

8 5 - 9 0

082434704

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS



**ACCION ANTIMICROBIANA DE 3 SUBSTANCIAS USADAS COMO
PROMOTORES DEL CRECIMIENTO EN LA PRODUCCION ANIMAL
SOBRE 3 CEPAS DE REFERENCIA EMPLEADAS EN LA
VALORACION DE ANTIBIOTICOS.**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

EMA CATALINA MARTINEZ FELIX

DIRECTOR DE TESIS:

DR. M.V.Z. AGUSTIN RAMIREZ ALVAREZ

ZAPOCAN, JALISCO. AGOSTO 1994

AGRADEZCO A DIOS.

POR DARME PACIENCIA EN MIS MOMENTOS
DE DESESPERANZA, Y TODA LA FUERZA
PARA SEGUIR ADELANTE.

A G R A D E C I M I E N T O S .

A MI UNIVERSIDAD.

A MI FACULTAD.

A MI H. JURADO

Q.F.B. CARMEN YOLANDA PARTIDA O.
Q.F.B. CRISTINA MORAN SALAS
M.V.Z. DAVID ROMAN SANCHEZ CHIPRES

COMO AGRADECIMIENTO MUY ESPECIAL
A MI DIRECTOR DE TESIS.
DR. M.V.Z. AGUSTIN RAMIREZ ALVAREZ
POR SU INTERES Y AYUDA EN LA
REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

AL M.V.Z. FRANCISCO HOLGUIN HDEZ.
POR SU VALIOSA AYUDA.

Y A TODAS AQUELLAS PERSONAS
QUE DE UNA U OTRA FORMA CONTRIBUYERON
PARA LA REALIZACION DE LA PRESENTE
INVESTIGACION.

DEDICATORIAS.

A MI PADRE.

QUIEN CREO EN MI UN DESEO ABRUMADOR
DE ESTUDIAR Y PRACTICAR EL ACTO DE
LA MEDICINA VETERINARIA.

A MI MADRE.

QUIEN ME ALENTO EN MIS EMPEÑOS
CIENTIFICOS DURANTE MIS AÑOS
DE FORMACION PROFESIONAL.

A MIS HERMANOS Y AMIGOS.

QUIENES COMPARTEN CONMIGO
LA FELICIDAD DE ESTE LOGRO PERSONAL.

CONTENIDO .

	Pagina
RESUMEN .	X
INTRODUCCION .	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .	4
JUSTIFICACION .	6
HIPOTESIS .	7
OBJETIVOS .	8
MATERIAL Y METODOS .	10
RESULTADOS .	13
DISCUSION .	36
CONCLUSIONES .	38
BIBLIOGRAFIA .	39

R E S U M E N

En el presente trabajo se llevo a cabo, el estudio de la sensibilidad, que presentaron tres cepas bacterianas en la enfrentacion de tres substancias utilizadas como promotores del crecimiento. La investigaci3n se efectu3, en el laboratorio de toxicolog3a, en el 3rea de Salud P3blica del Centro Universitario de Ciencias Biol3gicas y Agropecuarias Division de Ciencias Veterinarias.

Se realiz3 la prueba Cil3ndrico - placa para la determinaci3n de la potencia microbiol3gica de antibi3ticos, en la cual se enfrentaron tres cepas de microorganismos de referencia com3nmente utilizadas para la detecci3n de antibi3ticos, Bacillus subtilis, Bacillus cereus var. mycoides, Micrococcus luteus, contra tres antimicrobianos utilizados como promotores del crecimiento en la alimentaci3n animal, Olaquinox, Carbadox y Furazolidona.

En los resultados obtenidos se aprecia que la cepa Bacillus cereus var. mycoides, fue la m3s sensible a los tres antimicrobianos. Llegando a obtener unas concentraciones desde .1 a 5 ug/ml (microgramos por mililitro) Y la cepa que present3 menos susceptibilidad fue Micrococcus luteus. con unas concentraciones desde 18 a 250 ug/ml. Como concentraci3n m3nima inhibitoria (CIM).

Es de real importancia hacer incapie que los antibi3ticos as3 como los antimicrobianos son un factor importante en la producci3n animal.

Y por su importancia se debe concientizar a las autoridades, productores y t3cnicos, sobre el uso irracional de este tipo de drogas, utilizandolas de la manera en que se logre el m3ximo beneficio econ3mico y sanitario.

INTRODUCCION .

Desde hace más de 40 años se han venido implementando nuevas técnicas nutricionales y genéticas para una mayor conversión alimenticia, así como una rápida ganancia de peso.

En el año de 1949 Stocktad y Jukes, descubrieron que los residuos de la fermentación del Streptomices aurofaciens adicionados con clorotetlaciclina y privados de la vitamina B12 poseían propiedades estimulantes del crecimiento. Pero confirmaron que el estímulo observado era provocado no por la vitamina, sino por la clorotetraciclina presente en los residuos del proceso. (8,14,26).

Esto abrió una etapa en la aplicación de los antibióticos, adicionandolos así a la alimentación animal para incrementar la tasa de crecimiento, además el uso de los antibióticos mejoraba la conversión alimenticia permitiendo a los animales alcanzar el peso del mercado en menos tiempo y con menor cantidad de alimento. (2,8,18,21).

La adición de los antibióticos a la alimentación animal, incrementan el peso diario de los animales especialmente en la fase precoz del desarrollo, mejorando el estado de carnes y la vitalidad. Además son útiles en el control de enfermedades, reducen la morbilidad y mortalidad. (2,18,25).

Este descubrimiento revoluciono los métodos de producción pecuaria y junto con otros avances, han hecho posible realizar métodos de producción animal altamente eficientes.

La Food and Drugs Administration (FDA) en el resumen del resultado de 135 experimentos, realizados de 1958 a 1971, sobre el efecto estimulante de los antibióticos, constató un aumento del peso promedio de 2.3 % y de eficiencia en la ración del 1.9 %; en relación con el peso y la eficiencia de los animales controles. (8).

Han habido diversas teorías del porque los antibióticos empleados a dosis subterapeúticas estimulan el crecimiento de los animales.

En recopilaciones hechas por diversos investigadores fueron considerados los siguientes mecanismos, como causa del efecto promotor.

- 1) Aumento de la fagocitosis.
- 2) Destrucción de bacterias dañinas productoras de toxinas.
- 3) Acción sobre infecciones subclínicas.
- 4) Mejoramiento de la absorción a nivel de la pared intestinal.
- 5) Interferir con bacterias que compiten con el huésped por metabolismos.
- 6) Neutralización de toxinas.
- 7) Promoción de una nutrición y digestión más eficiente.
- 8) Estimular el desarrollo de bacterias productoras de vitaminas.
- 9) Actuando sobre todo el sistema mejorando los procesos metabólicos y fisiológicos del huésped.
- 10) Retardar el tiempo de circulación del alimento por el tubo digestivo. (8,10,13,20,25,26).

Los antibióticos que estimulan el crecimiento de los animales, poseen en común el hecho de frenar o inhibir el crecimiento de ciertos grupos de microorganismos, gram positivos, negativos o ácido resistentes. (8,10).

En las pruebas microbiológicas se puede determinar la potencia, así como la presencia de antimicrobianos en los productos de origen animal, la cual, se determina comparando la dosis que inhibe el crecimiento de un microorganismo adecuado y susceptible. (23).

Esto se hace para demostrar la capacidad del antimicrobiano, para matar o suprimir el desarrollo de un microorganismo vivo. (21).

Esta prueba (Difusión en Placa) está recomendada, comparando los tamaños de las zonas de inhibición, y deberá hacerse con aquellos organismos de sensibilidad y naturaleza biológica conocida. (17).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los peligros del empleo irracional de los antimicrobianos para fines nutritivos y terapéuticos, así como su influencia sobre la salud del ser humano, son los que conciernen con el aumento de resistencia bacteriana de la flora intestinal, que dificulta la lucha contra las infecciones en el hombre y los animales.(2).

Las consecuencias medicas y ecológicas de este fenómeno, pretende exhortar, por un lado, a incrementar la investigación en esta área multidisciplinaria de la biomedicina y por otro lado, al control sobre la administración de los fármacos antimicrobianos.(1).

La Food and Drugs Administration (FDA) en 1972, establece los riesgos potenciales del uso de antibióticos en la alimentación animal.(7,21).

Es por eso que muchos países, no autorizan el uso de antibióticos de empleo terapéutico, para utilizarlos como aditivos en la alimentación animal.(26).

En México el Reglamento de la ley General de la Salud, en el artículo # 449, señala que la carne, para que sea apta al consumo humano, entre otras cosas, debe estar libre de residuos de antibióticos.(12).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) determinó, que para favorecer el crecimiento de los animales, no es necesario emplear concentraciones de antibióticos mayores de 20 mg/kg (miligramos por kilo). de alimento y en ciertos casos puede ser administrado para tratar o prevenir enfermedades, siendo la dosis no mayor de 100 mg. por kg. de alimento.(20).

Las diferentes especies y cepas de microorganismos, tienen grados variables de susceptibilidad a cada uno de los antimicrobianos, además la sensibilidad de un organismo a cierto antimicrobiano, puede variar, especialmente durante el tratamiento.(17,21).

En vivo la sensibilidad o resistencia de organismos específicos en infecciones, es difícil de probar adecuadamente. El problema principal radica en la complejidad y diversidad de la naturaleza de la infección, por organismos que pertenecen a las mismas especies bacteriales. (11).

Una reducción en la actividad microbiana, puede revelar cambios no demostrables por métodos químicos. Los métodos microbiológicos generalmente utilizan un patrón de referencia para resolver dudas, con respecto a una posible pérdida de actividad microbiana. (24).

J U S T I F I C A C I O N .

Las bacterias de referencia que se utilizarán, se emplean tanto para determinar la potencia, como para comprobar la presencia de residuos antibióticos, en los alimentos de origen animal.

Este tipo de investigación es de suma importancia como base para estudiar y poner control al uso irracional de antibióticos empleados en la medicina veterinaria. (14)

El presente estudio permitirá comprobar la sensibilidad de las bacterias utilizadas, y la acción antimicrobiana de los antibióticos, utilizados como promotores del crecimiento en la alimentación animal.

En el caso de contar con microorganismos que tengan elevada sensibilidad, a los promotores del crecimiento, se podrían efectuar estudios sobre la farmacocinética y el poder residual de dichas sustancias.

Conociendo la sensibilidad de las cepas de referencia, a los antibióticos empleados en la producción animal como promotores del crecimiento, se facilitará discriminar sustancias antimicrobianas en muestras con contaminación múltiple, lo que es de gran relevancia para estudios más detallados que el monitoreo.*

* Comunicación personal.

Dr. M.V.Z. Agustín Ramírez Alvarez.

H I P O T E S I S .

En virtud de tratarse de diferentes géneros y especies de cepas microbianas, se esperan variaciones importantes de sensibilidad, a los antimicrobianos empleados como promotores del crecimiento en la producción animal.



O B J E T I V O G E N E R A L .

Conocer la sensibilidad de 3 cepas bacterianas de referencia, utilizadas en pruebas microbiológicas de detección de antibióticos, frente a sustancias empleadas como promotores del crecimiento en la alimentación animal.

OBJETIVOS PARTICULARES.

I. Determinar la sensibilidad de:

Bacillus subtilis

ATCC* 6633

Bacillus cereus var. mycoides

ATCC 11778

Micrococcus luteus

ATCC 9341

Frente a:

Carbadox

Furazolidona

Olaquinox

II. Conocer la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de cada antimicrobiano en las 3 cepas de referencia.

III. Evaluar el comportamiento de los antimicrobianos sometidos a varios disolventes así como su viabilidad posterior a refrigeración.

* AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION.

M A T E R I A L Y M E T O D O .

Para la realizacion de este trabajo, se estudio la sensibilidad de tres microorganismos, utilizados para la deteccion y estudio de antibióticos.

Los microorganismos que se estudiaron fueron:

Bacillus subtilis.
Bacillus cereus var. mycoides
Micrococcus luteus

Cada microorganismo se confronto por separado a diferentes concentraciones de substancia. Midiendo la sensibilidad presente en placas de agar inoculadas

Se emplearon tres substancias de importancia en la produccion animal, utilizadas como promotores del crecimiento.

Las substancias que se emplearon fueron:

Carbadox.
Olaquinox.
Furazolidona.

Respecto a la obtención de la suspensión de esporas y a la técnica de la difusión en placa, se empleo la establecida por la Secretaria de Salubridad y Asistencia (S.S.A.). (9,24)

Los cambios que se realizaron, fueron 10 ml. de medio de cultivo, por caja de petri, inoculadas con 1'000,000 de Unidades Formadoras de Colonias (U.F.C.), esta técnica se utilizó para las tres cepas de referencia.

Las diluciones y el manejo de las sales se realizó de la siguiente manera:

PRUEBA DE SOLUBILIDAD Y VIABILIDAD.

Se pesaron las sales puras y se agregaron a cada uno de los solventes iniciales, se observó el comportamiento físico con cada uno de ellos y se diluyeron en agua destilada, hasta obtener una solución que contenía; 50 ug/ml (microgramos por mililitro).

Se aplicaron 200 ul (microlitros) en cada uno de los cilindros, colocados en las placas con agar inoculadas, conteniendo 6 cilindros por caja, se metieron a incubación y después de 24 hr. se leyeron resultados, y así sucesivamente una vez por semana, las diluciones se mantuvieron durante la prueba, en refrigeración a una temperatura de 4 grados centígrados. Se realizó por siete semanas hasta que empezaron a presentarse cambios en los halos de inhibición (La variación presentada fue el decremento de su tamaño).

De esta prueba se eligió el solvente inicial ideal para cada una de las sales empleadas.

PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CIM).

Esta prueba se realizó por separado, en cada una de las cepas empleadas con las sales utilizadas. Se pesó y se disolvió hasta obtener una solución de 1000 ug/ml., de la cual se derivaron las siguientes diluciones:

1000 ----> 100 ----> 10 ----> 1 ----> .1 ----> .01

De cada una de las diluciones se aplicaron 200 ul. en cada uno de los cilindros, colocados en las placas de petri con agar inoculadas. Se procedió a incubar por 24 hr. y se observaron resultados.

De los cuales dependió la siguiente prueba, así hasta encontrar la concentración en la que los halos de inhibición, se empezaran a presentar negativos, hasta la concentración en la que todos los casos lo fueran y así encontrar la CMI.

En la prueba final se realizó con 12 cajas, formado cuatro líneas de tres cajas, utilizando la CMI intercalada en cada caja de la siguiente manera:

Tres cilindros con CMI.
Tres con otra concentración.

Esto con el fin de comprobar el efecto de concentración mínima inhibitoria.

1era línea de cajas, la CMI intercalada con una concentración dos puntos más alta.

2da línea de cajas, la CMI intercalada con una concentración un punto más alta.

3era línea de cajas, la CMI intercalada con una concentración un punto más baja.

4ta línea de cajas, la CMI intercalada con una concentración dos puntos más baja.

R E S U L T A D O S .

En este estudio se realizaron 2370 pruebas, en la enfrentación de las cepas utilizadas en la valoración de antibióticos, contra los tres antimicrobianos utilizados como promotores del crecimiento.

De cuyos resultados, respecto al diámetro del halo de inhibición se considero:

positivos: halos mayores de 8 mm

negativos: halos de 8 mm.

Esto porque el cilindro utilizado tiene un diámetro de 8 mm. (figura 1)

En relación con los resultados se estudio la sensibilidad presentada por cada cepa, donde los antimicrobianos fueron disminuyendo su dilución, hasta que se presento un halo negativo, llamado Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), que equivale a la concentración invitro de un principio activo necesario para soportar toda multiplicación de un germen dado.(22).

En la tabla uno, se presentan los resultados de las CMI de los antimicrobianos, en cada una de las cepas.

En estos resultados se podrá observar y determinar, cual de las cepas es la más sensible, a la concentración más baja de antimicrobiano, así mismo la cepa menos sensible.(gráfica 1)

En la prueba realizada, Bacillus cereus var. mycoides vs. Olaquinox se presentó un halo de inhibición diferente, pues este no se presento de manera clara, sino que se mostró en forma de nata, a diferencia del resto del crecimiento de la placa, al lavar la placa, esta capa se disolvía y fácilmente se removía, quedando el halo ya en forma clara.

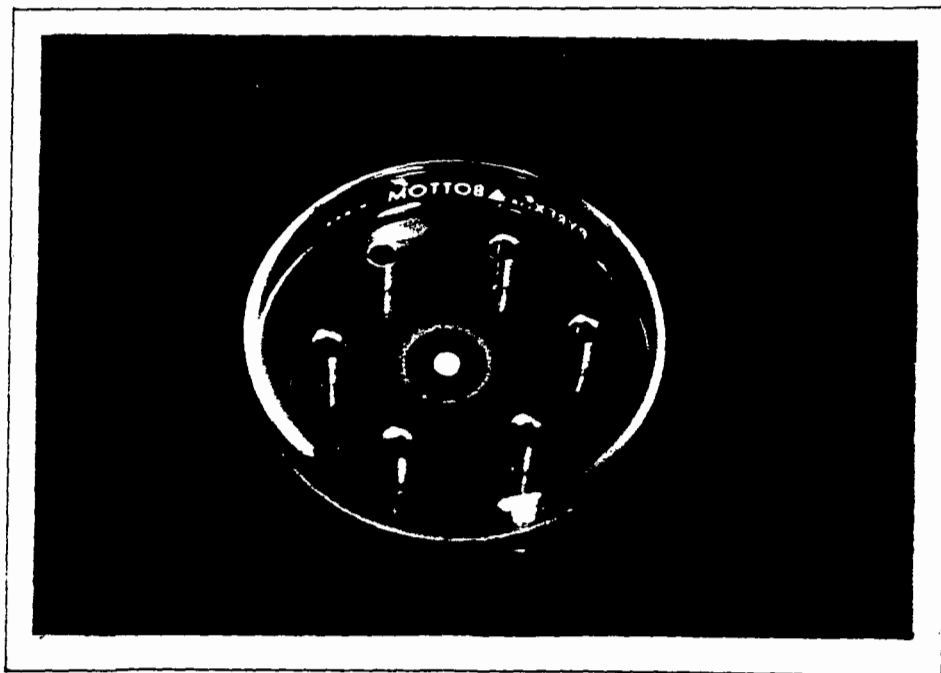
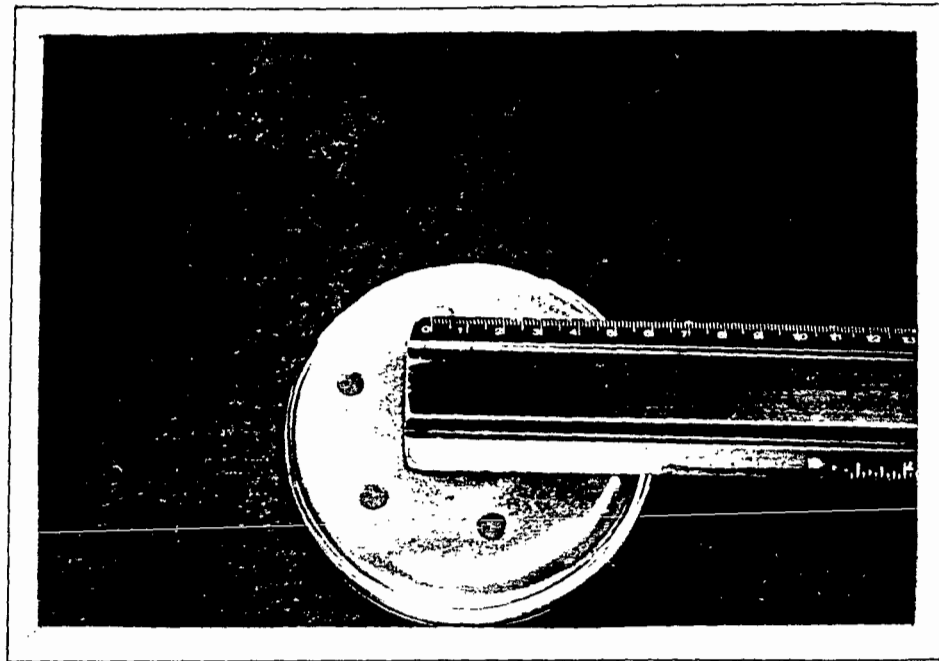


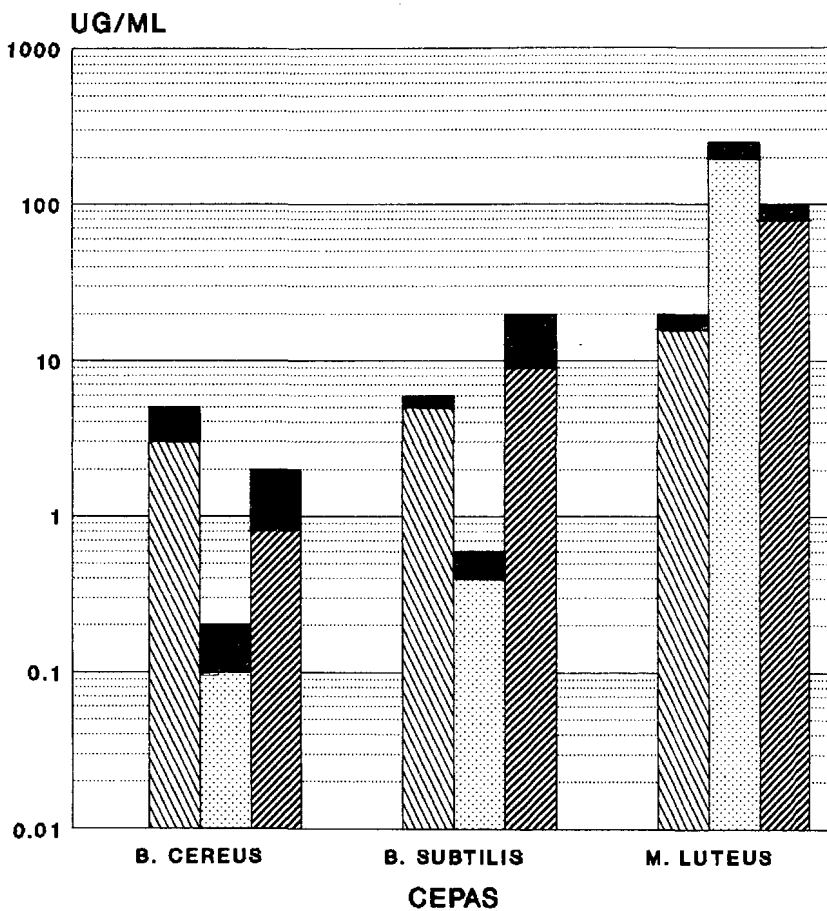
Figura 1

CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA**(C M I)**

CEPA DE REFERENCIA	ANTIMICROBIANO		
	CARBADOX	OLAQUINDOX	FURAZOLIDONA
Bacillus cereus var. mycoides	3-5 ug/ml	.8-2 ug/ml	.1-.2ug/ml
Bacillus subtilis	5-6 ug/ml	9-20 ug/ml	.4-.6 ug/ml
Micrococcus luteus	18-20 ug/ml	80-100 ug/ml	200-250 ug/ml

TABLA 1

CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA C M I



GRAFICA 1

En la prueba Micrococcus luteus. vs. Furazolidona No se presento halo de inhibición, si no que hubo una alteración en el crecimiento general de la placa, conforme disminuyó la concentración del antimicrobiano aumentaba el crecimiento bacteriano .

Para la valoración de la CMI en este caso, se tomo en cuenta la alteración en el crecimiento de las UFC apreciables a simple vista; hasta la concentración de 200 ug/ml. presentando un crecimiento similar a la placa testigo.

En esta prueba en particular se realizaron algunos cambios de la metodología establecida, para disipar dudas respecto a la potencia de la concentración que se utilizó del antimicrobiano.

Esto refiere a que se penso, que los 200 ul por cilindro, contenían una concentración muy elevada para las UFC que contenía la caja de petri. por lo tanto se opto por colocar 3 cilindros por caja. Y se observó el resultado igual a la prueba anterior.

Después se coloco solo un cilindro por caja, y se observo la misma respuesta en la placa, solo que en este caso la inhibición mínima fue a una concentración mas alta, a la registrada en la primera prueba.

Por lo tanto al no observar en ninguno de los casos halo de inhibición, los resultados considerados fueron los de la primera prueba, para no cambiar la metodología mencionada.

En esta prueba se presentó un cambio digno de mencionar, ya que accidentalmente se observó que después de 48 horas, en algunas de las placas que habían sido totalmente inhibidas por el antimicrobiano, se presentó un crecimiento bacteriano, que aumentaba conforme la concentración utilizada disminuía.

Lo que se refiere a los resultados de las pruebas de comportamiento a diferentes disolventes iniciales y a las de viabilidad posterior a refrigeración fueron de la siguiente manera:

Como disolventes iniciales se utilizaron:

- 1) Agua Destilada.
- 2) Acido Clorhídrico al .1 Normal.
- 3) Alcohol Etílico al 100%.
- 4) Metanol al 100%.
- 5) Sol. Buffer # 6.

PRUEBA FISICA.

CARBADOX frente a:

- 1) No disolución, presenta presipitación como sobrenadante.
- 2) No disolución, presenta presipitación como sobrenadante.
- 3) Ligera disolución, poca presipitación.
- 4) Ligera disolución, poca presipitación.
- 5) No disolución, presipitación general.

OLAQUINDOX frente a :

- 1) Ligera disolución, poca presipitación.
- 2) Ligera disolución, poco sobrenadante.
- 3) Ligera disolución, poca presipitación.
- 4) No disolución, presipitación general.
- 5) Ligera disolución, poca presipitación.

FURAZOLIDONA frente a :

- 1) No disolución, presipitación y sobrenadante.
- 2) No disolución, presipitación general.
- 3) Ligera disolución, poca presipitación.
- 4) Ligera disolución, poca presipitación.
- 5) No disolución, presipitación general.

Esta prueba se realizó con Bacillus subtilis y a una concentración del antimicrobiano de 50 ug/ml, en todos los casos.

El comportamiento se evaluó, independientemente del tamaño del halo de inhibición entre los antimicrobianos, sino que fue el comportamiento del halo de inhibición, a través del tiempo que fueron sometidas las diluciones a refrigeración.

En la tabla numero dos, se presentan los resultados promedios de los halos de inhibición en la prueba de viabilidad, en la cual se puede observar los cambios que se presentan en cada uno de los disolventes y el tiempo de refrigeración. (gráficas 2.3.4.).

Se pudo comprobar que después de la segunda semana se empieza a perder la potencia del antimicrobiano, así como se puede observar con cual disolvente se pierde a mayor velocidad la potencia.

En el método estadístico de Correlación y Regresión lineal Simple, Se tomaron en cuenta los halos de inhibición promedio, representado como (Y) de la prueba de sensibilidad y concentración mínima inhibitoria (CMI) y microgramos por mililitro (ug/ml), representado como (X), de cada una de las cepas y concentraciones por separado.

Donde el coeficiente de correlación (r), es un valor que indica el grado de asociación entre dos variables en este caso, Halo de inhibición vs. ug/ml. Y regresión lineal (b) se utiliza para predecir (Y)

conociendo (X) o viceversa, o bien para conocer la relación entre las dos variables. (4,6,28).

Los resultados de este método estadístico se presentan en las tablas 3,4,5,.

En este método no se pudo evaluar el comportamiento de Micrococcus luteus vs. Furazolidona, por no presentar datos numéricos representativos ya que en esta prueba no existió halo de inhibición.

PRUEBA DE COMPORTAMIENTO EN VIABILIDAD

ANTIMICROBIANO CON DISOLVENTE INICIAL	HALO DE INHIBICION (mm)						
	SEMANAS						
	1	2	3	4	5	6	7

OLAQUINOX

H2O	12.6	13.0	11.8	12.3	10.8	12.3	8.1
HCL	12.5	13.6	11.3	11.1	10.6	12.6	8.0
A. ET	13.6	14.3	13.0	12.8	11.3	12.8	11.5
MET	10.0	9.1	8.5	8.6	8.0	8.3	8.0
BUFF	15.0	13.6	11.6	12.0	10.8	10.5	8.8

CARBADOX

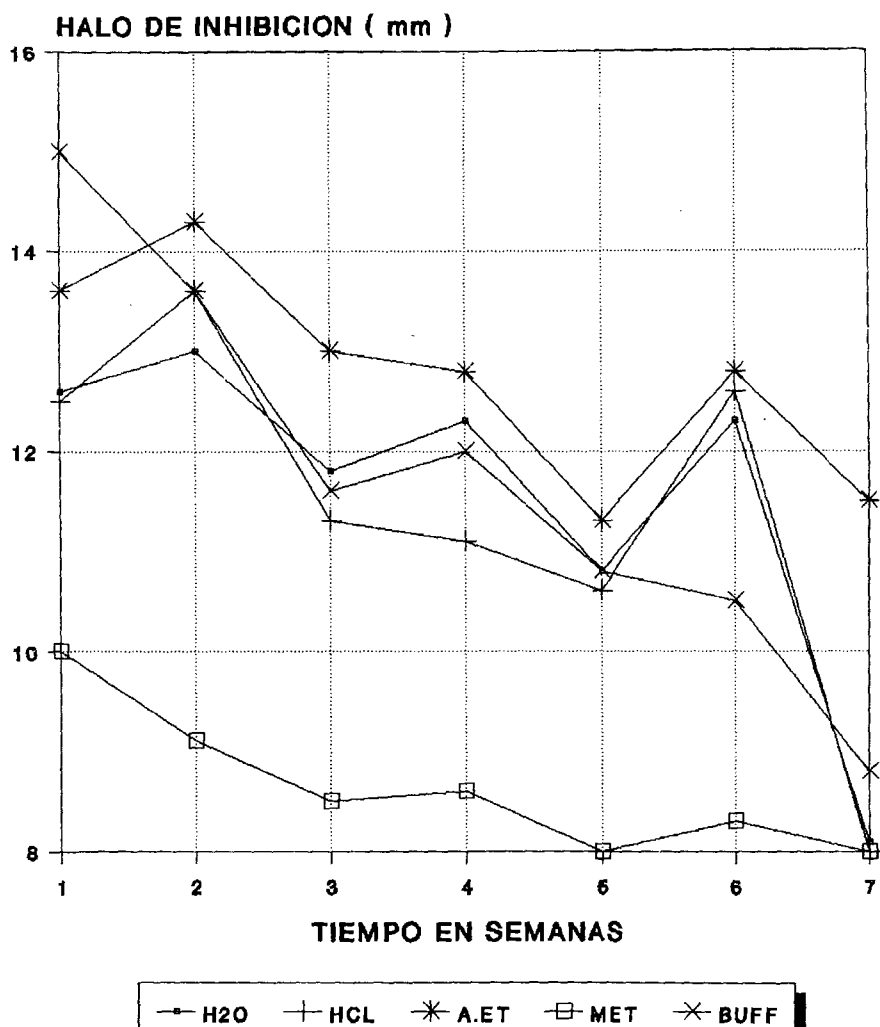
H2O	23.0	24.1	21.5	22.3	21.3	22.1	21.8
HCL	23.8	23.8	22.6	21.5	22.6	23.0	17.8
A. ET	23.6	22.6	21.1	20.1	20.1	21.1	20.3
MET	22.5	23.8	22.0	21.0	21.0	21.0	19.5
BUFF	21.3	22.6	22.1	22.5	23.5	23.0	20.6

FURAZOLIDONA

H2O	29.0	29.0	27.1	25.8	27.0	29.1	23.0
HCL	30.0	28.5	25.8	25.0	26.6	28.1	23.8
A. ET	30.6	30.6	26.3	24.0	26.0	29.0	23.8
MET	28.1	28.8	25.6	25.5	26.0	28.8	24.0
BUFF	28.1	28.0	24.5	24.0	25.5	27.1	24.0

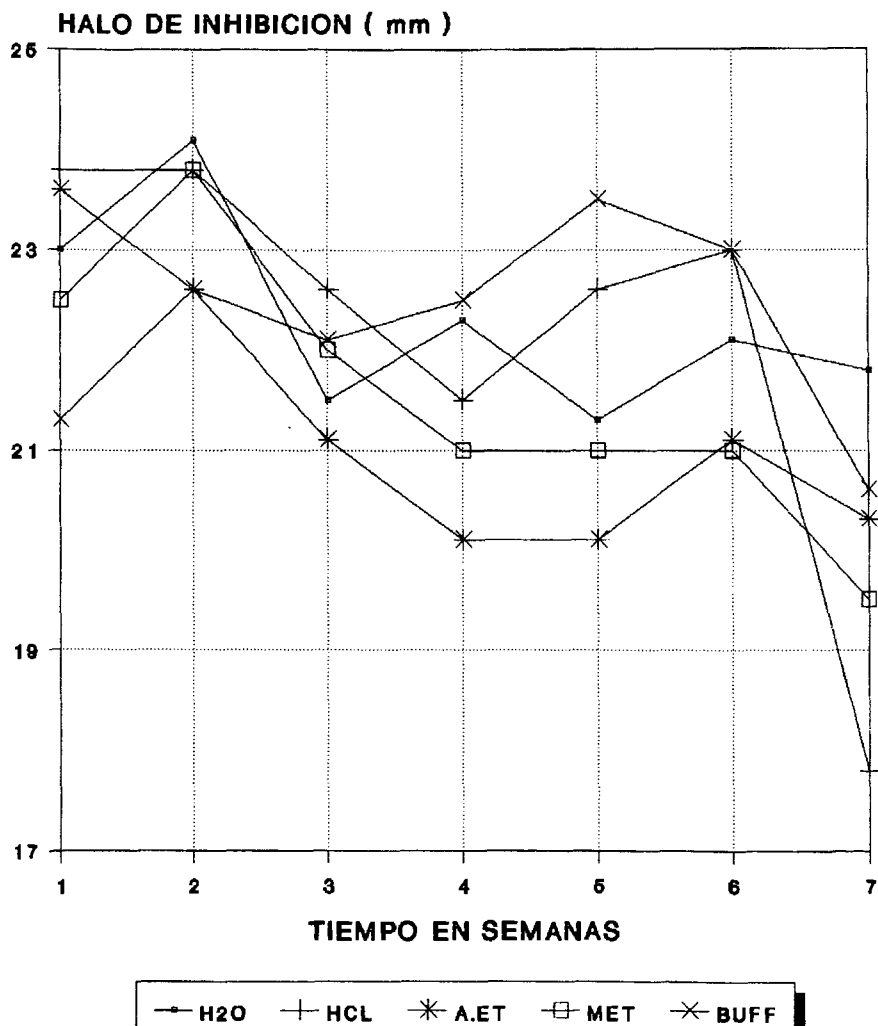
TABLA 2

COMPORTAMIENTO EN VIABILIDAD OLAQUINDOX



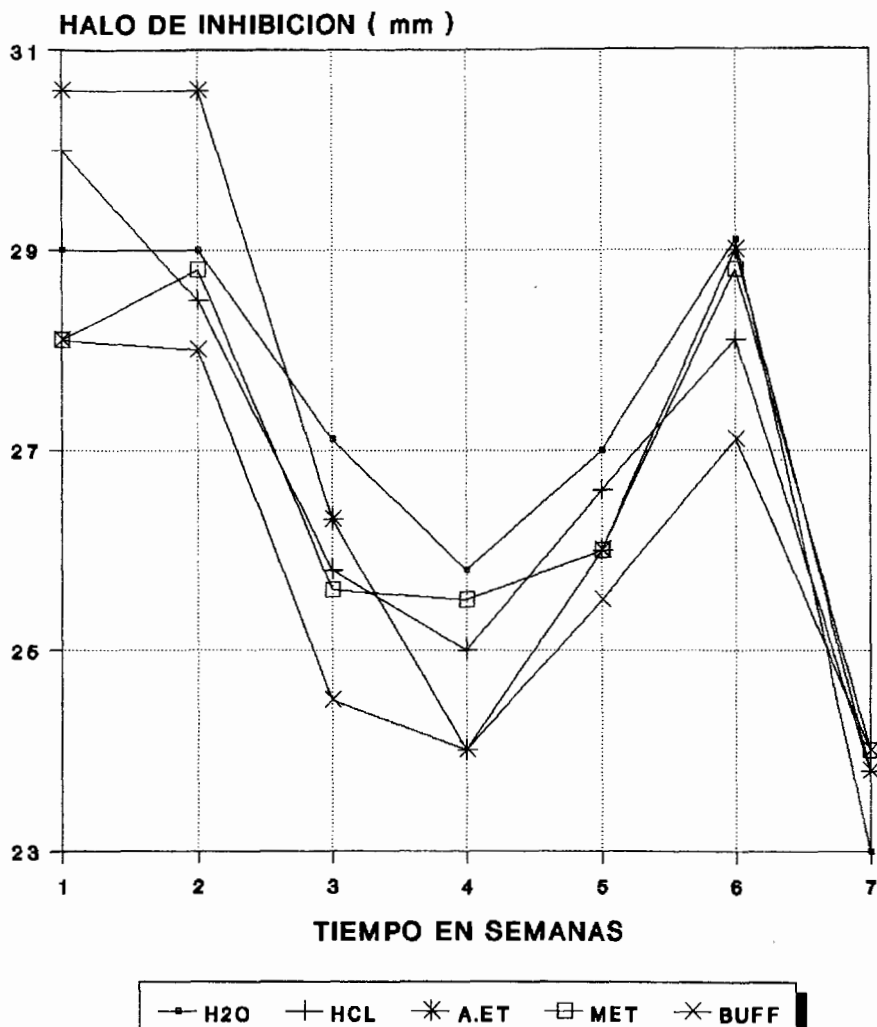
GRAFICA 2

COMPORTAMIENTO EN VIABILIDAD CARBADOX



GRAFICA 3

COMPORTAMIENTO EN VIABILIDAD FURAZOLIDONA



GRAFICA 4

CORRELACION Y REGRESION LINEAL SIMPLE

BACILLUS CEREUS VAR. MYCOIDES			
	OLAQUINDOX	CARBADOX	FURAZOLIDONA
EX	1,272.5000	1,286.0000	1,114.0400
EY	160.3000	206.0000	181.5000
EXY	23,796.6400	36,316.6000	37,277.8800
EX ²	1,015,622.0100	1,015,704.0000	1,010,102.5600
EY ²	1,843.9100	3,494.4000	3,158.5500
Ex ²	891,063.8300	905,450.9300	914,634.4700
Ey ²	132.7100	651.5800	624.5300
Exy	8,105.7300	18,612.6600	21,724.1600
n	13.0000	15.0000	13.0000
r	0.7453	0.7662	0.9089
b _{y/x}	0.0090	0.0205	0.0237
b _{y/x}	61.0700	28.5600	34.7800
a	11.4400	12.5900	12.4400
x	97.8800	85.7300	85.6900
y	12.3300	13.7600	13.9600
CD	55.54%	58.71%	82.61%

TABLA 3

$$Y = y + b_{y/x} (X - x)$$

$$X = x + b_{x/y} (Y - y)$$

CORRELACION Y REGRESION LINEAL SIMPLE

BACILLUS SUBTILIS			
	OLAQUINDOX	CARBADOX	FURAZOLIDONA
EX	1,398.1000	1,265.1000	1,231.8000
EY	166.1000	211.4000	258.1000
EXY	37,294.5000	38,325.4000	36,916.4000
EX ²	1,024,146.0000	1,016,485.0000	1,016,236.4000
EY ²	2,706.2000	3,902.5000	5,459.9000
Ex ²	873,785.7200	909,786.5000	915,080.8500
Ey ²	583.9500	923.1700	1,018.8500
Exy	19,431.0800	20,495.9300	15,721.2200
n	13.0000	15.0000	15.0000
r	0.8602	0.7072	0.5148
b _{y/x}	0.0222	0.0225	0.0171
b _{y/x}	33.2700	22.2000	15.4300
a	10.3800	12.1900	15.8000
x	107.5400	84.3400	82.1200
y	12.7700	14.0900	17.2000
CD	73.99%	50.01%	26.50%

$$Y = y + b_{y/x} (X - x)$$

$$X = x + b_{x/y} (Y - y)$$

CORRELACION Y REGRESION LINEAL SIMPLE

MICROCOCCLUS LUTEUS			
	OLAQUINDOX	CARBADOX	FURAZOLIDONA
EX	4,120.0000	1,441.0000	
EY	212.3000	187.6000	
EXY	78,184.0000	32,090.4000	
EX2	2,337,200.0000	1,024,771.0000	
EY2	3,297.8700	2,908.4000	
Ex2	1,276,300.0000	886,338.9400	
Ey2	480.9100	562.1400	
Exy	23,516.7500	14,068.2900	
n	16.0000	15.0000	
r	0.9492	0.6302	
b y/x	0.0184	0.0158	
b y/x	48.9000	25.0200	
a	8.5300	10.9800	
x	257.5000	96.0600	
y	13.2600	12.5000	
CD	90.09%	39.72%	

$$Y = y + b_{y/x} (X - x)$$

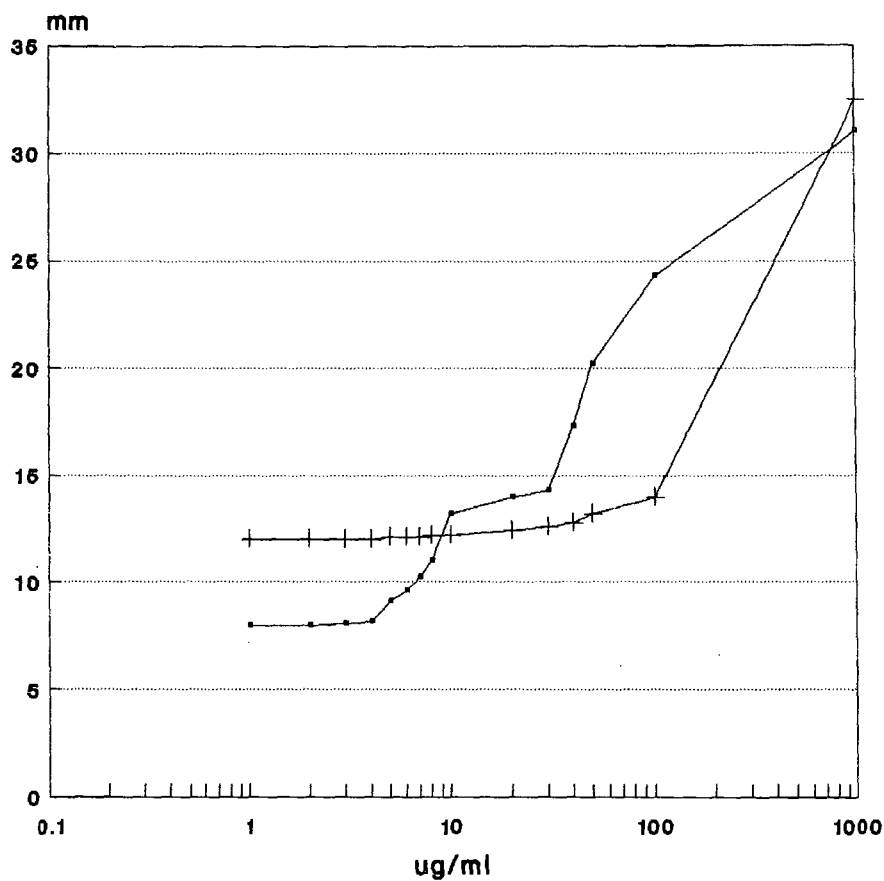
$$X = x + b_{x/y} (Y - y)$$

Para ejemplificar este método, se realizaron las gráficas correspondientes, de las correlaciones y regresiones, de las pruebas realizadas.

Tomando en cuenta los resultados promedios de las enfrentaciones, en la prueba de Concentración Mínima Inhibitoria, como las (Y) observadas y los datos calculados de la formula para despejar a (Y) como (Y) teórica. gráficas (5,6,7,8,9,10,11,12).

En la cual se podrá observar a simple vista que tan relacionadas están las líneas de ambos resultados.

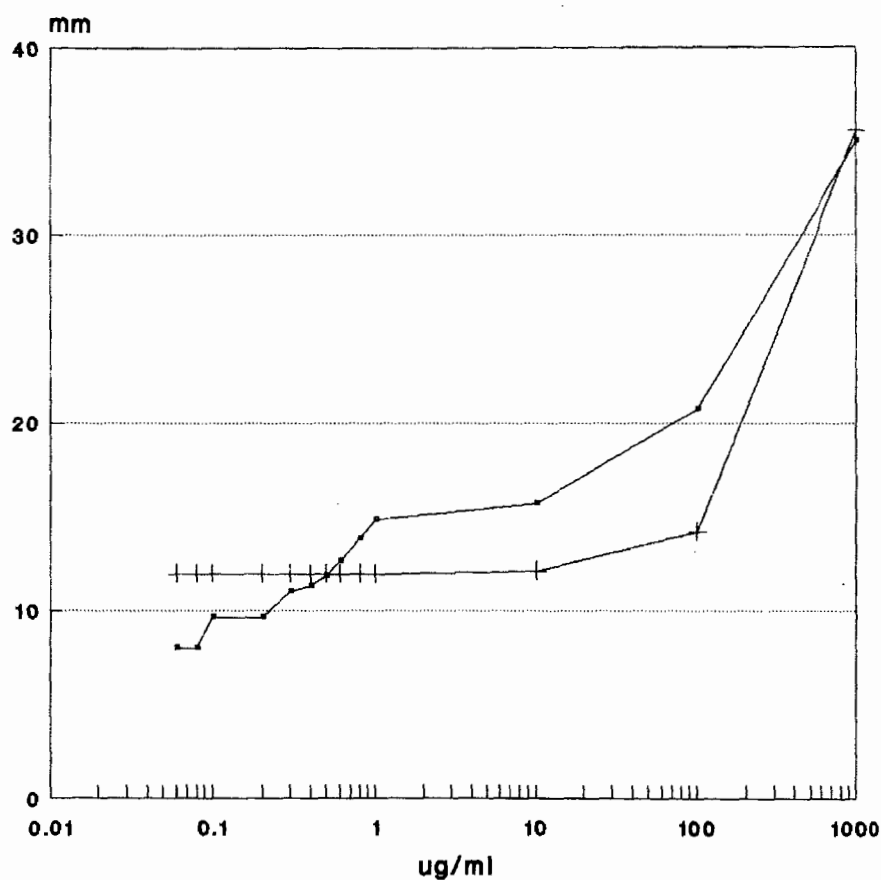
REGRESION LINEAL SIMPLE BACILLUS CEREUS VS. CARBADOX



$r = 0.7662$
CD = 58.71%

GRAFICA 5

REGRESION LINEAL SIMPLE BACILLUS CEREUS VS. FURAZOLIDONA

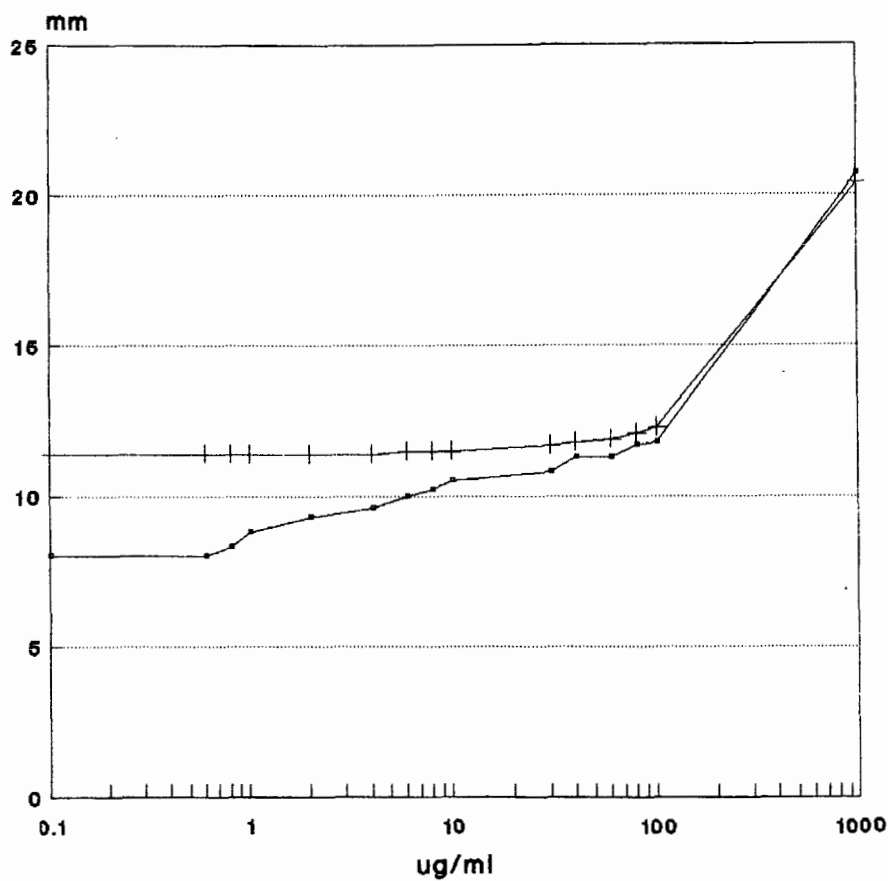


—•— Y OBSERVADA —+— Y TEORICA

$r = 0.9089$
CD = 82.61%

GRAFICA 6

REGRESION LINEAL SIMPLE BACILLUS CEREUS VS. OLAQUINDOX

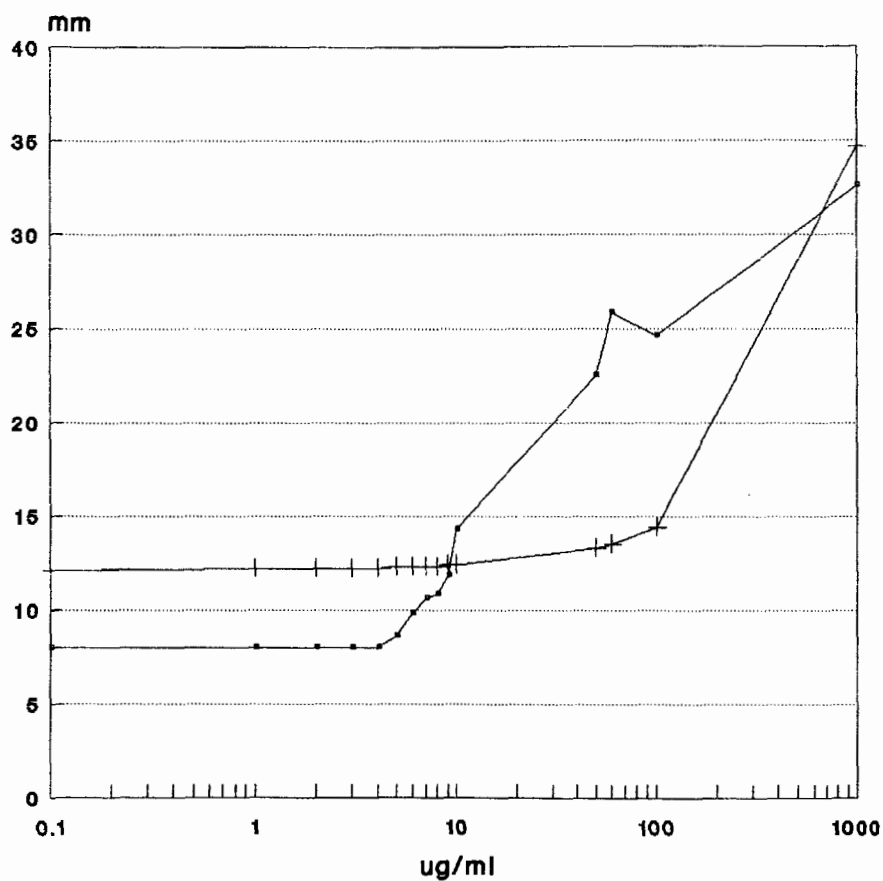


—•— Y OBSERVADA —+— Y TEORICA

$r = 0.7453$
 $CD = 55.54\%$

GRAFICA 7

REGRESION LINEAL SIMPLE BACILLUS SUBTILIS VS. CARBADOX

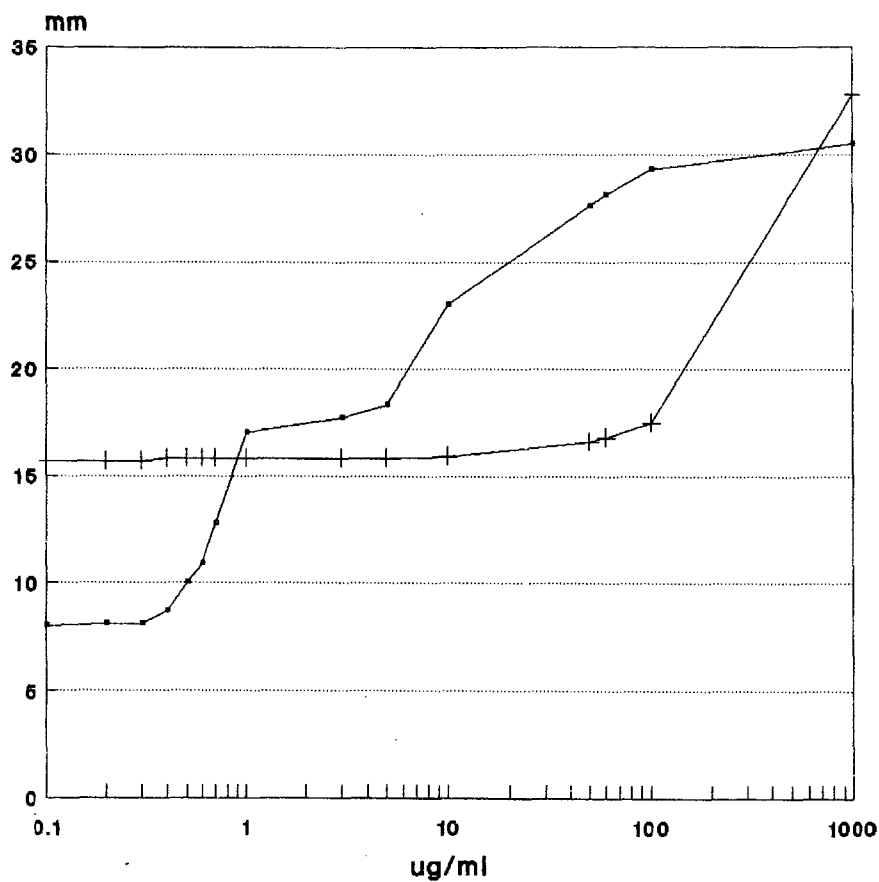


—•— Y OBSERVADA —+— Y TEORICA

$r = 0.7072$
CD = 50.01%

GRAFICA 8

REGRESION LINEAL SIMPLE BACILLUS SUBTILIS VS. FURAZOLIDONA

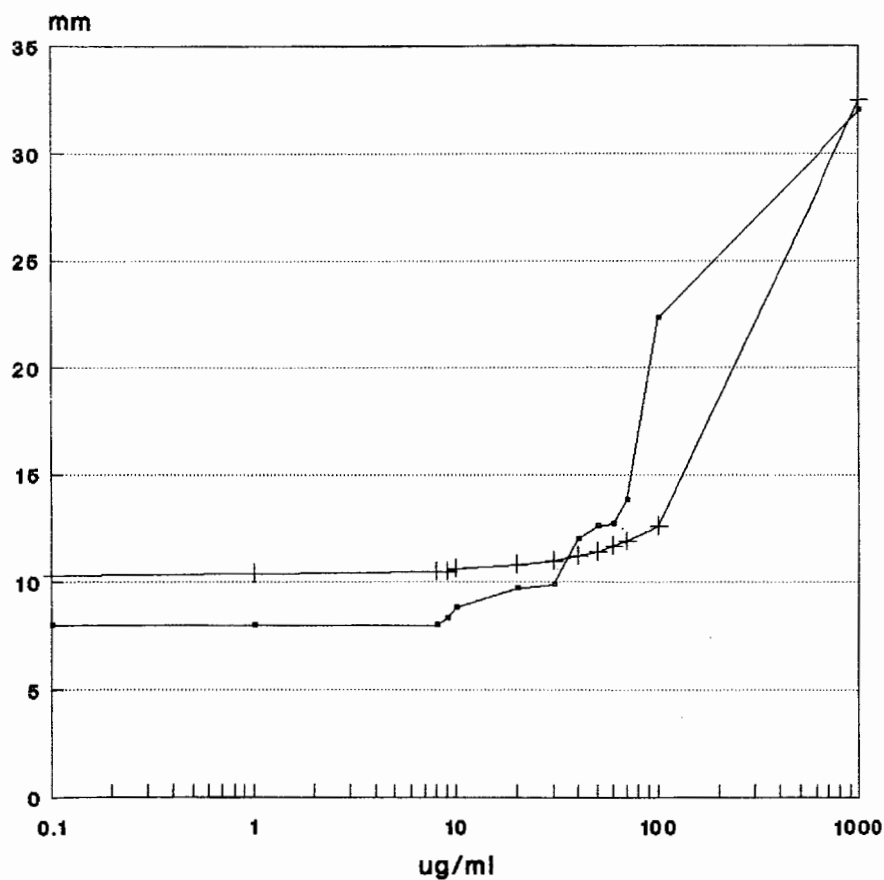


—•— Y OBSERVADA —+— Y TEORICA

$r = 0.5148$
CD = 26.50%

GRAFICA 9

REGRESION LINEAL SIMPLE BACILLUS SUBTILIS VS. OLAQUINDOX

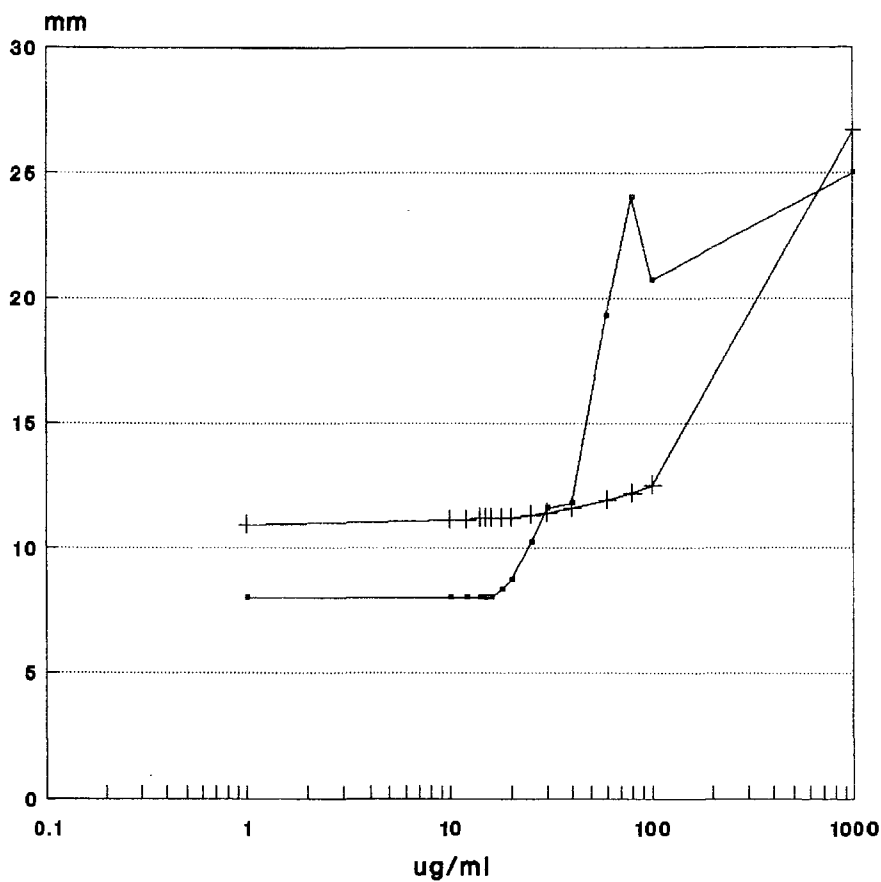


—•— Y OBSERVADA —+— Y TEORICA

$r = 0.8602$
CD = 73.99%

GRAFICA 10

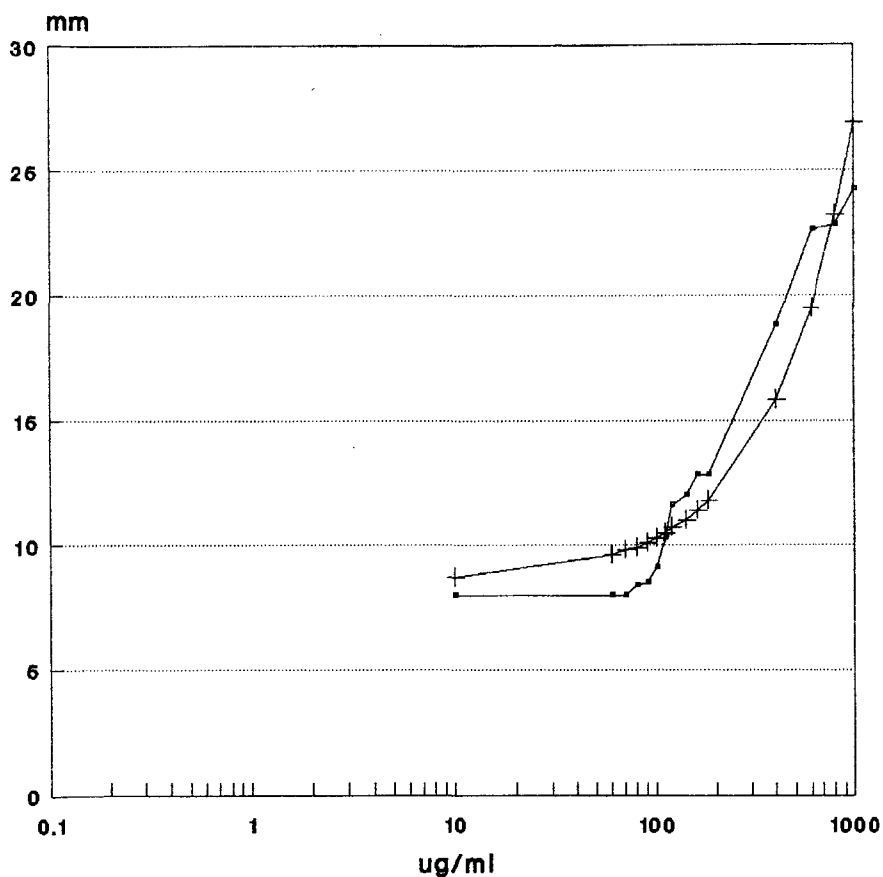
REGRESION LINEAL SIMPLE MICROCOCOCCUS LUTEUS VS. CARBADOX



$r = 0.6302$
CD = 39.72%

GRAFICA 11

REGRESION LINEAL SIMPLE MICROCOCOCCUS LUTEUS VS. OLAQUINDOX



$r = 0.9492$
CD = 90.09%

GRAFICA 12

D I S C U S I O N .

Las actuales prácticas zootécnicas para la explotación animal, que pretenden la optimización económica y biológica, se comenzaron a implementar cuando los productores, técnicos y profesionales, se percataron de que los problemas de enfermedades podrían ser superados, mediante practicas adecuadas de manejo, aplicadas a los animales en explotación intensiva. (19).

Ello a originado dar prioridad al desarrollo de mejores técnicas y procedimientos de alimentación, que superen a los convencionales, de ahí que los antibióticos entre los insumos, sean de uso frecuente en la practica de la alimentación de los animales. Considerandose actualmente ingredientes casi obligatorios en la formulación de raciones. (19).

De todos los aditivos que se emplean, para promover el crecimiento de los animales, los antibióticos y los quimioterapéuticos siguen siendo los mas usuales. (13).

Su popularidad en el campo de la nutrición de los animales, se debe a la influencia inobjetable, que ejercen sobre la eficiencia en ganancias de peso. Sin embargo los efectos secundarios que trae consigo su empleo, son causa de discusiones interminables. (19,25).

Para caracterizar las propiedades microbiológicas de los antimicrobianos se exponen datos acerca de la eficiencia invitro.

La caracterización microbiológica de nuevas sustancias comprende, primeramente datos acerca de la óptima concentración de sustancia activa, que inhibe el crecimiento de bacterias en un cultivo. (3)

Para comprobar la sensibilidad de los microorganismos patógenos, a los diferentes antimicrobianos, es un procedimiento clínico común. Las pruebas miden la concentración de medicamento que se requiere para inhibir el desarrollo de un microorganismo (Concentración mínima inhibidora, CMI), o para destruirlo (Concentración mínima letal, CML ; con bacterias a menudo también conocida como concentración mínima bactericida, CMB). (5,16)

En el presente estudio se encontro una sensibilidad mayor en Bacillus cereus var. mycoides. Ya que la CMI de los tres antimicrobianos en esta cepa, fueron los de menor concentración, respecto a las otras dos cepas de referencia.

El enfrentamiento del antimicrobiano Olaquinox vs Bacillus cereus var. mycoides. Se evaluó como una actividad con efecto bactericida posterior al crecimiento. Ya que la capa que se removió con el lavado se considera parte del crecimiento bacteriano. (15).

Respecto a la prueba de Micrococcus luteus vs. Furazolidona. Se observó un efecto bacteriostático ya que se expresa como la mínima cantidad necesaria para suprimir la reproducción visible por un tiempo dado. (16).

Esto se apoya por que las placas en las que no hubo crecimiento, después de 48 hrs. se inicio un crecimiento bacteriano.

Es de importancia recordar que los antibióticos como aditivos nutricionales ayudan a controlar ciertos factores que limitan el crecimiento y conversión alimenticia, no deben considerarse como substitutos del buen manejo la higiene y sanidad del medio ambiente.

CONCLUSIONES.

1. El microorganismo más sensible a los promotores del crecimiento, en este caso Bacillus cereus var. mycoides en los tres casos. (Poca diferencia del Bacillus subtilis)

2. La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue :

Micrococcus luteus:

Carbadox	18- 20 ug/ml
Olaquinox	80-100 ug/ml
Furazolidona	200-250 ug/ml

Bacillus subtilis:

Carbadox	5- 6 ug/ml
Olaquinox	9- 20 ug/ml
Furazolidona	.6- .4 ug/ml

Bacillus cereus var. mycoides:

Carbadox	3- 5 ug/ml
Olaquinox	2- .8 ug/ml
Furazolidona	.2- .1 ug/ml

3. El disolvente inicial mas estable y de mayor duración en los tres casos fue: Alcohol Etílico.

Por ser el disolvente que en la prueba física tenia mayor disolución, y en la prueba de viabilidad fue uno de los mas estables.



BIBLIOTECA CENTRAL

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

1. AMABILE, C.F.: La Resistencia Bacteriana a los Antibióticos. Ciencia y Desarrollo.80: 57-67 (1988).
2. ANIMAL HEALTH INSTITUTE.: Uso subterapeutico de antibióticos en la alimentación animal.703/684-0011. Junio, (1985).
3. BAUDITZ, R.: Efecto antibacteriano y prevención de diarreas del bayo-n-ox. Información científica Bayo-n-ox. Bayer. Berlín, Alemania. (1985).
4. BRADY, M.S. and KATS, S.E.: Microbial Diffusion Assay for Antibiotics in Feeds using a Simplified Design. J.Assoc.Off.Anal.Chem. 71: 717-720. (1988)
5. BROWN, S.A.: Minimum Inhibitory Concentrations and Postantimicrobial Effects as Factors in Dosage of Antimicrobial Drugs. Jor.Am.Vet.Med.Assoc. 191: 871-872. (1987)
6. CASTAÑEDA, P.: Bioestadística Aplicada. 1 Ed. Ed. Trillas. México, D.F. (1988)
7. CENTER FOR VETERINARY MEDICINE: Medicated Feed Program. D.H.H.S. (FDA) 88-6041. Revised Nov, (1988)
8. CERCOS, A.P.: El uso no Médico de los Antibióticos. Ed. Albatros. Buenos Aires, Argentina. (1985)
9. CODE FEDERAL REGULATIONS (C.F.R.): National Archives of the United States. Food and Drugs, part 300 to 499. (1988)
10. DAVIS, B.D. DULBECCO, R. EISEN, H.N. GINSBERG, H.S. and WOOD, W.B.: Tratado de Microbiología. Salvat Editores. México, D.F. (1971)
11. DEVRIESE, L.A. and DUTTA, G.N.: Antibiotic Sensitivity Testing: Correlations between in vitro test and in vivo situations. Ann.Rech.Vet. 12: 41-46 (1981)
12. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACION.: Reglamento de la ley general de la salud en material del control sanitario de actividades, establecimientos, productos y servicios. Mexico D.F. (1988).
13. FEED ADITIVE COMPEDIUM.: Medical uses, nutritional uses. Animal Health Institute and miller publishing company. Mineapolis, Minn. (1990).

14. FUENTES, V.O.: Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Ed. Interamericana, México, D.F. (1986)
15. JAWETZ, E. MELNICK, J.L. and ADELBURG, E.A.: Microbiología Médica. 11 Ed. Manual Moderno, México, D.F. (1985)
16. KATZUNG, B.: Farmacología básica y clínica; Usos clínicos de los antimicrobianos. 3 Ed. Ed. Manual Moderno. México D.F. (1987)
17. LINTON, A.H.: The antibiotic sensitivity testing of pathogens commonly found in veterinary practice. Vet. Record, 10: 370-371. (1976)
18. LYONS, T.P.: Biotechnology in the feed industry. Alltech Technical Publications. (1987)
19. NECOECHEA, R.R. MARQUEZ, M.L.: Manual de aditivos y suplementos para la alimentación animal; 2 Ed. Ed. Manual Agropecuario. México D.F.: 43-59 (1987)
20. ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (OMS): Problemas de la salud pública relacionados con el uso de antibióticos en los alimentos. Informe técnico 260. (1963)
21. PELEZAR, R.C.: Susceptibilidad microbiana a los agentes quimioterapéuticos. Microbiología Veterinaria. 4 Ed.: 426-431 (1987)
22. SANOFI SANTE NUTRITION ANIMALE.: Dossier technique. Paris, France. (1993)
23. SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA (SSA): MGA 0100 Potencia Microbiológica de Antibióticos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 72-85 (1990)
24. SUMANO, H. OCAMPO, L.: Farmacología Veterinaria. promotores del crecimiento; Ed. Mc Graw-Hill. México, D.F. (1988)
25. TAYLOR, D.J.: Enfermedades del Cerdo. Ed. Manual Moderno S.A., México, D.F. (1987).
26. TROLLDENIER, H.: Antibióticos en Medicina Veterinaria. Ed. Acribia. Zaragoza, España. (1983)
27. WALTON, J.: Resistencia a los antibióticos. Cerdos Swine, 1: 30-32. (1987)
28. WAYNE, W.D.: Bioestadística. 3 Ed. Ed. Limusa. México D.F. 355-412 (1990)