

# EL PATRON INTERNACIONAL PARA LA OLEANDOMICINA<sup>1</sup>

Dres. J. W. Lightbown,<sup>2</sup> M. Kogut<sup>2</sup> y M. V. Mussett<sup>2</sup>

*Con la colaboración de seis laboratorios de distintos países, se llevó a cabo una valoración comparativa de una preparación internacional de referencia de oleandomicina y la preparación de la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos de América, ambas procedentes del mismo lote. El objeto fue el de establecer la primera como patrón internacional.*

El Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos (1) solicitó al Instituto Nacional de Investigaciones Médicas del Reino Unido (INIM), Londres, que obtuviera una muestra de oleandomicina apropiada para uso como patrón internacional, si ese patrón fuere necesario. Se obtuvo una muestra de oleandomicina en octubre de 1957<sup>3</sup>; el Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos (2) estableció este material como la preparación internacional de referencia y pidió al INIM que lo distribuyera en envases apropiados y que organizara una valoración internacional de esta preparación internacional de referencia comparándola con la preparación patrón para la oleandomicina de la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos de América (AAD), con miras a establecerla como patrón internacional.

## El patrón de la AAD

Se recibieron unos 2 g de la preparación patrón de oleandomicina de la AAD.<sup>4</sup> La actividad de esta sustancia se definió como 850

µg/mg. En cuanto se recibió, fue distribuida en 80 ampollas de unos 20 mg. Las ampollas se comprimieron y cerraron sin secar ni llenar con N<sub>2</sub>. Este procedimiento se adoptó porque la actividad se expresaba tal como se hallaba la sustancia, es decir sin ninguna clase de secado. Se observó que la pérdida de peso de la sustancia en las ampollas calentadas a 56°C en pentóxido de fósforo a una presión de <0.05 Torr, durante cinco horas, era de 0.2% w/w. Esta preparación estaba adicionada de cloroformo.

## Preparación internacional de referencia (patrón internacional propuesto)

Esta preparación consistió en 250 g (lote 69435-76 ERA) del adicionado clorofórmico de la oleandomicina que se recibió en el INIM en un solo recipiente, en noviembre de 1957. El fabricante proporcionó los datos siguientes:

Fórmula empírica	C <sub>35</sub> H <sub>61</sub> NO <sub>12</sub> CHCl <sub>3</sub>
Peso molecular	809
Punto de fusión	121°C—122°C
Rotación específica	53.9° (en CH <sub>3</sub> OH)
Bioactividad	845 µg/mg

La preparación se mantuvo en su recipiente original cerrado a la temperatura de -10°C hasta abril de 1959, fecha en que se distribuyó en 2,000 ampollas, aproximadamente, cada una de las cuales contenía unos 80 mg. Las ampollas se almacenaron en pentóxido de fósforo *in vacuo* durante 13

<sup>1</sup> Trabajo publicado en inglés con el título "The International Standard for Oleandomycin," en el *Bull Wild Hlth Org*, 33(2):227-233, 1965.

<sup>2</sup> Del Departamento de Patrones Biológicos, Instituto Nacional de Investigaciones Médicas, Londres, Reino Unido.

<sup>3</sup> La muestra de oleandomicina fue facilitada por Chas. Pfizer & Co. Inc., Brooklyn, Nueva York, Estados Unidos de América.

<sup>4</sup> Facilitadas por mediación del Dr. Donald C. Grove, División de Antibióticos, Oficina de Ciencias Biológicas y Físicas, Administración de Alimentos y Drogas, Secretaría de Salud, Educación y Bienestar, Washington, D. C., Estados Unidos de América.

días a la temperatura de 4°C; se las comprimó, se las mantuvo *in vacuo* en pentóxido de fósforo durante otros 13 días, se las llenó con nitrógeno seco puro y se las cerró herméticamente. Luego se las examinó para comprobar si había algún pequeño agujero o escape, y se las almacenó a la temperatura de -10°C.

La pérdida de peso de la preparación contenida en las ampollas al ser calentadas a la temperatura de 56°C en pentóxido de fósforo, a una presión de <0.05 Torr durante 5 horas, resultó de 0.6% w/w.

Al ser expuesta a una atmósfera de 60% de humedad relativa, la preparación en la ampolla no mostró ningún aumento importante de peso en 24 horas.

Las dos muestras correspondían, en realidad, a un solo lote de oleandomicina suministrado por separado a la AAD y a la OMS. Puesto que las partes del lote habían sido tratadas separadamente, se consideró conveniente compararlas directamente mediante un estudio en colaboración. Esta comparación, además de definir la actividad de la preparación patrón internacional, proporcionaría valiosa información relativa a las variaciones dentro de cada uno de los laboratorios y entre los mismos al saberse que los materiales comparados tenían la misma composición. La información podía ser indirectamente útil en otras valoraciones en colaboración para la determinación de variaciones de sustancias no idénticas.

#### Valoración en colaboración

Siete laboratorios aceptaron participar en el estudio internacional en colaboración y se suministró a cada uno de ellos ocho ampollas de la preparación patrón de la AAD junto con cinco ampollas de la preparación patrón internacional propuesta. Al finalizar el estudio, seis laboratorios presentaron los resultados de sus valoraciones. Estos laboratorios se enumeran en el anexo 1, pero en el presente informe se identifican con números arbi-

trarios que no corresponden necesariamente al orden de enumeración.

No se especificó ningún método particular de valoración; los únicos requisitos exigidos fueron los siguientes:

1. Cada valoración debía facilitar con sus propias pruebas internas una estimación de la actividad de la preparación incógnita (patrón internacional propuesto) en términos del patrón (patrón de la AAD) y límites de confianza de tal estimación.

2. La valoración debía proporcionar pruebas de linealidad y paralelismo de las líneas de la dosis logarítmica/respuesta, a menos que se hubiera comprobado previamente la linealidad.

3. Todas las diluciones de la preparación patrón y de la incógnita (con o sin repetición) debían ser ensayadas, de preferencia, en una sola unidad del experimento.

4. Había que realizar cuatro valoraciones en un mínimo de dos series de determinaciones de peso y por lo menos dos juegos de ampollas.

#### Métodos de valoración

Definida una valoración como una unidad natural de un experimento, de la que es posible calcular una actividad con límites asociados de confianza (o ponderación estadística), los resultados totales de todos los laboratorios produjeron 49 valoraciones. Todas ellas se hicieron por difusión en placa, pero variaron considerablemente en detalle (cuadro 1).

Los laboratorios 1 y 2 prepararon diluciones de dos preparaciones en un diseño de tablero latino de 8 x 8 en placas grandes, pero en el laboratorio 1 las ocho posiciones se utilizaron para cuatro dosis de la preparación patrón y cuatro de la incógnita, mientras que en el laboratorio 2 las diluciones derivadas de tres determinaciones de peso separadas de la incógnita se compararon con dos niveles de dosis de la preparación patrón. Este último método condujo a tres estimaciones separadas, pero no independientes, de actividad de cada placa. Otros detalles del método de valoración que difirieron entre estos dos laboratorios fueron la técnica de aplicación de las diluciones a las placas y los organismos de prueba utilizados.

CUADRO 1—Número y clases de valoraciones utilizadas por los laboratorios participantes.

Laboratorio No.	Número de valoraciones	Respuestas totales por placa	Respuestas totales por valoración	Número de dosis		Organismo de prueba	Método de aplicación
				Patrón	Incógnita		
1	8	64	64	4	4	<i>Bacillus pumilus</i>	Rosario aislador en forma de espina de pescado ("Fish spine beads")
2	12	64	32	2	2	<i>Bacillus subtilis</i>	Hoyos ("Punched holes")
3	6	6	54	3	3	<i>Staphylococcus albus</i>	Cilindros
4	2	6	126/252	4	3	<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i>	Hoyos ("Punched holes")
		6	126/252	4	3	<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>albus</i>	Hoyos ("Punched holes")
5	15	4	48	3	3	<i>Bacillus subtilis</i>	Cilindros
6	4	6	48	3	3	<i>Staphylococcus albus</i>	Cilindros

El laboratorio 1 seleccionó un diseño distinto de tablero latino para cada placa, pero el laboratorio 2 utilizó exclusivamente el modelo descrito por Brownlee *et al.* (3).

Los métodos empleados por los laboratorios 3 y 6 fueron muy similares en todo sentido, y los describen Kirshbaum *et al.* (4) y la *United States Pharmacopoeia XV* (6). Estos laboratorios utilizaron los mismos organismos, y, por medio de cilindros, aplicaron tres dosis de cada preparación, sin repetición, a una placa pequeña. En el laboratorio 3 nueve placas (tratadas al mismo tiempo) constituyeron una valoración, mientras que el laboratorio 6 utilizó ocho placas por valoración.

El laboratorio 5 empleó también placas pequeñas, pero en este caso había cuatro cilindros en cada una, dos llenos con una de las soluciones de la preparación patrón y los otros dos con la dilución equivalente de la preparación incógnita. Por cada valoración había 12 placas, o sea ocho respuestas por nivel de dosis.

El modelo utilizado por el laboratorio 4 se describe en la *Pharmacopoeia Belgica V* (5) y es una ampliación del método de la curva estándar. Se seleccionó como dosis testigo una dilución de la preparación patrón y esta dosis aparecía en tres posiciones en todas las placas. Las otras tres posiciones estaban

ocupadas por repeticiones de una de las otras cuatro dosis de preparación patrón o de las tres dosis de preparación incógnita. Para cada una de las siete dosis útiles de las dos preparaciones había tres o seis placas, lo que representa un total de 126 ó 252 respuestas por valoración, la mitad de las cuales eran respuestas a la dosis testigo de la preparación patrón.

Aparte del laboratorio 2, todos los demás incluyeron tres o más dosis de cada preparación, lo que permitió examinar la linealidad de las líneas de respuesta. El laboratorio 2 aportó pruebas separadas de la linealidad de la línea dosis-respuesta, ensayando una preparación a siete niveles de dosis, es decir, un margen de dilución de razón 64.

#### *Análisis estadístico*

Los resultados de cada valoración fueron examinados mediante métodos estadísticos estándar para valoraciones en líneas paralelas relacionando el diámetro de la zona con el logaritmo de la dosis (7). Los diámetros medidos por el laboratorio 4 fueron ajustados por la diferencia entre el diámetro medio de las zonas obtenido con la dosis testigo en la misma placa y la media general de todas estas zonas antes de proceder al análisis habitual.

Se determinó la linealidad y el paralelismo de las líneas de la dosis logarítmica/respuesta mediante el análisis de la variancia, y se calculó la razón de actividad de la preparación incógnita en términos de la preparación patrón. El peso asignado a cada actividad se calculó como la recíproca de la variancia de la actividad logarítmica.

Se ensayaron las actividades con respecto a la homogeneidad en cada uno de los laboratorios y entre los mismos, mediante la siguiente fórmula:

$$\chi^2 = W (M - \bar{M})^2$$

en la que la  $\chi$  representa una estimación de la actividad logarítmica, la  $W$  su peso, y la  $\bar{M}$  representa la actividad media ponderada. Puesto que las preparaciones que se comparan son prácticamente idénticas, el valor previsto de la razón de actividad es la unidad y, por consiguiente, se incluyó una prueba de significación para las desviaciones de las razones de actividad media ponderada respecto de la unidad.

Los resultados de algunos laboratorios se examinaron de nuevo relacionando el cuadrado del diámetro con la dosis logarítmica.

### Resultados

El análisis de la única línea dosis-respuesta del laboratorio 2 mostró una curvatura significativa al nivel de 0.1% (reducida al nivel de 5% cuando el cuadrado del diámetro se usó como metámetro de respuesta). Cualquiera que fuera el metámetro de respuesta utilizado, no hubo separaciones significativas del paralelismo en ninguna de las cuatro valoraciones múltiples llevadas a cabo por este laboratorio.

El análisis de los resultados obtenidos del laboratorio 1 indicó que casi en cada valoración el término de separación del paralelismo o de uno u otro de los cuatro términos de la curvatura resultó significativo. Por consiguiente, se decidió combinar estos cinco términos y utilizar una sola prueba para las "desviaciones de la linealidad". Al realizar

esta prueba se observó que en cuatro de las ocho valoraciones, las desviaciones resultaban significativas al nivel del 1%. Se repitió el análisis utilizando el cuadrado del diámetro como respuesta, y de nuevo exactamente la mitad de las valoraciones mostraron desviaciones significativas de la linealidad al nivel de 1%. Se consideró posible que si se efectuaba el análisis en una sección mayor de los resultados, algunos de los términos de la curvatura podían dar un promedio, ya que, al parecer, no hubo ninguna curvatura consecuente en ninguna dirección. En consecuencia, se volvieron a analizar los datos utilizando los resultados de una sola serie de determinaciones de peso (es decir, un juego de cuatro placas) como una "valoración". Los términos de la curvatura demostraron ser acumulativos, pues en cada uno de los dos análisis la "desviación de la linealidad" fue significativa al nivel de 0.1%. Ninguno de los términos de "separación del paralelismo" resultó significativo al nivel de 5%, cuando se comprobaron separadamente.

Cuando se utilizó como respuesta el diámetro de las zonas, todas las valoraciones presentadas por los laboratorios 3, 4 y 5 resultaron estadísticamente válidas, pero se observó que en cada una de las valoraciones del laboratorio 4 la pendiente de la línea dosis logarítmica/respuesta correspondiente a la preparación patrón fue más marcada que la de la preparación incógnita. Las razones de  $F$  en cuanto a la linealidad, calculadas con las valoraciones efectuadas por el laboratorio 5, se ajustaron bastante bien a la distribución teórica. En una de las valoraciones del laboratorio 6 (N° 48), la separación del paralelismo y los términos de las "desviaciones de la linealidad" en combinación resultaron significativos al nivel de 5%.

Puesto que el empleo del cuadrado del diámetro mejoró poco o nada la validez de las valoraciones efectuadas por los laboratorios 1 y 2, y las diferencias en las razones de actividad y pesos eran insignificantes al establecer comparaciones entre los dos metámetros de respuesta, los resultados de

los cálculos utilizando el diámetro de las zonas se han presentado tan sólo en el cuadro 2. En las columnas 3 y 4 de dicho cuadro se enumeran las actividades y los pesos obtenidos para cada valoración. Salvo en el caso del laboratorio 2, en que la actividad de un "conjunto" representa la combinación de actividades en una placa grande, los valores de la columna 5 representan la media ponderada de las valoraciones en que se utilizó la misma serie de determinaciones de peso y diluciones de los materiales de pruebas.

La columna 6 contiene la actividad general media ponderada obtenida para cada laboratorio, junto con sus límites de confianza. Los valores que figuran entre paréntesis representan la ponderación estadística total dividida por el número total de diámetros de zona medidos.

La prueba  $\chi^2$  indicó que las razones de actividad eran homogéneas dentro de cada uno de los laboratorios participantes. La  $\chi^2$  del laboratorio 2 resultó extraordinariamente reducida ( $\chi^2=2.3$ ;  $P>0.99$ ).

El único laboratorio que obtuvo una actividad final significativamente distinta de la unidad fue el 4.

Las seis actividades logarítmicas medias (una por laboratorio) constituyeron un grupo heterogéneo ( $\chi^2=20.3$ ;  $0.01>P>0.001$ ), y tomadas en conjunto dieron una actividad general de 1.0054. Debido a los elevados pesos, la diferencia de este valor con respecto a la unidad tiene significado dudoso ( $t=2.2$ ;  $0.05>P>0.02$ ).

Si se excluye el laboratorio 4, las cinco estimaciones de actividad restantes son homogéneas ( $\chi^2=4.2$ ;  $0.50>P>0.30$ ) y se combinan a una media ponderada de 1.0018 con un 95% de límites de confianza de 0.996 a 1.007. Este valor no difiere en forma significativa de la unidad ( $t=0.64$ ;  $0.60>P>0.50$ ).

## Discusión

Jerne y Wood (8) estudiaron la diferencia entre la validez fundamental y la validez

estadística de una valoración biológica. En el presente estudio, en que se han comparado dos partes del mismo lote de oleandomicina, existen las condiciones de una valoración válida porque se sabe que la preparación patrón y la incógnita deben dar líneas de dosis-respuesta similares, y el laboratorio 2 ha demostrado que estas líneas son uniformes en una gran variedad de diluciones.

La notable ausencia de separaciones significativas del paralelismo de las líneas dosis logarítmica/respuesta de las dos preparaciones constituye una indicación de la validez fundamental de estas valoraciones. Los únicos casos de no paralelismo significativo ocurrieron en tres de las placas del laboratorio 1 y en la valoración No. 48 del laboratorio 6. La actividad calculada en esta última constituye un valor tan alejado que existe la posibilidad de que se haya cometido algún error en la determinación del peso o en la dilución. Si una valoración se definió como "los resultados obtenidos con una sola serie de determinaciones de peso" no se observó ninguna indicación de no paralelismo en las valoraciones hechas por el laboratorio 1. Como se indicó anteriormente, en cada una de las valoraciones del laboratorio 4 la línea dosis logarítmica/respuesta correspondiente a la preparación patrón fue más marcada que la de la preparación incógnita. Una comparación similar mostró una distribución uniforme de las diferencias de pendiente para todos los demás laboratorios.

La proximidad de las actividades calculadas al valor previsto de la unidad muestra también la validez fundamental.

El empleo de cualquiera de los metámetros de respuesta normalmente utilizados para las valoraciones de antibióticos no eliminó la curvatura de las líneas dosis-respuesta producidas por el laboratorio 1. Si bien Jerne y Wood (8) consideran que esto no tiene validez estadística, creen que su importancia es secundaria, y, en realidad, la inclusión de estas valoraciones no ha conducido a una heterogeneidad de actividades dentro de este laboratorio o con otros laboratorios. El

CUADRO 2—Actividades obtenidas de valoraciones individuales.

Laboratorio No. (1)	Valoración No. (2)	Razón de actividad (3)	Peso (4)	Actividad media ponderada por grupo (5)	Actividad y límites de confianza de 95% por laboratorio <sup>a</sup> (6)
1	1	1.047	8,585	1.034	1.014 0.999-1.030 (178)
	2	1.014	11,680		
	3	1.027	6,983		
	4	1.060	7,732		
	5	0.976	20,392	1.002	
	6	1.027	11,451		
	7	1.034	9,216		
	8	0.999	14,958		
2	9	1.006	19,680	1.008	1.000 0.991-1.008 (770)
	10	1.010	19,676		
	11	1.007	19,677		
	12	0.994	24,347		
	13	1.004	24,347	0.996	
	14	0.989	24,347		
	15	0.998	22,483		
	16	1.001	22,483		
	17	0.998	22,483	0.999	
	18	0.989	32,052		
	19	1.004	32,052		
	20	1.001	32,052		
3	21	1.054	3,540	1.054	1.020 0.984-1.057 (48)
	22	0.983	3,385	0.983	
	23	0.993	2,532	0.993	
	24	1.048	2,483	1.048	
	25	1.001	1,283	1.001	
	26	1.034	2,365	1.034	
4	27	1.046	44,182	1.046	1.033 1.018-1.048 (134)
	28	1.024	27,609	1.025	
	29	1.035	2,414		
	30	1.022	27,085	1.022	
5	31	0.999	22,484	0.996	0.999 0.992-1.007 (461)
	32	0.992	17,358		
	33	0.989	15,643		
	34	1.002	15,547	0.995	
	35	1.012	20,626		
	36	1.004	25,968		
	37	1.006	16,767	1.007	
	38	0.999	17,465		
	39	0.986	21,232		
	40	1.002	27,483	0.999	
	41	0.997	30,802		
	42	1.023	16,999		
	43	1.012	41,139	1.015	
	44	0.981	30,759	0.980	
	45	0.978	11,413		
46	0.973	1,293			
6	47	1.032	1,220	1.032	0.967 0.914-1.023 (34)
	48	0.880	1,722	0.880	
	49	0.991	2,235	0.991	

<sup>a</sup> Los valores entre paréntesis representan el peso promedio por respuesta.

hecho de que las actividades concuerden dentro de cada laboratorio puede también mencionarse como otra notable característica de este estudio, en contraste con las valoraciones en colaboración en que se comparan preparaciones no idénticas.

La ponderación estadística por respuestas da cierta medida de la precisión relativa de los distintos métodos de valoración. Utilizando esta medida, las valoraciones del laboratorio 2 parecen ser las más precisas. No obstante, estas eran las únicas valoraciones de cuatro puntos en el estudio y este plan, en teoría, conduce a la máxima precisión. A pesar de los elevados pesos, las actividades estimadas por este laboratorio eran más constantes de lo que cabía esperar, y no se puede ignorar la posibilidad de un sesgo, si se recuerda que las mismas concentraciones de antibióticos aparecieron en las mismas posiciones en cada placa.

La precisión de las valoraciones del laboratorio 1, utilizando también un diseño de tablero latino en placas grandes, resultó considerablemente menor.

Los pesos más bajos, obtenidos por los laboratorios 3 y 6, pueden ser debidos al empleo de *Staphylococcus albus* como organismo de prueba, pues el laboratorio 5, que utilizó un diseño similar en placas pequeñas, obtuvo valoraciones bastante precisas.

Las valoraciones del laboratorio 4 fueron también menos precisas, y parecería antieconómico que el 50% de todas las zonas medidas fueran respuestas a una sola dilución de la preparación patrón. No se justificaba la corrección de los tamaños de las zonas según las respuestas a la dosis testigo, pues en algunos de los resultados, especialmente en la valoración No. 29, hubo una correlación deficiente entre las respuestas a las dosis de prueba y a la dosis testigo en la misma placa, lo que dio lugar a una gran variación entre placas de los diámetros de zona corregidos. Estas valoraciones constituyeron el único grupo que causó importante preocupación en cuanto a la validez de la comparación, puesto que cada estimación

de actividad excedía del valor previsto y había una diferencia consecuente de pendiente.

### Definición de la unidad internacional

Como ya se indicó al principio, una de las finalidades de este estudio en colaboración consistió en examinar la validez de la valoración y la variación de actividad al comparar materiales idénticos, y la otra fue la de definir una actividad para la preparación patrón internacional de la oleandomicina. Se consideró que no había pruebas en contra de la creencia de que la actividad de la preparación patrón internacional era la misma que la de la preparación patrón de la AAD; así, pues, de acuerdo con la práctica acostumbrada de relacionar la actividad de un patrón internacional con la de un patrón existente, y con la conformidad de los participantes en el estudio en colaboración, el Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos (9) definió la actividad como 850 UI/mg, es decir, la unidad internacional de oleandomicina está contenida en 0.001176 mg de la preparación patrón internacional.

### Resumen

A solicitud del Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos, seis laboratorios de cuatro países llevaron a cabo una valoración en colaboración de dos partes procedentes del mismo lote de oleandomicina con fines comparativos; la primera había sido propuesta como patrón internacional, mientras que la segunda era la preparación de referencia de la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos de América. Se empleó el método de la difusión en placa, pero la modalidad técnica de los ensayos difirió considerablemente según los distintos laboratorios. Vistos los resultados de esta valoración, y de acuerdo con los laboratorios que intervinieron en ella, la preparación propuesta quedó constituida como patrón internacional de la oleandomicina y su acti-

unidad fijada en 850 UI/mg; es decir que la unidad internacional de oleandomicina está contenida en 0.001176 mg de dicho patrón internacional. □

### Anexo I

#### Participantes en la valoración en colaboración

##### BÉLGICA

Dr. A. Lafontaine y Mr. A. Vanden Bulcke  
Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie  
14, rue Juliette Wytsman  
Brussels

Mr. O. Hughes  
Pfizer Ltd.  
Richborough  
Kent

##### ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

Dr. D. C. Grove  
Division of Antibiotics  
Bureau of Biological and Physical Sciences  
Food and Drug Administration  
U.S. Department of Health, Education, and  
Welfare  
Washington, D.C.

Mr. F. Howard Hedger  
Chas. Pfizer & Co., Inc.  
Brooklyn, N.Y.

##### CANADÁ

Dr. L. Greenberg y Miss K. Fitzpatrick  
Biologics Control Laboratories  
Department of National Health and Welfare  
Ottawa

##### REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E

##### IRLANDA DEL NORTE

Dr. J. W. Lightbown y Dr. M. Kogut  
National Institute for Medical Research  
Mill Hill, London

### REFERENCIAS

- (1) Organización Mundial de la Salud: *Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1958. (*Org Mund Salud: Ser Inf Técn* 147.) Pág. 8.
- (2) Organización Mundial de la Salud: *Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1959. (*Org Mund Salud: Ser Inf Técn* 172.) Pág. 7.
- (3) Brownlee, K. A. *et al.*: "Biological Assay of Streptomycin by a Modified Cylinder Plate Method," *J Gen Microbiol*, 2:40-53, 1948.
- (4) Kirshbaum, A.; Arret, B., y Kramer, J.: "A New Bacitracin Standard Collaborative Assays and Method of Statistical Analysis," *Antibiot and Chemother*, 6:660, 1956.
- (5) *Pharmacopoea Belgica V.*, 1960, vol. 2, págs. 93-97.
- (6) *United States Pharmacopoeia XV*, 1955, págs. 848-851.
- (7) Finney, D. J.: *Statistical Method in Biological Assay*. London: Griffin, 1952.
- (8) Jerne, N. K., y Wood, E. C.: "The Validity and Meaning of the Result of Biological Assays," *Biometrics*, 5:273, 1949.
- (9) Organización Mundial de la Salud: *Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1964. (*Org Mund Salud: Ser Inf Técn* 293.) Pág. 7.

### The International Standard for Oleandomycin (Summary)

At the request of the WHO Expert Committee on Biological Standardization six laboratories situated in four countries undertook a collaborative study of two samples of a common batch of oleandomycin, of which the first was proposed as the international standard preparation and the second was the reference preparation of the Food and Drug Administration of the United States of America. The material was assayed by plate diffusion methods which

varied in details of technique and design. On the basis of the results obtained and in agreement with the laboratories which took part in the collaborative study the proposed preparation has been established as the international standard for oleandomycin and its value has been fixed at 850 IU/mg; the international unit of oleandomycin has been defined as the activity in 0.001176 mg of the international standard.

### **Padrão Internacional para Oleandomicina (Resumo)**

A pedido da Comissão de Especialistas da Padronização Biológica da OMS, seis laboratórios de quatro países fizeram um estudo coletivo de duas frações de um lote comum de oleandomicina, a primeira das quais fôra proposta como padrão internacional, enquanto a segunda era a preparação de referência da Fiscalização de Alimentos e Drogas dos Estados Unidos da América. Foi empregado o método de semeadura em placa, porém os procedi-

mentos técnicos das provas variaram grandemente de um laboratório para outro. A vista dos resultados dessa titulação comparada e de acôrdo com os laboratórios que participaram no estudo coletivo, foi a preparação proposta declarada padrão internacional de oleandomicina e seu valor fixado em 850 UI/mg; a unidade internacional de oleandomicina foi definida como a atividade de 0.001176 mg do padrão internacional.

### **L'étalon international d'oléandomycine (Résumé)**

A la demande du Comité OMS d'experts de la Standardisation biologique, six laboratoires de quatre pays ont procédé à une étude collective de deux fractions d'un lot commun d'oléandomycine, dont la première était proposée comme étalon international, la seconde constituant la préparation de référence de la Food and Drug Administration, Etats-Unis d'Amérique. La méthode utilisée a été celle de la diffusion sur plaque, mais les modalités techniques des essais

ont été très différentes suivant les laboratoires. A la suite des résultats de ce titrage comparatif, et en accord avec les laboratoires qui ont participé à l'étude collective, la préparation proposée a été constituée en étalon international d'oléandomycine et sa valeur a été fixée à 850 UI/mg; l'unité internationale d'oléandomycine a été définie comme l'activité de 0.001176 mg de l'étalon international.