

415302



Int. No. A61K

PATENTE DE INVENCION

Ref. BB. 19404/nh.

## *Memoria Descriptiva*

*sobre:*

PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE COMPOSICIONES  
ANTIBIOTICAS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA SINERGIS  
TICA BASADAS EN TILOSINA Y COLISTINA O ERITROMICI  
NA Y COLISTINA.

=====

*Solicitante:* Société CEVA S.A., entidad francesa, re-  
sidente en "Le président", Avenue Denfert-Rochereau,  
25000 BESANCON, Francia.

=====

La presente invención se refiere al campo  
general de los antibióticos y, mas particularmente, se  
refiere a composiciones antibióticas que contienen par  
ticularmente tilosina y colistina,   eritromicina y  
colistina, presentando estas composiciones una notable



actividad antimicrobiana y, en particular, antibacteriana, en los animales, especialmente los cerdos, los rumiantes y las aves.

5. En todas estas composiciones, los antibióticos de base pueden ser sustituidos por sus sales con ácidos orgánicos o minerales y, tanto si se trata de antibióticos de base o de sus sales, las asociaciones proporcionan un efecto sinérgico notable para combatir las enfermedades infecciosas de los animales, debidas a las bacterias gram-positivas y gram-negativas.

10. El procedimiento de producción de la tilosina se ha descrito en la patente francesa nº 1.428.452. Consiste en cultivar una cepa de Streptomyces fradiae, productora de tilosina, en un medio de cultivo que contiene fuentes asimilables de carbono, nitrógeno y sales minerales, en condiciones aerobias sumergidas, hasta obtener una cantidad apreciable de tilosina producida por el organismo citado en el medio de cultivo, y recuperar la tilosina.

20. La tilosina es una sustancia antibiótica de estructura de macrolida, con una temperatura de fusión de 128 a 132° C. Sus soluciones acuosas son estables a un pH de 5,5 a 7,5 a 25° C durante un período que puede llegar hasta 3 meses. El espectro antibacteriano de la tilosina y de sus sales es principalmente gram-positivo; así, la tilosina es muy activa in vitro contra organismos del tipo de la pleuroneumonía (llamados en inglés PPL0) aislados en los pollos, los pavos, los cerdos, los rumiantes y contra varias especies de espiroquetas. La tilosina tiene una acción particular contra el Mycoplasma gallisepticum S6,

30.



implicado en las enfermedades crónicas respiratorias de los pollos y la sinusitis infecciosa de los pavos. Se emplea particularmente en este último caso el tartrato de tilosina.

5. La colistina es un antibiótico peptídico, del grupo de las polimixinas. Fué descrita por primera vez por Koyama y colaboradores en J. Antibiotics (Tokyo) Ser. A, 3 457-458. La colistina se compone de al menos tres sustancias, denominadas A, B y C (ver Suzuki y colaboradores, J. Biochem. (Tokyo) 57; 226-227).

10. Se sabe que las polimixinas, incluyendo la colistina, inhiben fuertemente el crecimiento de bacterias gram-negativas y muy poco el crecimiento de las bacterias gram-positivas (ver Schwarz y colaboradores, Antibiot. Ann. 1959-1960, p. 41-60). La colistina afecta en particular, la permeabilidad del Escherichia coli y hace las células sensibles a la acción de la lisozima. El tratamiento simultáneo del E. coli B con una dosis sub-inhibidora de colistina (0,5 a 1,0  $\mu$  g/ml) y de cloranfenicol (0,5  $\mu$  g/ml) o de penicilina (5  $\mu$  g/ml) ha supuesto una notable inhibición del crecimiento de las bacterias.

15. La eritromicina es también un antibiótico muy conocido, pero cuya eficacia en las bacterias gram-negativas no es muy importante.

20. Un problema que se presenta frecuentemente en la cría de los animales jóvenes es, junto a las enfermedades específicas, la aparición de síndromes de etiología compleja. En efecto, intervienen sucesiva o simultáneamente varios gérmenes y los jóvenes animales son con frecuencia muy sensibles a múltiples agresiones microbianas, que
- 25.
- 30.



- suponen enfermedades de carácter grave y con frecuencia mortal. Por otra parte, las crías modernas se caracterizan por el aumento de los efectivos y, sobre todo, por la densidad de los animales. Esta fuerte densidad aumenta considerablemente los riesgos de contagio.
5. Sería pues conveniente prever composiciones antibióticas que puedan combatir a la vez las bacterias gram-positivas (como ocurre con la tilosina) y las bacterias gram-negativas (como ocurre con la colistina) presentando un efecto sinérgico marcado en las cepas más resistentes a los antibióticos separados.
10. Un objeto de la presente invención es por consiguiente prever asociaciones de antibióticos que inhiben el crecimiento de los microbios, en particular de las bacterias gram-positivas y gram-negativas.
15. Otro objeto de la presente invención es el de prever composiciones de antibióticos que presentan un marcado efecto sinérgico en cepas de bacterias particularmente resistentes ante antibióticos individuales.
20. Otros objetos de la presente invención aparecerán en la descripción que sigue.
- Estos objetos, según la presente invención, se alcanzan con la provisión de una composición antibiótica, caracterizada por el hecho de que, como ingrediente activo, encierra al menos un miembro elegido en el grupo que comprende de un 35 a un 95 % en peso aproximadamente de tilosina o de sus sales y de un 55 a un 95 % en peso aproximadamente de eritromicina o de sus sales, estando formado el complemento por colistina o sus sales,
25. y calculándose el porcentaje de sal en función de la ac-
- 30.



tividad equivalente del antibiótico de base.

Las sales de antibióticos de base comprenden las sales con cualquier ácido orgánico o mineral, farmacéuticamente aceptables, a reserva de que estas sales presenten una solubilidad conveniente. A título de ejemplo, se puede citar el tartrato de tilosina; el clorhidrato, el metanosulfonato y el sulfato de colistina, y el tiocianato de eritromicina.

- Se debe observar que los porcentajes anteriormente indicados en las composiciones según la presente invención se refieren a la actividad de la tilosina, la actividad de la eritromicina y la actividad de la colistina. Por ejemplo, el tartrato de tilosina presenta un contenido variable de materia activa. Como los ejemplos de realización que se indican a continuación se refieren en general al peso de la sal de tilosina o de colistina y no a la actividad de la tilosina y la actividad de la colistina, habrá que tener en cuenta las relaciones siguientes:
- 100 a 110 g. de tartrato de tilosina (según los lotes) equivalente a 100 g. de actividad de tilosina.
  - 1.081 mg de eritromicina base corresponden a 1 mg de tiocianato de eritromicina.
  - 1 mg de metanosulfonato de colistina = 12.500 U.I.
  - 1 mg de clorhidrato de colistina = 20.000 U.I. (como mínimo)
  - 1 mg de colistina base = 30.000 U.I.

Así, las presentes asociaciones tilosina/colistina contendrán entre 9,360 g. y 0,936 g. aproximadamente de tartrato de tilosina (es decir 8 a 0,8 g. de actividad de tilosina) y entre 3,33 g. y 0,66 g. de metanosulfonato



de colistina aproximadamente (correspondiente a 41.625.000-8.325.000 U.I. de actividad de colistina), según las especies animales y el peso de los animales a los que se destina el producto.

5. De igual manera, se utilizará entre 8,0 y 1,6 g. aproximadamente de tiocianato de eritromicina y entre 3,33 g. y 0,666 g. aproximadamente de metanosulfonato de colistina.

10. Las composiciones según la presente invención, en forma de polvo, se preparan de la manera siguiente:

15. En general, se colocan los diferentes polvos en un mezclador de cinta y se deja girar el aparato durante un tiempo apropiado, por ejemplo 30 minutos. La mezcla se coloca acto seguido en un triturador y se tritura hasta obtener partículas de aproximadamente 200 micras. Posteriormente, el producto triturado se vuelve a colocar en el mezclador de cinta que se hace girar durante un cierto tiempo (por ejemplo 15 minutos) en un sentido y durante el mismo tiempo en sentido contrario.

20. Las presentes composiciones son particularmente útiles para combatir las enfermedades debidas a las bacterias en los animales. Los experimentos realizados con composiciones que encierran tartrato de tilosina y clorhidrato de colistina, así como de las composiciones que encierran tiocianato de eritromicina y clorhidrato de colistina han llevado a los resultados siguientes:

25. Se ha estudiado el espectro antibacteriano y determinado las concentraciones inhibitoras mínimas (C.I.M.) de los antibióticos por dilución en medio gelosado tripticasa-soja. La siembra se hizo con diluciones
- 30.



- de  $10^{-3}$  de cultivos de 18 horas en caldo (dilución de  $10^{-1}$  para los estreptococos), con ayuda de un sembrador múltiple. En cuanto a los antibióticos aislados, las gamas de diluciones finales se extendían de 100 a  $0,2 \mu\text{g/ml}$ . Para las asociaciones, se prepararon soluciones que encerraban 10 partes de tilosina o de eritromicina por 1 parte de colistina, y se las distribuyó en las cajas para obtener gamas de diluciones finales que iban, como las primeras de 100 a  $0,2 \mu\text{g}$  de macrolida por ml y encerraban, además, de 10 a  $0,02 \mu\text{g}$  de clorhidrato de colistina por ml.

Después de 18 horas de incubación a  $37^{\circ}\text{C}$ , se examinaron las cajas; se consideró como C.I.M. las más pequeña concentración que inhibía totalmente cualquier desarrollo microbiano.

15. Asociaciones:

Se estudio el efecto de las asociaciones:

- según los resultados del espectro antibacteriano tal como se definió anteriormente
- por las curvas de crecimiento en el biofotómetro registrador BONET-MAURY
- por dilución en medio líquido con lecturas turbidimétricas (método de las diluciones en cuadrado de CHABBERT)
- por difusión en medio gelosado, por el método de las tiras de papel. Las tiras habían sido impregnadas previamente con soluciones de antibióticos a  $200 \mu\text{g/ml}$ .

RESULTADOS

Espectro antibacteriano:

- En la tabla siguiente, donde figuran las C.I.M. en  $\mu\text{g/ml}$  se representan los espectros antibacterianos de los antibióticos aislados y de sus asociaciones.



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA del clorhidrato de colistina, el tartrato de tilosina, el tiocianato de eritromicina y de sus asociaciones (Concentraciones inhibitoras mínimas en  $\mu\text{g/ml}$ )

5.

	Clorhidrato de colistina	Tartrato de tilosina	Tiocianato de eritromicina	Tilosina + colistina (10 + 1)	Eritromicina + colistina (10 + 1)
Estafilococo 209 P	100	0,4	< 0,2	0,4	< 0,2
Estreptococo A	100	0,4	< 0,2	0,8	< 0,2
Estreptococo B	>100	0,4	< 0,2	0,8	< 0,2
Estreptococo C	25	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
Estreptococo D	>100	3,1	< 0,2	6,2	< 0,2
<u>B.subtilis</u> 6633	12,5	0,8	< 0,2	0,8	< 0,2
Bord. bronqui septica	0,8	>100	25	12,5	12,5
Piociánica A 22	1,6	>100	>100	50	50
Piociánica del pavo	6,2	>100	>100	50	50
<u>Esch.coli 95</u>	0,4	>100	50	12,5	12,5
<u>Esch. coli CHO/2</u>	3,1	>100	100	12,5	12,5
<u>Klebs. pneumoniae</u>	0,4	25	3,1	12,5	6,2
<u>Salm. typhi</u>	0,4	>100	12,5	12,5	3,1
<u>Sh. sonnei</u>	0,4	>100	50	12,5	6,2
<u>Pr. vulgaris</u>	>100	>100	>100	>100	>100
<u>Pr.mirabilis</u>	>100	>100	>100	>100	>100
<u>Pr. morgani</u>	>100	>100	>100	>100	>100



	Clorhidrato de colistina	Tartrato de tilosina	Tiocianato de eritromicina	Tilosina + colistina (10 + 1)	Eritromicina + colistina (10 + 1)
<u>Cepas pluriresistentes a los antibióticos:</u>					
<u>Salm. oranienburg</u>	0,4	>100	>100	12,5	12,5
<u>Esch. coli 111 B4</u>	12,5	100	25	25	6,2
<u>Providencia 0 223</u>	>100	>100	>100	>100	>100
<u>Staph. Pesechaur</u>	>100	0,8	3,1	1,6	1,6
<u>Staph. Girard</u>	100	0,8	3,1	1,6	6,2
<u>Staph. Simon</u>	>100	1,6	0,4	1,6	0,4
<u>Staph. Bedee</u>	>100	>100	>100	>100	>100
<u>Staph. Gousset</u>	>100	>100	>100	>100	>100
<u>Staph. Lebègle</u>	25	3,1	>100	3,1	25

Se comprueba que el espectro antibacteriano de la tilosina y el de la eritromicina son más o menos similares, y que el de la colistina es perfectamente complementario de uno y otro. Los Proteus resisten no obstante a los tres antibióticos, así como la Providencia 0 223 y dos cepas de Estafilococos pluriresistentes.

Por lo que se refiere a las composiciones a base de tilosina y de colistina aparece pues que:

- 5. - por dilución en gelosa, se observa un efecto sinérgico para la cepa de Esch. coli 111 B4
- 10. - por el estudio de las curvas de crecimiento en el biofotómetro, hay un cierto sinérgico en la cepa de Esch. coli 95 ISM



- por dilución en medio líquido, se observa un efecto sinérgico en el Sarcina lutea
- por el método de difusión con las tiras de papel, se obtiene un efecto sinérgico con el Bordetella bronchiseptica y el Esch. coli 95.

5.

Por lo que se refiere a las composiciones a base de eritromicina y de colistina, se comprueba que:

- por dilución en medio gelosado, se observa un efecto sinérgico en el Esch. coli 111 B4
- 10. - por dilución en medio líquido, se observa un efecto sinérgico con el Esch. coli 111 B4
- por difusión con las tiras de papel, se observa un efecto sinérgico con el Bordetella bronchiseptica.

15.

En conclusión, las asociaciones tilosina-colistina y eritromicina-colistina presentan un efecto sinérgico ante el Esch. coli-, el Bord. bronchiseptica y el Sarcina lutea.

20.

Por lo que se refiere a las demás cepas estudiadas, el efecto no es superior al del antibiótico más activo (o el único activo).

25.

Gracias a las propiedades antibacterianas interesantes que presentan las composiciones según la presente invención, se las puede emplear para el tratamiento de animales jóvenes y animales adultos, ya que la tolerancia de su organismo a la colistina y a la tilosina es muy buena.

30.

Las presentes composiciones son particularmente útiles para el tratamiento de septicemias de las terneras, las afecciones respiratorias, las gastroenteritis y las enfermedades del edema del cerdo, por lo que



- se refiere a las infecciones de los animales jóvenes. Las presentes composiciones pueden utilizarse igualmente para el tratamiento de las neumonía, brónconeumonía, metritis, peritonitis, e infecciones quirúrgicas en los animales
5. adultos. Las presentes composiciones sirven igualmente para la prevención y el tratamiento de las enfermedades respiratorias crónicas de las aves, la sinusitis infecciosa de los pavos, la colibacilosis, las onfalitis, la sinovitis, etc....
10. Las excelentes propiedades de las presentes composiciones antibióticas para el tratamiento de las enfermedades anteriormente indicadas quedan demostradas por las pruebas clínicas siguientes referentes a los bovinos y los cerdos. Por lo que se refiere a los bovinos, se descomponen en dos grandes grupos:
15. - Tratamiento de los adultos y de los animales de más de 6 meses
- Tratamiento de los terneros.
- A - TRATAMIENTO DE LOS ADULTOS Y LOS ANIMALES DE MAS DE 6 MESES
20. La tabla 1 siguiente resume en forma sintética las observaciones que se han realizado sobre la utilización de la asociación sinérgica tilosina/colistina para el tratamiento de las enfermedades respiratorias.
25. La época de invierno en la que se realizaron las pruebas permitió encontrar numerosos casos de afecciones respiratorias cuyo diagnóstico exacto es con frecuencia difícil.
30. Esta tabla muestra que tratamientos a las dosis preconizadas de 1 ml de solución de una mezcla de 4 g.

5. de tilosina activa y de 0,266 g. de colistina activa (diluida en 40 ml de agua) por 10 kg de peso vivo, renovadas a 24 horas de intervalo, permiten la curación de los animales en una proporción muy importante. Estos resultados, obtenidos con animales de edad y raza muy diferentes, dan una buena indicación de la eficacia de la asociación sinérgica tilosina/colistina.

10. Esta eficacia se explica por el espectro de actividad de la asociación que va de los micoplasmas a los gérmenes gram-negativos. Ahora bien, se sabe que en muchas enfermedades respiratorias, no hay más que un germen causante pero a menudo existe una asociación de virus, micoplasmas y gérmenes figurados.

15. En el marco del tratamiento de los bovinos de gran tamaño, se han probado otras indicaciones, Particularmente, en el tratamiento de las mamitis colibacilares, las tres observaciones que se han hecho son muy alentadoras; no obstante, no permiten, por sí solas, preconizar el empleo sistemático del producto en esta indicación, hasta que se proceda a una experimentación más amplia.

20. Otras observaciones, en número de 5, se refieren al tratamiento de diversas afecciones: artritis, infecciones post-partum, oftalmias.

25. Los resultados obtenidos son satisfactorios, particularmente en los casos de artritis en los que, de 4 casos se obtuvo la curación en 3.

TABLA 1  
UTILIZACION EN LOS BOVINOS : ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

ANIMALES					SINTOMAS	TRATAMIENTO		
Número	Sexo	Raza	Edad	Peso		Formulación utilizada Ax	Número y frecuencia de las inyecciones	Resultado
1	M	Pié rojo	18 meses	360 kg	Pasteurellosis, neumonía	40 ml	1	Curación
3	M	Pie rojo	6 meses		Síndrome gripal con complicaciones pulmonares-congestión bilateral-fiebre (temperatura de 40 <sup>o</sup> )	20 ml	2, a intervalos de 24 horas	Curación
3	M	Charollais	1 año	150 kg	Síndrome gripal con complicaciones pulmonares, estado general afectado	15 ml (tratamiento anterior: Terramicina)	2, a intervalos de 24 horas	Curación
1	F	Pie rojo	9 años	600 kg	Síndrome gripal con complicaciones pulmonares	60 ml (tratamiento anterior ineficaz: Terramicina+cortisona)	1	Curación
1	F	Charollais	18 meses	500 kg	Síndrome gripal con hepatización pulmonar	40 ml + Triamcínolona	2, a intervalos de 24 horas	Curación en 48 horas



**TABLA 1 (continuación)**  
**UTILIZACION EN LOS BOVINOS : ENFERMEDADES RESPIRATORIAS**

ANIMALES					SINTOMAS	TRATAMIENTO		
Número	Sexo	Raza	Edad	Peso		Formulación utilizada A*	Número y frecuencia de las inyecciones	Resultado
1	F	FFPN	6 años	400 kg	Neumonía	40 ml	2, a intervalos de 24 horas	Síntomas sin cambios, se decidió el sacrificio 48 h. después de comenzar el tratamiento; afección completa por tuberculosis aguda
1	F	FFPN	18 meses	400 kg	Neumonía	40 ml + eupnéico tonicardiaco	1	Curación
1	F	FFPN	7 años	500 kg	Bronco-neumonía	80 ml	2, a intervalos de 24 horas	Curación lenta; poco clara

A\* Un frasco encierra : 4 g. de tilosina activa  
 0,266 g. de colistina activa } a diluir en 40 ml de agua destilada

**B - TRATAMIENTO DE LOS TERNEROS**

**1. Enfermedades neo-natales**

La tabla 2 siguiente pone de relieve los resultados muy buenos obtenidos en el tratamiento de las diarreas y neumo-enteritis que aparecen en los primeros días después del nacimiento.

En el caso del tratamiento de las diarreas,

415302



- 15 -

conviene no obstante recordar la importancia de las medicaciones destinadas a combatir la acidosis y la deshidratación de los animales para completar la acción de los antibióticos.

5. Por consiguiente, en el campo de las afecciones neo-natales, la utilización de la asociación a la dosis de una mezcla de 0,5 g. de tilosina activa y de 0,033 g. de colistina activa (a diluir en 10 ó 20 ml de agua destilada) en una o dos intervenciones, consigue una buena remisión de los síntomas observados.
- 10.

TABLA 2

## UTILIZACION EN LOS TERNEROS

Tratamiento de las diarreas y afecciones neo-natales

ANIMALES					SINTOMAS	TRATAMIENTO			
Número	Sexo	Raza	Edad	Peso		Formulación utilizada	Posología	Número y frecuencia de las inyecciones	Resultados
1			8 días		Animal comprado en el mercado-diarrea profusa tratada anteriormente, durante 3 días y sin éxito con CLORANFENICOL.	Ax	20ml	2, a 24 horas de intervalo	Mejoría muy clara
2			10 días		Neumo-enterritis	Ax	10ml	2, a 24 horas de intervalo	Mejoría
3		FFPN	8 días		Diarrea gredosa	BNA + fermentos lácticos + gammaglobulina + antibiótico per os + enzimas	1 ampolilla	1	Curación (control 5 días después del comienzo del tratamiento)



TABLA 2 (continuación)

UTILIZACIÓN EN LOS TERNEROS

Tratamiento de las diarreas y afecciones neo-natales

ANIMALES					SINTOMAS	TRATAMIENTO			
Número	Sexo	Raza	Edad	Peso		Formulación utilizada	Posología	Número y frecuencia de las inyecciones	Resultados
1.			12 días		Diarrea	Bxx + suero + vitamina AD <sub>3</sub> E + gamma globulina	1 ampolla	1	Curación
1.	F	FFPN	4 días	40 kg	Septicemia - toxicosis - atonía - diarrea	Bxx + ácidos aminados + suero glucosado	1 ampolla	1	Curación 24 horas después de la inyección
5		Charollas	8 días a 3 semanas		Todos los terneros nacidos en la granja: - septicemia - diarreas - deshidratación - hipotermia	Ax + gamma globulinas + rehidratante $\frac{1}{2}$ litro	8 ml por intervalo de 24 horas (1,5 veces la dosis prescrita)	2, a intervalos de 24 horas	Curación en 48 horas

Ax: Una ampolla contiene: 4 g de tilosina activa (para diluir en 0,266 g de colistina activa) 40 ml de agua destilada

Bxx: Una ampolla contiene: 0,5 g de tilosina activa (para diluir en 0,033 g de colistina activa) en 10 ó 20 ml de agua destilada



2. Enfermedades respiratorias

La tabla 3 adjunta muestra la gran actividad de la asociación en las enfermedades respiratorias.

5. Como en los adultos, los diagnósticos exactos son difíciles de dar, ya que los síntomas son en general no específicos: polipnea, tos y sofocación.

También aquí, para el tratamiento, una o dos inyecciones a 24 horas de intervalo llevan, en la mayoría de los casos, a la curación.

10. En conclusión, la utilización en los jóvenes terneros da resultados muy positivos.

TABLA 3

UTILIZACIÓN EN LOS TERNEROS

Tratamiento de las enfermedades respiratorias

15.

ANIMALES					SINTOMAS	TRATAMIENTO		
Número	Sexo	Raza	Edad	Peso		Formulación utilizada + otros productos	Número y frecuencia de las inyecciones	Resultado
5		PR	30 días		Síndrome gripal, signos respiratorios y digestivos	Ax 1 ml/10 kg + polvo (antipirético, sedante bronquial, anti-diarréico)	2, a intervalos de 24 h.	Curación
1	M	FFPN	30 días		Pasteurellosis, tos sofocación fiebre (temperatura 39,8°)	Ax 1 ml/10 kg + eupnéico	3, a intervalos de 24 h.	Curación tardía (4º día)
3		FFPN	10 días	50 kg	Septicemia con signos pulmonares polipnea	Ax 1 ml/10 kg + (corticoide eupnéico)	3, a intervalos de 24 h.	Curación

TABLA 3 (continuación)

## UTILIZACION EN LOS TERNEROS

Tratamiento de las enfermedades respiratorias

ANIMALES					SINTOMAS	TRATAMIENTO		
Número	Sexo	Raza	Edad	Peso		Formulación utilizada + otros productos	Número y frecuencia de las inyecciones	Resultado
1	M	Pie rojo	8 días	60 kg	Septicemia sofocación abseso umbilical, fiebre (temperatura, 40°)	Ax 1 ml/10 kg, 1 ml/20 kg + eupnéico	3, a intervalos de 24 h.	Curación
1		FFPN	15 días	60 kg	Neumopatía polipnea, fiebre (temperatura, 40°)	Ax 10 ml (1,5 ml/10 kg) + eupnéico	3, a intervalos de 24 h.	Curación
2	F		8 días		Congestión pulmonar	Bx 1 ampolla	1	Curación
1	F	PR		150 kg	Sofocación fiebre (temperatura, 40°)	Ax 1 ml/10 kg + eupnéico, vitamina AD <sub>3</sub> E	2, a intervalos de 24 h.	Curación rápida
1	F	FFPN	3 semanas		Enfermedad respiratoria	Ax 1 ml + eupnéico	3, a intervalos de 48 h.	Curación
1	F	FFPN	3 meses	150 kg	Sofocación fiebre (temperatura, 39,7°)	Ax 10 ml		
2		FFPN	8 días 21 días		Signos respiratorios	Bx 1 ampolla + eupnéico expectorante	1, después 2 a los 8 días y 1 a los 9 días	Curación
3		FFPN	8 días		Pasteurellosis	Bx 3 ampollas + gammaglobulina + fermento	1	Curación



TABLA 3 (continuación)

UTILIZACION EN LOS TERNEROS

Tratamiento de las enfermedades respiratorias

ANIMALES					SINTOMAS	TRATAMIENTO		
Número	Sexo	Raza	Edad	Peso		Formulación utilizada + otros productos	Número y frecuencia de las inyecciones	Resultado
1		FFPN	10 días		Neumonía	ВМЖ 1 ampolla + fenergan eupneico expectorante	1	Curación
1	FFP	FFPN	8 días		Septicemia sofocación	ВМЖ 1 ampolla + vitaminas + eupneico	3 a 8 días de intervención	Curación pero se-cuelas
1			15 días		Septicemia	Tratamiento anterior: otro anti-biótico		
1		FFPN	15 días		Congestión pulmonar, enfermos desde ha-cía 3 días	ВМЖ 1 ampolla + ana-léptico car-diorespira-torio eup-néico	1	Curación en 24 h.
1		FFPN	8 días		Sofocación disnea, fie-bre (tempe-ratura 41,3°)	ВМЖ 1 ampolla + ana-léptico car-diorespira-torio + eup-néico	1	Curación
1		FFPN	15 días		Pasteurellosis, neumonía, sofocación	ВМЖ 1 ampolla + eup-neico + ana-léptico car-diorespira-torio	1	Curación
25								Curación 24 Fracasos 1



Am y Bm : ver tabla 2

mm 8 días después, formulación B 1 ampolla + vitaminas + suero

5.

C - TRATAMIENTOS EN LA ESPECIE PORCINA

1 - Cerdos adultos - Complejo metritis-mamitis

10.

Frecuentemente aparecen problemas después de los partos de las cerdas. En un caso típico, varias de ellas presentan los siguientes síntomas : abatimiento, pérdida de apetito, fiebre, congestión e hipertrofia de las glándulas mamarias, suspensión de la secreción láctea. El animal permanece echado sobre el vientre y se niega a dejarse mamar por los cerditos. Hay, además, una secreción blanquizca en la vulva.

15.

El diagnóstico indica que se trata de un complejo metritis-mamitis post-partum.

20.

El tratamiento que se establece es el siguiente: post-hipofisis, después 20 ml de solución de mezcla designada por A en la tabla 2 en inyección intramuscular. Esta inyección se repite 2 veces, a intervalos de 24 horas. Se observa una curación en 48 horas con recuperación del apetito y de la lactación.

25.

Esta observación demuestra que la asociación sinérgica asegura resultados muy constantes y muy eficaces en el tratamiento de este tipo de afección.

30.

Estos resultados, por lo demás, no son extraños si atendemos a la etiología de este síndrome en el que -aparte de las condiciones de higiene alimentaria- es importante con frecuencia el papel de los microplasma y de la Escherichia coli.



Ahora bien, la tilosina y la colisina tienen fama, en su campo, por su actividad sobre estos dos gérmenes.

2. Cerditos - Diarrea y enfermedades neo-natales

5. La tabla 4 adjunta muestra que la utilización de la asociación sinérgica tilosina-colistina da igualmente excelentes resultados en el tratamiento de las diarreas e infecciones que atacan a los cerdos recién nacidos en los primeros días de su existencia.

10.

TABLA 4  
UTILIZACION EN EL CERDITO

Diarreas y enfermedades neo-natales

ANIMALES		SINTOMAS	TRATAMIENTO			
Número	Edad		Formulación utilizada Bxx + otros productos	Número y frecuencia de las inyecciones	RESULTADOS	
					Curaciones	Muertos
10	8 días	Diarrea, post-ración, madre no enferma	2 ml/5 kg (dosis doble)	2, a intervalos de 24 h.	9/10	1
9	10 días	Diarrea, post-ración	1 ml/5 kg	2, a intervalos de 24 h.		9/9
20	6 días	Diarrea blanca, la madre se niega a la lactación afecta de diarrea	1 ml/5 kg	2, a intervalos de 24 h.	19/20	
18	8 días	Diarrea, morbilidad 100 % (mortalidad 80 % camadas anteriores)	1 ml/5 kg	2, a intervalos de 24 h.	17/18	1
8	10 días	Diarrea	1 ml/5 kg + vitaminas AD <sub>3</sub> E 1.000.000 A + hierro amilósico	1	8/8	



ver tabla 2

5. En un total de 65 animales tratados, 54 curaron. Dada la compleja etiología de este tipo de afecciones, el importante papel de la leche de la madre (cuya calidad no se puede medir) y la fragilidad normal de los jóvenes organismos, no se puede esperar razonablemente un 100 % de éxito en el tratamiento de estas enfermedades.

10. No obstante, los buenos resultados obtenidos en cuatro observaciones de cada cinco, con una sola inyección, son a este respecto muy prometedores.

Enfermedad de adaptación o síndrome enterotóxico colibacilar

15. Se trataron dos cerditos afectos de paresia y que emitían sonidos roncós, otros tres cerditos que presentaban signos nerviosos (marcha vacilante) y digestivo (diarrea grisácea). Se trata de una enfermedad de adaptación o síndrome enterotóxico colibacilar. Los animales reciben una sola inyección de la mezcla designada por B en la tabla 2 (disolución 20 ml) a la dosis de 1 ml/kg (es decir 2,5 veces la dosis habitual).

20. Al día siguiente, hay una remisión "espectacular" de los síntomas, sobre todo en los dos animales que habían sido dados por muertos por su propietario.

25. También aquí, conociendo la etiología de la enfermedad de la adaptación, no es extraño comprobar la eficacia de una asociación sinérgica que incluya la colistina.

CONCLUSION DE LAS OBSERVACIONES

30. De estos estudios clínicos de la asociación sinérgica tilosina/colistina, se desprenden las indicacio



nes siguientes:

1. Tratamiento de las infecciones neo-natales en el ternero y en el cerdito : los resultados obtenidos son concordantes y positivos:
5. 2. Tratamiento de las infecciones respiratorias : en el animal joven, igual que en el adulto, la asociación se muestra muy eficaz.  

Las inyecciones a las dosis recomendadas deben repetirse al menos una vez.
10. 3. Tratamiento de las enfermedades en las que el colibacilo represente un papel importante : diarreas o septicemias de los terneros.  

Las composiciones de la presente invención son generalmente polvos de tilosina + colistina (o sus sales) o de eritromicina + colistina (o sus sales). Estos polvos, generalmente, se disuelven en un disolvente, como por ejemplo agua destilada, en el momento del empleo.
15. Pueden contener, además del ingrediente activo, uno o varios excipientes sólidos farmacéuticamente aceptables, tales como el sorbitol y otros soportes sólidos ordinariamente utilizados en farmacia como la lactosa, la glucosa, etc....
20. Las presentes composiciones pueden también presentarse directamente en forma líquida o de suspensión.
25. Para la asociación tilosina/colistina, se empleará, por ejemplo, una mezcla de agua y de propilenglicol y, para la asociación eritromicina/colistina, se puede emplear el polietilenglicol, un aceite vegetal modificado o la mezcla de oleato de etilo y de gel de monostearato de aluminio.
30. Se pueden añadir igualmente a las composiciones pro-



ductos de conservación (alcohol bencílico para la asociación tilosina/colistina, paraclorometacresol para la asociación eritromicina/colistina), así como anestésicos locales como la butesina.

5. La dosis de aplicación de las presentes composiciones variará un poco según la composición y el peso del animal tratado. Por ejemplo, en el caso de una composición que contenga 0,50 g. de tilosina activa y 0,033 g. de colistina activa y para un animal de 50 kg : después de dilución en 20 ml de disolvente (agua destilada), se utilizará 1 ml por cada 2,5 kg de peso corporal en los cerditos, los corderos y las cabras; después de dilución en 10 ml de disolvente, se utilizará 1 ml por 5 kg de peso corporal para los terneros y los cerdos.

10. En caso de una composición que contenga 4 g. de tilosina activa y 0,266 g. de colistina activa : después de una dilución en 40 ml de disolvente, se empleará 1 ml para 10 kg de peso corporal en los terneros, los cerdos y los bovinos.

15. Debido a la rápida eliminación de la tilosina y de la colistina, es preferible repetir las administraciones de antibióticos (preferentemente por vía intramuscular) a 24 h. de intervalos.

20. La presente invención se comprenderá mejor por los ejemplos siguientes de realización que serán únicamente a título ilustrativo y no limitativo.

EJEMPLO 1

25. Se prepara una formulación de antibiótico que comprende 4,680 g. de tartrato de tilosina, 0,400 g. de clorhidrato de colistina y 7,00 g. de sorbitol. El modo

30.



de actuar es el siguiente:

5. Se utiliza un mezclador de cinta con un volumen de 900 litros. Se calcula la cantidad de los tres constituyentes de la mezcla para llegar a un peso total de aproximadamente 400 kg; en estas condiciones, se llena el mezclador a su nivel óptimo. Posteriormente se incorpora al mezclador el sorbitol, el tartrato de tilosina y el clorhidrato de colistina y se deja girar el aparato durante 30 minutos.
10. En este momento, dado el importante desprendimiento de polvo que se forma durante la mezcla, conviene disponer de un mezclador perfectamente hermético y obligar al personal de servicio a llevar mascarilla y gafas.
15. A continuación se tritura la mezcla en el triturador llamado Forplex de forma que se obtengan partículas de aproximadamente 200 micras. Se vuelve a cargar el producto triturado en el mezclador de cinta y se hace girar el aparato durante 15 minutos en un sentido y después 15 minutos en sentido inverso. Se extrae entonces el producto, constituido por partículas de 200 micras, que está ya dispuesto para su embalaje.
- 20.

EJEMPLO 2

25. De manera análoga al ejemplo 1, se utilizan 4,680 g. de tartrato de tilosina y 0,400 g. de clorhidrato de colistina para proporcionar una composición de antibióticos según la presente invención.

EJEMPLO 3

30. De manera análoga al ejemplo 1, se utilizan 4,680 g. de tartrato de tilosina (que suministra 4,00 g. de tilosina activa) y 0,666 g. de metanosulfonato de co-



listina (que suministra 0,266 g. de colistina activa). Esta formulación se calcula para 400 kg de peso vivo (bovinos o cerdos).

EJEMPLO 4

5. De manera análoga al ejemplo 1, se utilizan 4 g. de tiocianato de eritromicina y 0,4 g. de sulfato de colistina para obtener una composición antibiótica según la presente invención.

EJEMPLO 5

10. De manera análoga al ejemplo 1, se utilizan 4 g. de tiocianato de eritromicina y 0,666 g. de metanosulfonato de colistina para obtener una composición de antibióticos que conviene al tratamiento de las enfermedades infecciosas de los animales. Esta formulación se calcula para 400 kg de peso vivo.

Todos los ejemplos precedentes proporcionan composiciones en polvo, que se ponen en solución en agua destilada en el momento del empleo.

EJEMPLO 6

20. Formulación líquida

Se utilizan 4,00 g. de tilosina activa (suministrada por el tartrato de tilosina o la tilosina base) y 0,266 g. de colistina activa (suministrada por el sulfato, el clorhidrato o el metanosulfonato de colistina).

25. Se disuelve la mezcla en agua y propilenglicol, utilizado como disolventes, y se añade alcohol benéfico como producto de conservación.

EJEMPLO 7

Formulación líquida

30. Se utilizan 4g. de eritromicina base (o el

415302



- 27 -

equivalente de triocianato de eritromicina) y 0,666 g. de metanosulfonato de colistina.

5.

Se disuelve todo en polietilenglicol, o en un aceite vegetal modificado o en una mezcla de oleato de etilo y de gel de monostearato de aluminio.

Se añade finalmente paraclorometacresol como producto de conservación y butesina como anestésico local.

#### EJEMPLOS 8 Y 9

##### Suspensiones afectosas inyectables

10.

Se realizan dos formulaciones de suspensiones afectosas inyectables utilizando los compuestos siguientes :

<u>Compuesto</u>	<u>Ejemplo 8</u>	<u>Ejemplo 9</u>
Tiocianato de eritromicina	20 g.	10 g.
15. Sulfato de colistina	2 g.	2 g.
Butesina	2 g.	2 g.
Paraclorometacresol	0,15 g	0,15 g
Gel de monostearato de aluminio al 2 %	c.s.p.	100 ml.

20.

La presente invención no se limita a los ejemplos de realización que se acaban de describir, sino que, por el contrario, es susceptible de variantes y modificaciones que aparecerán claramente al hombre entendido en la técnica.

25.

#### N O T A

Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental.

30.

129



También se hace constar que el invento corresponde a una Solicitud de Patente, presentada en Francia, con fecha 31 de Mayo de 1.972, bajo el número 72/19545; acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España, sobre: PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE COMPOSICIONES ANTIBIÓTICAS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA SINERGISTICA BASADAS EN TILOSINA Y COLISTINA O ERITROMICINA Y COLISTINA; caracterizándose por lo siguiente:

1ª.- Procedimiento para la obtención de composiciones antibióticas de actividad antimicrobiana para animales, particularmente rumiantes, porcinos y aves de corral, con actividad sinérgica sobre las capas *Escherichia coli*, *Bordetella bronchiseptica* y *Sarcina lutea*, caracterizado porque comprende las etapas de mezclar durante alrededor de 30 minutos en una mezcladora de cinta por lo menos un integrante del grupo que comprende de 35 a 95 % ponderal aproximadamente de tilosina y sus sales, y 55 a 95 % ponderal aproximadamente de eritromicina y sus sales en un porcentaje complementario, estando dichos porcentajes calculados en función del compuesto fase; triturar posteriormente hasta obtener partículas de 200 micrones aproximadamente; y volver a mezclar durante un tiempo de alrededor de 15 minutos en dicha mezcladora en un sentido, y durante el mismo tiempo en sentido inverso.

2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque contiene igualmente un soporte sólido, líquido ó que constituye una suspensión, farmacéuticamente aceptable.

129

415302



-29-

3<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 2, caracterizado porque el soporte sólido se escoge entre el grupo que comprende el sorbitol y los soportes sólidos ordinariamente utilizados en composiciones farmacéuticas.

5

4<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 2, caracterizado porque el soporte líquido ó que constituye una suspensión se escoge en el grupo que comprende el agua, el propilenglicol, el polietilenglicol, un aceite vegetal modificado, el oleato de etilo y el gel de monostearato de aluminio.

10

5<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque contiene 4,00 g., de tilosina activa y 0,266 g. de colistina activa.

15

6<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque contiene 0,500 g. de tilosina activa y 0,033 g. de colistina activa.

20

7<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque contiene 4,680 g. de tartrato de tilosina, 0,400 g. de clorhidrato de colistina y 7,00 g. de sorbitol.

8<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque contiene 4 g. de tiocianato de eritromicina y 0,4 g. de sulfato de colistina.

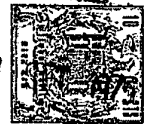
25

9<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque contiene 4 g. de tiocianato de eritromicina y 0,666 g. de metanosulfonato de colistina.

30

10<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque contiene 4 g. de tilosina activa y 0,266 g. de colistina activa en una mezcla de agua y de propilenglicol como disolventes con alcohol bencílico como producto

415302,



-30-

de conservación.

5 11ª.- Procedimiento para la obtención de composiciones antibióticas de actividad antimicrobiana sinérgica basadas en tilosina y colistina ó eritromicina y colistina, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 30 hojas escritas a máquina por una sola cara.

- 1 SET. 1975

Madrid

Société CEVA, S.A.

10

X. GOMEZ ACEBO Y MODET  
P. P. Elmadari, La Costa Ferrolles