles, con el pH indicado para cada caso, frascos estériles apropiados para hacer las diluciones, una pinza de extremo afilado, pipetas estériles, cepas bacterianas de sensibilidad conocida recientemente transplantadas y emulsionadas en suero fisiológico a una concentración de 600 millones por ml.

Método. El de la placa-disco-cultivo, con placas controladas a 37 grados centígrados por 24 horas, recientemente inoculadas, y diluciones antibióticas en progresión aritmética o geométrica según los casos.

Procedimiento.

Establecidas las concentraciones deseadas, ya sea en microgramos o en unidades por ml. según el tipo de antibiótico de que se trate, se procede a hacer las diluciones, manteniendo en todo momento la esterilidad. Luego se inoculan las placas de cultivo con la suspensión bacteriana elegida, cultivo de 24 horas, cubriendo toda la superficie y retirando el exceso del inóculo; inmediatamente se procede a colocar los discos imbibidos en las distintas concentraciones del antibiótico, sobre la

superficie de las placas inoculadas a un radio de 28 cm. y un ángulo de separación de 60 grados, luego las placas son incubadas a 37 grados centígrados por 24 horas, después de lo cual se hacen las lecturas de las zonas de inhibición expresando el diámetro en milímetros, para lo cual se puede usar una regla transparente, o una lámpara proyectora con un vidrio graduado en milímetros que en la pantalla permite observar a 10 aumentos.

Con el objeto de brindar una mayor fuente informativa del problema que aparentemente se muestra complicado, vamos a dar un ejemplo del procedimiento y una demostración gráfica de la curva standard, para lo cual utilizamos Sulfato de Dihidroestreptomicina del F. D. A. y la cepa bacteriana INSP N° 10 correspondiente a un micrococcus piógenus variedad albus, coagulasa negativa y sensible a esta droga.

Se pesa cuidadosamente una alicuota del antibiótico Sulfato de Dihidroestreptomicina en un pequeño frasco estéril y se hacen las diluciones con fosfato buffer de pH. 8.0 hasta llegar a obtener concentraciones de: 0.5, 1, 2, 3, 4, 8, 16, 32 microgramos por ml.

Utilizamos dos placas para cada concentración o sea un total de 12 placas para cada curva, la dilución de 4 mcg. la consideramos como punto de referencia y va incluida en las 12 placas proporcionándonos 36 lecturas de la siguiente manera: En cada una de las placas inoculadas con el germen elegido se colocan tres discos impregnados con la dilución correspondiente a 4 mcg. (punto central), intercalados con tres discos de cada una de las otras concentraciones mencionadas, de tal manera que tendremos 36 lecturas para el punto de referencia (4 mcg.) y seis lecturas para cada una de las otras concentraciones (Láminas II y III).

Después de 20 horas de incubación a 37 grados centígrados, se retiran las placas de la estufa y se hacen las lecturas midiendo cuidadosamente el diámetro de las zonas de inhibición.

Se determina primero el promedio de las 36 lecturas del punto de referencia (4 mcg.) y luego el promedio de las 6 lecturas correspondientes a cada concentración.

Para poder establecer el punto corregido pertinente a cada una de las concentraciones, es necesario establecer primero el factor de corrección para cada concentración o sea para cada grupo de dos placas, de la siguiente manera: Determinado el valor promedio de las 36 lecturas de 4 mcg. (punto de referencia) que en nuestro ejemplo fué 19.5 mm., procedemos a medir en cada grupo de dos placas, el diámetro de inhibición de 4 mcg. y sacamos el promedio de estas seis lecturas, lo cual

se llama promedio parcial, si tomamos como ejemplo las dos placas de la concentración de 32 mcg., el promedio parcial en ellas de 4 mcg. es de 19 mm., este promedio parcial sirve para establecer la relación con el promedio total de las 36 lecturas o sea con 19.5 mm. y obtener el factor de corrección que puede resultar con signo positivo o negativo en el ejemplo tenemos (Lámina III 6a y 6b).

Valor promedio de las 36 lecturas de 4 mcg.	19.5 mm.
Promedio parcial de las 6 lecturas de 4 mcg. en las 2 placas de la concentración de 32 mcg.	19.0 mm.

Factor de corrección	+0.5
----------------------------	------

En este caso siendo el promedio total mayor que el promedio parcial se resta de aquel y la diferencia es el factor de corrección con signo positivo, o sea +0.5, para las placas de la concentración de 32 microgramos.

Cuando el valor promedio parcial de las lecturas de las dos placas resulta mayor que el valor promedio total de 4 mcg., se resta de aquel, la diferencia es el factor de corrección, pero en este caso con signo negativo; así por ejemplo en las placas de la concentración de 2 mcg. (Lámina II, 3a y 3b).

Valor promedio de las 36 lecturas de 4 mcg. ...	19.5 mm.
Promedio parcial de las 6 lecturas de 4 mcg. en las 2 placas de la concentración de 2 mcg.	20.1 mm.

Factor de corrección	-0.6
----------------------------	------

Obtenido el factor de corrección como lo hemos indicado, para cada una de las concentraciones, se suma o resta según el caso el valor promedio del diámetro de la zona de inhibición de cada concentración, resultando de esto una cifra que constituye el punto corregido de la misma; así por ejemplo para las placas correspondientes a 32 mcg. que hemos mencionado se tiene:

Lectura promedio de 32 mcg.	25.5 mm.
Factor de corrección	+0.5
Punto corregido	26.0 mm.

Para las placas de la concentración de 2 mcg. que también hemos puesto como ejemplo tendremos:

Lectura promedio de 2 mcg.	18.0 mm.
Factor de corrección	-0.6
Punto corregido	17.4 mm.

Estos puntos corregidos de cada una de las concentraciones, incluyendo el promedio del punto de corrección de 4 mcg., es anotado en un papel semilogarítmico de doble ciclo, en el cual colocamos la concentración en microgramos como ordenadas y el diámetro de la zona de inhibición en milímetros como abscisa, unidos estos puntos obtenemos la curva standard de Sulfato de Dihidroestreptomicina con la cepa INSP N° 10 como se puede apreciar en la lámina IV. fig. 7. En igual forma se puede determinar otras curvas standard con otras cepas sensibles a Dihidroestreptomicina.

Para obtener las curvas standard de los demás antibióticos que mencionamos, frente a sus correspondientes cepas sensibles, procedimos con el mismo fundamento, variando únicamente las concentraciones y los solventes apropiados para cada tipo de antibiótico (30), (48), (74). En la Lámina V mostramos algunas otras curvas correspondientes a diferentes antibióticos.

Establecida la curva standard de sensibilidad de una cepa bacteriana, frente a determinado antibiótico, es fácil con ella determinar la potencia de cualquier otro producto similar y obtener valores porcentuales, corriendo pruebas paralelas e interpolando resultados, como lo vamos a demostrar en el capítulo siguiente.

EXPLICACION DE LAS FIGURAS

Láminas II y III

Figs. 1A a 6B.—Desarrollo de la curva standard de Sulfato de Dihidroestreptomicina (F.D.A.) frente a la cepa INSP N° 10 correspondiente a un estafilococo coagulasa negativa.





EXPLICACION DE LAS FIGURAS

Lámina IV

Figs. 7-8.—Curva standard de sulfato de Dihidroestreptomicina (fig. 7) comparada con la correspondiente a la del Sulfato de Dihidroestreptomicina "Hoechst" (fig. 8).

Figs. 9-10.—Curvas standard de Cloramfenicol (fig. 9) y Tetraciclina (fig. 10) obtenida con diferentes cepas bacterianas.

Fig 7
CURVA STANDARD DE
SULFATO DE DIHIDROESTREPTOMICINA
(E. D. A.)

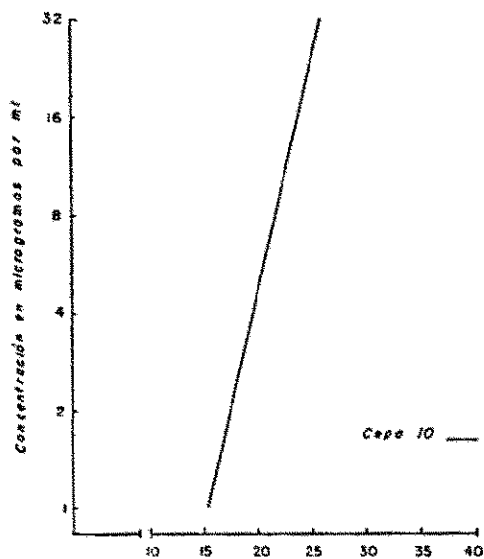
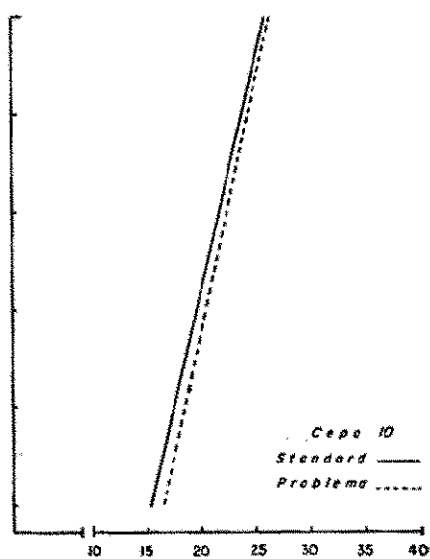


Fig 8
DETERMINACION DE POTENCIA ANTIBIOTICA DE
SULFATO DE DIHIDROESTREPTOMICINA
"HOECHST" (Fco. X 3 gra.)



CURVAS STANDARD

Fig 9
CLORTETRACICLINA (E. D. A.)

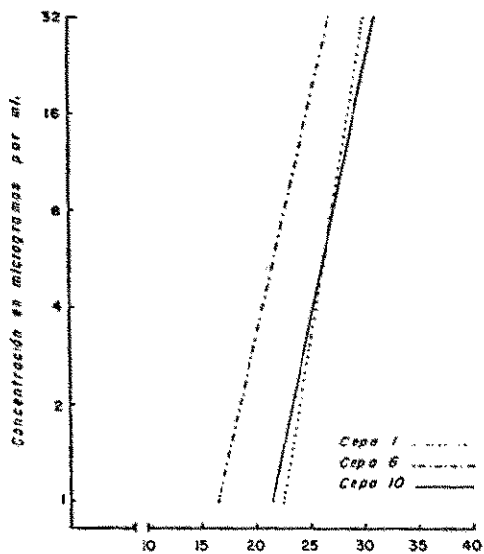
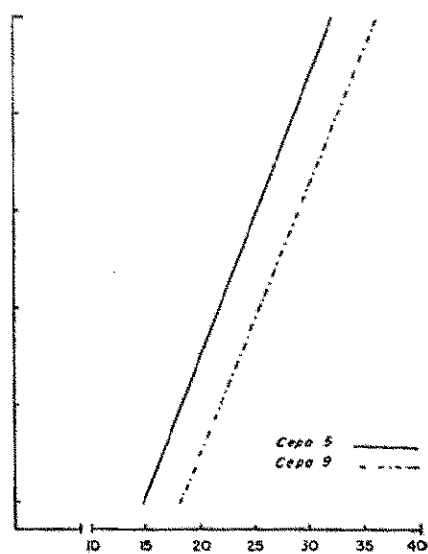


Fig 10
OXITETRACICLINA (PFIZER)



Dímetro en milímetros

EXPLICACION DE LAS FIGURAS

Lámina V

Curvas standard de Penicilina F.D.A., Oleandomicina Pfizer, Novobiocina Merck y Colimicina Smit, obtenidas con diferentes cepas bacterianas.

CURVAS STANDARD

Fig. 11
PENICILINA (F.D.A.)

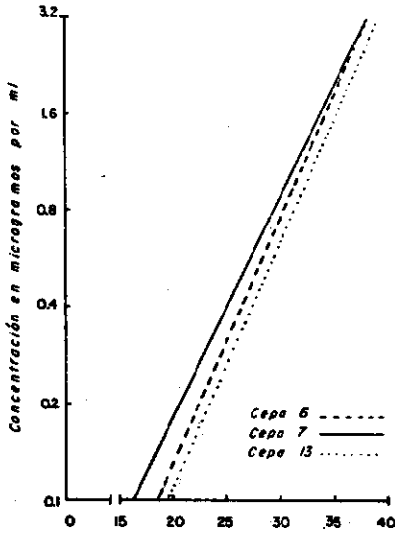
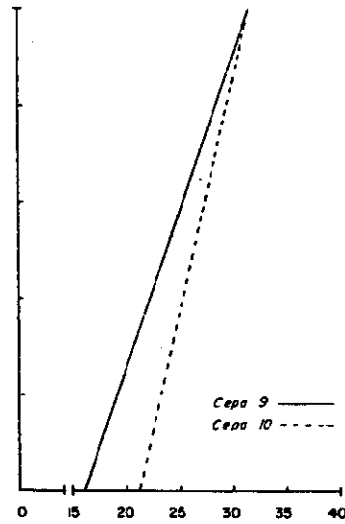


Fig. 12
NOVOBIOCINA (MERCK)



CURVAS STANDARD

Fig. 13
OLEANDOMICINA (PFIZER)

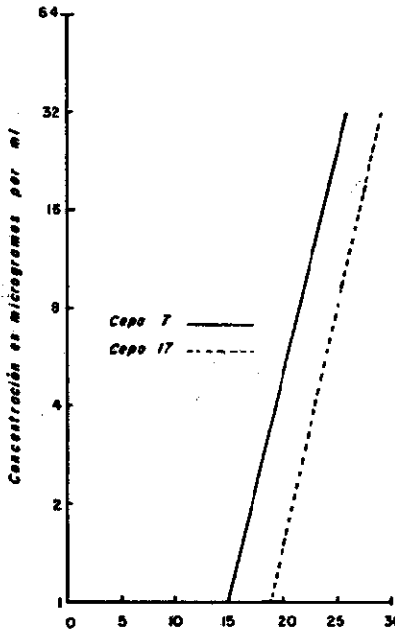
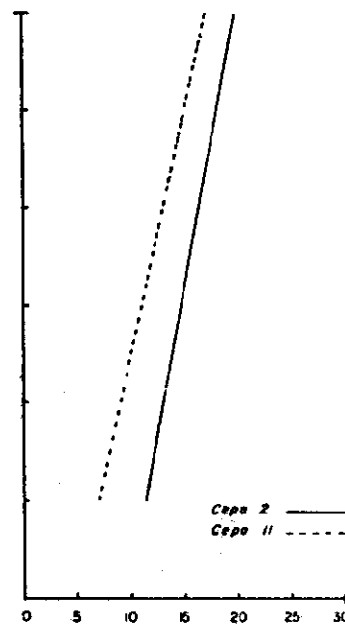


Fig. 14
COLIMICINA (SMIT)



Diámetro en milímetros

III. DETERMINACION CUANTITATIVA DE LA POTENCIA ANTIBIOTICA DE LOS PRODUCTOS QUE LLEGAN A CONTROL

1) DETERMINACIÓN DE LA POTENCIA ANTIBIÓTICA.

Para la determinación de potencia y certificación de la dosis de antibiótico contenida en un determinado producto, hay que tener en cuenta primero, la forma de presentación farmacéutica: Si se trata de sal pura como en el caso de los inyectables, se procede haciendo las diluciones directamente en el frasco que contiene la sustancia, utilizando un volumen cuidadosamente medido del solvente apropiado para cada antibiótico (30). (74). luego se siguen haciendo las demás diluciones con la solución buffer indicada en cada caso, hasta llegar a obtener las concentraciones deseadas, para realizar la prueba microbiológica por el método de la placa-disco-cultivo anteriormente mencionado.

Si el producto inyectable se presenta en una combinación de dos antibióticos, como por ejemplo Penicilina más Estreptomicina, en este caso se procede igualmente a hacer las diluciones directamente en el frasco que contiene las sustancias, usando el solvente apropiado para cada una de ellas y trabajándolas independientemente con una cepa bacteriana sensible a Penicilina y resistente a Estreptomicina y viceversa; para dosar la Penicilina se usa solución buffer de pH 6.0 y para la Estreptomicina solución buffer de pH 8.0. Para las diluciones posteriores se calcula independientemente ambas sustancias y se establece la concentración final, comparativamente con el standard. No hay interferencia de drogas puesto que usamos cepas bacterianas de sensibilidad y resistencia comprobadas.

Cuando los productos farmacéuticos contienen los antibióticos bajo la forma de tabletas, comprimidos, trociscos, cápsulas, etc., se toma un determinado número de unidades teniendo en cuenta su concentración (el error en el resultado final será menor cuando se tome mayor cantidad); se pesa el total de unidades tomadas, se trituran cuidadosamente en un mortero estéril; del polvo obtenido se toma una porción equivalente a la cantidad que se cree conveniente para hacer la solución stock. Se disuelve este polvo en el solvente indicado para el caso y se lleva la solución al volumen deseado. A continuación se hacen las diluciones con solución buffer hasta alcanzar las concentraciones con que se quiere trabajar.

Si los antibióticos se presentan bajo la forma de ungüentos, pomadas, supositorios, etc., en los cuales el vehículo sea graso, no miscible

en agua, necesariamente se tiene que hacer la extracción con un solvente apropiado exclusivamente para el vehículo utilizando para el caso los embudos de decantación. Se toma cuidadosamente una alícuota de la sustancia problema y se coloca dentro del embudo de separación, luego se agrega el solvente en proporción suficiente y se agita, cuando la sustancia está totalmente disuelta se agrega el solvente adecuado para el antibiótico distribuido en tres porciones, con el objeto de hacer tres lavados y poder obtener una recuperación total, se reúnen estos líquidos, se completa a volumen conocido y a partir de esta solución se hacen las diluciones posteriores.

Cuando los preparados farmacéuticos se presentan bajo la forma de jarabes, en los cuales se utilizan los ésteres del cloramfenicol como: el Palmitato, Estearato, Sinamato, etc., el problema resulta un poco más complicado puesto que tenemos que hacer primero la extracción del antibiótico; obtenida la sal pura, se procede a hacer la digestión enzimática con el objeto de liberar cloramfenicol levógiro (27), (50), (65), y como se ha descrito en un trabajo anterior (69). Con el producto extraído y digerido se hacen las diluciones apropiadas para el ensayo microbiológico.

En general para las diluciones y extracciones, hemos seguido las regulaciones y métodos que establece el Food and Drug Administration (30), (74) y los indicados en la USP Ed. XV 1955 (68). Hemos omitido la relación minuciosa de los procedimientos seguidos en cada caso para evitar la extensión de este trabajo, y porque están ampliamente descritos en la bibliografía que indicamos.

Con el objeto de establecer una relación entre la curva standard de Sulfato de Dihidroestreptomycinina anteriormente descrita y la determinación de potencia que vamos a mencionar, creemos conveniente tomar para el ejemplo demostrativo un producto que contenga este antibiótico; de tal manera que podamos hacer simultáneamente el cálculo del porcentaje de actividad. Tomamos por ejemplo Sulfato de Dihidroestreptomycinina de "Hoechst" que contiene 5 gramos por frasco; para comprobar la potencia y exactitud de la dosis indicada de este producto, se procede como lo hemos descrito antes para el caso de inyectables, se diluye íntegramente el contenido del frasco en fosfato buffer de pH 8.0, hasta llegar a obtener una concentración de 10,000 microgramos por ml., a partir de la cual por diluciones sucesivas se obtienen las concentraciones de 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 microgramos por ml.; teniendo en cuenta que el método que vamos a seguir, es exactamente como el descrito para la curva standard.

La lámina VI que adjuntamos, corresponde a la prueba realizada con la Dihidroestreptomicina de Hoechst fco. por 5 gr., se puede apreciar en ella que la actividad antibiótica puesta de manifiesto por el diámetro de la zona de inhibición es ligeramente mayor.

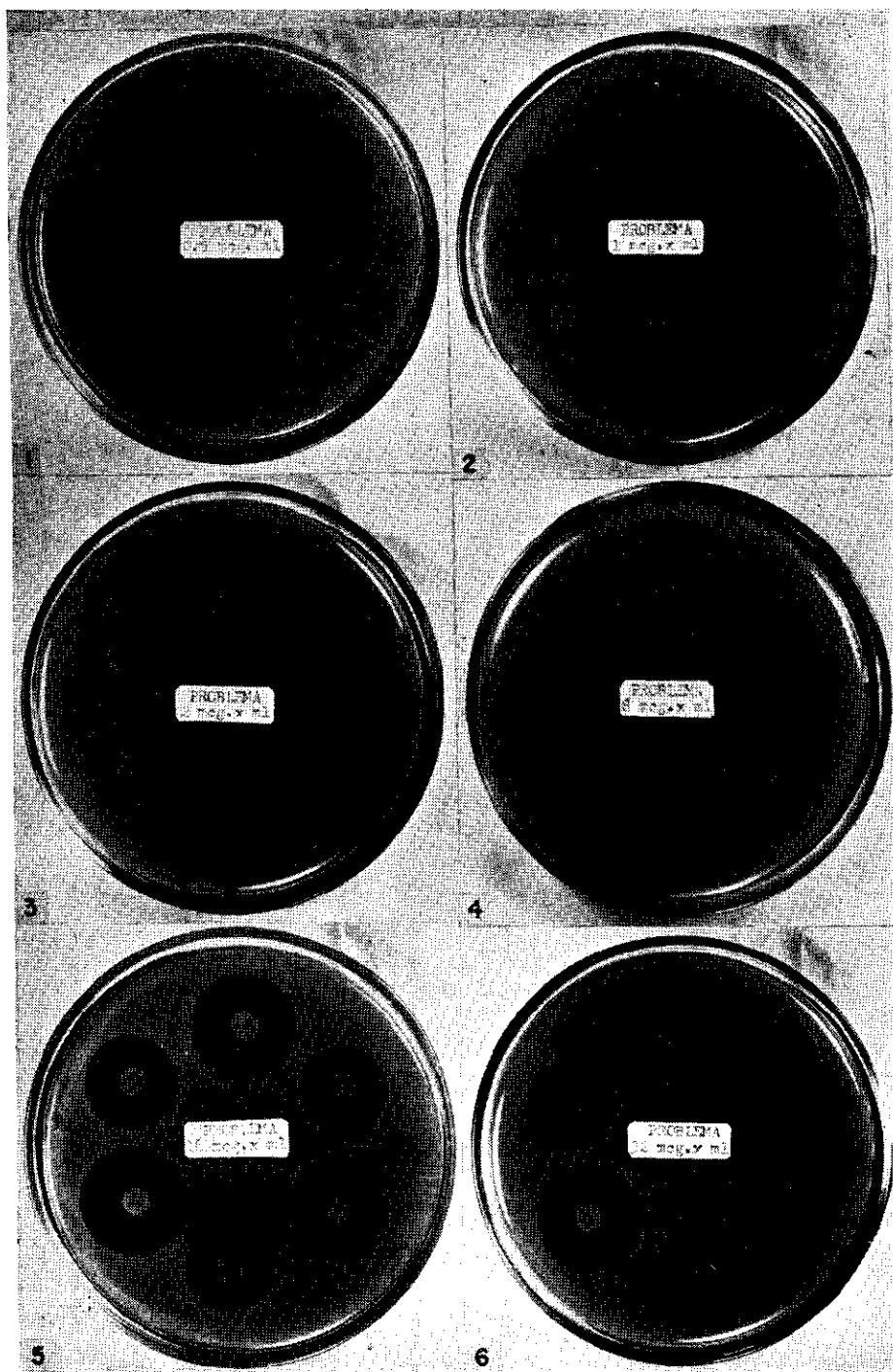
Utilizamos para la prueba el mismo número de placas, con igual medio de cultivo, inoculados con la misma emulsión de la cepa INSP N° 10, la única variante fue la de los discos inhibidos con las concentraciones problema, se incubaron igualmente a 37 grados centígrados por 20 horas.

Retiradas las placas de la estufa, se obtiene las lecturas promedio de las zonas de inhibición del standard y del problema, se procede al trazado de las curvas obtenidas, en papel semilogarítmico de doble ciclo; cuando el producto problema tiene mayor dosis que la declarada, el trazado estará siempre a la derecha de la curva standard, sino tiene esta cantidad estará a la izquierda. (Lámina IV, fig. 8).

EXPLICACION DE LAS FIGURAS

Lámina VI

Figs. 1-6. — Desarrollo de la curva de actividad de la Dihidroestreptomicina de Hoechst frente a la cepa INSP № 10.



2) CÁLCULO DE POTENCIA Y ESTIMACIÓN DEL PORCENTAJE.

El cálculo de potencia y estimación del porcentaje de actividad, se obtiene comparando los resultados obtenidos con el problema y el standard, ya sea interpolando los dos puntos centrales o todos los puntos de la curva.

En nuestro ejemplo uno de los puntos centrales corresponde a 4 mcg., tomemos esta concentración para los cálculos, en la curva standard esta concentración muestra su grado de actividad con un diámetro de 19.5 mm. promedio y el problema a la misma concentración, muestra una actividad ligeramente mayor con un diámetro de 20.2 mm.

El cálculo de potencia se establece, considerando a 19.5 mm. del standard como 100% de actividad, ahora bien si consideramos a 19.5 como 100%, 20.2 mm. a cuánto corresponderá.

$$X = \frac{20.0 \times 100}{19.5} = 103.5$$

Con el objeto de obtener mayor precisión, se puede hacer la interpolación de todos los demás puntos de la curva problema con la del standard y sacar un porcentaje promedio de la semisuma de los siete puntos, en nuestro ejemplo tenemos que el porcentaje promedio de actividad de la Dihidroestreptomicina Hoechst de 5 gramos fué de 103.9 por ciento.

Las regulaciones del Food and Drug Administration, División de Antibióticos (10) y la U.S.P. XV Edición 1955 (68), establecen que los requerimientos mínimos de potencia para productos que contengan Dihidroestreptomicina en la cantidad indicada, debe ser no menos de 85% de actividad. En consecuencia el producto recientemente controlado que mencionamos al tener 103.9% de actividad no sólo reúne las condiciones requeridas sino que contiene un exceso sobre la cantidad que declara.

Siguiendo este mismo método, con las variantes indicadas para cada caso, hemos hecho la determinación cualitativa y cuantitativa calculando el porcentaje de actividad de 20 antibióticos, presentados en más de 200 distintos preparados farmacéuticos y por 65 diferentes casas comerciales.

Necesariamente en un trabajo como este, hemos tenido que mencionar el nombre del producto y el laboratorio que lo produce o distribuye, con el objeto de establecer la identidad y de conocer la variedad

de productos farmacéuticos similares, que con antibióticos aislados o combinados se expenden en el Perú.

IV. RESULTADOS OBTENIDOS

Los resultados tabulados en doce cuadros y que mostramos en las páginas siguientes, son en la mayoría de los casos, valores promedio de dos o más determinaciones efectuadas con distintas muestras del mismo producto.

Para la presentación de los cuadros hemos tenido en cuenta en primer lugar la antigüedad del antibiótico, luego la similitud de todos los preparados farmacéuticos que contienen dicha sustancia, los cuales hemos ordenado de acuerdo a la concentración de droga declarada en unos casos y en otros a la forma farmacéutica de presentación, de tal manera que puedan ser lo más demostrativos.

Así por ejemplo, el primer cuadro se refiere a todos los productos que contienen Penicilina inyectable, en él hemos reunido 49 preparados farmacéuticos diferentes, ordenados de acuerdo a la concentración declarada y que fluctúa como se puede apreciar desde 150.000 hasta 3'000,000 de unidades por frasco.

El segundo cuadro corresponde igualmente a Penicilina, pero en especialidades para uso oral y tópico, en este caso los 28 productos que mencionados han sido agrupados de acuerdo a la forma farmacéutica de presentación.

En el tercer cuadro hemos incluido 19 productos con los antibióticos Estrepto y Dihidroestreptomicina, agrupados también de acuerdo a la forma farmacéutica de presentación.

El cuadro N° 4, muestra el resultado de los análisis efectuados en 22 preparados inyectables con las combinaciones de los antibióticos Penicilina y Estreptomicina, agrupados de acuerdo a la concentración declarada e independientemente trabajados y calculados.

Todos los productos que contienen Cloramfenicol levógiro han sido reunidos en el cuadro N° 6, están agrupados de acuerdo a la forma farmacéutica de presentación y ascienden a 49 diferentes productos.

En el quinto cuadro presentamos 17 diversos preparados farmacéuticos que contienen ésteres de Cloramfenicol, biológicamente inactivos, sin embargo, han sido titulados igualmente por el método microbiológico de la placa-disco-cultivo, después de haberse hecho la extracción y digestión enzimática con Pantozime para liberar el Cloramfenicol levógiro, este procedimiento no está descrito en las regulaciones del FDA

de Washington ni en la Farmacopea Norteamericana; está descrito solamente el procedimiento espectrofotométrico para el Palmitato, en las regulaciones del FDA (10).

Nuestros resultados han sido controlados con los procedimientos físico-químicos, como lo describimos en trabajo anterior (69), con los cuales guardan un paralelismo muy estrecho. La recuperación del Cloramfenicol activo microbiológicamente por el procedimiento de la digestión enzimática (27), (50), (65) ha sido de un porcentaje variado para cada caso, pero en todos se alcanzó por lo menos el mínimo de actividad requerida para su aceptación. Las cifras porcentuales de actividad que indicamos en el cuadro están en relación con la dosis de Cloramfenicol activo que declaran los preparados farmacéuticos y la obtenida en los ensayos.

En el séptimo cuadro tenemos incluidos 45 diferentes productos que contienen Tetraciclina y están agrupados de acuerdo a la forma farmacéutica de presentación.

Los 10 productos examinados y que contienen el antibiótico Clortetraciclina han sido agrupados en el cuadro N° 8 de acuerdo también a su forma de presentación.

En el noveno cuadro presentamos los resultados de los exámenes efectuados en los productos que contienen Oxitetraciclina y como se verá son exclusivamente preparados por los Laboratorios Pfizer y presentados en 16 formas de uso clínico.

Los antibióticos Novobiocina y Oleandomicina han sido agrupados en el cuadro N° 10 de acuerdo también a su forma de presentación, llegando a doce los diferentes preparados examinados hasta la fecha.

El cuadro N° 11 muestra las formas farmacéuticas que contenían: Tirotricina, Micostatín, Espiromicina, Cicloserina, Amfotericina B, Ristocetina A y B y Colimicina, de los cuales tampoco se disponía de estándares; el análisis se efectuó de acuerdo con las concentraciones señaladas en las técnicas recibidas y frente a cepas que se mostraron sensibles a estos antibióticos.

En el cuadro N° 12 incluimos un grupo de antibióticos analizados cuyo porcentaje de actividad no ha podido ser determinado por no haberse dispuesto de los estándares correspondientes, sin embargo la determinación ha sido cuantitativa, comparativamente con discos antibióticos distribuidos por la Casa Difco o proporcionados por las casas productoras.

En todos estos productos se encontró conformidad en la cantidad declarada.

CUADRO N° 1

DETERMINACION CUANTITATIVA DE PENICILINA EN INYECTABLES

No.	Nombre del producto	Laboratorio	C a n t i d a d		Actividad %
			Declarada	Encontrada	
1	Alivin	Grossmann	150,000 U.	142,500 U.	95.7
2	Leofenamina	Grossmann	200,000 "	225,000 "	112.5
3	Penicilina	Bayer	200,000 "	206,000 "	103
4	Penicilina	Atral	200,000 "	230,000 "	115
5	Penicilina G	Hoechst	200,000 "	263,400 "	131.7
6	Penicilina G Sódica	N. V. Organon	200,000 "	216,000 "	108.2
7	Penicilina G Procaina	N. V. Organon	300,000 "	318,000 "	106
8	Despaciifina	Squibb	300,000 "	330,000 "	110
9	Viacilina	Wyeth	400,000 "	400,000 "	100
10	Pen Aqua	Bristol	400,000 "	402,000 "	105
11	Penicilina Produral	Merck	400,000 "	448,000 "	112
12	Seclophen	Glaxo	400,000 "	476,800 "	119.2
13	Leofenamina	Grossmann	400,000 "	442,000 "	110.5
14	Allerpen	Schering	400,000 "	418,000 "	104.5
15	Penicilina S. R.	Parke Davis	400,000 "	498,000 "	124.5
16	Bi-Pen	A. P. C.	400,000 "	513,000 "	128.2
17	Wolfilline	Wolfs	400,000 "	516,000 "	129
18	Bipenicilina	Farnitalia	400,000 "	478,800 "	119.7
19	Despaciilina Plus	Squibb	400,000 "	444,000 "	111
20	Pronapen	Pfizer	400,000 "	402,400 "	105.2
21	Rapidocilina	Bayer	400,000 "	460,000 "	115
22	Penicilina G Procaina	SPECIA	400,000 "	471,200 "	117.8
23	Bipenicilina	Farnitalia	500,000 "	595,000 "	119

24	Penicilina	Bayer	500,000 "	508,500 "	101.7
25	Penicilina	Atral	500,000 "	536,500 "	107.3
26	Penicilina G Combinada	N. V. Organon	500,000 "	545,000 "	109
27	Peniluin	Pharmacon	500,000 "	585,000 "	117
28	Penicilina G	Hoechst	500,000 "	644,500 "	129.9
29	Novocaina Penicilina	Hoechst	500,000 "	633,000 "	126.6
30	Estopen	Glaxo	500,000 "	669,000 "	133.9
31	Penicilina G	A. P. C.	500,000 "	625,000 "	125
32	Penicilina G Potásica	Squibb	500,000 "	561,000 "	112.2
33	Penicilina G Cristalina	Cont. Pharma	500,000 "	560,000 "	112
34	Penicilina	Bantes	500,000 "	521,500 "	104.3
35	Speciline G	SPECIA	500,000 "	523,000 "	104.6
36	Erbacilina A. P.	Erba	600,000 "	672,000 "	112
37	Penicilina Cronactiva	Lepetit	600,000 "	684,000 "	114
38	Pronapen Plus	Pfizer	600,000 "	660,000 "	110
39	Penicilina G	Hoechst	1'000,000 "	1'147,000 "	114.7
40	Penicilina G Potásica	Squibb	1'000,000 "	1'100,400 "	110.4
41	Bipenicilina	Farmitalia	1'000,000 "	1'116,200 "	116.2
42	Penicilina	Bantes	1'000,000 "	1'060,000 "	106
43	Dipenecaine	Cont. Pharma	1'200,000 "	1'342,800 "	111.9
44	Novocaina Penicilina	Hoechst	2'000,000 "	2'480,000 "	124
45	Penicilina Produral	Merck	2'000,000 "	2'210,000 "	110.5
46	Rapidocilina	Bayer	2'000,000 "	2'256,000 "	112.8
47	Lederilina en aceite	Lederle	3'000,000 "	3'415,000 "	115
48	Penicilina G Procaina	Squibb	3'000,000 "	3'274,000 "	109.1
49	Flo-Cillin	Bristol	3'000,000 "	3'390,000 "	113

CUADRO Nº 2

DETERMINACION CUANTITATIVA DE PENICILINA EN ESPECIALIDADES PARA USO ORAL Y TROPICO

No.	Nombre del producto	Forma Farmacéutica	Laboratorio	C a n t i d a d		Actividad %
				Declarada	Encontrada	
1	Marbacleas	Catitas	Bayer	5,000 U. x c/u.	5,450 U. x c/u.	109
2	V-Cil	Cápsulas	Eli Lilly	1,000 " " "	1,200 " " "	120
3	Fenospén	"	Farmitalia	100,000 " " "	121,000 " " "	121
4	Fenospén	"	Farmitalia	200,000 " " "	222,000 " " "	111
5	Pen S. F.	"	Pfizer	200,000 " " "	204,000 " " "	102
6	Penoral	Comprimidos	Lepetit	1,000 " " "	1,095 " " "	109.5
7	Fenospén	"	Farmitalia	100,000 " " "	139,000 " " "	139
8	Novol	Conos dentales	Novocol Chem	15,000 " " "	15,750 " " "	105
9	Stomim	Chicles	Penicillim	20,000 " " "	17,260 " " "	86.3
10	V-Cil	Gotas	Eli Lilly	21 gr. x 100 cc.	26 gr. x 100 cc.	125
11	Fenospén	Granulado	Farmitalia	1,200,000 U. x fco.	1,404,000 U. x fco.	117
12	V-Cil	Jarabe	Eli Lilly	2.5 gr. x 100 cc.	2.85 gr. x 100 cc.	114
13	Penisulfa	Polvos	Maldonado	10,000 U. x fco.	7,140 U. x fco.	71.4
14	Penisulfa (2da. mtra.)	"	Maldonado	10,000 " " "	10,670 " " "	106.7
15	Cil'oral	Suspensión	Bristol	60,000 " " cc.	67,800 " " cc.	113
16	Oracilina	"	Sanitas	200,000 " " 5 cc.	220,800 " " 5 cc.	110.4
17	V-Cil Sulfa	"	Eli Lilly	2.5 gr. x 100 cc.	2.6 gr. x 100 cc.	105
18	Resormol	Tabletas	Bayer	100,000 U. x c/u.	103,500 U. x c/u.	103.5
19	Civipen	"	Wyeth	100,000 " " "	90,300 " " "	90.3
20	V-Cil-K	"	Eli Lilly	125 mg. x c/u.	139 mg. " " "	111.3
21	Notaral	"	Wyeth	200,000 U. x c/u.	204,000 U. x c/u.	102
22	Oracilina	"	Sanitas	200,000 " " "	201,200 " " "	100.6
23	Penfonilin	"	Squibb	200,000 " " "	222,000 " " "	111
24	Lederclina	Trociscos	Lederle	5,000 " " "	5,460 " " "	109.2
25	Penicilina	Ungüento	Imperial Chem.	2,000 " " gr.	2,130 " " gr.	106.5
26	Sulfápen	"	Lakasa	1,000 " " "	999 " " "	99.9
27	Ungüento Penicilina	"	Imperial Chem.	100,000 " " 100	115,800 " " 100	115.8
28	Vitapenicilina	"	Cia. Int. Com.	2.5 gr. x 100 gr.	2.6 gr. x 100 gr.	100.5

CUADRO N° 3

DETERMINACION CUANTITATIVA DE ESTREPTO Y DIHIDROESTREPTO
MICINA EN ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS

No.	Nombre del producto	Forma farmacéutica	Laboratorio	Cantidad		Actividad %
				Declarada	Encontrada	
1	Estreptopanto	Injectable	Atral	2.12 gr. x fco.	2.21 gr. x fco.	104.5
2	Estreptomicina Sulf.	"	N. V. Organon	1.00 " " "	0.995 " " "	99.5
3	Sulf. de Dihidroestrep.	"	Glaxo	1.00 " " "	1.02 " " "	102
4	Dimycin	"	Glaxo	1.00 " " "	1.012 " " "	101.2
5	Dihidroestreptomycin	"	Research CMC	1.00 " " "	1.02 " " "	102
6	Dihidroestreptomycin	"	Novo	1.00 " " "	0.89 " " "	89
7	Estrepto + Dihidro	"	Hoechst	1.00 " " "	1.225 " " "	122.5
8	Sulf. de Dihidroestrep.	"	Hoechst	5.00 " " "	5.195 " " "	103.9
9	Estrepto y Dihidroestpt.	"	Lederle	1.00 " " "	1.005 " " "	100.5
10	Didroestreptine	"	S. P. E. C. I. A.	1.00 " " "	1.135 " " "	113.5
11	Didromycine	"	S. P. E. C. I. A.	1.00 " " "	1.089 " " "	108.9
12	Estrepto y Dihidro.	"	Lederle	5.00 " " "	4.99 " " "	99.8
13	Strycin	Jarabe	Squibb	5.00 " " 100 cc.	6.00 " " 100 cc.	120
14	Estreptosul	"	Hormona	1.25 " " "	1.18 " " "	94.7
15	Kecil	Suspensión	Bristol	0.3 " " fco.	0.354 " " fco.	118
16	Strycital	"	Squibb	3.00 " " "	2.99 " " "	99.8
17	Electroentrol	"	Cutter	1.05 " " 100 cc.	1.19 " " 100 cc.	114
18	Polimagna	"	Wyeth	1.00 " " "	1.11 " " "	111
19	Anebamagna	Tabletas	Wyeth	165 mg. x c/u.	179 mg. x c/u.	108.5

CUADRO Nº 4

DETERMINACION CUANTITATIVA DE LAS COMBINACIONES DE PENICILINA
Y ESTREPTOMICINA EN INYECTABLES

No.	Nombre del producto	Laboratorio	C a n t i d a d				Actividad %	
			Declarada		Encontrada		Penicilina	Estrepto
			Penicilina	Estrepto	Penicilina	Estrepto		
1	Leodina	Grossmann	100,000 U.	0.166 gr.	109,000 U.	0.163 gr.	109	98
2	Estreptobroncol	Atral	200,000 "	0.250 "	231,000 "	0.252 "	115.5	101
3	Pyobencil	Lauzier	300,000 "	0.250 "	301,500 "	0.247 "	100.5	99
4	Leodina	Grossmann	300,000 "	0.500 "	329,100 "	0.492 "	109.7	98.5
5	Streptocaine 1/2	Cont.Pharma	400,000 "	0.500 "	500,000 "	0.475 "	125	95
6	Duramycina	Eli Lilly	400,000 "	0.500 "	513,200 "	0.570 "	133	114.1
7	Penivacs Nº 1	Lauzier	400,000 "	0.500 "	434,000 "	0.520 "	108.5	104
8	Penivac's Nº 2	Lauzier	400,000 "	0.500 "	442,000 "	0.520 "	110.5	104
9	Penivac's Nº 3	Lauzier	400,000 "	0.500 "	432,000 "	0.532 "	108	106.5
10	Estreptopen	LUSA	400,000 "	0.500 "	432,000 "	0.492 "	103	98.5
11	Pro-K-micina	Lederle	400,000 "	0.500 "	440,000 "	0.499 "	110	99.8
12	Retromypen 0.5	N. V. Organon	400,000 "	0.500 "	428,000 "	0.485 "	107	97
13	Combiótico 0.5	Pfizer	400,000 "	0.500 "	452,000 "	0.507 "	113	101.5
14	Estreptobroncol	Atral	400,000 "	0.500 "	460,000 "	0.510 "	115	102
15	Dicrysticina	Squibb	400,000 "	0.500 "	555,400 "	0.478 "	138.8	97.8
16	S. R. D. 0.5	Parke Davis	400,000 "	0.500 "	513,200 "	0.477 "	128.3	95.4
17	Streptocaine	Cont.Pharma	400,000 "	0.500 "	500,000 "	0.475 "	125	95
18	S. R. D. I	Parke Davis	400,000 "	1.000 "	492,800 "	0.895 "	123.2	89.5
19	Srteptopen Pediatr.	LUSA	500,000 "	0.250 "	560,000 "	0.250 "	112	100
20	Cristamicina	Glaxo	500,000 "	0.500 "	557,500 "	0.510 "	111.5	103
21	Atostrept Penicilina	Farmitalia	500,000 "	0.500 "	532,500 "	0.505 "	106.5	100.1
22	Diplostretil	Novo	800,000 "	0.500 "	960,000 "	0.537 "	120	107.5

CUADRO Nº 5

DETERMINACION CUANTITATIVA DE ESTERES DE CLORAMFENICOL EN ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS

No.	Nombre del Producto	Forma farmacéutica	Laboratorio	Ester	Cantidad en Cloramfenicol		Actividad %
					Declarada	Encontrada	
1	Cloramfen B	Gel	Spedrog	Palmitato	2.083 gr. x 100	2.120 gr. x 100	101.8
2	Sulfantibión	Grageas	Inst. Biológ.	Palmitato	0.05 " " "	0.049 " " "	98.9
3	Amtomicin	Jarabe	Lauzier	Palmitato	1.871 " " "	1.871 " " "	100
4	Microcetina	"	Maldonado	Cinamato	2.470 " " "	2.370 " " "	96.1
5	Farmicetina	"	Farmitalia	Cinamato	2.500 " " "	2.216 " " "	88.5
6	Tetracetina	"	Farmitalia	Cinamato	1.660 " " "	1.547 " " "	93.2
7	Cloromisan	"	Sanitas	Estearato	2.500 " " "	2.207 " " "	88.3
8	Quemacetina	"	Erba	Estearato	2.500 " " "	2.120 " " "	85
9	Quemisulfan	"	Erba	Estearato	1.530 " " "	1.314 " " "	85.9
10	Micoclorine	"	Cont. Pharma	Palmitato	125 mgr. x 4 ml.	129 mgr. x 4 cc.	103.5
11	Comycetin Vit	"	Cophar	Estearato	2.5 gr x 100	2.2 gr. x 100	90.5
12	Chloromicetin	Suspensión	Parke Davis	Palmitato	3.125 " " "	2.834 " " "	90.7
13	Chlorostrep	"	Parke Davis	Palmitato	3.125 " " "	2.753 " " "	88.1
14	Sintomicetina	"	Lepetit	Palmitato	2.880 " " "	2.583 " " "	89.7
15	Cloramfenicol	"	Doug. Chem.	Palmitato	2.500 " " "	2.625 " " "	105
16	Sulfantibión	"	Inst. Biológ.	Palmitato	1.00 " " "	1.01 " " "	101
17	Atralfenicol	"	Atrial	Palmitato	1.875 " " fco.	1.811 " " fco.	96.6

CUADRO Nº 6

DETERMINACION CUANTITATIVA DE CLORAMFENICOL EN ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS

No.	Nombre del producto	Forma Farmacéutica	Laboratorio	C a n t i d a d		Actividad %
				Declarada	Encontrada	
1	Aplicaps CAF	Aplicaps	Parke Davis	0.0025 gr. x c/u.	0.00257 gr. x c/u.	103
2	Chemogen	Candelillas	Baldacci	0.01 " "	0.0103 " "	103
3	Farmicetina	Cápsulas	Farmitalia	0.250 " "	0.285 " "	114
4	Paraxin	"	Boehringer	0.250 " "	0.263 " "	105.5
5	Cloramfen	"	Sclavo	0.250 " "	0.235 " "	94.3
6	Cloramfenicol	"	Douglas Chem.	0.250 " "	0.235 " "	94.3
7	Microcetina	"	Maldonado	0.250 " "	0.243 " "	97.3
8	Cloromicetin	"	Parke Davis	0.250 " "	0.256 " "	102.6
9	Cloromisan	"	Sanitas	0.250 " "	0.265 " "	106
10	Quemimetina	"	Erba	0.250 " "	0.246 " "	98.4
11	Micoclorine	"	Cont. Pharma	0.250 " "	0.280 " "	112
12	Cloramfenicol	"	Frederiksberg	0.250 " "	0.2495 " "	99.8
13	Atralfenicol	"	Atral	0.250 " "	0.257 " "	103
14	Conycetin Vit	"	Cophar	0.250 " "	0.247 " "	99
15	Hidrocortisona	Colirio	Russel	0.200 " " 100	0.192 " " 100	96.1
16	Sintoftona	"	Lepetit	1. " "	1.085 " "	108.5
17	Cloromicetin	"	Parke Davis	0.250 " fco.	0.270 " fco.	111
18	Cloramfen	"	Sclavo	0.500 " " 100	0.530 " " 100	105.5
19	Catacetina	Confites	Farmitalia	0.250 " " c/u.	0.265 " " c/u.	106
20	Quemimetina	Grageas	Erba	0.250 " "	0.261 " "	104.5
21	Cloromicetin	Crema	Parke Davis	1. " " 100	1.08 " " 100	108
22	Quemimetina	Gotas antiocena	Erba	9. " "	9.13 " "	101.5
23	Quemimetina	" otológicas	Erba	1. " "	0.964 " "	96.4

24	Rinocortancyl	" "	Roussel	0.400	" "	0.380	" "	96
25	Hidrocortisona	Injectable	Roussel	0.01	" " 5 cc.	0.0094	" " 5 cc.	94
26	Sintomicetina	" "	Lepetit	1.	" " fco.	1.	" " fco.	100
27	Chloramicol	Nebu'izador	Colliere	0.250	" " 100	0.243	" " 100	95.5
28	Microcetina	Ovulos	Maldonado	0.50	" " c/u.	0.465	" " c/u.	93
29	Quemimetina	" "	Erba	0.250	" " "	0.235	" " "	95
30	Sintomicetina	Polvero micro.	Lepetit	1.	" " tubo	1.1	" " tubo	110
31	Sintomicetina	Pomada	Lepetit	2.	" " 100	1.78	" " 100	89
32	Quemimetina	Pomada oftálm.	Erba	1.	" " "	0.893	" " "	89.3
33	Quemimetina	Pomada nasal	Erba	2.	" " "	1.90	" " "	95
34	Quemimetina	Pomada dérmica	Erba	2.	" " "	1.82	" " "	91.4
35	Dermocortancyl	Pomada	Roussel	2.	" " "	1.86	" " "	93.2
36	Sintomicetina	Supositorios	Lepetit	0.250	" " c/u.	0.262	" " c/u.	104.8
37	Farmicetina	" "	Farmitalia	0.250	" " "	0.264	" " "	105.7
38	Quemimetina	" "	Erba	0.250	" " "	0.223	" " "	89.3
39	Chloromicetina	" "	Parke Davis	0.250	" " "	0.242	" " "	97
40	Cloramfen	" "	Sclavo	0.250	" " "	0.253	" " "	101.2
41	Cloramfen	" "	Sclavo	0.125	" " "	0.135	" " "	108
42	Cloramfen	" "	SiOSA	0.125	" " "	0.1257	" " "	100.6
43	Quemimetina	" "	Erba	0.125	" " "	0.1231	" " "	98.9
44	Cobismutin	" "	Cophar	0.200	" " "	0.201	" " "	100.5
45	Farmicetina	" "	Farmitalia	0.125	" " "	0.136	" " "	109
46	Quemisulfan B	" "	Erba	0.100	" " "	0.097	" " "	97
47	Cloromicetin	Ungüento oftálm.	Parke Davis	1.	" " 100	1.113	" " 100	111.3
48	Oftalmolosas	" "	Norte de España	0.02	" " 1 gr.	0.0202	" " 1 gr.	101

CUADRO Nº 7

DETERMINACION CUANTITATIVA DE TETRACICLINA EN ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS

No.	Nombre del producto	Forma Farmacéutica	Laboratorio	C a n t i d a d		Actividad %
				Declarada	Encontrada	
1	Acromicina	Cápsulas	Lederle	0.250 gr. x c/u.	0.355	142
2	Tetracina	"	Pfizer	0.250 "	0.263	105
3	Acromicina S V	"	Lederle	0.250 "	0.269	107.8
4	Bristaciclina A	"	Bristol	0.250 "	0.298	119.5
5	Misteclin	"	Squibb	0.250 "	0.264	105.8
6	Stedlin V	"	Squibb	0.250 "	0.250.1	100.5
7	Uropol	"	Bristol	0.125 "	0.177	142
8	Tetracina	Gotas infantiles	Pfizer	1. " fco.	1.094	109.4
9	Acromicina V	Gotas pediátríc.	Lederle	10.5 " 100	11.07	105.5
10	Histaciclina	Grageas	Hoechst	0.250 " c/u.	0.267	107
11	Bristaciclina A	Gotas pediátríc.	Bristol	1. " 10 cc.	1.19	119
12	Stedlin V	"	Squibb	0.100 " fco.	0.0959	95.9
13	Misteclin V	"	Squibb	0.100 "	0.0968	96.8
14	Tetracina	inyectable	Pfizer	0.500 "	0.517	103.4
15	Hostaciclina (intraven.)	"	Hoechst	0.500 "	0.557	111.5
16	Bristaciclina	"	Bristol	0.500 "	0.575	115
17	Hostaciclina	Intravenosa	Hoechst	0.250 "	0.280	112.3
18	Hostaciclina	Intramuscular	Hoechst	0.100 "	0.113	113
19	Ambramicina	inyectable	Lepetit	0.100 "	0.1192	119.2
20	Tetracina	Intramuscular	Pfizer	0.100 "	0.1115	111.5
21	Hostaciclina	inyectable	Hoechst	0.100 "	0.1075	107.5
22	Bristaciclina A	"	Bristol	0.100 "	0.1005	100.5
23	Bristaciclina A	"	Bristol	0.250 "	0.258	103.5

24	Bristaciclina A	"	Bristol	0.500	"	"	0.542	"	"	108.5
25	Ambramicina	"	Lepetit	0.100	"	"	0.1015	"	"	101.5
26	Tetracina	Jarabe	Pfizer	0.125	"	5 cc.	0.131	"	5 cc.	105.2
27	Acromicina V	"	Lederle	2.750	"	100	3.02	"	100	110
28	Ambramicina	Ponada	Lepetit	3.	"	"	3.3	"	"	110
29	Bristaciclina	Soluc. ótica	Bristol	0.050	"	fco.	0.058	"	fco.	117
30	Bristaciclina	Soluc. oftálmica	Bristol	0.025	"	"	0.027	"	"	113.4
31	Mistecina	Suspensión	Squibb	2.5	"	100	3.425	"	100	137
32	Ambramicina	Suspensión oral	Lepetit	2.	"	"	2.20	"	"	110
33	Tetracina	"	Pfizer	0.250	"	5 cc.	0.260	"	5 cc.	104
34	Bristaciclina	" acuoso	Bristol	0.25	"	"	0.305	"	"	122
35	Bristaciclina A	"	Bristol	0.125	"	"	0.142	"	"	114
36	Bristaciclina A	"	Bristol	0.050	"	"	0.061	"	"	123.5
37	Steclin V	"	Squibb	0.125	"	fco.	0.1215	"	fco.	97.2
38	Mistecina V	" aceite	Squibb	0.125	"	5 cc.	0.1215	"	5 cc.	97.2
39	Acromicina	"	Lederle	1.1	"	100	1.02	"	100	93.5
40	Bristaciclina A-TS	"	Bristol	125	mgr. x 5 cc.		137	mgr. x 5 cc.		110
41	Bristaciclina	Tabletas	Bristol	0.050	gr. x c/u.		0.052	gr. x c/u.		104
42	Acropac	"	Lederle	125	mgr. x c/u.		127	mgr. x c/u.		101.9
43	Acromicina	Ungüento 3%	Lederle	3	gr. x 100		3.	gr. x 100		100
44	Acromicina	" 1%	Lederle	1	"	"	1.02	"	"	102
45	Tetracina	"	Pfizer	3	"	"	3.20	"	"	107.5

CUADRO N.º 8

DETERMINACION CUANTITATIVA DE CLORTETRACICLINA EN ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS

No.	Nombre del producto	Forma farmacéutica	Laboratorio	C a n t i d a d		Actividad %
				Declarada	Encontrada	
1	Aureomicina SV	Cápsulas	Lederle	0.250 gr. x c/u.	0.255 gr. x c/u.	102
2	Aureomicina	"	Lederle	0.100 " " "	0.109 " " "	109
3	Aureomicina	"	Lederle	0.050 " " "	0.0507 " " "	101.5
4	Aureomicina	Colirio	Lederle	0.250 " " fco.	0.259 " " fco.	103.6
5	Aureomicina	Injectable	Lederle	0.500 " " "	0.525 " " "	105
6	Aureomicina S CH	Polvo	Lederle	0.050 " " 3 gr.	0.0582 " " 3 gr.	116.5
7	Aureomicina	Tirotiscos	Lederle	0.015 " " c/u.	0.0159 " " c/u.	106
8	Acronize M	Polvo	Cyanamid	2.3 " " 100	2.58 " " 100	112.5
9	Acronize P D	Polvo	Cyanamid	10.0 " " "	10.1 " " "	111
10	Acronize B I	Polvo	Cyanamid	16.5 " " "	17.9 " " "	109

CUADRO Nº 9

DETERMINACION CUANTITATIVA DE OXITETRACICLINA EN
ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS

No.	Nombre del Producto	Forma farmacéutica	Laboratorio	C a n t i d a d		Actividad %
				Declarada	Encontrada	
1	Terramicina	Cápsulas	Pfizer	0.250 gr. x c/u.	0.251 gr. x c/u.	100.5
2	Terramicina	Colirio	"	0.025 " " fco.	0.027 " " fco.	110.5
3	Terramicina	Gotas pediátricas	"	1.279 " " 10 cc.	1.170 " " 10 cc.	91.5
4	Terramicina	Gotas nasales	"	0.025 " " fco.	0.0257 " " fco.	103.2
5	Terramicina	Gotas infantiles	"	1.0 " " "	1.04 " " "	104
6	Terramicina	Intramuscular	"	0.100 " " "	0.121 " " "	121
7	Terramicina	Intravenosa	"	0.250 " " "	0.281 " " "	116.5
8	Terramicina	Inyección	"	1.969 " " 60 cc.	2.038 " " 60 cc.	103.5
9	Tetrabon	Inyección	"	0.125 " " 5 cc.	0.128 " " 5 cc.	103.1
10	Terramicina	Pastillas	"	0.015 " " c/u.	0.017 " " c/u.	118.5
11	Terramicina SF	Suspensión	"	0.250 " " 5 cc.	0.257 " " 5 cc.	103
12	Terramicina	Tabletas vaginales	"	0.100 " " c/u.	0.119 " " c/u.	119
13	Terramicina	Ungüento oftálmico	"	0.005 " " 1 gr.	0.0053 " " 1 gr.	105.2
14	Tetracortril	"	"	0.0061 " " "	0.0068 " " "	110.5
15	Tetracortril	Ungüento Oftalm.ótico	"	0.005 " " "	0.0055 " " "	110.5
16	Terramicina	Ungüento	"	0.030 " " "	0.032 " " "	107.5

CUADRO N° 10

DETERMINACION CUANTITATIVA DE NOVIOBIOCINA Y OLEANDOMICINA EN
ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS

N°.	Nombre del producto	Forma Farmacéutica	Laboratorio	Cantidad		Actividad %
				Declarada	Encontrada	
1	Albamycin	Cápsulas	Upjohn	0.250 gr. x c/u.	0.260 gr. x c/u.	104.2
2	Cathomycin	"	Merck	0.250 " " "	0.262 " " "	105
3	Cathomycin	"	Merck	0.125 " " "	0.132 " " "	105.7
4	Matromicina	"	Pfizer	0.250 " " "	0.306 " " "	123.5
5	Romicil	"	Roche	0.250 " " "	0.286 " " "	114.6
6	Sigmamicina	"	Pfizer	0.250 " " "	0.306 " " "	123.5
7	Sigmamicina	"	Pfizer	0.500 " " "	0.547 " " "	109.5
8	Vulcamicina	Comprimidos	Lepetit	0.250 " " "	0.230 " " "	91.7
9	Romicil	Injectable	Roche	0.500 " " fco.	0.587 " " fco.	117.5
10	Albamycin	Jarabe	Upjohn	0.025 " " 1 cc.	0.020 " " 1 cc.	80.9
11	Cathomycin	"	Merck	2.50 " " 100	2.53 " " 100	101.2
12	Sigmamicina	"	Pfizer	125 mgr. en 5 cc.	130 mgr. en 5 cc.	104.0

CUADRO N° 11

DETERMINACION CUANTITATIVA DE LOS ANTIBIOTICOS DE ACUERDO
A LAS CONCENTRACIONES INDICADAS

No.	Nombre del producto	Forma farmacéutica	Laboratorio	Antibiótico	Concentración	
					Declarada	Encontrada
1	Runison p. infusión	Injectable	Squibb	Antotéricina B	50 mgr. x lco.	Conforme
2	Colimicina	Comprimidos	Smith	Colimicina	250.000 U. x comp.	"
3	Colimicina	Comprimidos	Smith	Colimicina	500.000 " " "	"
4	Colimicina	Comprimidos	Smith	Colimicina	1'500.000 " " "	"
5	Colimicina	Injectable	Smith	Colimicina	500.000 " lco.	"
6	Colimicina		Smith	Colimicina	1'500.000 " "	"
7	D-Cicloserina	Comprimidos	Roche	Cicloserina	250 mgr.	"
8	Spontin	Injectable	Roche	Ristocetina AB	500 "	"
9	Prevamicina	Comprimidos	Abbot	Spiromicina	250 "	"
10	Prevamicina	Pomada	SPECIA	Spiromicina	1 gr. %	"
11	Oftalmotricin	Colirio	Robel	Tiroticina	20 mgr. %	"
12	Ginotridin	Líquido	Robel	Tiroticina	25 " "	"
13	Dazolin Atomisol	Líquido	Aifa	Tiroticina	30 " "	"
14	Ginotridin	Ovulos	Robel	Tiroticina	400 megr.	"
15	Tirotisol	Pastillas	Robel	Tiroticina	1 mgr.	"

CUADRO N° 12

DETERMINACION CUANTITATIVA DEL ANTIBIOTICO FRENTE A DISCOS "DIFCO"

No.	Nombre del producto	Forma Farmacéutica	Laboratorio	Antibiótico	Potencia
1	Neothalidin	Comprimidos	ESFASA	Neomicina	Conforme
2	Donnagel	Gel	A. H. Robinson	"	"
3	Cortimicina F.	Gotas oftálmicas	Medial	"	"
4	Cortimicina F.	Gotas nasales	Medial	"	"
5	Neo-cortef al 1%	Loción facial	Upjohn	"	"
6	Codelsol	Solución oftálmica	Merck	"	"
7	Pecilin	Suspensión	Mead Johnson	"	"
8	Diapec	Suspensión	Pfizer	"	"
9	Dermicina	Ungüento	Spedrog	"	"
10	Metiderm	"	Schering	"	"
11	Neo-Magnacort	"	Pfizer	"	"
12	Adremicina	"	N. V. Organon	"	"
13	Neo Cortiderm	"	Cont. Pharma	"	"
14	Combison	"	Hoechst	"	"
15	Miciguent	"	Upjohn	"	"
16	Cortimicina F.	Ungüento oftálmico	Medial	"	"
17	Cortimicina F.	Ungüento dermatológ.	Medial	"	"
18	Neobacrin	Ungüento	Glaxo	Neomicina	"
19	Bacimycin al 1%	"	Waker	+ Bacitracina	"
20	Runodif	"	ESFASA	+ "	"
21	Banedit	Ungüento dermatológ.	ESFASA	+ "	"
22	Banedit	Ungüento oftálmico	ESFASA	+ "	"
23	Nazoseptol	Gotas	Robel	+ Gramicidina	"

24	Otoseptol	"	Robel	+	"	"
25	Nasomicina	"	Maldonado	+	"	"
26	Biomidrin oftálmico	"	Nepera	+	"	"
27	Germinol	Comprimidos	ESFASA	+	Tirotricine	"
28	Isopto P. H. N.	Gotas	Alcon	+	Polimixina	"
29	Tryptar	¡Ingüento	Armour	+	Polimixina	"
30	Pantomicina líqd. pediátr.	Suspensión	Abbott		Bacitracina	"
31	Pantomicina	Tabletas	Abbott		Eritromicina	"
32	Floticina	"	Eli Lilly		Eritromicina	"

V. PREPARACION DE DISCOS PARA PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

Materiales.

Se han empleado en la preparación de estos discos, los antibióticos que vienen envasados en frasco ampula, cuya potencia ha sido previamente determinada.

Discos de papel de filtro de 6 mm. de diámetro con distintivo de concentración y una capacidad de absorción de 0.01 ml.

Sustancias colorantes carentes de acción bacteriostática o bactericida.

Placas de Petri y frascos por 20 ml., estériles.

Cepas bacterianas de sensibilidad estandarizada, medios de cultivo y diluyentes estériles apropiados para cada caso.

Método.

Los discos de papel de filtro con distintivo de concentración y previamente coloreados, se esterilizan en autoclave a 120 grados centígrados por 15 minutos.

Se prepara una solución madre, pesando una alícuota del antibiótico, se diluye hasta alcanzar una concentración de 10,000 mcgr./ml. A partir de la solución madre se hacen otras diluciones hasta obtener las concentraciones finales de: 3,000, 1,000 y 500 mcgr./ml.

Se colocan 100 discos en una caja de Petri y se impregnan con 1 ml. de cada una de las concentraciones anteriormente indicadas tratando que cada disco sea imbibido con 0.01 ml., en esta forma obtenemos discos con las tres concentraciones deseadas: 5 mcgr., 10 mcgr. y 30 mcgr. por disco.

Para evitar pérdida de principio activo y lograr una rápida desecación, se colocan en dispositivo especial a una temperatura de 37 grados centígrados por 18 horas y se envasa en condiciones estériles.

Control.

Una vez secos los discos se hacen controles de actividad frente a cepas standard; estos controles se efectúan cada dos meses.

La potencia de nuestros discos fué comparada con los preparados por la Casa Difco, como se puede apreciar en la Lámina VII (30), y también con los de las Casas Merck, Pfizer y Lilly.

Estos discos así obtenidos mantienen su potencia por un tiempo prolongado; nuestros controles han sido efectuados hasta dos años des-

pués de preparados, sin haberse observado variación en la potencia, a excepción de la Penicilina, cuya actividad se pierde con el tiempo.

Esta técnica de preparación puede seguirse con todos los antibióticos variando sólo en las concentraciones como en el caso de la Penicilina y Bacitracina cuya actividad se expresa en unidades.

Hemos preparado discos con 18 antibióticos siguiendo para su identificación, las concentraciones, distintivos y colores indicados en el Manual Difco (14) y de los cuales para ilustración solamente acompañamos cuatro en la Lámina VII, para evitar la repetición de estas figuras e inútil extensión de esta tesis.

EXPLICACION DE LAS FIGURAS

Lámina VII

Figs. 1-4.—Comprobación de la actividad antibiótica de los discos preparados por nosotros, comparativamente con los discos "Difco" en igualdad de concentración y frente a una misma cepa bacteriana.

Fig. 1.—Bacitracina.

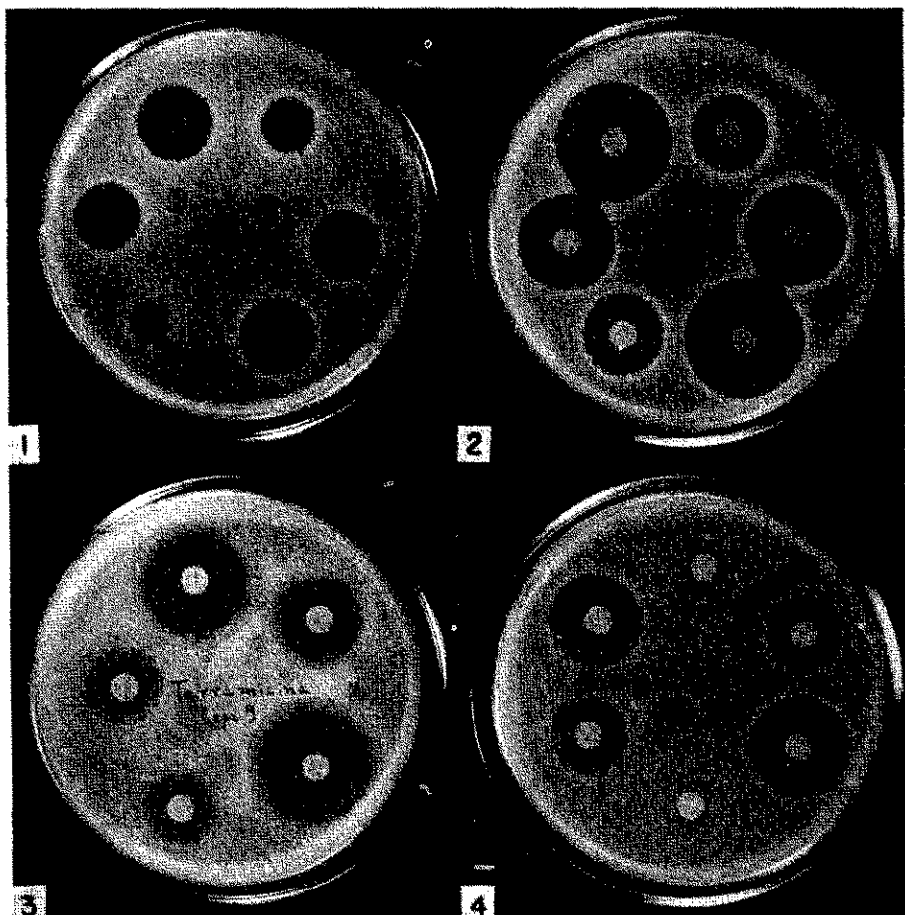
Fig. 2.—Novobiocina.

Fig. 3.—Terramicina.

Fig. 4.—Dihidroestreptomicina.

I.N.S.P. Discos preparados por el autor en el Instituto Nacional de Salud Pública.

"DIFCO" Discos adquiridos de la Difco Laboratories, Detroit 1, Michigan U.S.A.



VI. COMENTARIO

Si pensamos que apenas hacen 17 años del inicio industrial de los antibióticos, no podemos dejar de reconocer el desarrollo tan formidable que ha alcanzado esta joven y creciente industria dentro del campo farmacéutico, al constatarlo personalmente, nos sorprendemos de su auge industrial y pensamos que éste se debe desde luego, a la eficacia terapéutica que desde el primer momento mostraron estos nuevos medicamentos en el tratamiento de las infecciones.

La labor paciente y continuada de los investigadores y el afán por conseguir nuevos antibióticos, capaces de actuar contra aquellas bacterias que se mantienen insensibles, hizo que se fueran descubriendo los llamados antibióticos de amplio espectro y posteriormente año tras año estamos viendo incrementarse el arsenal terapéutico con estos maravillosos productos que permanecían ocultos en la naturaleza, estableciendo una limitada y natural regulación de la población bacteriana.

Los laboratorios productores de antibióticos van siendo cada vez más numerosos y como lógica consecuencia se ha establecido, no sólo la competencia en la preparación, síntesis y producción de estas nuevas drogas que salen al mercado en gran escala, sino que también ha sido necesario, se establezca un organismo estatal, que controle permanentemente su alto grado de pureza, inocuidad, toxicidad y eficacia antibacteriana.

El campo de actividad terapéutico, profiláctico y preventivo de los antibióticos cada día va en aumento, su difusión para combatir numerosas infecciones, no solamente la podemos constatar en la especie humana, sino que también su eficacia los ha llevado prontamente a la medicina veterinaria; en estos últimos años su empleo se ha extendido al campo industrial, utilizándoseles para prevenir la descomposición de los alimentos por los agentes bacterianos, usos, que también han requerido se establezcan regulaciones para su empleo.

Estas múltiples aplicaciones, tan benéficas desde luego que de los antibióticos se hace, han inducido desgraciadamente a la rápida aparición de microorganismos antibiótico-resistentes; resistencia bacteriana que sabemos es proporcional a la difusión del medicamento y que cada vez se hace más ostensible, llegando a producir alarma en la profesión médica que no puede prever hasta dónde sea peligrosa. Las reiteradas comprobaciones en diferentes hospitales de los Estados Unidos de Norte América, de infecciones verdaderamente epidémicas producidas por estafilococos patógenos, resistentes a múltiples antibióticos, ha causado

la alarma de médicos, cirujanos, obstetras, pediatras etc., obligándolos a tomar severas medidas preventivas, para evitar su diseminación.

Esto que está ocurriendo con los micrococcus piógenos en muchas partes del mundo, nos está dando una idea de lo que puede pasar con otras tantas bacterias patógenas que se tornen tremendamente resistentes; por este motivo comprobado también entre nosotros desde 1952 (46), (47), es que en más de una ocasión hemos combatido el uso indiscriminado de los antibióticos y preconizado siempre que sea posible hacer la prueba de sensibilidad del germen infectante antes de instituir el tratamiento; práctica hoy muy simple y de rutina en el laboratorio clínico que puede ser efectuada en menos de 48 horas utilizando el método de la placa cultivo y discos antibióticos, los resultados brindados por laboratoristas competentes y conscientes de su responsabilidad, serán de gran utilidad para el médico, para el paciente y para tratar de evitar el incremento de la resistencia bacteriana.

El control cuantitativo de la actividad y potencia de los antibióticos actualmente utilizados, en sus distintas formas de presentación, resulta fácil cuando se dispone de cepas bacterianas de sensibilidad estandarizada, ya que el método de la placa-disco-cultivo que hemos descrito no ofrece mayormente dificultades.

Desde que el 99.3 por ciento de los antibióticos que hemos examinado están no sólo dentro de los requerimientos mínimos y regulaciones del FDA y de la Farmacopea Norteamericana, sino que contienen muchos de ellos un exceso de medicamento, como se puede apreciar en los cuadros en la columna de porcentaje de actividad; es de suponer que alguien pueda pensar que tal ocurre por tratarse de muestras que vienen exclusivamente para ser analizadas y luego inscritas o reinscritas por la Dirección de Farmacia que autoriza su libre expendio y que en estas condiciones es justificable que no sólo tengan el número de unidades o miligramos que declaran sino el exceso que en muchas de ellas hemos encontrado, más aún si se tiene en cuenta que este control se hace solamente cada cinco años y que no se repite durante este lapso de tiempo.

Por lo anteriormente expuesto, sugerimos que, en prestigio de los productores y por el resguardo de los consumidores de estos productos terapéuticos de gran importancia, se hagan controles periódicos por pesquisa en Droguerías, Farmacias y Hospitales, como está establecido por el Decreto Supremo del 27 de agosto de 1943 en su Artículo 12 (44), pero que hasta la fecha no se ha puesto en práctica.

Este control permanente por pesquisa servirá para demostrar que todos los lotes de antibióticos que se expenden, mantienen la concentración que indican y son microbiológicamente activos. Además con ello se podrá evitar falsas suposiciones y comentarios sin fundamento, respaldando la honorabilidad de los laboratorios productores y brindando a la profesión médica, productos permanentemente controlados por el Estado a través del I.N.S.P.

El control por pesquisa que pedimos se ponga en práctica por las autoridades competentes, tiene aún una mayor justificación si pensamos que en la actualidad son 65 los Laboratorios productores o distribuidores de los solamente 20 antibióticos, que aislados o combinados se presentan en más de 300 especialidades farmacéuticas y que, sin mayores comentarios necesitan ser periódicamente controlados, como ocurre en los EE.UU., donde con este fin exclusivo existe la División de Antibióticos, dentro del Food and Drug Administration.

SUMARIO

1) Disponemos de un cepario bacteriano con grados de sensibilidad y resistencia comprobados, para pruebas antibióticas de control.

2) Con el método microbiológico de la placa-disco-cultivo, hemos podido comprobar la actividad y potencia de todos los antibióticos que se consumen en el país.

3) Hemos establecido el porcentaje de actividad de cada antibiótico, en las distintas formas farmacéuticas de presentación.

4) En los Esteres de Cloramfenicol que son biológicamente inactivos, hemos conseguido liberar Cloramfenicol levógiro por digestión enzimática y realizar la prueba microbiológica.

5) El 99.3 por ciento de los preparados farmacéuticos controlados, están dentro de las regulaciones establecidas por el Food and Drug Administration de Washington y por la Farmacopea Norteamericana de 1955.

6) Las 315 especialidades farmacéuticas que hemos examinado en sus distintas formas de presentación, contienen solamente 20 antibióticos que aislados o combinados son preparados y distribuidos por 65 diferentes Laboratorios.

7) Hemos preparado discos medicados con 18 diferentes tipos de antibióticos perfectamente estabilizados y estandarizados en tres concentraciones, con colores distintivos para cada antibiótico.

SUMMARY

1) Stock bacteriological cultures, with different degrees of sensitivity and resistance to the influence of antibiotics, have been established for purposes of control testing.

2) All commercial antibiotics, in their various pharmaceutical forms and which are marketed in Peru, have been tested for activity and potency by the "plate-disc-culture" method, and the standards of "percentage activity" have been established.

3) Using biologically inactive esthers of chloramphenicol, L-chloramphenicol was prepared by enzymatic hydrolysis, and was found satisfactory for microbiological testing.

4) 99.3% of the products complied with the standards of potency as established by the U. S. Food and Drug Administration and the U. S. Pharmacopeia XV.

5) Approximately 65 manufacturing laboratories distribute 315 different pharmaceutical antibiotic products which contain a total of 20 different antibiotics, either singularly or in mixed form.

6) Antibiotic discs have been prepared for 18 antibiotics, and each has been standardized in three concentrations and colors.

AGRADECIMIENTO

Mi más sincero reconocimiento al Dr. José Huapaya y a las señoras Carmela Velazco y Soledad Urquiza por su asistencia técnica.

Mi agradecimiento en general a todas las demás personas del Instituto Nacional de Salud Pública, que directa o indirectamente han contribuido a la realización de esta tesis.

A los señores representantes de los Laboratorios Pfizer, Squibb y Lederle por habernos proporcionado muestras para los análisis de toda la línea de productos farmacéuticos con antibióticos.

También debo agradecer al Sr. Rómulo Gallo, Sub-Gerente de La Química Suiza S. A., por habernos proporcionado el producto denominado pantozme, Wander que utilizamos para la digestión enzimática de los Esteres de Cloramfenicol.

REFERENCIAS

- 1.—ARNSTEIN, H. R. and GRANT, P. T.
1956 The Metabolism of the Penicillia in Relation to Penicillin Biosynthesis. *Bacteriological Reviews* 20: 133-147.
- 2.—BARON, A. L.
1950 Handbook of Antibiotics. Reinhold Publishing Corporation. New York, U. S. A.
- 3.—BASS, JOSEPH A. and others.
1958 Epidemiologic Study of Hospital Outbreak of Micrococcic Infections. *J. A. M. A.* 166: 731-734.
- 4.—BLAIR, J. E. and CARR, MIRIAM.
1958 Staphylococci in Hospital-Acquired Infections. *J. A. M. A.* 166: 1192-1196.
- 5.—BRANCH, A., STARKEY, D. H. and POWER, EDNA E.
1956 A Correlation of Various Antibiotic in Vitro Sensitivity Tests. *Antibiotics Annual 1955-1956*: 407-416. *Medical Encyclopedia, Inc. New York, N. Y.*
- 6.—BROWN, JOHN W.
1958 Hygiene and Education Within Hospitals to Prevent Staphylococcal Infections. *J. A. M. A.* 166: 1185-1191.
- 7.—BURNET, EMORI W., TAYLOR, H. and col.
1958 Program for Prevention Eradication of Staphylococcal Infections. *J. A. M. A.* 166: 1183-1184.
- 8.—CHANDLER, V. L. and SHAW, R. D.
1946 Dropping Device for Cylinder Plate Assay of Penicillin. *Science* 104:275.
- 9.—COLLINS, A. M., CRAIG, G., ZAIMAN, E. and ROY, T.
1954 A Comparison Between Disk-Plate and Tube Dilution Methods for Antibiotics Sensitivity Testing of Bacteria. *Canad. J. Pub. Health* 45: 430-439.
- 10.—Compilation of regulations for tests and methods of assay and certification of antibiotic containing drugs. Volúmenes I y II.
- 11.—CORNEJO, V. A.
1953 Aplicación de la Pasta Poliantibiótica en Tratamientos Radiculares. *Tesis de Bachiller. Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.*
- 12.—CIADRA, MANUEL.
1957 El Diagnóstico de la Enfermedad de Carrión. *Rev. del Viernes Médico* VIII: 404-421. Lima.
- 13.—DEATHERAGE, F. E.
1957 Use of Antibiotics in the Preservation of Meats and Other Food Products. *Am. J. Pub. Health* 47: 594-600.
- 14.—DIFCO LABORATORIES.
1955 Microbial Sensitivity Testing. No. 146:16.
- 15.—DURBIN, C. G., DI LORENZO, J. J. and others.
1953 Antibiotic Concentration and Duration in Animal Tissues and Fluids. II. *Chicken Blood, Tissues and Eggs. Antibiotics Annual 1953-1954*: 428-432. *Medical Encyclopedia, Inc. New York, N. Y.*
- 16.—EDITORIALS.
1957 Antibiotics in Virus Diseases. *J. A. M. A.* 165: 53-54.

- 17.—EAGLE, H. and SAZ, A.
1955 Antibiotics Annual Review of Microbiology 9: 173-214. *Annual Reviews Inc. Stanford, California.*
- 18.—EPSTEIN, I. G., NAIR, K. G. S. and BOYD, L. J.
1956 The Treatment of Human Tuberculosis With Cycloserine: A Year's Progress. Antibiotics Annual 1955-1956: 141-147. *Medical Encyclopedia, Inc. New York, N. Y.*
- 19.—FINLAND, MAXWELL.
1953 Clinical Uses of the Presently Available Antibiotics. Antibiotics Annual 1953-1954: 10-26. *Medical Encyclopedia, Inc. New York, N. Y.*
- 20.—FINLAND, MAXWELL.
1955 Changing Patterns of Resistance of Certain Pathogenic Bacteria to Antimicrobial Agents. *New England J. Med.* 252: 570-580.
- 21.—FINLAND, M. and HAIGHT, J. H.
1958 Antibiotic Resistance of Pathogenic Staphylococci. *A. M. A. Int. Med.* 91: 143-158.
- 22.—FLEMING, ALEXANDER.
1929 On the Antibacterial Action of Culture of Penicilliums With Special Reference to Their Use in the Isolation of B. Influenza. *Brit. J. Expt. Pathol.* 10: 226-236.
- 23.—FLEMING, ALEXANDER.
1950 Penicillin its Practical Application. Butterworth and Co. Ltd. London, England.
- 24.—FLOREY, W. H., CHAIN, HEATLEY, JENNINGS, SANDERS, A., ELOSEY.
1949 Antibiotics. Vol. I, II. Oxford Medical Publications.
- 25.—FORNI, P. V. e GUIDETTI, E.
1956 Colimicina: Studio Tossicológico, Fisiopatológico e Microbiológico dell'antibiotico. *Minerva Médica II* : 823-827. Torino, Italia.
- 26.—GAVIN, JOHN J.
1957 Microbiologic Process Report : Analytical Microbiology. III *Turbidimetric Methods, Applied Microbiology* 5: 235-243.
- 27.—GHIONE, M. e FIORETTI, L.
1956 Titolazione Microbiológica di Esteri Insolubili del Cloramfenicolo. II *Fármaco. Ed. Científica, Vol. XI* : 139-144.
- 28.—GIRALDO ROMERO, M. M.
1955 Importancia del Control Bacteriológico en Biopulpectomías. Tesis de Bachiller. Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
- 29.—GODFREY, MARY E. and MACLEAN, LAN SMIT.
1958 Hospital Hazards of Staphylococcal Sepsis. *J. A. M. A.* 106: 1197-1201.
- 30.—GROVE, D. C. and RANDALL, W. A.
1955 Assay Methods of Antibiotics. A Laboratory Manual. *Medical Encyclopedia Inc.*
- 31.—GUZMÁN BARRÓN, A.
1952 Estudio de la Sensibilidad de los Gérmenes a los Antibióticos. *Revista de la Sanidad Militar del Perú* 69: 597-599.

- 32.—HAN, KATHERINE H. K.
1957 Diagnosis and Microbial Therapy of Primary Tuberculosis in Children. *J. A. M. A.* 164: 1204-1209.
- 33.—HEILMAN, FORDICE R.
1953 Antibiotics Annual Review of Microbiology 7: 219-244. Annual Reviews Inc. Stanford, California.
- 34.—HOWE, C. W.
1957 The Problem of Postoperative Wound Infection Caused by *Staphylococcus aureus*. *Am. Surg.* 146: 384-398.
- 35.—JACKSON, G. G. and FINLAND, M.
1951 Comparison of Methods for Determining Sensitivity of Bacteria to Antibiotics in Vitro. *A. M. A. Arch. Int. Med.* 88: 446-460.
- 36.—KENNEY, M., ARROWSMITH, ELIZABETH and WOLF J.
1956 A Comparison Between Standardized Paper Disc and Tube-Dilution Methods for Bacterial Sensitivity to Antibiotics and Their Correlation to Patients Response to Therapy. *Citado en Bacteriological Proceedings*. Pág. 64-65. (M4).
- 37.—KOLMER, JOHN A.
1956 A Comparative Study of Ten Antibiotics Components in the Treatment of Experimental.— Syphilis of Rabbit. *Antibiotic Annual 1955-1956*: 592-595. *Medical Encyclopedia, Inc.* New York, N. Y.
- 38.—LANGMUIR, ALEXANDER D.
1958 Ecologic and Epidemiologic Aspects of Staphylococic Infections in Hospitals. *J. A. M. A.* 166: 1202-1203.
- 39.—LEWIS, G. W.
1957 Acute Immediate Reactions to Penicillin. *Brit. Med. J.* 5027: 1153-1157.
- 40.—LONG, PERRIN H.
1953 Fatal Anaphylactic Reactions to Penicillin. *Antibiotics Annual 1935-1954*: 35-37. *Medical Encyclopedia, Inc.* New York, N. Y.
- 41.—MARTI IBAÑEZ, FÉLIX.
1953 Historical Perspectives of Antibiotics: Past and Present. *Antibiotics Annual 1953-1954*: 3-9. *Medical Encyclopedia, Inc.* New York, N. Y.
- 42.—MARTI IBAÑEZ, FÉLIX.
1956 The Next Half Century in Antibiotic Medicine and Its Impact on the History of the Clinical Case History. *Antibiotics Annual 1955-1956*: 3-18. *Medical Encyclopedia, Inc.* New York, N. Y.
- 43.—MOIRACHI-RUGGENINI, A.
1956 Studio Sulla Resistenza del Germi alla Colimicina. *Minerva Médica* II: 836-839. Torino, Italia.
- 44.—MONTESINOS, F. y JARA, MARY.
1954 Guía Farmacéutica. I Edición, pág. 328. Lima.
- 45.—MORALES S., J., AGURTO, M. y HUAPAYA, J.
1953 Contribución al Estudio de la Estreptomicina y PAS Resistencia. *Arch. Per. de Patol. y Clin.* 6: 153-167. Lima.
- 46.—MORALES S., J. y MIRANDA, H.
1954 La Importancia de la Determinación del Espectro Antibiótico Frente al Problema de la Resistencia Bacteriana. *Arch. Per. de Patol. y Clin.* 8: 167-175. Lima.

- 47.—MORALES S., J.
1956 Importancia Clínica de la Determinación del Espectro Antibiótico y el Problema de la Resistencia Bacteriana. *Rev. de Patol. y Clin.* 1: 30-38. Lima.
- 48.—MORALES S., J. y VELAZCO S., CARMELA.
1957 Curvas Standard y Determinación de Potencia Antibiótica. *Rev. de Medicina Exp.* XI: 92-103. Lima.
- 49.—OSWALD, ELIZABETH J. and col.
1953 Penicillin Resistance Encountered in Staphylococci Isolated from Selected Groups. Antibiotics Annual 1953-1954: 318-321. *Medical Encyclopedia*, Inc. New York, N. Y.
- 50.—PAULETTA, G.
1952 Attività di Alcuni Esteri del Cloramfenicolo Somministrati per Via Orale. *Il Farmaco. Ed. Scientifica*, Vol. VII: 3-10.
- 51.—PETERSON, E. H., CHALQUEST, R. and LUTHER, H. G.
1956 Oxytetracycline in the Prophylaxis of Synovitis in Experimentally Infected Chickens. Antibiotics Annual 1955-1956: 313-318. *Medical Encyclopedia*, Inc. New York, N. Y.
- 52.—RALEIGH, JAMES W. and others.
1958 Recent Developments in the Treatment of Tuberculosis in Man. *J. A. M. A.* 166: 921-925.
- 53.—RANDALL, W. A., DURBIN, C. G., WILNER, J. and COLLINS, J. H.
1953 Antibiotic Concentration and Duration in Animal Tissue and Body Fluids. I. Blood Serum and Milk of Cows. Antibiotics Annual 1953-1954: 421-427. *Medical Encyclopedia*, Inc. New York, N. Y.
- 54.—RANDALL, W. A. and BURTON, J. M.
1957 Report on Antibiotics in Animal Feeds. *J. of the A. O. A. C. Chemists* 40: 857-864.
- 55.—REAÑO VASQUEZ, D. A.
1957 Contribución al Estudio de Algunos Estafilococos en los Niños. Aspectos: Clínico, Bacteriológico, Incidencias. Tesis de Bachiller, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
- 56.—REESE, H. N., VAUGHN, H. and others.
1957 Antibiotics in Poultry Meat Preservation. Development of Resistance Among Spoilage Organisms. *Applied Microbiology* 5: 331-333.
- 57.—ROGERS, M. A., RYAN, W. L. and SEVERENS, J. M.
1955 A New Method for the Rapid Determination of Bacterial Sensitivity. *Antib. and Chemoth.* 5: 382-385.
- 58.—SEAL, JOHN R.
1956 Mass Prophylaxis of Epidemic Streptococcal Infections. Report on the use of Penicillin Prophylaxis in the Navy During the Winter of 1954 to 1955. Antibiotics Annual 1955-1956: 202-216. *Medical Encyclopedia*, Inc. New York, N. Y.
- 59.—SELZER, G. B. and WRIGHT, W. W.
1957 Paper Chromatography of the Tetracycline Antibiotics and Their Epimers. *Antib. and Chemoth.* 6: 292-296.

- 60.—SHAFFER, T. E. and others.
1957 Staphylococcal Infections in Newborn Infants. II. Report of 19 Epidemic Caused by an Identically Strain of Staphylococcus Pyogenus. Am. J. of Pub. Health 47: 990-994.
- 61.—SHAW, R. G. and McLEAN, J. A.
1957 Chloramphenicol and Aplastic Anaemia. M. J. Australian 1: 352-359.
- 62.—SMITH, L. W. and WALKER, DOLAN ANN.
1951 Penicillin Decade 1941-1951 Sensitization and Toxicities. Arundel Press Inc. Washington D. C.
- 63.—STURT, MUDD.
1958 Staphylococcal Infections in the Hospital and Community. J. A. M. A. 166: 1177-1178.
- 64.—THAYSEN, E. H. and ERIKSEN, K. R.
1956 Staphylococcal Enteritis Following Administration of the Tetracyclines. Antibiotics Annual 1955-1956: 867-874. Medical Encyclopedia, Inc. New York, N. Y.
- 65.—TROLLE-LASSEN, C.
1954 Undersolger Over en Enzymatisk-Mikrobiologisk Analisemetode for Kloramfenikolestre. Archiv for Pharmaci of Chemi 61: 435-452. Copenhagen.
- 66.—TROY, WILLIAM and col.
1953 The effect of Puromycin on Experimental Tumors. Antibiotics Annual 1953-1954: 186-190. Medical Encyclopedia, Inc. New York, N. Y.
- 67.—TUNEVALL, G. and ERICSON, N.
1954 Sensitivity Tests by Disc Method as a Guide for Chemotherapy. Antib. and Chemoth. 4: 886-893.
- 68.—UNITED STATES PHARMACOPEIA.
1955 Edición XV.
- 69.—URQUIZO B., R. SOLEDAD.
1957 Valoración del Cloramfenicol en Especialidades Farmacéuticas. Tesis de Bachiller. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
- 70.—VACCARO, H., PAREDES, L. and VALENZUELA, E.
1956 In Vitro Sensitivity of 300 Strains of Micrococcus Pyogenes Isolated From Carriers to Seven Antibiotics. The Problem of the Resistant Staphylococci in Chile. Antibiotics Annual 1955-1956: 623-633. Medical Encyclopedia, Inc. New York, N. Y.
- 71.—VALENTIN, F. C. O. and SHOOTER, R. A.
1954 Findlay's Recent Advances in Chemotherapy. Vol. III The Blakiston Company - New York.
- 72.—VIDAL AMAT, E.
1953 Importancia del Diagnóstico Bacteriológico de la Flora Microbiana en Endodoncia y Acción de los Medicamentos in Vitro. Tesis de Bachiller. Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
- 73.—WAKSMAN, SELMAN A.
1949 Streptomycin. Nature and Practical Applications. The Williams and Wilkins Co. Baltimore.

- 74.—WEISS, P. J., ANDREWAN, MARY LOU and WRIGHT, W.
1957 Solubility of Antibiotics Twenty Four Solvents. Use in Analysis. Antib. and Chemoth. 7: 374-377.
- 75.—WELCH, H. and LEWIS, C. N.
1951 Antibiotic Therapy. The Arundel Press, Inc. Washington D. C.
- 76.—WELCH, HENRY.
1954 Chemotherapy in Infectious Diseases. American Professional Pharmacist.
- 77.—WELCH, H., JESTER, W. and BURTON, J. M.
1955 Antibiotics in Fluid Milk. Antib. and Chemoth. 5: 571-574.
- 78.—WELCH, HENRY.
1955 Terapia Antibiótica. *Medical Encyclopedia*, Inc. New York, N. Y.
- 79.—WELCH, H., JESTER, W. and BURTON, J. M.
1956 Antibiotics in Fluid Market Milk. Third Nationwide Survey. Antib. and Chemoth. 6: 369-374.
- 80.—WELCH, HENRY.
1957 Problems of Antibiotics in Food as the Food and Drug Administration Sees Them. American J. of Pub. Health 44: 701-706.
- 81.—WEST, M. K., VERWEY, W. F. and MILLER, A. K.
1956 The Biologic Activity of Eucilin. Antibiotics Annual 1955-1956: 231-235. *Medical Encyclopedia*, Inc. New York, N. Y.
- 82.—WISE, ROBERT I.
1958 Principles of Management of Staphylococcal Infections. J. A. M. A. 166: 1178-1182.
- 83.—WOODS, J. M., MAUNING, I. H. Jr. and PETERSON, C. N.
1951 Monilial Infections Complicating the Therapeutic Use of Antibiotics. J. A. M. A. 145: 207-211.
- 84.—WRIGHT, W. A., BOYER, D. D. and STRODE, J. W.
1956 Genetic Aspects of Antimicrobial Therapy. Antibiotics Annual 1955-1956: 27-31. *Medical Encyclopedia*, Inc. New York, N. Y.
- 85.—WYSHMAN, D. N., MULHERN, M. and others.
1957 Staphylococcal Infections in an Obstetric Unit. I. Epidemiologic Studies of Pyoderma Neonatorum. New England J. Med. 257: 295-303.
- 86.—WYSHMAN, D. N., MULHERN, M. and others.
1957 Staphylococcal Infections in an Obstetric Unit. II. Epidemiologic Studies of Puerperal Mastitis. New England J. Med. 257: 304-306.
- 87.—WYSHMAN, D. N. and others.
1957 Micrococcal (Staphylococcal) Infections in a General Hospital. J. A. M. A. 164: 1733-1739.
- 88.—ZAPFF DAMMERT, M.
1955 La Prueba de Sensibilidad a los Antibióticos y el Problema de la Resistencia Microbiana. Tesis de Bachiller. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.