



Revista de Ciencias Médicas Torreón

Determinación de la potencia antimicrobiana por el método Turbidimétrico. Antimicrobial potency assessment using the turbidimetric method.

Marmolejo- Ruíz G.S.,¹ Alba-Romero J.J.,¹ Rico-Del Rio A.E.,² Lozano-Morán M.,² Martínez-Romero A.,¹ Téllez-López M.Á.,¹ Hernández-González S.I.*¹

¹ Facultad de Ciencias Químicas: Laboratorio B de Investigación del departamento de Bacteriología Médica Diagnóstica y Salud Pública. Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Artículo 123 s/n, Fracc. Filadelfia. C.P. 35010, Gómez Palacio, Durango, México.

² Facultad de Ciencias Químicas: Dpto. Farmacia y Productos Naturales. Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Artículo 123 s/n, Fracc. Filadelfia, C.P. 35010, Gómez Palacio, Durango, México.

³ Comercializadora Pecuaria de México S.A. de C.V. Dpto. de Laboratorio de Control de Calidad. C. Indé No. 824 4ta Etapa, Parque Industrial, C.P. 35078, Gómez Palacio, Durango, México.

*Autor de correspondencia: Dra. Sandra Isabel González Hernández

Correo: sandra.hernandez@ujed.mx

RESUMEN

La industria farmacéutica es un sector esencial dentro de la ciencia de la vida, que facilita el desarrollo de nuevos medicamentos y tecnologías dirigida a la sanidad humana como animal. La calidad de los productos farmacéuticos debe ser garantizada mediante procesos sistemáticos de evaluación que aseguren tanto su eficacia como su inocuidad, en este contexto, la valoración de métodos microbiológicos se convierte en un componente esencial dentro del laboratorio de control de calidad. El objetivo de esta investigación fue determinar la potencia antimicrobiana de un producto farmacéutico inyectable con oxitetraciclina como principio activo mediante el método Turbidimétrico, así como diseñar y validar la metodología. La metodología utilizada tiene como referencia el método general de análisis 0100, valoración microbiológica de antibióticos de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. En este estudio, la potencia antimicrobiana obtenida para el producto farmacéutico inyectable veterinario con Oxitetraciclina fue de 109.91%, el cual es aceptable. Este resultado confirma que el fármaco inhibe el crecimiento del microorganismo de prueba, *Staphylococcus aureus* (ATCC 29373). Mediante la implementación de este método validado, se garantiza la fiabilidad de los resultados.

Palabras clave: Industria farmacéutica, Turbidimétrico, Oxitetraciclina, Potencia antimicrobiana.

ABSTRACT

The pharmaceutical industry is an essential sector within life science, facilitating the development of new drugs and technologies aimed at human and animal health. The quality of pharmaceutical products must be guaranteed through systematic evaluation processes that ensure both their efficacy and safety; in this context, the assessment of microbiological methods becomes an essential component within the quality control laboratory. The objective of this research was to determine the antimicrobial potency of an injectable pharmaceutical product with oxytetracycline as the active ingredient using the Turbidimetric method, as well as to design and validate the methodology. The methodology used refers to the general analysis method 0100, microbiological assay of antibiotics from the Mexican Pharmacopoeia. In this study, the antimicrobial potency obtained for the veterinary injectable pharmaceutical product with Oxytetracycline was 109.91%, which is acceptable. This result confirms that the drug inhibits the growth of the test microorganism, *Staphylococcus aureus* (ATCC 29373). By implementing this validated method, the reliability of the results is guaranteed.

Keywords: Pharmaceutical industry, Turbidimetric, Oxytetracycline, Antimicrobial potency.

INTRODUCCIÓN

La industria farmacéutica, tanto en el ámbito humano y veterinario, representa un pilar fundamental en la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas. En el caso particular de la industria farmacéutica veterinaria uno de los retos principales será en torno a la salud y bienestar de los animales beneficiando la producción agropecuaria y la seguridad alimentaria, así como su relación con el medio ambiente (Mas, 2024). La industria farmacéutica veterinaria ocupa un lugar crucial en la protección de salud animal, el control de enfermedades zoonóticas y la seguridad alimentaria. En México, esta industria surgió a finales de los años veinte, con el propósito de fabricar los biológicos que demandaba la entonces dirección de Zootecnia, que en 1929 se elevó a rango de Instituto de Medicina Veterinaria “INFARVET” (SENASICA, 2018). Actualmente, México cuenta con una industria farmacéutica dinámica que en los últimos años ha triplicado la inversión en investigación y desarrollo. En el país existen 1,300 productos biológicos veterinarios que cuentan con registro, de los cuales 42%, son para la industria avícola, 23%, para bovinos, ovinos y caprinos, 19%, para cerdos y 16%, para mascotas, (SENASICA, 2018). Este escenario nos permite contextualizar los desafíos y oportunidades de la industria farmacéutica, así como su impacto en la salud pública, la salud animal y el desarrollo científico-tecnológico del país. La validación del método no solo tiene como objetivo demostrar la idoneidad del procedimiento, es necesario validar previamente cualquier método químico y microbiológico de acuerdo con las últimas directrices oficiales y las farmacopeas más recientes; sin validación, no se puede confirmar la fiabilidad de los datos ni replicar los resultados por otros científicos (Indrayanto, 2022). En este estudio se determinó la potencia antimicrobiana la cual se puede definir como la capacidad de acción antibacteriana por unidad de peso (Laurence, et al., 2018). Para la determinación de potencia de los antibióticos contenida en un determinado producto, hay que tener en cuenta primero, la forma de presentación farmacéutica. Además, la potencia antibiótica puede valorarse mediante su efecto inhibitorio sobre los microorganismos, por lo que, en este trabajo se llevó a cabo la valoración del método Turbidimétrico (Panihuara, y Sulcahuaman, 2023). El método Turbidimétrico cuyo fundamento radica en la interacción de la luz con un cultivo bacteriano. Las suspensiones bacterianas, al igual que otras partículas pequeñas en agua, dispersan la luz, por lo tanto, dicha dispersión es proporcional a la masa del cultivo (Caycedo, et al., 2021). El grado de turbidez o dispersión de la luz es proporcional a la cantidad de partículas formadas por la presencia del analito en la muestra (FAO, 2016). Así mismo se realiza un análisis espectrofotométrico comparando

el grado de turbidez del caldo de cultivo, el cual es inversamente proporcional a la potencia antimicrobiana (USP, 2022). El método Turbidimétrico tiene la ventaja de reducir el tiempo de análisis a cuatro horas en comparación del método Cilindro en Placa (difusión en agar) método que también se utiliza para determinar la potencia antimicrobiana, lo que permite una mayor optimización del análisis, así como mayor facilidad y simplicidad en los procedimientos. Además, se elimina el uso de la matriz de agar, la cual podría influir en la difusión del fármaco y su interacción con el microorganismo (da Trindade, et al., 2021).

El objetivo de esta investigación fue determinar la potencia antimicrobiana del antibiótico a base de Oxitetraciclina el cual es un producto farmacéutico veterinario formulado en solución estéril inyectable. El producto corresponde a un antibiótico de uso en medicina veterinaria: la Oxitetraciclina pertenece al grupo de las Tetraciclinas. Existen tetraciclinas de primera, segunda y tercera generación, en la primera generación se encuentran la clortetraciclina, oxitetraciclina y la tetraciclina, en la segunda generación doxiciclina y minociclina y de tercera generación se encuentra la tigeciclina (Mahamallik, et al., 2015). Además, la Oxitetraciclina es un producto natural aislado a partir de cultivos de *Streptomyces rimosus*. Perteneciente a la familia de las tetraciclinas, es un antibiótico de amplio espectro, con actividad sobre bacterias Gram-positivo y Gram-negativo. Posee un carácter bacteriostático, basándose su mecanismo de acción en la interacción con la subunidad ribosomal 30S, inhiben la síntesis de proteínas de la bacteria al ligarse al ribosoma bacteriano 30S y evitan la llegada del aminoacil tRNA al sitio aceptor en el complejo mRNA ribosomal que impide la adición de aminoácidos al péptido en crecimiento (Jinich, et al., 2018). Y su efecto terapéutico en la medicina veterinaria habla que las tetraciclinas se absorben de forma incompleta desde el tracto gastrointestinal; el grado de absorción se ven disminuidos por la presencia de sales solubles de metales divalentes y trivalentes, con los que las tetraciclinas forman compuestos estables. Se unen en grado variable a las proteínas plasmáticas (25% la oxitetraciclina) y son ampliamente distribuidas por todo el organismo, registrándose las concentraciones más elevadas en riñón, hígado, bazo, pulmón y en las zonas activas de osificación. Concentraciones menores en la saliva, humores oculares y leche; también atraviesa la barrera placentaria. La Oxitetraciclina se adhiere a proteínas plasmáticas en un 30%. La concentración en plasma es de entre 50 - 60% y tiende a ser mayor en leche. Es excretada por vía renal principalmente (50-80%) y biliar en segunda instancia. También se elimina a través de la leche. En ésta alcanza su pico de concentración alrededor de las 6 h después de la aplicación parenteral con efecto residual hasta las 48 h. Se puede presentar resistencia a la Oxitetraciclina por plásmidos (Rovegno, 2024).

El método permitirá establecer la potencia antimicrobiana del antibiótico, además, se aplicó la validación del método esto como prueba de calidad, con el fin de verificar el cumplimiento de estándares regulatorios y asegurar la seguridad microbiológica del producto final.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizó la capacidad antimicrobiana de un producto farmacéutico con Oxitetraciclina como principio activo. La metodología utilizada para el método Turbidimétrico tiene como referencia el MGA 0100, Valoración Microbiológica de Antibióticos de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, FEUM 13.^a ed., 2021 y para evaluar y establecer los lineamientos y criterios para la evaluación del desempeño del método de prueba tiene como referencia el CCAYAC-P-062, Guía para la Evaluación del Desempeño de Métodos de Prueba Microbiológicos para análisis de alimentos, (2012), el cual forma parte de la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). La investigación se llevó a cabo en colaboración con la industria privada en el Laboratorio de Control de Calidad en el área de Microbiología de la Comercializadora Pecuaria de México S.A de C.V. y el Laboratorio B de Investigación del departamento de Bacteriología Médica Diagnóstica y Salud Pública de la Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Ciencias Químicas unidad Gómez Palacio, Durango.

Se trabajo bajo protocolos de bioseguridad establecidos dentro del Laboratorio de Control de Calidad de la Comercializadora Pecuaria de México S.A de C.V. para la manipulación de microorganismos y productos farmacéuticos.

Preparación de las diluciones de la Solución de Referencia (SRef) a partir del patrón de referencia de Oxitetraciclina base

Se preparó la solución madre de SRef utilizando el disolvente inicial para Oxitetraciclina con un estándar de 871.52 µg/mg. Para ello, se empleó la solución ácido clorhídrico 0.1N con el fin de obtener la concentración final de la solución madre (1 mg de Oxitetraciclina), la cual tiene una duración de 30 días en refrigeración. A partir de la solución madre se prepara la solución de prueba de las sustancias de referencia con una concentración final de 0.24 µg/mL, se prepararon cinco

concentraciones, dos de estas concentraciones estarán por debajo (a: 0.150 µg/100 mL; b: 0.190 µg/100 mL) y las otras dos por encima (d: 0.3 µg/100 mL; e: 0.375 µg/100 mL) de la concentración central (c) 0.24 µg/mL de concentración de la solución de prueba, con la que competirán.

Preparación de la suspensión del microorganismo de ensayo

Material biológico: se utilizó la cepa de *Staphylococcus aureus* la cual se obtuvo de las colecciones estandarizadas de la American Type Culture Collection (ATCC 29373) a partir de la cepa se realizó un cultivo de origen se sembró por agotamiento en placas con agar soya tripticaseína para su recuperación, incubándose por 24 h a 35 ± 2°C.

Preparación del inóculo: a partir del cultivo reciente se realizó una suspensión de la cepa en 3mL de solución salina al 0.9%. Esta suspensión se dispersó sobre la superficie de una placa con medio de cultivo para antibióticos N°1 y se incubó por 24h a 35 ± 2°C. Al concluir la incubación, se recolectó el microorganismo en un frasco con rosca conteniendo 50 mL de solución salina 0.9%. Esta suspensión se considera la suspensión madre del microorganismo.

Preparación del medio de cultivo inoculado: se añadió 0.1mL del inóculo para 100mL del medio para antibióticos N°3 (peptona 5.0g, extracto de levadura 1.5g, extracto de carne 1.5g, dextrosa 1.0g, cloruro de sodio 3.5g, K₂HPO₄ 3.68g, KH₂PO₄ 1.32g y un pH después de esterilizar de 7.0 ± 0.05).

Valoración de la muestra y curva dosis-respuesta

Se inoculo un frasco con 100 mL de medio para antibióticos N°3, se distribuyó la suspensión en 10 tubos de ensayo de 18x150mm con tapón de rosca estériles utilizando una pipeta graduada de 10mL estéril. Se preparo un tubo con 10mL de la concentración "c" de la sustancia de referencia y se inoculo con 0.1mL. Se incubaron los tubos a una temperatura de 32 a 35°C y se registró el tiempo de incubación necesario para que el tubo "c" obtuviera una transmitancia de 50% al ser leído en el espectrofotómetro usando un blanco de solución de concentración "c" a una longitud de onda de 560nm.

Valoración del método

Los datos obtenidos de la prueba se analizaron estadísticamente determinando las siguientes especificaciones: cálculo de potencia antimicrobiana, repetibilidad, reproducibilidad, recuperación, sesgo.

RESULTADOS

Potencia antimicrobiana

En la Tabla 1, se presentan los datos obtenidos de la valoración de la muestra de Oxitetraciclina. Se realizaron los cálculos iniciales y la verificación de la aptitud de la variabilidad. Para cada concentración (incluida la muestra), se promediaron los tres valores de transmitancia obtenidos. El valor combinado se calculó tomando la raíz cuadrada del promedio de las cinco varianzas. Para evaluar el criterio de aptitud de la variabilidad, se debe determinar una desviación estándar combinada máxima aceptable. Si la desviación estándar excede este valor máximo predeterminado, los datos de valoración no se consideran adecuados y deben descartarse. El límite sugerido para la desviación estándar combinada es no mayor al 10% del valor promedio de transmitancia entre las cinco concentraciones. En caso de que el número de determinaciones repetidas por concentración sea menor a cinco, puede calcularse el coeficiente de variación para cada concentración (una vez verificados los valores atípicos) y compararse con un coeficiente de valoración máximo aceptable. Este procedimiento se encuentra descrito en el método MGA 0100, Valoración Microbiológica de Antibióticos de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 13.^a ed., pág. 284-288, (2021). Como resultado, se obtiene la curva dosis-respuesta.

A partir de estos datos, se construyó la curva tipo, graficando la transmitancia promedio en función del logaritmo de las concentraciones.

La regresión lineal no ponderada fue realizada mediante un software estadístico especializado, lo cual permitió obtener la ecuación de la línea que define la curva dosis-respuesta. Como recomendación de la FEUM, (2021), se puede utilizar el logaritmo natural o el logaritmo en base 10 para verificar la curva tipo y determinar la ecuación de regresión, ambos proporcionan el mismo resultado de prueba final. El coeficiente porcentual de determinación (%R²) obtenido es aceptable únicamente si el valor excede el límite sugerido el cual es no menos de 90%. Por lo tanto, la regresión se considera válida para su uso en el análisis de la actividad antimicrobiana de la muestra.

En la tabla 2, se muestran los datos graficados para la línea de la curva dosis-respuesta.

A continuación, se muestra la línea de la curva dosis-respuesta, datos necesarios para la obtención de la potencia antimicrobiana del producto farmacéutico veterinario inyectable a base de Oxitetraciclina.

En la tabla 3, se muestra la determinación de la potencia antimicrobiana del producto farmacéutico inyectable veterinario a base de Oxitetraciclina.

A continuación, se presenta un resumen de los resultados obtenidos de la potencia antimicrobiana del producto farmacéutico inyectable veterinario con Oxitetraciclina en 10 repeticiones para la validación del método en días distintos (A y B), como se puede observar en la tabla 4.

En la tabla 5, se presentan los resultados y criterios de aceptación de la validación de acuerdo a los lineamientos establecidos para el desempeño del método.

Tabla 1. Valoración del método Turbidimétrico. Datos de la muestra Oxitetraciclina.

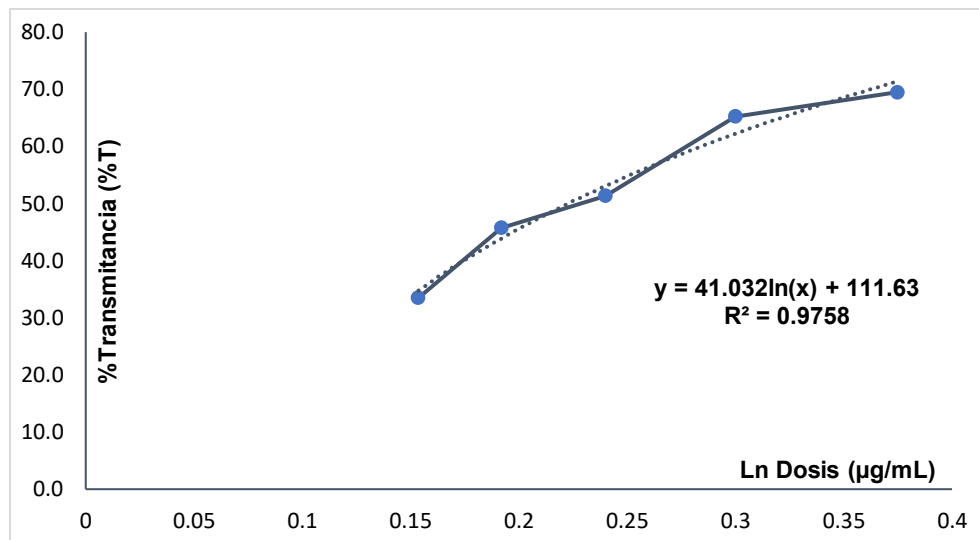
Solución de referencia	Concentración (µg/mL)	Transmitancia			Promedio (% T)	σ
a	0.1536	33.843	32.816	33.758	33.472	0.570
b	0.192	44.927	47.597	44.805	45.776	1.578
c	0.24	50.866	51.249	51.894	51.336	0.520
d	0.3	66.321	64.921	64.537	65.260	0.939
e	0.375	67.055	70.489	70.989	69.511	2.142
m	Desconocida	52.459	51.149	51.133	51.580	0.761
					52.823	1.351

Donde σ es desviación estándar, c es la concentración central, a, b, d, e las concentraciones de SRef de Oxitetraciclina y m es la muestra.

Tabla 2. Datos logarítmicos para la curva dosis-respuesta

Ordenada al origen y pendiente de la Oxitetraciclina		Datos graficados de SRef de Oxitetraciclina	
		X	Y
f	111.630	a	33.472
g	41.0328	b	45.776
		c	51.336
		d	65.260
		e	69.511
			-1.8734
			-1.6503
			-1.4271
			-1.2040
			-0.9808

Donde la ordenada al origen es (f) y la pendiente es (g). La ordenada al origen y la pendiente se obtuvieron de los datos graficados: X (Transmitancia promedio de la concentración de las diluciones del SRef (a, b, c, d, e)) y Y (logaritmo de la concentración de las diluciones del SRef (a, b, c, d, e)).

**Figura 1.** Grafica de línea de la curva dosis-respuesta, valoración Turbidimétrico de la Oxitetraciclina

El límite sugerido según la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 13.^a ed., 2021, para el coeficiente porcentual de la muestra (R^2) es no menos del 90%.

Tabla 3. Determinación de la potencia antimicrobiana de la muestra

Concentración de la muestra	0.094492819
	1.0991
Para obtener el valor aproximado de la muestra se utilizó el inverso de la base del logaritmo natural, para poder determinar posterior el porcentaje de la muestra.	
Potencia antimicrobiana de la muestra	109.91

Tabla 5. Resultados y criterios de aceptación de la validación del producto farmacéutico inyectable veterinario con Oxitetraciclina

Microorganismo de referencia <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29373			
Parámetro de Validación	Criterio de Aceptación	Valor Obtenido	Aceptación o Rechazo
Repetibilidad	r < 3	Día A 1.00	Aceptación
		Día B 1.00	
Reproducibilidad	R < 3	1.00	Aceptación
Recuperación	Entre 90 y 100% log	Día A 102.105	Aceptación
		Día B 101.76	
Sesgo	Diferencia absoluta de lo inoculado y lo recuperado es < 0.3log	Día A 0.0421 log	Aceptación
		Día B 0.0353 log	

Donde: r es repetibilidad, R es reproducibilidad.

La recuperación al ser expresado en porcentaje, se toma la concentración central de la SRef como 100% y el sesgo indica la diferencia absoluta de lo recuperado y lo inoculado es < 0.3log.

DISCUSIÓN

Potencia antimicrobiana

En investigaciones de las industrias farmacéuticas dirigidas a la medicina veterinaria se han realizado diversos estudios para garantizar la actividad del producto y además de las metodologías empleadas. En el estudio de da Trindade, M. T. y cols., (2021), sobre el método Turbidimétrico como una opción de evaluación de la potencia de antibióticos, analizaron la potencia antimicrobiana de la ceftriaxona sódica en polvo inyectable, utilizaron el criterio de aceptación en un rango de 90 a 115 % de acuerdo a la United States Pharmacopeia 43th ed. (2020). La potencia antimicrobiana del antibiótico obtenida fue de 98.94%, inhibiendo el crecimiento del microorganismo *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). En otro estudio realizado por Oliveira, A. S. y cols., (2023), también utilizaron el criterio de aceptación en un rango de 90 a 115% de acuerdo a la United States Pharmacopeia 43th ed. (2020), obteniendo una potencia antimicrobiana para el antibiótico Marbofloxacino en cuatro repeticiones de 98.97%, 96.60%,

95.37%, 96.98%, este antimicrobiano es de uso veterinario. En el estudio de Galecio, J. S. y cols., (2022), determinaron por el método Turbidimétrico la potencia antimicrobiana de la Oxitetraciclina obteniendo 90%, inhibiendo el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, el antibiótico es utilizado en medicina veterinaria para tratar la mastitis en animales lecheros. La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 13.^a ed., 2021 se menciona sobre el criterio de aceptación en un rango de 80 a 125 %, si el coeficiente porcentual de la muestra excede el límite sugerido del 90%, el análisis es aceptable. La potencia antimicrobiana obtenida para el producto farmacéutico inyectable veterinario con Oxitetraciclina en este estudio fue de 109.91%, el cual es aceptable. Lo que demuestra que el producto farmacéutico veterinario inhibe el crecimiento del microorganismo de prueba, *Staphylococcus aureus* (ATCC 29373).

Análisis estadístico

En esta investigación se determino repetibilidad, reproducibilidad, recuperación y sesgo para ello se establecieron lineamientos y criterios de evaluación del desempeño del método de prueba basándose en el CCAYAC-

P-062, Guía para la Evaluación del Desempeño de Métodos de Prueba Microbiológicos para análisis de alimentos, (2012), el cual forma parte de la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). Para la repetibilidad y reproducibilidad se determinó analizando 10 réplicas del producto farmacéutico inyectable con principio activo de Oxitetraciclina la cual nos indicó la variación del mismo analista en diferentes días usando el método Turbidimétrico en busca de la potencia antimicrobiana, bajo las mismas condiciones. Los datos obtenidos se pueden observar en la tabla 4 y 5. Se midió la variabilidad del método cuando se ejecutó por un solo analista. Obteniendo resultados aceptables dentro de los criterios de aceptación verificando que existe concordancia (aproximación) entre los resultados realizado en las mismas condiciones (de repetibilidad, mismo analista, mismos medios, mismos equipos, misma área de trabajo). Al cumplir nos indica que el método es un ensayo repetitivo y reproducible, además de demostrar confiabilidad del analista. El autor Chirinos Pajuelo, D. y cols. en 2022, considera precisión al grado de concordancia entre resultados; siendo una medida de repetibilidad las condiciones en las que se trabajó las muestras, realizadas por el mismo analista con repetición de tres veces de las cuales se calculó la desviación estándar, así como el coeficiente de variación obteniendo un resultado de $R < 2.2$ para la Oxitetraciclina cumpliendo con un criterio establecido en su trabajo de $R < 5$. En el caso de la recuperación en la tabla 5, la recuperación se midió en función del porcentaje de actividad respecto a la sustancia de referencia utilizada, partiendo del entendimiento de que existe un número verdadero de partículas (desconocido) del cual se recupera el 100% o menos. La recuperación está asociada con los errores sistemáticos. El estudio de Mueller y cols. en 2018, sobre el método microbiológico Turbidimétrico para Oxitetraciclina reportaron recuperaciones promedio de 93.4% y 93.6%, con desviaciones estándar relativas de 6.3% y 7.2%, respectivamente. En la tabla 5, el sesgo se llevó a cabo la suma de todos los errores sistemáticos inherentes al método. Este error representa la totalidad de la medida o su estimación en relación con un valor de referencia, es decir, la discrepancia entre el resultado esperado del método utilizado y un valor de referencia aceptado. Se expresa como la diferencia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor verdadero aceptado. En estudios de validación similares, como el de Bardhi, et al., (2022), el sesgo se mantuvo dentro de $\pm 15\%$, mientras que la precisión (CV) fue inferior al 10% en diferentes matrices biológicas para Oxitetraciclina. Estos parámetros demuestran que una variabilidad controlada y un sesgo reducido son indicadores clave de confiabilidad analítica.

CONCLUSIÓN

La potencia antimicrobiana obtenida para el producto farmacéutico inyectable veterinario con Oxitetraciclina fue de 109.91%, el cual es aceptable. Lo que demuestra que el producto farmacéutico veterinario inhibe el crecimiento del microorganismo de prueba, *Staphylococcus aureus* (ATCC 29373).

El método microbiológico Turbidimétrico para la valoración de potencia antimicrobiana de Oxitetraciclina, cumple con los parámetros de validación recomendados por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 13.^a ed., 2021, pues la evaluación estadística en base a el CCAYAC-P-062, Guía para la Evaluación del Desempeño de Métodos de Prueba Microbiológicos para análisis de alimentos, (2012) con los resultados de repetibilidad, reproducibilidad, recuperación, sesgo demostró que el método analítico es confiable y adecuado para su aplicación en el control de calidad de productos farmacéuticos inyectables que contienen Oxitetraciclina.

El uso de este método validado, garantiza la fiabilidad de los resultados.

CONFLICTO DE INTERESES:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses en la realización y publicación de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

Bardhi A., Gazzotti T., Pagliuca G., Mari G. y Barbarroja A., (2022). Validation of a single liquid chromatography-tandem mass spectrometry approach for oxytetracycline determination in bull plasma, seminal plasma and urine. *Journal of Drug Testing and Analysis*. Vol 14;7. <https://doi.org/10.1002/dta.3246>.

Caycedo Lozano, L., Ramírez, L. C. C., y Suárez, D. M. T., (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19(36), 49-94.

CCAYAC-P-062, Guía para la Evaluación del Desempeño de Métodos de Prueba Microbiológicos para análisis de alimentos, (2012)

Chirinos Pajuelo, D., Aguirre, O. L., León Gonzales, W., Hurtado Galindo, N. E., Ochante, E. M., Huicho, L., & Rivera-Ch, M. (2022). Validación de un método multiresiduo para la determinación de medicamentos veterinarios en trucha y langostino. *Revista Colombiana de Química*, 51(2), 16-24.

da Trindade, M. T., Kogawa, A. C., & Salgado, H. R. N. (2021). Turbidimetric Method: A Multi-Advantageous Option for Assessing the Potency of Ceftriaxone Sodium in Powder for Injection. *Journal of AOAC International*, 104(1), 204–210. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaa085>

De Oliveira, A. S., de Oliveira, N. R. L., de Oliveira Neto, J. R., Tavares, L. L., & Kogawa, A. C. (2023). Green Method for Evaluation of Marbofloxacin Tablets by HPLC and Evaluation of Interchangeability With UV and Turbidimetric Methods. *Journal of AOAC International*, 106(6), 1432–1437. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsad102>

Food And Agriculture Organization Of United Nations (FAO), (2016). *Statistical Aspects of Microbiological Criteria Related to Foods* [en línea]. Roma – Italia: World Health Organization.

Galecio, J. S., Escudero, E., Corrales, J. C., García-Romero, E., de la Fe, C., Hernandis, V., & Marin, P. (2022). Susceptibility of caprine mastitis pathogens to tildipirosin, gamithromycin, oxytetracycline, and danofloxacin: effect of serum on the in vitro potency of current macrolides. *World journal of microbiology & biotechnology*, 38(12), 221. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03407-0>

Indrayanto G. (2022). The importance of method validation in herbal drug research. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 214, 114735. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114735>.

Jinich, Q. J. K., Espinosa, D. A., y Ortega, J. L. M. (2018). Ecofarmacovigilancia: detección de antibióticos de la familia de las tetraciclinas presentes en aguas residuales de la Ciudad de México.

Laurence L. Brunton B. Goodman y Gilman., (2018). *Las Bases Farmacológicas De La Terapéutica*. 13th ed.: MC Graw Hill Castellano.

Mahamallik, P., Saha, S. & Pal, A., (2015). Tetracycline degradation in aquatic environment by highly porous MnO₂ nanosheet assembly. *Chemical Engineering Journal*, (276), pp.155-65.

Mas, J. L. (2024). La industria farmacéutica y sus avances tecnológicos. *Revista Anual de l'Acadèmia de Ciències Veterinàries de Catalunya*, (1), 16-22.

MGA 0100, Valoración Microbiológica de Antibióticos de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 13.ª ed., 2021.

Mueller-Brennecke, D. L., Reed, S. J., & Waisner, D. L. (2018). Turbidimetric microbiological determination of oxytetracycline hydrochloride in finished feeds and a feed premix: collaborative study. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 63(5), 1038–1043.

Panihuara-Llancay, M., & Sullcahuaman-Medrano, S. H. (2023). Comparación de la potencia antibiótica y análisis inspectivo de eritromicina 250mg/5ml suspensión oral, medicamento innovador y genéricos frente al estándar secundario de eritromicina.

Rovegno-Vásquez, M. (2024). Efecto de los antibióticos florfenicol y oxitetraciclina sobre marcadores de regulación epigenética asociados a modificación de histonas en línea celular shk-1 de *Salmo salar*.

SENASICA, (2018). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. *Industria Veterinaria indispensable para preservar la salud animal*.

United States Pharmacopeia, (2022), “Antibiotics-Microbial Assays”, 43 NF 38., p.p. 1.21.

United States Pharmacopeia. 43th ed., (2020). *The United States Pharmacopeia*.