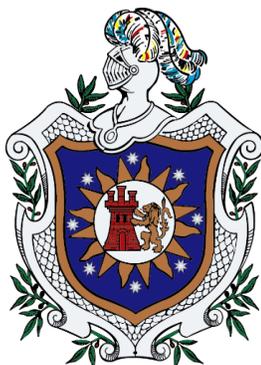


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA- LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

CARRERA DE FARMACIA



Trabajo monográfico para optar al título de licenciado Químico Farmacéutico

Estudio comparativo de la potencia antibiótica de Amoxicilina cápsula 500 mg en presentación genérica vs Comercial, Septiembre-Octubre 2015, León – Nicaragua.

AUTORES:

- Br. Manuel de Jesús Carrasco Sánchez
- Br. Darling Regina Centeno Reyes
- Br. Lucrecia Carolina Icaza Larios

TUTORA:

- MSc. Lisseth Aráuz Molina

¡A La Libertad Por La Universidad!

León, Febrero 2016



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos primeramente a Dios por habernos permitido llegar a este momento de nuestras vidas y por todas y cada una de las bendiciones que ha derramado sobre nosotros.

A nuestros Padres por darnos su apoyo incondicional en toda esta trayectoria.

A nuestra tutora MSc. Lisseth Aráuz Molina por guiarnos en el desarrollo de este estudio.

A nuestros maestros: MSc. Gloria Herrera, MSc Fernando Baca, MSc Saura Mendoza, MSc Yader Salgado y MSc Tania Díaz, Lic. César Peralta, por los conocimientos brindados en cuanto a la investigación.

Al personal del laboratorio de microbiología Doña Gladys y Don David por guiarnos en los ensayos realizados.

A nuestros amigos por ayudarnos siempre.



DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y las herramientas necesarias para finalizar el ciclo universitario.

A mi Familia por su apoyo incondicional.

Manuel Carrasco



DEDICATORIA

A Dios por estar conmigo en cada momento de mi vida, por las grandes bendiciones que me ha dado y por el amor infinito que me tiene. Este logro sin Él este no hubiese sido posible.

A mi Mamá Leana por ser un ejemplo a seguir, por estar siempre a mi lado, por tanto cariño y amor que me ha dado y por enseñarme tantas cosas en la vida.

A mi Papá Geovanni por su apoyo y por estar siempre para mí en cada momento que lo necesitaba.

A mi Hermana Mariadelia por tantas alegrías y buenos momentos que hemos pasado juntas.

A mi Mamá Delia por sus consejos que siempre me ayudan, por su amor incondicional que tanto me da y por estar siempre para mí, apoyándome en cada momento de mi vida.

A mi madrina Yasmina por toda su ayuda y consejos que me da.

A Jefree por darme su confianza y por tantos momentos compartidos.

Darling Centeno



DEDICATORIA

A Dios, que me ha permitido llegar hasta este momento, con su sabiduría, amor, fortaleza, guía y abriendo puertas para el cumplimiento de este proyecto, todo esto no sería posible sin Él.

A mi Madre Ligia, que siempre ha estado en cada momento de mi vida, brindándome su apoyo y amor.

A mi Papá Rolando, por sus exigencias, consejos, apoyo y confianza en mí.

A mi Hermano Rolando, por hacerme sonreír siempre y creer en mí.

A mi Hermanita Milagros, por ser mi fuente de inspiración y motivación para seguir adelante sin rendirme y dar lo mejor de mí misma.

A todas las personas que me han brindado su amor, confianza y apoyo, ayudándome a llegar hasta este momento.

Lucrecia Icaza



ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
3. HIPÓTESIS.....	5
4. OBJETIVOS.....	6
5. MARCO TEÓRICO.....	7
5.1. GENERALIDADES DE ANTIBIÓTICOS.....	7
5.2. ANTIBIÓTICOS BETALACTAMICOS.....	10
5.2.1 AMOXICILINA.....	12
5.3. ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS.....	15
5.3.1. ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS.....	15
5.3.2. ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS GRAM POSITIVAS.....	17
5.5. MECANISMO DE RESISTENCIA.....	20
5.5.1. RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS BETALACTAMICOS.....	22
5.5.2. CAUSAS DE LA RESISTENCIA MICROBIANA.....	23
5.5.3. EFECTOS DIRECTOS DE LA RESISTENCIA BACTERIANA.....	24
5.6. MEDICAMENTOS GENÉRICOS Y COMERCIALES.....	25
5.7. POTENCIA DE ANTIBIÓTICO.....	27
5.7.1.MEDIOS Y DILUYENTES.....	28
5.7.2.ESTÁNDAR DE REFERENCIA.....	33
5.7.3.MÉTODOS MATEMÁTICOS.....	33
5.7.4.ORGANISMO DE PRUEBA Y PREPARACIÓN DEL INOCULO.....	34
5.8. PRUEBA DE LINEALIDAD.....	35
6. DISEÑO METODOLOGICO.....	36
6.1. TIPO DE ESTUDIO.....	36
6.2. ÁREA DE ESTUDIO.....	36
6.3. POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	36
6.4. MUESTRA.....	36
6.5. MÉTODO DE RECOLECCION.....	36
6.6. UNIDAD DE ANÁLISIS.....	36
6.9. FUENTE DE INFORMACIÓN.....	37
6.10. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS.....	37
6.11. VARIABLES.....	42
6.12. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	42



6.13. CRUCE DE VARIABLES.....	42
7. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	43
7.1. PRUEBA DE LINEALIDAD.....	43
7.2. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE POTENCIA PARA CADA MUESTRA	44
7.3. COMPARACIÓN DE ANTIBIÓTICO AMOXICILINA COMERCIAL VS GENÉRICO.....	47
7.4. PRUEBA DE FISHER	48
8. CONCLUSIONES.....	49
9. RECOMENDACIONES	50
10. BIBLIOGRAFÍA	51
11. ANEXOS	54
11.1. ANEXO 1.....	54
11.2. ANEXO 2.....	55
11.3. ANEXO 3.....	56
11.4. ANEXO 4.....	57
11.5. ANEXO 5.....	58
11.6. ANEXO 6.....	59
11.7. ANEXO 7	60
11.8. ANEXO 8.....	61
12. GLOSARIO	62



1. INTRODUCCIÓN

El término antibiótico, refiere a una preparación medicinal que contiene una cantidad importante de una sustancia química que es producida por un microorganismo, o artificialmente por síntesis, y tiene la capacidad de inhibir o destruir microorganismo en solución diluida. Las regulaciones federales que gobiernan todos los aspectos de las pruebas de antibióticos son extremadamente detalladas y están sujetas a una enmienda periódica; deben consultarse con respecto a los métodos prescritos para el ensayo de antibióticos individuales y sus preparaciones (1); las pruebas realizadas para determinar la capacidad que posee un antibiótico para inhibir a un determinado microorganismo se denomina: “Potencia de Antibiótico”.

En la evaluación de la potencia de las sustancias antibióticas el efecto medido es la inhibición del crecimiento de una cepa apropiada de microorganismos sensible, o sea, la prevención de la multiplicación de los microorganismos de prueba. Los procedimientos, empleados en el ensayo microbiano de los antibióticos pueden dividirse en dos amplias clasificaciones: el método de cilindro en placa y el método turbidimétrico. (1)

Los medicamentos producidos pueden ser genéricos o comerciales. Un medicamento genérico puede ser comercializado una vez vencida la patente del medicamento comercial siempre que reúna todas las condiciones de calidad y bioequivalencia. (3). Los medicamentos genéricos al igual que los comerciales deben ofrecer la misma seguridad. Deben estar aprobados por el Ministerio de Salud y ambos pasan por los mismos controles de calidad, seguridad y eficacia. Sin embargo, los medicamentos genéricos son más accesibles que los comerciales, debido a que su fabricación es de menor costo y no requieren inversión en investigación, desarrollo y promoción.

Esta investigación consiste en la comparación del antibiótico Amoxicilina cápsula 500 mg presentación genérica con presentación comercial, con el fin de comprobar si ambas presentaciones poseen similar potencia antimicrobiana.



Acerca de este estudio no existen muchos antecedentes relacionados con este ensayo in vitro. Se encontró que en Noviembre 2005. Pilar Meléndez, Jorge Díaz y Pablo Amaya. Bogotá, Colombia, desarrollaron un estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro. Ceftriaxona, Cefotaxima, Ceftazidima, ampicilina/sulbactam e imipenem/cilastatina, llegando a la conclusión que las muestras analizadas en este estudio son equivalentes farmacéuticos, estando dentro de la especificación asignada en la USP 27 que para todos los antibióticos es de 90 a 115% del contenido etiquetado. (13)

Otro estudio que se encontró fue: Junio 2009. Pedraza Paula, Castellanos Hassbleidy. Bogotá, Colombia, realizaron un estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro. Cefoperazona-Sulbactam. En el estudio se utilizó como microorganismo de prueba *Bacillus subtilis* ATCC 6633, no se utilizaron cilindros de acero inoxidable sino poli estireno cristal, el proceso se hizo por duplicado, se llegó a la conclusión que los productos evaluados tanto genéricos como comerciales cumplían con los parámetros establecidos en la USP 31 por lo tanto se consideraban equivalentes farmacéuticos. (12)

En un país como Nicaragua en vías de desarrollo, es una prioridad que la población se mantenga saludable, lo cual implica la necesidad de conseguir medicamentos a bajo costo, efectivos, potentes y de calidad que ayuden a mejorar la salud de la población, sin embargo algunas personas tienen el paradigma que los medicamentos comerciales son mejores que los genéricos por lo cual prefieren gastar más con el fin de obtener mejores beneficios y muchas veces el gasto dificulta la finalización del tratamiento lo que afecta la salud del paciente y más aún cuando de antibióticos se habla ya que un tratamiento no finalizado incide en la resistencia bacteriana y por tanto dificulta que el paciente se recupere por completo.

En base a lo anterior este trabajo se realiza con el fin de comparar la potencia antibiótica de Amoxicilina capsula 500 mg en presentación comercial y genérica, para comprobar si



tienen igual potencia antimicrobiana. Lo que brindaría confianza a la población del consumo de medicamentos genéricos, obteniendo el efecto deseado a un menor costo, manteniendo la línea de adquisición de medicamentos acorde a la economía de la población.

Se eligió Amoxicilina como antibiótico para el estudio, ya que es el más comercializado, dispensado, recetado y accesible económicamente a nivel nacional, a esto se le suma que es de amplio espectro antimicrobiano es decir que puede ser utilizado para las infecciones más comunes presentes en nuestro país.



2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad ha surgido en la población en general la idea de que los antibióticos comerciales son más eficaces y potentes que los antibióticos genéricos, por lo cual algunos optan por el uso de los antibióticos comerciales y otros por los genéricos, esto en base a su capacidad de adquisición; lo cual repercute en la economía del consumidor. En base a lo anterior este trabajo pretende responder a la siguiente interrogante:

¿Qué potencia antibiótica presenta la amoxicilina cápsula 500 mg en presentación comercial en comparación con amoxicilina cápsula 500 mg en presentación genérica distribuidos a nivel local (León-Nicaragua)?



3. HIPÓTESIS

No hay diferencia significativa entre la potencia antibiótica de Amoxicilina cápsula 500 mg en presentación genérica y Amoxicilina cápsula 500 mg en presentación comercial



4. OBJETIVOS

Objetivo General:

Realizar el estudio comparativo entre la potencia antibiótica de Amoxicilina cápsula 500 mg en presentación genérica y comercial, Septiembre-Octubre 2015, León – Nicaragua

Objetivo Específico:

- Elaborar una curva de calibración en función de los milímetros del halo de inhibición y la concentración de la amoxicilina
- Determinar el porcentaje recuperado de Amoxicilina cápsula 500 mg en presentación genérica y comercial.
- Comparar la potencia antibiótica de Amoxicilina en presentación genérica y comercial.



5. MARCO TEÓRICO

5.1. GENERALIDADES DE ANTIBIÓTICOS

Molécula natural (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos. Hoy en día no se utilizan moléculas de origen natural, por lo cual no se establece más la diferenciación con quimioterápicos, término usado para referirse a las moléculas de origen sintético y sus derivados. Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico, ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función del microorganismo, tienen elevada potencia biológica actuando a bajas concentraciones y la toxicidad es selectiva, con una mínima toxicidad para las células de nuestro organismo. Los antibióticos tienen como objetivo controlar y disminuir el número de microorganismos viables, de modo que el sistema inmunológico sea capaz de eliminar la totalidad de los mismos. De acuerdo a la interacción germen-antibiótico, estos fármacos pueden dividirse en:

- a. **Bactericidas:** su acción es letal, llevando a la lisis bacteriana.
- b. **Bacteriostáticos:** a las concentraciones que alcanzan en el suero o tejidos impiden el desarrollo y multiplicación bacteriana pero sin llegar a destruir las células. De hecho, cuando se retira el antibiótico, el microorganismo se puede multiplicar de nuevo.

Clasificación según el espectro de acción

- a. **Amplio:** aquellos antibióticos que son activos sobre un amplio número de especies y géneros diferentes.
- b. **Reducido:** antibióticos solo activos sobre un grupo reducido de especies.



Clasificación según el mecanismo de acción: Es el mecanismo por el cual un antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento o destruir una célula bacteriana. Se dividen en:

- a. Inhibidores de la formación de la pared bacteriana.
- b. Inhibidores de la síntesis proteica.
- c. Inhibidores de la duplicación del ADN.
- d. Inhibidores de la membrana citoplasmática.
- e. Inhibidores de vías metabólicas.

Clasificación según farmacocinética y farmacodinamia

Por muchos años la susceptibilidad bacteriana se ha medido a través de pruebas in vitro, como la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM). Este número luego era comparado con las concentraciones séricas o plasmáticas del antibiótico, alcanzadas con las dosis habituales del mismo. Esto no tiene en cuenta la farmacocinética o la farmacodinamia de cada antibiótico en particular. Cada clase de antibiótico es metabolizada en forma diferente por nuestro organismo. No es lo mismo un betalactámico, con escasa penetración celular, que un macrólido que se concentra a nivel intracelular. Esto es lo que llamamos farmacocinética: absorción, distribución, eliminación. Por otro lado está la farmacodinamia que intenta comprender las relaciones entre las drogas y sus efectos, tanto deseables (muerte bacteriana en nuestro caso) como indeseables. Los antibióticos pueden clasificarse de acuerdo a la forma en que producen la muerte o inhibición bacteriana en:

- a. **Antibióticos tiempo dependiente:** (betalactámicos y macrólidos) el éxito de la terapéutica viene dado por mantener concentraciones por encima de la CIM por el mayor tiempo posible interdosis (T por encima de CIM).
- b. **Antibiótico concentración dependientes:** el éxito terapéutico viene dado por lograr un buen pico sérico de concentración (Pico/CIM).



PENICILINAS						
Penicilinas Naturales	Penicilina G Sódica	Tercera Generación	Cefmenoxima	Kanamicina		
	Penicilina G Potásica		Ceftazidima	Espectinomina		
Penicilina G Procaínica	Cefodizina		GLUCOPEPTIDOS	Vancomicina		
Penicilina G Clemizol	Ceftizoxima		Teicoplanina			
Penicilina G Benzatínica	Cefoperazona		OXAZOLIDINONAS	Linezolid		
Penicilina Potásica	Ceftriaxona		RIFAMICINAS	Rifampicina		
Fenoximetil Penicilina	Cefotaxima		Rifabutina	HIDRACIDAS		
	Moxalactam		Isoniacida	POLIPÉPTIDOS		
	Cefsulodina		Bacitracina	Bacitracina		
	Cefetamet		Capreomicina	Capreomicina		
Aminopenicilinas	Amoxicilina	Cuarta Generación	Cefepima	Gramicidina		
	Ampicilina	CARBAPENEMICOS	Cefpiroma	Polimixina B y E		
	Hetacilina		Imipenem	QUINOLONAS		
	Bacampicilina	Meropenem	MONOBACTAMICOS	Ácido Nalidíxico		
	Ciclacilina	Ertapenem		Ácido Oxolínico		
	Epipilina		ANFENICOLES	Ácido Pipemídico		
Metampicilina		Cloranfenicol	Cinoxacino			
Pivampicilina		Tiamfenicol	Rosoxacino			
Talmpicilina		TETRACICLINAS				
Penicilinas Isoxazólicas	Cloxacilina	Lincosaminas	Clortetraciclina	Primera Generación		
	Flucloxacilina		Clorhidrato de Tetraciclina			
	Nafcilina		Demeclociclina			
	Dicloxacilina		Doxiciclina			
	Meticilina		Minociclina			
Carboxipenicilinas	Oxacilina	Oxitetraciclina				
	Carbenicilina					
Ticarcilina						
Ureidopenicilinas	Apalcilina	Lincosaminas	Clindamicina	Segunda Generación		
	Azlocilina		Lincomicina			
	Furazlocilina		MACROLIDOS			
	Mezlocilina					
	Piperacilina					
	Sulbenicilina					
INHIBIDORES DE BETALACTAMASAS						
I.B.L	Ácido Clavulánico	14 átomos	Clarithromicina	Cuarta Generación		
	Sulbactam		Diritromicina			
	Tazobactam		Eritromicina			
CEFALOSPORINAS		15 átomos	Roxitromicina	SULFONAMIDAS		
Primera Generación	Cefadroxilo	16 átomos	Azitromicina			
	Cefalexina	Sulfas de uso Sistémico	Diacetil-midecamicina			
	Cefaloglicina		Espiramicina			
	Cefradina	Sulfas de uso tópico	Josamicina			
	Cefapirina	Telitromicina				
	Cefazolina	ESTREPTOGRAMINAS				
	Cefaloridina	Quinupristina-Dalfopristina				
	Cefalotina	AMINOGLUCOSIDOS				
	Segunda Generación	Cefuroxima	Cetólidos	Amikacina	NITROFURANOS	
Cefuroxima-Axetil		Neomicina				
Cefador		Estreptomina				
Cefprozil		Netilmicina				
Cefamandol		Gentamicina				
Cefonicid		Sisomicina				
Ceforonida		Isepamicina				
Cefotiam		Tobramicina				
Cefoxitina						
Cefmetazol						
Cefminox						
Cefotetán						
						NITROIMIDAZOLES
						Metronidazol
			Secnidazol			
			Tinidazol			
			Ornidazol			

Fuente: Dr. Byron Núñez F.



5.2. ANTIBIÓTICOS BETALACTAMICOS.

Los betalactámicos son un grupo de antibióticos de origen natural o semisintético que se caracterizan por poseer en su estructura un anillo betalactámico. Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana. Constituyen la familia más numerosa de antimicrobianos y la más utilizada en la práctica clínica. Se trata de compuestos de acción bactericida lenta, relativamente independiente de la concentración plasmática, que presentan escasa toxicidad y poseen un amplio margen terapéutico. Su espectro se ha ido ampliando a lo largo de los años por la incorporación de nuevas moléculas con mayor actividad frente a los bacilos gramnegativos; pero la progresiva aparición de resistencias adquiridas ha limitado su uso empírico y su eficacia en determinadas situaciones. El espectro de los betalactámicos incluye bacterias Gram positivas, Gram negativas y espiroquetas. No son activos sobre los micoplasmas porque estos carecen de pared celular, ni sobre bacterias intracelulares como *Chlamydia* y *Rickettsia*. La resistencia natural de las micobacterias se debe a la producción de betalactamasas, probablemente unida a una lenta penetración por las características de la pared.

Mecanismo de acción

Los antibióticos betalactámicos son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen además un efecto autolítico. La destrucción de la pared celular bacteriana se produce como consecuencia de la inhibición de la última etapa de la síntesis del peptidoglicano. El peptidoglicano está constituido por largas cadenas de glúcidos, formadas por la repetición de moléculas de ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. El ácido murámico fija cadenas de tetra péptidos que se unen entre sí para formar una malla, directamente (gramnegativos) o mediante un penta péptido (Gram positivos). Los betalactámicos inhiben precisamente esta unión o transpeptidación, última etapa de la síntesis de la pared celular. De este modo, la pared queda debilitada y puede romperse por la presión osmótica intracelular. Para que actúen los betalactámicos es



necesario que la bacteria se halle en fase de multiplicación, ya que es cuando se sintetiza la pared celular. Los betalactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano. La lisis se produce con concentraciones que superan entre 4 y 10 veces la CIM de un determinado microorganismo. Las bacterias que carecen de autolisina son inhibidas pero no destruidas, por lo que se dice que son tolerantes. Se define el fenómeno de tolerancia como la necesidad de una concentración al menos 32 veces mayor a la CIM para que un antimicrobiano destruya una cepa bacteriana. (Ver anexo 1)

Se pueden clasificar en cuatro grupos diferentes:

a. Penicilinas:

Son un grupo de antibióticos de origen natural y semisintético que contienen el núcleo de ácido 6-aminopenicilánico, que consiste en un anillo betalactámico unido a un anillo tiazolidínico. Los compuestos de origen natural son producidos por diferentes especies de *Penicillium spp.* Las penicilinas difieren unas de otras por sustituciones en la posición 6 del anillo, donde cambios en la cadena lateral pueden inducir modificaciones en la actividad antibacteriana y en las propiedades farmacocinéticas. De acuerdo a su origen y espectro de acción pueden clasificarse en:

- Penicilinas naturales (G y V)
- Penicilinas resistentes a las penicilinasas estafilocócicas (oxacilina, meticilina, dicloxacilina)
- Aminopenicilinas (ampicilina, amoxicilina)
- Carboxipenicilinas (carbenicilina, ticarcilina)
- Ureidopenicilinas (piperacilina)
- Penicilinas antipseudomonas (carboxi y ureidopenicilinas). (4)



5.2.1 AMOXICILINA

La amoxicilina es una penicilina semisintética del grupo de las aminopenicilinas, es uno de los antibióticos más ampliamente utilizado en clínica debido a su baja toxicidad y a su amplio espectro antibacteriano. (5)

Propiedades Fisicoquímicas de la amoxicilina

Fórmula: $C_{16}H_{19}N_3O_5S$

Peso Molecular: 365,4 g/mol

Apariencia: Polvo blanco cremoso de granulometría variable

Sabor: Amargo

Olor: Similar a penicilinas

Punto de Fusión: 194°C

Densidad: 1,54 g/ml

Solubilidad en agua: Levemente soluble (3,4 g/L)

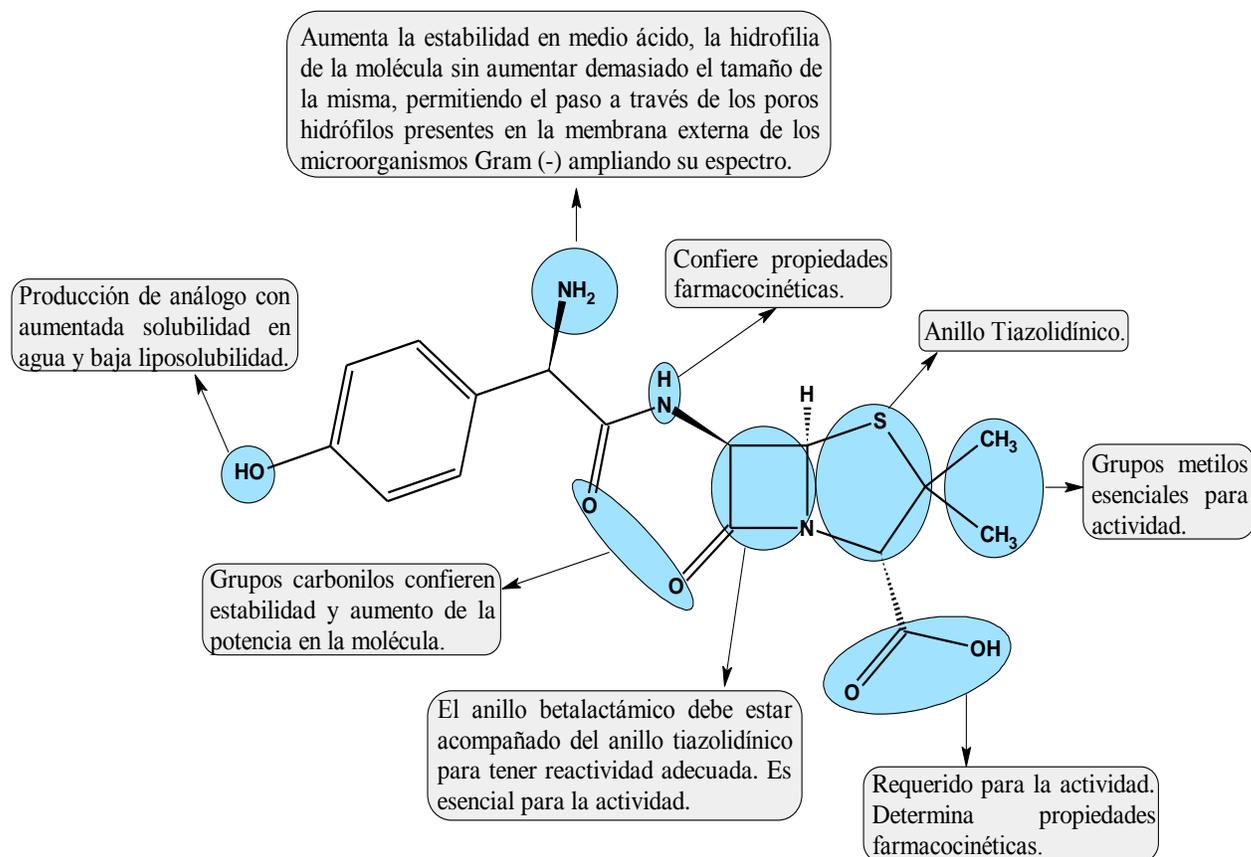
pH (en solución acuosa): 4.7

Mecanismo de acción

Los antibióticos beta-lactámicos como la amoxicilina son bactericidas. Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana uniéndose a unas proteínas específicas llamadas PBPs (Penicillin-Binding Proteins) localizadas en la pared celular. Al impedir que la pared celular se construya correctamente, la amoxicilina ocasiona, en último término, la lisis de la bacteria y su muerte. La amoxicilina no resiste la acción hidrolítica de las beta-lactamasas de muchos *Staphylococcus*, por lo que no se usa en el tratamiento de enfermedades provocadas por *Staphylococcus*.



Relación Estructura Actividad



Los siguientes microorganismos son considerados, por regla general, susceptibles a la amoxicilina:

Actinomyces sp.; *Bacillus anthracis*; *Prevotella melaninogenica*; *Bifidobacterium sp.*; *Bordetella pertussis*; *Borrelia burgdorferi*; *Brucella sp.*; *Clostridium perfringens*; *Clostridium tetani*; *Corynebacterium diphtheriae*; *Eikenella corrodens*; *Enterococcus faecalis*; *Erysipelothrix rhusiopathiae*; *Escherichia coli*; *Eubacterium sp.*; *Haemophilus influenzae* (beta-lactamasa negativa); *Helicobacter pylori*; *Lactobacillus sp.*; *Listeria monocytogenes*; *Neisseria meningitidis*; *Peptococcus sp.*; *Peptostreptococcus sp.*; *Propionibacterium sp.*; *Proteus mirabilis*; *Salmonella enteritidis*; *Salmonella sp.*; *Salmonella typhi*; *Shigella sp.*; *Staphylococcus sp.* (Beta-lactamasa negativa y sensible a



metilina/oxacilina sólo); Streptococcus agalactiae (estreptococos del grupo B); Streptococcus dysgalactiae; Streptococcus pneumoniae; Streptococcus pyogenes (grupo A beta-hemolíticos); Treponema pallidum; Vibrio cholerae; Viridans streptococci. (6)

Usos de la Amoxicilina

La amoxicilina se puede usar para tratar diferentes enfermedades o para aliviar los efectos de:

- Infección pulmonar, postquirúrgica, genitourinaria y pielonefritis
- Cistitis simple en mujer.
- Hemodiálisis
- Infecciones del tracto respiratorio inferior
- Profilaxis de endocarditis

Contraindicaciones

No se recomienda el uso de Amoxicilina a pacientes con:

- Hipersensibilidad a β -lactámicos, historial alérgico medicamentoso, mononucleosis infecciosa, leucemia, sarcoma.
- Con dosis elevadas, mantener aporte de líquidos y diuresis adecuada para reducir riesgo de cristaluria.
- Prever posible reacción anafiláctica, en caso de reacción alérgica, interrumpir administración e instaurar tratamiento de soporte o de urgencia.
- Monitorizar tiempo de protrombina en concomitancia con anticoagulantes.
- En tratamiento prolongado: control renal, hepático y hematopoyético. Riesgo de sobreinfección bacteriana o micótica

Interacciones

- La Amoxicilina aumenta posibilidad de rash cutáneo con: alopurinol.
- Antagonismo con: antibióticos bacteriostáticos.



- Secreción tubular disminuida por: probenecid.
- Disminuye eficacia de: anticonceptivos orales.
- Absorción disminuida por: antiácidos.
- Inactivación química acelerada por: ingesta de alcohol. (11)

5.3. ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS

5.3.1. ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

- **Pared celular**

La pared celular de una bacteria Gram negativa está compuesta por:

- **La membrana externa**

Sirve como la principal barrera de permeabilidad de la célula y ayuda a retener proteínas en el espacio periplásmico. (Algunos autores no consideran a esta membrana como parte de la pared celular.)

- **Porinas**

Canales llenos de agua en la membrana externa que facilitan el transporte de nutrientes y sustancias de bajo peso molecular dentro de la célula, incluyendo agentes antimicrobianos. Las bacterias varían en el número y tipo de porinas que contienen.

- **Lipopolisacáridos**

Se encuentran en la superficie de la célula y son el componente esencial de las endotoxinas. Ellos contribuyen a la capacidad de la bacteria para causar enfermedad y dan a las bacterias gram-negativas su carga negativa neta.



- **Lipoproteínas**

Adhieren la membrana externa a la capa de mureína.

- **Péptidoglicano**

Es un polímero relativamente delgado que consiste de ácido N-acetil murámico y N-acetil glucosamida entrelazados. Esta se conoce con frecuencia como la capa de mureína o pared celular y es responsable de mantener la forma del organismo. Está localizado dentro del espacio periplásmico.

- **Espacio periplásmico**

Se encuentra entre la membrana externa y la membrana citoplasmática. Las proteínas periplásmicas incluyen proteínas de enlace para sustratos específicos, enzimas hidrolíticas y enzimas detoxificantes.

- **Membrana citoplasmática**

La membrana citoplásmica rodea el citoplasma de la célula y contiene proteínas y fosfolípidos. Muchas de las proteínas contenidas en la membrana celular son enzimas responsables del metabolismo celular. La membrana citoplásmica también sirve como una barrera de permeabilidad y un enlace de permeabilidad para las sustancias que entran en la célula.

- **Citoplasma**

El citoplasma celular contiene los cromosomas, ribosomas y otras estructuras internas. La gran mayoría de bacterias tiene un solo cromosoma pero unas pocas, como el *Vibrio cholerae*, tiene dos cromosomas.



5.3.2. ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS GRAM POSITIVAS

- **Pared Celular**

Puesto que la pared celular de las bacterias Gram positivas contiene solo dos componentes principales es mucho menos complicada que la pared celular de las Gram negativas. Esta contiene:

- **Ácidos teicoicos**

Son polímeros que están entrelazados en la capa de péptidoglicano y se extiende en forma de cilios más allá de la superficie de las células gram positivas.

- **La capa de péptidoglicano, o capa de mureína**

Es mucho más gruesa que la de las bacterias gram negativas. Es responsable de mantener la forma del organismo y por lo general se conoce como la pared celular.

- **La Membrana Citoplásmica, Citoplasma, y Otros Componentes Internos**

Estas estructuras son muy similares tanto en bacterias gram positivas como en gram negativas. (14)

5.4.MICROORGANISMO DE PRUEBA: *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Desde su descubrimiento por el médico Alexander Ogston en 1880, *Staphylococcus aureus* es considerado un patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el humano y en los animales. *S. aureus* es la especie tipo del grupo, considerada la más virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida.



El género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Ogston¹² introdujo el nombre de *Staphylococcus*, del griego *staphyle* que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de inflamación y supuración. Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas. La mayoría de los estafilococos producen catalasa (enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre); característica que se utiliza para diferenciar el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos.

El género *Staphylococcus* contiene 32 especies, de las cuales 16 de ellas se localizan en los humanos, algunas forman parte de la microbiota de piel y mucosas en humanos, y otras se encuentran sólo entre la flora de otros mamíferos y aves. Algunas de estas especies son patógenas cuando existe predisposición e inmunosupresión en el huésped o en presencia de cuerpos extraños. Por lo general, cada especie tiende a ocupar una localización anatómica específica en el huésped que coloniza. Entre las especies que colonizan al humano, las de mayor importancia clínica son: *S. aureus* y *Staphylococcus lugdunensis*; en tanto que en animales se encuentra además de *S. aureus* a *Staphylococcus intermedius*. El *Staphylococcus epidermidis* y el *Staphylococcus saprophyticus* son comúnmente responsables de infecciones relacionadas con dispositivos e infecciones del tracto urinario, siendo éstos menos infecciosos que *S. aureus*.

En los medios de cultivo tradicionales la mayoría de las especies crecen después de incubarse durante 18-24 horas, formando colonias de 0.5-1.5 mm de diámetro. Las colonias de *S. aureus* se observan lisas, elevadas, brillantes y de bordes enteros, presentan consistencia cremosa y pigmentación que va del amarillo a dorado debido a la producción de carotenoides, la mayoría de las cepas producen β -hemólisis o hemólisis total alrededor de las colonias cuando se cultivan en agar sangre. *S. aureus* se diferencia de las demás especies por producir coagulasa que se manifiesta por su capacidad para coagular el plasma, es resistente al calor, a la desecación y puede crecer en medios con grandes



cantidades de NaCl (7.5%). *S. aureus* crece bien en medios de cultivos no selectivos, como el agar sangre, agar chocolate, cerebro corazón infusión agar (BHI, por sus siglas en inglés) y medios líquidos para hemocultivo donde se recupera fácilmente. Se debe usar un medio selectivo en muestras clínicas donde hay bacterias Gram negativas junto con *S. aureus*. El medio recomendable y usado por la mayoría de los laboratorios es el agar sal manitol o medio de Chapman por su elevado contenido de sal que inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram negativas. Este medio permite realizar la identificación presuntiva de *S. aureus* por la pigmentación amarilla característica de *S. aureus*. Debido a que esta bacteria fermenta el manitol se genera un cambio de color en el medio que vira de rojo pálido a amarillo. Los *Staphylococcus coagulasa* negativos no fermentan el manitol y crecen en el medio formando colonias pequeñas de color que varía de blanco a rosado.

La identificación de *S. aureus* se realiza con el empleo de la tinción de Gram, pruebas bioquímicas como: prueba de la catalasa, fermentación de glucosa, que permite diferenciar al género *Staphylococcus* del género *Micrococcus*, que también se considera una catalasa positiva pero no fermenta la glucosa. Sin duda, la prueba de la coagulasa sigue siendo la más utilizada. Se basa en la capacidad de *S. aureus* para producir la enzima extracelular que coagula el plasma. La detección de la coagulasa permite diferenciar *S. aureus* coagulasa positivo de las demás especies de estafilococos coagulasa negativos. Con la prueba de la DNAsa termoestable se identifica fácilmente en el medio que contiene DNA y verde de malaquita. Otras pruebas son específicas de especie como la fermentación del manitol y la producción de la fosfatasa alcalina. *S. aureus* también puede identificarse a través de técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y PCR en tiempo real, utilizando genes específicos de especie. Sin embargo, estas técnicas son caras y laboriosas. En ocasiones, se requiere identificar cepas o grupos de cepas con fines epidemiológicos para lo cual se pueden emplear técnicas fenotípicas y genotípicas (23).



5.5. MECANISMO DE RESISTENCIA

La resistencia bacteriana a los antibióticos (RBA) es un problema de salud global que ocurre tanto en países de bajos y medianos ingresos, como en países de altos ingresos, tanto en el ámbito hospitalario como en el comunitario, con fuertes impactos en términos de morbilidad, mortalidad y costos.

La OMS trabaja a nivel local, nacional e internacional para generar la capacidad, las orientaciones técnicas y el compromiso político necesarios para hacer frente a la amenaza que supone la resistencia a los antibióticos.

La alta prevalencia de enfermedades infecciosas, el incremento de la pobreza, el alto costo de los medicamentos, las tarifas de los servicios, la ausencia de controles de calidad, la venta libre de medicamentos en las tiendas y farmacias y la presión de la publicidad en los medios de comunicación son factores que han contribuido al mal uso y abuso de los antibióticos y consecuentemente al incremento de la resistencia a los antibióticos.

El sector agropecuario, así como la industria farmacéutica tienen una considerable responsabilidad en el incremento del consumo de antibióticos, ésta última por sus actividades no éticas de promoción de medicamentos. La RBA es un problema comunitario y hospitalario que se amplifica con la frecuencia y la rapidez de los viajes intra e internacionales. Con la llamada “exportación” de organismos resistentes, surge la globalización de la resistencia a los antibióticos, dada la habilidad de las bacterias resistentes para diseminarse extensivamente a través de poblaciones humanas, animales, vegetales y otros elementos del medio ambiente, sin respetar límites geográficos ni políticos.(17)

Las bacterias, por su tremenda capacidad de adaptación, pueden desarrollar mecanismos de resistencia frente a los antibióticos:



- a) Existe una resistencia natural o intrínseca en las bacterias si carecen de diana para un antibiótico (como la falta de pared en el Mycoplasma en relación con los betalactámicos).
- b) La resistencia adquirida es la realmente importante desde un punto de vista clínico: es debida a la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismos de transferencia genética. La primera puede ir seguida de la selección de las mutantes resistentes (rifampicina, macrólidos).
- c) La resistencia transmisible es la más importante, estando mediada por plásmidos, transposones o integrones, que pueden pasar de una bacteria a otra.

Las bacterias se hacen resistentes a los antibióticos desarrollando mecanismos de resistencia que impiden al antibiótico ejercer su mecanismo de acción.

Los Mecanismos de Resistencia de las bacterias son fundamentalmente tres:

1. Inactivación del antibiótico por enzimas: La bacteria produce enzimas que inactivan al antibiótico; las más importantes son las betalactamasas y muchas bacterias son capaces de producirlas. En los gram positivos suelen ser plasmídicas, inducibles y extracelulares y en las gram negativas de origen plasmídico o por transposones, constitutivas y periplásmicas. También hay enzimas modificantes de aminoglucósidos y aunque no es éste su principal mecanismo de resistencia, también el cloranfenicol, las tetraciclinas y los macrólidos pueden ser inactivados por enzimas.
2. Modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico al punto diana: Las bacterias producen mutaciones en las porinas de la pared que impiden la entrada de ciertos antibióticos (betalactámicos) o alteran los sistemas de transporte (aminoglucósidos en los anaerobios). En otras ocasiones pueden provocar la salida



del antibiótico por un mecanismo de expulsión activa, impidiendo que se acumule en cantidad suficiente para que actúe eficazmente.

3. Alteración por parte de la bacteria de su punto diana, impidiendo o dificultando la acción del antibiótico. Aquí podemos contemplar las alteraciones a nivel del ADN girasa (resistencia de quinolonas), del ARNr23S (macrólidos) de las enzimas PBP_s (proteínas fijadoras de penicilina) necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a betalactámicos).

Una misma bacteria puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos de diversas especies bacterianas, todo lo cual complica sobremanera el estudio de las resistencias de las bacterias a los distintos antimicrobianos. (15,16)

5.5.1. RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS BETALACTAMICOS

La resistencia que desarrollan las bacterias frente a los betalactámicos representa un grave problema, pues es probablemente el grupo de antibióticos más utilizado. Las bacterias desarrollan al menos tres mecanismos para hacerse resistentes a ellos, que son independientes entre sí pero que pueden actuar sinérgicamente: alteración de las enzimas diana (PBP_s), alteración de la membrana externa y producción de enzimas inactivantes (betalactamasas).

Las PBP_s son necesarias para que la bacteria forme su pared celular, y los antibióticos betalactámicos se fijan en estas enzimas impidiéndolo. Si la bacteria modifica sus PBP_s de modo que no fijen antibiótico, se hará resistente; otros mecanismos serían la hiperproducción o la adquisición de PBP_s resistentes. La resistencia a metilicina en estafilococos, a betalactámicos en neumococo y enterococos y en algunas bacterias gram negativas (*Haemophilus, gonococo*), pueden ser debidas a alteraciones de PBP_s.



La modificación de la membrana externa, cuando es el único mecanismo implicado no suele ser importante, pero sí cuando se asocia a la producción de betalactamasas, siendo especialmente decisiva en los gram negativos, pues los betalactámicos entran a través de las porinas, que al modificarse o desaparecer pueden causar resistencia en *E. coli*, *Pseudomonas*, *Haemophilus* y *gonococo* (15).

La producción de enzimas inactivantes es sin duda el mecanismo más importante de los betalactámicos ya que la adquisición de betalactamasas (plasmídicasocromosómicas), es la causa más frecuente de resistencias. Las betalactamasas plasmídicas de gram negativos producen alto nivel de resistencia y están muy extendidas sobre todo entre las enterobacterias, algunas son de espectro ampliado y confieren resistencia a la práctica totalidad de los antibióticos betalactámicos. Desde que se puso de manifiesto la importancia de las betalactamasas, se buscaron inhibidores de estas enzimas, incluyéndose en este término diferentes compuestos químicos, entre los que destacan ácido clavulánico, sulbactam, y tazobactam, sin embargo ya se han detectado una nueva clase de betalactamasas que confiere resistencia a estos inhibidores. (18)

5.5.2. CAUSAS DE LA RESISTENCIA MICROBIANA

- Uso inapropiado de los antibióticos en medicina humana y animal, en la agricultura y productos para el hogar, en prescripciones erradas para infecciones no bacterianas, adición y uso de antibióticos como estimulante del crecimiento de animales domésticos o incluso en los productos de limpieza que han ayudado a crear un reservorio de bacterias resistentes a los antibióticos.
- Las asociaciones farmacológicas erradas han perpetuado microorganismos resistentes a los medicamentos.



- Insuficiente compromiso nacional con una respuesta integral y coordinada al problema. Inexistencia o debilidad en los sistemas de vigilancia públicos e incapacidad de los sistemas para velar por el suministro ininterrumpido de medicamentos.
- Escaso conocimiento y participación de la población y presión ejercida por publicidad de industrias farmacéuticas con intereses propios.
- Escasez de medios de diagnóstico para que el profesional de la salud pueda tomar mejores decisiones a la hora de recetar un antibiótico.
- Deficiencias en investigación y desarrollo de nuevos antibióticos. (17)

5.5.3. EFECTOS DIRECTOS DE LA RESISTENCIA BACTERIANA.

- La RBA mata, cuando las infecciones por bacterias resistentes no responden a los tratamientos habituales, prolonga la duración de la enfermedad y aumenta el riesgo de muerte.
- Pone en peligro el control de las enfermedades infecciosas propiciando la propagación de los microorganismos resistentes a otras personas (amigos, vecinos, familiares) en un círculo vicioso.
- Podría arrastrar a la humanidad a la época anterior al descubrimiento de los antibióticos (era pre-antibiótica), haciendo que muchas enfermedades infecciosas actualmente controlables y fácilmente curables se vuelvan intratables, como la gonorrea, la neumonía, amigdalitis e infecciones de las vías urinarias, entre otras.



- Encarece la asistencia médica, pues las infecciones dejan de responder a los antibióticos de primera línea, siendo necesario recurrir a productos más caros e incluso a algunos que aún no están disponibles.
- Afecta a la seguridad sanitaria, perjudica el comercio y las economías pues el aumento del comercio y los viajes internacionales entre países permite que las bacterias resistentes se propaguen rápidamente a países y continentes lejanos. (17)

5.6. MEDICAMENTOS GENÉRICOS Y COMERCIALES

Un medicamento genérico puede ser comercializado una vez vencida la patente del medicamento de marca (la protección comercial dura al menos 10 años) siempre que reúna todas las condiciones de calidad y bioequivalencia. También debe ofrecer la misma seguridad que cualquier otro medicamento. Todos los fármacos aprobados por el Ministerio de Salud han de pasar por los mismos controles de calidad, seguridad y eficacia. (3)

Marca de fábrica, marca registrada, marca comercial: Nombre que, en contraposición o común, distingue un determinado medicamento, de propiedad o de uso exclusivo de un laboratorio de producción y protegido por la ley, por un periodo determinado de tiempo.

Nombre genérico: Nombre empleado para distinguir un principio que no está amparado por una marca de fábrica. Es usado comúnmente por diversos fabricantes y reconocido por la autoridad competente para denominar productos farmacéuticos que contiene el mismo principio activo. El nombre genérico se corresponde generalmente con la denominación común internacional recomendada por la OMS.

Medicamento genérico: El que se distribuye o se expende sin ser identificado con un nombre de marca o patente, o sea con el nombre común.



Medicamento de marca: es aquél sintetizado por un laboratorio, que se ha encargado inicialmente de la investigación de ese medicamento, los estudios de eficacia, eficiencia, biodisponibilidad, etc. Lleva asociada una patente que impide que cualquier otra empresa farmacéutica pueda sintetizar y comercializar ese medicamento durante aproximadamente 20 años, incluyendo el tiempo que se estudia ese medicamento y su comercialización. Y lleva escrito en el envase el nombre comercial y el del principio activo.

Ventajas de los fármaco genéricos

- Los medicamentos genéricos son fáciles de identificar, dado que el nombre que figura en el envase es el nombre de su principio activo.
- Los medicamentos genéricos tienen un precio menor que sus equivalentes comerciales porque sus fabricantes no necesitan hacer inversiones en investigación para su creación.
- Como los genéricos no tienen una marca comercial, sus fabricantes no hacen inversiones en publicidad, lo que también influye en los precios más bajos.
- Los medicamentos genéricos son equivalentes a sus originales de marca en cuanto a que contienen los mismos principios activos y son seguros.

Ventajas de medicamentos de marca

- Los fabricantes invierten capital en desarrollo de investigaciones para la elaboración de medicamentos.
- Los fármacos de marca tienen excipientes que pueden ser de mejor calidad.
- Existen grandes inversiones monetarias en la manufactura de estos medicamentos.



5.7. POTENCIA DE ANTIBIÓTICO

La potencia de un antibiótico es estimada por la comparación de la inhibición del crecimiento sensible de un microorganismo producido en concentraciones conocidas de un antibiótico a ser examinado y una sustancia de referencia, (7). El antibiótico de muestra y de estándar debe producir el mismo efecto frente al mismo microorganismo en idénticas circunstancias.

Las valoraciones microbiológicas aumentan su precisión con la eliminación de fuentes relativamente grandes de posibles errores y desviaciones mediante diseño experimentales adecuados, (2).

Los métodos empleados en el ensayo microbiano de los antibióticos pueden dividirse en dos clasificaciones amplias: el método de cilindro en placa y el método turbidimétrico, (1).

Método Cilindro en placa: El ensayo cilindro en placa depende de la difusión de una solución del antibiótico desde un cilindro vertical, sobre la superficie de un agar solidificado e inoculado con un microorganismo sensible al antibiótico dispensado en una placa Petri, (2). Se realiza una medición del diámetro de zonas de inhibición de crecimiento bacteriano que rodea a los cilindros que contienen distintas disoluciones del compuesto de prueba. La inhibición producida por concentración conocida de un estándar de referencia, (1). La base cuantitativa del ensayo es la relación entre el diámetro de las zonas de inhibición y la concentración del antibiótico.

Se utilizan placas Petri de vidrio o plástico (20 x 100 mm) cubiertas de un material adecuados. Los cilindros deben ser de acero inoxidable o porcelana (longitud 10 mm) cada dimensiones tienen una tolerancia de ± 0.1 mm. Limpiar cuidadosamente los cilindros para remover todos los residuos. Ocasionalmente se requiere una limpieza con solución ácida de ácido nítrico 2N o con ácido crómico, de ser necesario, (17).

Método Turbidimétrico: El ensayo turbidimétrico de potencia antibiótica se basa en la inhibición del crecimiento microbiano indicada por la medición de la turbidez



(tramitancia) de suspensiones de un microorganismo apropiado en un medio líquido al cual se le han agregado cantidades graduadas del compuesto a ensayar, (1).

La base cuantitativa del ensayo es la relación entre la concentración del antibiótico y la densidad óptica del medio de cultivo inoculado.

Se utilizan tubos de ensayos de vidrio o de plástico de igual tamaño 16 x 125 mm o 18 x 150 mm que no tengan defectos ni ralladuras o manchas.

5.7.1. MEDIOS Y DILUYENTES

Medios de cultivos

Los medios requeridos para la preparación de los inóculos de los organismos de prueba están hechos con los ingredientes individuales o medios de cultivos deshidratados, siempre y cuando los medios resultantes posean las mismas propiedades de promoción de crecimiento o superiores y produzcan una curva de respuestas estándar o similar. Los ingredientes se disuelven en agua destilada para hacer 1L, y se ajusta el pH e caso que se necesite, con NaOH 1N, KOH 10N, HCL 1N, para obtener el pH especificado después de la esterilización.

Los medios de cultivo su composición y pH final aparecen en la farmacopea enumerados como:

- Medio 1

Peptona.6.0 g
Digerido Pancreático de Caseína.	4,0 g
Extracto de Levadura.	3,0 g
Extracto de Carne.	1,5 g
Dextrosa.	1,0 g
Agar.	15,0 g
Agua.	1000 ml

pH después de la esterilización: $6,6 \pm 0,1$.



- Medio 2

Peptona. 6,0 g
Extracto de Levadura. 3,0 g
Extracto de Carne. 1,5 g
Agar. 15,0 g
Agua. 1000 mL

pH después de la esterilización: $6,6 \pm 0,1$.

- Medio 3

Peptona. 5,0 g
Extracto de Levadura. 1,5 g
Extracto de Carne. 1,5 g
Cloruro de Sodio.. . . . 3,5 g
Dextrosa... 1,0 g
Fosfato Dibásico de Potasio.. . . . 3,68 g
Fosfato Monobásico de Potasio. 1,32 g
Agua. 1000 mL

pH después de la esterilización: $7,0 \pm 0,05$.

- Medio 4

Igual que el Medio 2, excepto que se debe agregar 1,0 g de Dextrosa como ingrediente adicional.

- Medio 5

Igual que el Medio 2, excepto que el pH final después de la esterilización es de $7,9 \pm 0,1$.

- Medio 8

Igual que el Medio 2, excepto que el pH final después de la esterilización es de $5,9 \pm 0,1$.



- Medio 9

Digerido Pancreático de Caseína. 17,0 g
Digerido Papaínico de Soja. 3,0 g
Cloruro de Sodio. 5,0 g
Fosfato Dibásico de Potasio. 2,5 g
Dextrosa. 2,5 g
Agar. 20,0 g
Agua. 1000 mL

pH después de la esterilización: $7,2 \pm 0,1$.

- Medio 10

Igual que el Medio 9, excepto que se deben emplear 12,0 g de Agar en lugar de 20,0 g, y agregar 10 mL de Polisorbato 80 después de hervir el medio para disolver el agar.

pH después de la esterilización: $7,2 \pm 0,1$.

- Medio 11

Igual que el Medio 1, excepto que el pH final después de la esterilización es de $8,3 \pm 0,1$.

- Medio 13

Dextrosa. 20,0 g
Peptona. 10,0 g
Agua. 1000 mL

pH después de la esterilización: $5,6 \pm 0,1$.



- Medio 19

Peptona.	9,4 g
Extracto de Levadura.	4,7 g
Extracto de Carne.....	2,4 g
Cloruro de Sodio.....	10,0 g
Dextrosa.....	10,0 g
Agar.....	23,5 g
Agua.	1000 mL

pH después de la esterilización: $6,1 \pm 0,1$.

- Medio 32

Igual que el Medio 1, excepto que se debe agregar 0,3 g de Sulfato de Manganeso como ingrediente adicional.

- Medio 34

Glicerol.	10,0 g
Peptona.....	10,0 g
Extracto de Carne.....	10,0 g
Cloruro de Sodio.	3,0 g
Agua.	1000 mL

pH después de la esterilización: $7,0 \pm 0,1$.

- Medio 35

Igual que el Medio 34, excepto que se deben agregar 17,0 g de Agar como ingrediente adicional.



- Medio 36

Digerido Pancreático de Caseína. 15,0 g
Digerido Papaínico de Soja. 5,0 g
Cloruro de Sodio..... 5,0 g
Agar..... 15,0 g
Agua. 1000 ml
pH después de la esterilización: $7,3 \pm 0,1$.

- Medio 39

Igual que el Medio 3, excepto que el pH final después de la esterilización es de $7,9 \pm 0,1$.

- Medio 40

Extracto de Levadura. 20,0 g
Polipeptona. 5,0 g
Dextrosa..... 10,0 g
Fosfato Monobásico de Potasio. 2,0 g
Polisorbato 80. 0,1 g
Agar..... 10,0 g
Agua. 1000 ml
pH después de la esterilización: $6,7 \pm 0,2$.

- Medio 41

Digerido Pancreático de Caseína. 9,0 g
Dextrosa. 20,0 g
Extracto de Levadura. 5,0 g
Citrato de Sodio..... 10,0 g
Fosfato Monobásico de Potasio. 1,0 g
Fosfato Dibásico de Potasio... 1,0 g
Agua. 1000 ml
pH después de esterilización: $6,8 \pm 0,1$.



5.7.2. ESTÁNDAR DE REFERENCIA

Preparación del estándar o Patrón

Para la preparación de la solución madre, se disuelve una cantidad del Estándar de referencia USP, cuando corresponda, en el disolvente según el antibiótico a valorar, luego diluir hasta la concentración requerida según se indica. Si la solución no se va a utilizar inmediatamente, se puede guardar refrigerada y usar dentro del período indicado. El día de la valoración se prepara a partir de la solución madre cinco o más disoluciones, las soluciones incrementan la concentración, usualmente en una proporción de 1:1.25 para el caso de una valoración de cilindro placa o menor para el ensayo turbidimétrico. Usar el diluyente final especificado y la dosis media a la concentración asignada.

Preparación de la Muestra.

Se utiliza la información de la etiqueta para la preparación a ser ensayada de la muestra, asignar a esta una potencia asumida por unidad de peso o volumen y sobre esto asumido preparar el día del ensayo una solución madre y una dilución de prueba según se especifica para cada antibiótico pero utilizando el mismo diluyente fina utilizado para el estándar de referencia USP.

5.7.3. MÉTODOS MATEMÁTICOS

Se utilizan dos métodos matemáticos, estos son elegidos por el analista:

- **Diseño 3+3:** Para este método se prepara tres soluciones del estándar (S1, S2, S3) donde S2 es la dosis media. Se preparan tres niveles de la muestra, a igual concentración que las del estándar.
- **Diseño 5+1:** Se prepara cinco soluciones del estándar (S1, S2, S3, S4, S5), donde S3, es la dosis media.



5.7.4. ORGANISMO DE PRUEBA Y PREPARACIÓN DEL INOCULO

El organismo de prueba para cada antibiótico es especificado en la USP, así como las condiciones de incubación, mantenimiento del cultivo y el medio.

Para la preparación del inóculo recomendado se cultiva en medio inclinado, bajo las condiciones de incubación específica, composición del medio, temperatura de acuerdo al antibiótico a valorar.

Antes de realizar el ensayo retirar el cultivo de la cuña inclinada reciente con 3 ml de solución salina estéril SR y perlas de vidrio estériles. Inocular la superficie de 250 ml del medio agar especificado para ese organismo, excepto en el caso de *Enterococcus hirae* y *Staphylococcus aureus* (ATCC 9144), que se cultivan en medios líquidos. Esparcir la suspensión en forma pareja sobre la superficie del agar con ayuda de perlas de vidrio estériles incubar a la temperatura indicada durante el tiempo señalado. Una vez finalizado este tiempo, preparar la suspensión madre del microorganismo recogiendo el cultivo de la superficie en 50 ml de solución salina estéril SR, salvo en el caso de Bleomicina (usar 50 ml de medio 34).

Determinar mediante a prueba la cantidad de suspensión madre que se debe utilizar como inóculo, comenzando con el volumen sugerido según el antibiótico a utilizar (ml por cada 100 ml de medio). Las pruebas de ensayo deberían incubarse la cantidad de tiempo indicada en la sección “Procedimiento para método turbidimétrico”. Ajustar la cantidad del inóculo en caso de ser necesario, para obtener la relación dosis – respuesta óptima a partir de la cantidad de cultivo del organismo de prueba presente en los tubos de valoración y a la duración del tiempo de incubación.

Para la valoración en cilindro – placa determinar mediante ensayo las proporciones e suspensión medir lo que se debe incorporar en el inóculo, comenzando con los volúmenes especificados según el antibiótico a valorar, que den como resultado zonas de inhibición de próximamente 14 – 16 mm de diámetro y produzcan una relación d dosis reproducible.



Preparar el inóculo añadiendo una porción de suspensión (previamente determinada) a una cantidad suficiente de medio agar fundido y enfriado a 45 – 50 °C, se agita por rotación moderada para lograr una suspensión homogénea, luego se distribuyen el agar inoculado en las placas respectivas. (2)

5.8. PRUEBA DE LINEALIDAD

Para calcular la potencia a partir de los datos obtenidos con el método cilindro en placa, se procede en cada caso según se indica en potencia interpolada a partir de una curva de Estándar, utilizando un método de regresión lineal por mínimos cuadrados y una prueba de linealidad.

La linealidad de un procedimiento analítico es su capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales a la concentración.

La prueba de linealidad consiste en:

- Demostrar que la recta de regresión construida con el logaritmo de la dosis del antibiótico patrón y la respuesta cumple con los parámetros de regresión lineal y análisis de la variancia.
- Demostrar que la recta de regresión construida con una muestra de producto acabado que contiene al antibiótico a las mismas dosis que la recta del patrón, presenta una relación log. dosis- respuesta que cumple con los parámetros de regresión lineal y análisis de variancia.
- Demostrar que las dos rectas (patrón y problema) cumplen con el test de coincidencia, Para construir las rectas de regresión, se prepara 5 dosis de antibiótico en progresión geométrica. Una vez efectuado el ensayo, ya sea por difusión en agar o turbidimétrico, obtenemos unos resultados que son los que utilizaremos para los cálculos de las rectas. (24)



6. DISEÑO METODOLOGICO

6.1.TIPO DE ESTUDIO

Es un estudio experimental de tipo cuasi experimental ya que se determinó la potencia antibiótica de ambos medicamentos mediante un ensayo microbiológico.

6.2.ÁREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en las instalaciones del Laboratorio de microbiología, departamento de farmacia industrial, de la facultad de ciencias químicas, carrera de Farmacia, de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN-León).

6.3.POBLACIÓN DE ESTUDIO

Amoxicilina cápsula 500 mg, en presentación comercial y genérica distribuidos a nivel local.

6.4.MUESTRA

Amoxicilina capsula 500 mg, presentación comercial de Laboratorio A, presentación genérica de Laboratorio B y en presentación genérica Laboratorio C, 70 cápsulas por cada laboratorio.

6.5.MÉTODO DE RECOLECCION

Potencia de antibiótico por método cilindro en placa, diseño 5+1

6.6.UNIDAD DE ANÁLISIS

Capsulas de Amoxicilina 500 mg en presentación genérica y comercial

6.7.CONSIDERACIONES ÉTICAS

La procedencia de las muestras no se mencionó por respeto a los fabricantes de la misma.

6.8.CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- ✓ Se utilizaron medicamentos que sea amoxicilina capsula 500 mg del laboratorio seleccionado.
- ✓ Se utilizaron medicamentos que se distribuyan a nivel local (león)



6.9.FUENTE DE INFORMACIÓN

Fuentes Primarias (resultados obtenidos en el ensayo), Fuentes Secundaria (libros, artículos científicos, Farmacopea USP 36) y Fuente Terciaria (Internet).

6.10. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

6.10.1 Se verifico previamente al ensayo los requerimientos necesarios para el análisis de amoxicilina, estos aparecen en la USP “Pruebas biológicas” (81) Antibiótico:

Método: Cilindro en placa (CP)

Diseño: 5+1 (cinco concentraciones de estándar más una concentración de muestra)

Microorganismo de prueba: *Staphylococcus aureus*

Temperatura y tiempo de Incubación: 32° a 35° C por 24 h

Disolvente Inicial y final: B1 (solución fosfato pH 6)

Solución madre final concentración por ml: 1000 U

Dosis media: 1.0 U

Medio para preparación del inóculo: medio para antibiótico # 1

Medio para el ensayo de la muestra: medio para antibiótico #1

6.10.2 Inóculo o suspensión del microorganismo

Se preparó la suspensión a partir de *Staphylococcus aureus*, previamente activado (incubación 18 a 24 horas de 32° a 35° C), posterior a esto con ayuda de un asa de inoculación se tomó cierta cantidad del microorganismo, se disolvió en solución salina y se ajustó el espectrofotómetro a una longitud de onda de 580 nanómetros mediante la utilización de solución salina, esta misma se colocaba en el espectrofotómetro hasta que se ajustó. La tramitancia debe de ser de 25%, si la tramitancia es mayor se debe de agregar



más microorganismo y si es menor se debe agregar solución salina hasta lograr obtener la tramitancia adecuada.

6.10.3 Preparación de la solución buffer

Se pesaron 2 g de fosfato dibásico de potasio y 8 g de fosfato monobásico de potasio, se llevaron a un balón de 1000 ml y se aforo con agua destilada.

6.10.4. Solución madre del patrón

Para la preparación se utilizó un patrón secundario de amoxicilina trihidratada con una potencia de 101.8%, del cual se pesaron 113 mg equivalentes a 100 mg de amoxicilina base, la conversión de esto se hizo mediante la relación de los pesos moleculares. Se tomaron los 113.15 mg, se colocaron en un balón y se disolvieron en 100 ml de buffer. De esta manera se obtuvo una concentración final de 1000 U/ ml.

6.10.5. Solución madre de la muestra

Se tomaron 10 capsulas de la muestra y se pesaron, se retiró el polvo de cada capsula y se pesaron los receptáculos, posteriormente se realizó una resta entre ambos y se sacó el peso promedio.

Se pesó la cantidad de polvo equivalente a 100 mg de amoxicilina y se diluyo en 100 ml de buffer, obteniéndose una concentración final de 1000 U/ml. Se realizó esta operación con cada muestra.

6.10.6. Dosis media de la muestra y del patrón

A partir de la solución madre del patrón se tomaron 50 μ l y se llevaron a un balón de 50 ml, se aforo con buffer y se obtuvo una concentración final de 1 U/ml.

A partir de la solución madre de la muestra se tomaron 50 μ l y se llevaron a un balón de 50 ml, se aforo con buffer y se obtuvo una concentración final de 1 U/ml.



6.10.7. Soluciones de trabajo

A partir de la solución madre del patrón se realizaron cuatro diluciones del patrón a diferentes concentraciones con una diferencia de 0.25 U/ml de concentración.

S1: Se tomaron 25 μ l del patrón, se llevaron a un balón de 50 ml y se aforo con buffer. La concentración final es de 0.50 U/ml.

S2: Se tomaron 75 μ l del patrón, se llevaron a un balón de 100 ml y se aforo con buffer. La concentración final es de 0.75 U/ml.

S4: Se tomaron 125 μ l del patrón, se llevaron a un balón de 100 ml y se aforo con buffer. La concentración final es de 1.25 U/ml.

S5: Se tomaron 75 μ l del patrón, se llevaron a un balón de 50 ml y se aforo con buffer. La concentración final es de 1.50 U/ml.

6.10.8. Preparación de las placas Petri

Cantidad de placas Petri

Para el estudio se necesitaron 24 placas Petri con tapa de porcelana y previamente esterilizadas por vía seca a 180 C por dos horas. De las cuales 15 placas se utilizaron para el estándar y 9 placas para la muestra.

Capa base

Para la preparación del medio se pesó 15.4 g del medio y se disolvió en 504 ml de agua destilada en ebullición, posterior a esto se llevó a esterilización por vía húmeda (autoclave) a 121 C por 15 min. Luego se agregó a las 24 placas estériles 21 ml de medio #1. Se dejó solidificar.



Capa Siembra

Para la preparación del medio de la capa, se pesó 3.05 g del medio y se disolvió en 100 ml de agua destilada en ebullición, se llevó a esterilización por vía húmeda (autoclave) a 121 C por 15 min. Luego a los 100 ml del medio se le adiciono 0.1 ml de la suspensión de microorganismo.

En un extremo de la placa se le agrego 4 ml de la solución anteriormente preparada, se inclinó la placa de forma que se extienda el medio de manera uniforme sobre la capa base, se dejó solidificar.

Ubicación de los cilindros

Se colocaron por placa en la superficie del agar 6 cilindros de acero inoxidable, de forma equidistante.

Para las placas del estándar: se llenaron los cilindros de forma alterna uno con la solución de dosis media de estándar y el siguiente con la solución estándar de distinta concentración.

Cada nivel de concentración se realizó por triplicado (s1, s2, s4, s5).

Para las placas de la muestra: se llenaron los cilindros de forma alterna uno con la solución de dosis media de estándar y el siguiente con la solución media de la muestra. (Ver anexo 3 y 4)

6.10.9. Incubación

Se incubaron las placas a 35° C por 24 horas. Teniendo el cuidado de no inclinar las placas para evitar que los cilindros se muevan de lugar donde se colocaron.

6.10.10. Lectura de los halos

Se retiraron los cilindros con una pinza y se colocaron sobre un beaker que contenía solución desinfectante (alcohol). Se procedió a medir los diámetros de lo halos de inhibición obtenidos, con la mayor precisión posible haciendo uso del lector de zona de



antibiótico. Se procesaron los datos obtenidos y se comparó la concentración encontrada con el % de aceptación (90-120%) descrito en la farmacopea USP para amoxicilina cápsula 500 mg. (Ver anexo 2)

6.10.11. Especificaciones de materiales y equipos

- Materiales

Balón aforado Pyrex, clase A: 50 ml, 100 ml y 1000 ml

Matraz Erlenmeyer Pyrex: 250 ml

Pipeta serológica Kimax: 10 ml, 25 ml

Micro pipeta ajustable Fisher: 100 micro litros

1 pinza acero inoxidable (para retiro de los cilindros)

108 cilindros de acero inoxidable

Autoclave Pelton y Crone

Horno GcA cooperation

Balanza Analítica Gibertina

Incubadora doble Prestición 36 °C

Lector de zona Fisher Lilly modelo 290

6.10.12. Cálculos para encontrar la potencia

- Una vez obtenido los resultados del diámetro de la potencia de las muestras, se procede a ubicarlos en una hoja de Excel.
- Se corrigieron los datos, obteniendo el promedio global de S3, este promedio es restado al promedio de S3 de cada una de las soluciones; obteniendo el factor de corrección, este factor de corrección se suma o resta, en dependencia del signo obtenido al promedio de las soluciones (S1, S2, S4, S5, M3) respectivamente.
- El dato obtenido de M3 se extrapola en la curva de calibración previamente elaborada, obteniendo de esta manera la concentración encontrada.
- La concentración encontrada se divide entre la concentración declarada siendo de $\mu\text{g/ml}$ y se multiplica por 100; obteniendo el % de potencia.



6.11. VARIABLES

- Potencia
- Halo de Inhibición

6.12. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición	Indicador	Escala de valores
Potencia	Efecto inhibidor que tiene un antibiótico sobre un microorganismo específico	Capacidad que tiene el antibiótico de inhibir un microorganismo, medida por halos de inhibición	%
Halo de inhibición	El Halo de Inhibición es aquel que indica la sensibilidad del microorganismo ante al antibiótico	Zona clara (área de inhibición)	Milímetros

6.13. CRUCE DE VARIABLES

- Antibiótico comercial vs Potencia.
- Antibiótico Genérico vs Potencia.
- Potencia genérico vs potencia comercial.

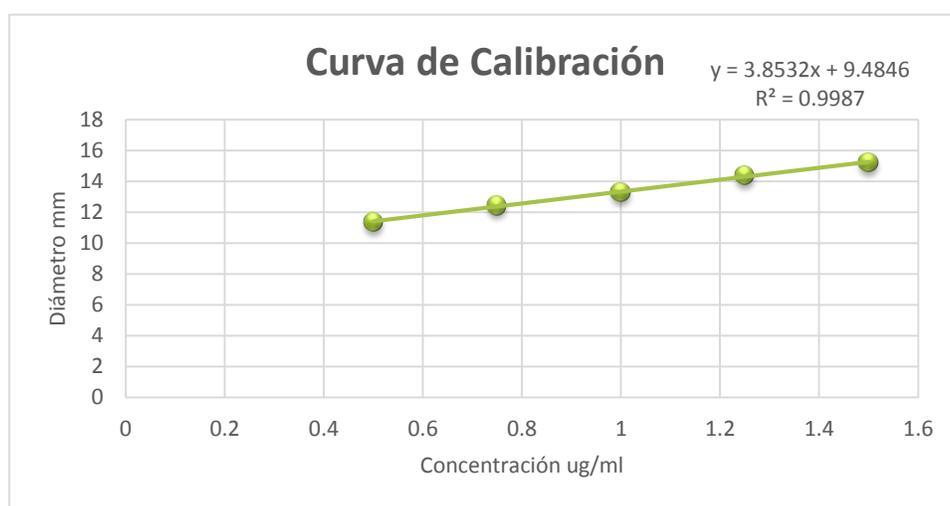


7. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

7.1 . PRUEBA DE LINEALIDAD

Se realizó una curva estándar con cinco concentraciones diferentes o con cinco puntos. A partir de esta se obtuvo la ecuación de la recta ($y = 3.8532x + 9.4846$), el coeficiente de correlación (r), el coeficiente de determinación (r^2).

Figura N° 1



El r obtenido fue de, 0.999 y r^2 fue de, 0.99, el cual cumple con el criterio de aceptación ($r \geq 0.99$ y $r^2 \geq 0.95$), demostrando que existe una relación entre la variable independiente “x” (concentración) y la variable dependiente “y” (diámetro).

Se realizó como Test estadístico “G de Cochran”, dando como resultado un valor de 0.42036125 siendo menor al Gtabla ($\alpha=0.05$, $K=5$, $n=3$) 0.68, por tanto las varianzas de las concentraciones son homogéneas y el factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados. De igual manera se obtuvo el coeficiente de variación (%RSD) por cada concentración, obteniendo valores menores del 5 %, cumpliendo con el criterio de aceptación. (Ver anexo 5)



7.2. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE POTENCIA PARA CADA MUESTRA

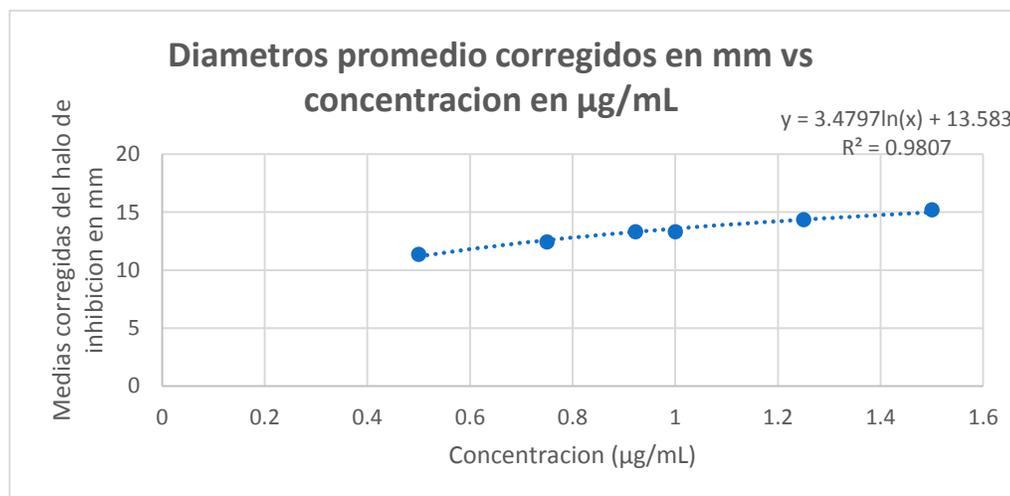
- **Antibiótico comercial “Laboratorios A”**

Al realizar la potencia antimicrobiana, cilindro en placa, con el diseño 5 +1, se obtuvieron los halos de inhibición, estos se corrigieron con el factor de corrección y se obtuvo la concentración a partir de la ecuación del mejor ajuste de una curva logarítmica siendo de 0.995 µg/ml (Ver anexo 6)

Calculando el porcentaje para el antibiótico comercial “Laboratorios A” tenemos:

$$\%de\ potencia = \frac{0.995\ \mu g/ml}{1\ \mu g/ml} * 100 = 99.5\%$$

Figura N° 2





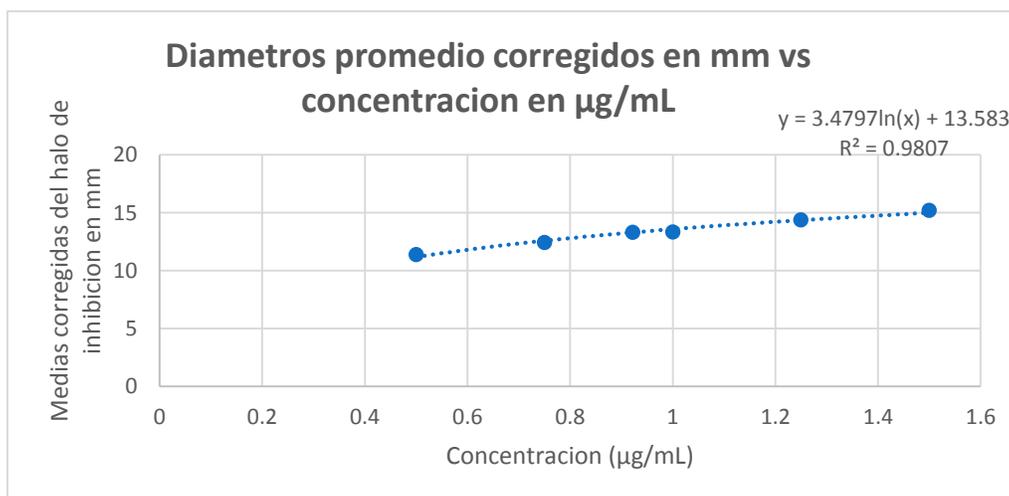
- **Antibiótico genérico “Laboratorios B”**

Al realizar la potencia antimicrobiana, cilindro en placa, con el diseño 5 +1, se obtuvieron los halos de inhibición, estos se corrigieron con el factor de corrección y se obtuvo la concentración a partir de la ecuación del mejor ajuste de una curva logarítmica siendo de 0.922 $\mu\text{g/ml}$ (Ver anexo 7).

Calculando el porcentaje para el antibiótico comercial “Laboratorios B” tenemos:

$$\%de\ potencia = \frac{0.922\ \mu\text{g/ml}}{1\ \mu\text{g/ml}} * 100 = 92.2\%$$

Figura N° 3





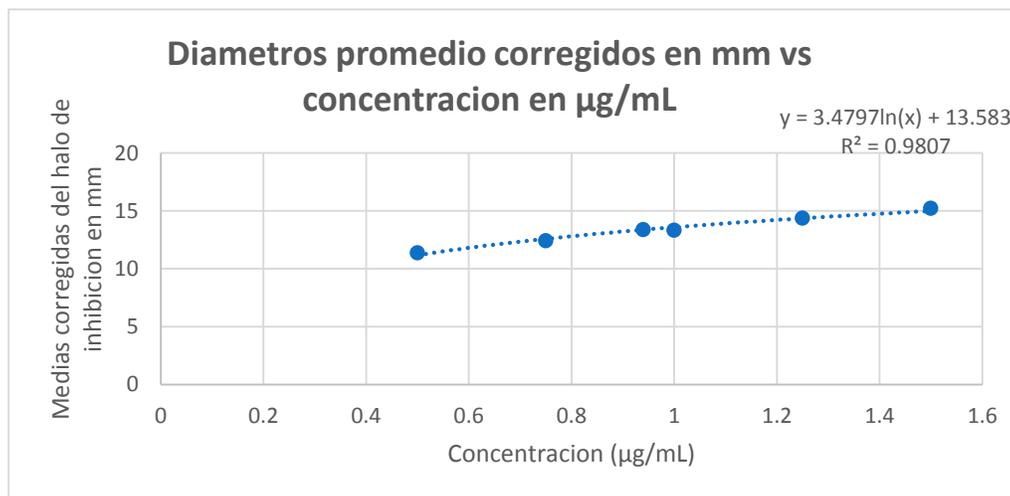
- **Antibiótico genérico Nacional “Laboratorios C”**

Al realizar la potencia antimicrobiana, cilindro en placa, con el diseño 5 +1, se obtuvieron los halos de inhibición, estos se corrigieron con el factor de corrección y se obtuvo la concentración a partir de la ecuación del mejor ajuste de una curva logarítmica siendo de 0.94 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Ver anexo 8).

Calculando el porcentaje para el antibiótico comercial “Laboratorios C” tenemos:

$$\%de\ potencia = \frac{0.94\ \mu\text{g}/\text{ml}}{1\ \mu\text{g}/\text{ml}} * 100 = 94\%$$

Figura N° 4

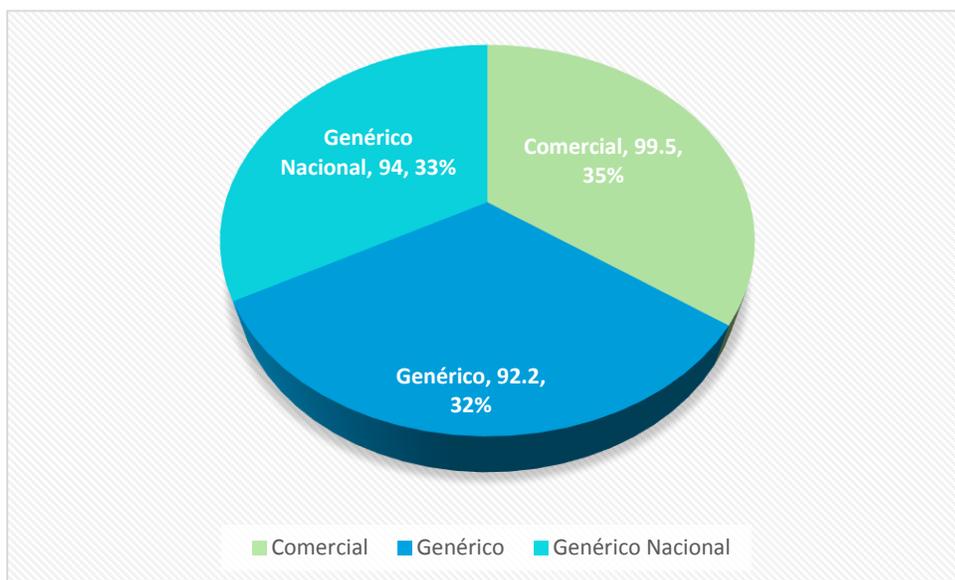




7.3.COMPARACIÓN DE ANTIBIÓTICO AMOXICILINA COMERCIAL VS GENÉRICO

Comparando los porcentajes de potencia en las muestras de amoxicilina antibiótico comercial “Laboratorios A”, antibiótico genérico “Laboratorios B” y antibiótico genérico nacional “Laboratorios C”, 99.5%, 92.2% y 94.3%, no hay diferencias significativas entre ellos.

Figura N° 5





7.4.PRUEBA DE FISHER

La prueba f se utilizó principalmente para probar la igualdad entre las varianzas entre antibiótico comercial “Laboratorios A” y el antibiótico genérico “Laboratorio B”; así como las varianzas entre antibiótico comercial “Laboratorios A” y antibiótico genérico Nacional “Laboratorio C”.

Comercial vs Genérico

Antibiótico	Varianza
Comercial “Laboratorio A”	0.20777778
Genérico “Laboratorio B”	0.25777778

$F_{exp} = S^2_{max}/S^2_{minima}$

F_{exp}	1.24064171
$F_{tabla} (gl a, gl b, \alpha=0.05)$	3.44

$F_{exp} < F_{tabla}$

Hay homogeneidad en las varianzas

Comercial vs Genérico Nacional

Antibiótico	Varianza
Comercial “Laboratorio A”	0.20777778
Genérico Nacional “Laboratorio C”	0.065

$F_{exp} = S^2_{max}/S^2_{minima}$

F_{exp}	3.1965812
$F_{tabla} (gl a, gl b, \alpha=0.05)$	3.44

$F_{exp} < F_{tabla}$

Hay homogeneidad en las varianzas



8. CONCLUSIÓN

- Al comparar el porcentaje de potencia antibiótica de Amoxicilina cápsula 500 mg en presentación genérica y comercial, se llegó a la conclusión de que se acepta la hipótesis la cual plantea que no hay diferencia significativa entre la potencia de ambas presentaciones, debido a que las tres muestras analizadas están dentro del criterio de aceptación según la USP 36- NF31 (90 – 120%).



9. RECOMENDACIONES

A la población en general:

Que tengan confianza al usar amoxicilina genérico distribuidos a nivel local ya que presenta similar potencia que un antibiótico comercial y cumple con el parámetro de cuantificación establecido en la farmacopea y que adquieran estos fármacos según sus condiciones económicas.

A la Universidad:

Que sigan apoyando el desarrollo de las investigaciones que realizan los estudiantes.

A los estudiantes:

Que sigan fomentando las investigaciones científicas en sus diferentes ramas.



10. BIBLIOGRAFÍA

1. Farmacia Práctica de Remigton. Tomo 1. Editorial Panamericana.
2. USP 36 – NF31 – Vol. 1, pág. 2712.
3. Dr. Pedro F. Mateos. Agentes antimicrobianos y microorganismos. Recuperado el 12 de enero de 2015. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apuacuba/a3agentes_antimicrobianos_y_microorganismos.pdf
4. R. Taroco, V. Seija, R. Vignoli. Metodos de estudio de la sensibilidad antibiotica. Recuperado el 14 de enero de 2015. Disponible en: www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf
5. Asamblea Nacional de la Republica de Nicaragua. Ley de medicamentos y farmacias, n. 292. Glosario 14
6. Vademécum. Amoxicilina. Recuperado el 14 de enero de 2015. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/a051.htm>
7. Cárdenas Danitza, Asencios Diana (noviembre 2008). Evaluación de un método de ensayo microbiológico para determinar la potencia antibiótica de tirosina. Recuperado el 14 de enero de 2015. Disponible en: http://www.cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1217/1/cardenas_sd.pdf
8. Que son medicamentos genéricos. Recuperado el 15 de enero de 2015. Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/7228/14/CAPITULO%20>



%20%20I%20%20QUE%20SON%20LOS%20MEDICAMENTOS%20GENER
ICOS.pdf

9. Dra. Cordies Lilliam, Dr Machado Looney, Dra Hamilton María (agosto 1998). Principios generales de la terapia antimicrobiana. Recuperado el 17 de enero de 2015. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act03198.pdf
10. Staphylococcus aureus. Recuperado el 17 de enero de 2015. Disponible en: www.bvsops.org.uy/pdf/aureus.pdf
11. Artículo Aspectos generales de Amoxicilina. Recuperado el 17 de enero de 2015. Disponible en: <http://salud.uncomo.com/articulo/amoxicilina-indicaciones-uso-y-efectos-secundarios-15558.html#ixzz3UPVyy972>.
12. Pedraza Paula, Castellanos Hassbleidy (Junio 2009). Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro. Cefoperazona-Sulbactam. Recuperado el 12 marzo de 2015. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis326.pdf>
13. Pilar Meléndez, Jorge Díaz y Pablo Amaya. (Noviembre 2005) Bogotá, Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro. Ceftriaxona, Cefotaxima, Ceftazidima, ampicilina/sulbactam e imipenem/cilastatina. Recuperado el 12 marzo de 2015. Disponible en: <http://www.farmacia.unal.edu.co>
14. Stephen J. Cavalieri, Marie B. Coyle. (Marzo 2005). Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Recuperado el 12 marzo de 2015. Disponible en: http://cidbimena.desastres.hn/docum/ops/libros/labs_sucep_antimicro.pdf
15. García Rodríguez JA, García Sánchez E. Resistencias bacterianas y antibioterapia. En: *Eficacia in vivo Eficacia in vitro*. Madrid-Barcelona: edDoyma, S.A., 1997; 39-50.
16. Martínez Freijo P. Integrones: nueva causa de resistencia a antibióticos. *RevEsp Quimioterapia* 1997; 10: 191-194.



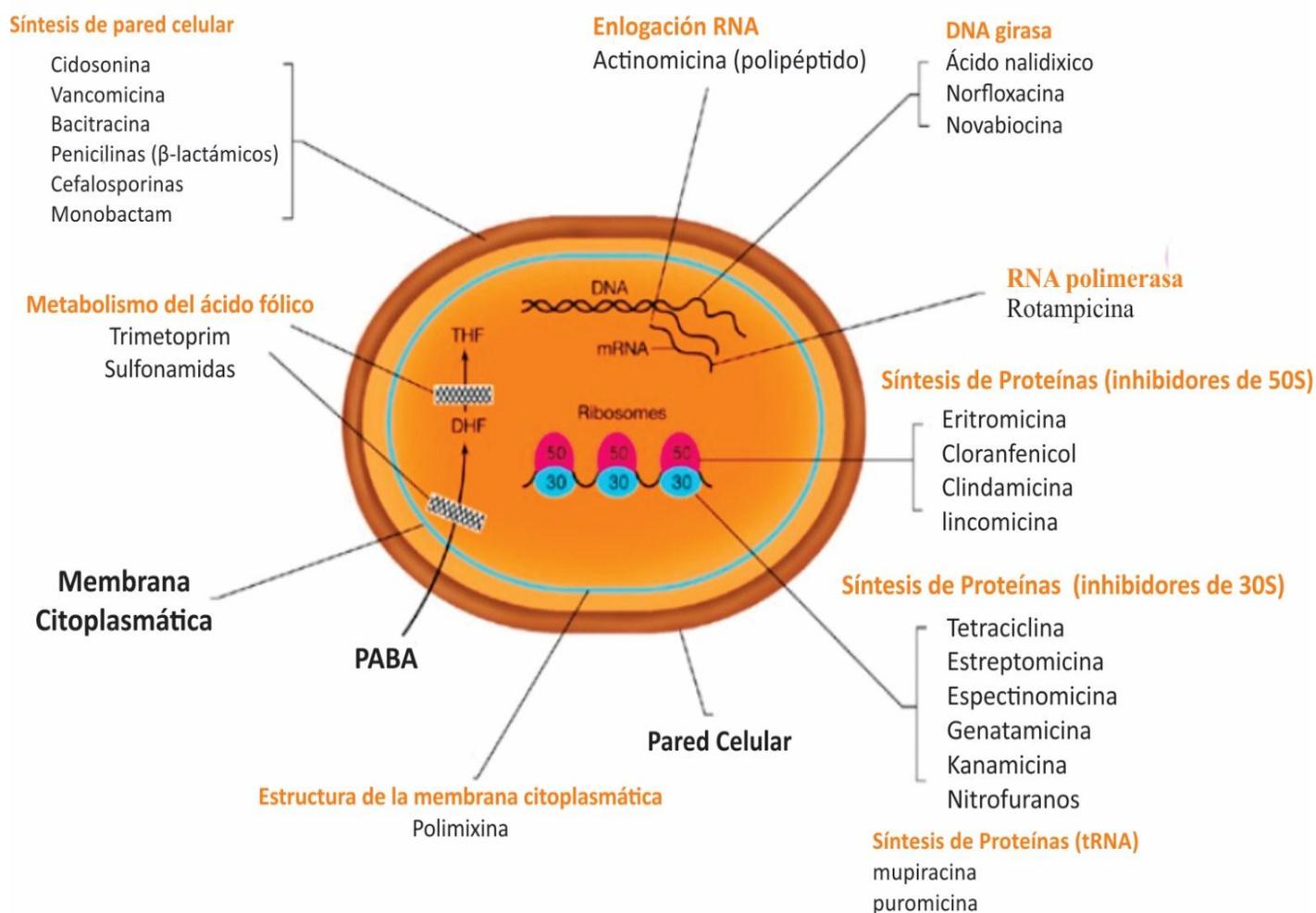
17. QuizhpePeralt A, Encalada Torres L, Sacoto Molina AM, Andrade RodasD, Muñoz Ortiz G. USO APROPIADO DE ANTIBIÓTICOS Y RESISTENCIA BACTERIANA. Cuenca- Ecuador: ReAct - Acción frente a la Resistencia Bacteriana- Latinoamérica. Marzo 2014;Pág. 25, 28, 29.
18. Gómez-Lus R, Gil J, Castillo J, Rubio MC. Impacto de los inhibidores de beta-lactamasas en la susceptibilidad antibiótica de los patógenos más frecuentes. En: Betalactamasas: su importancia para el clínico. Madrid: Smith Kline&French S.A.E., 1992; 109-127.
19. Gómez J, Hernández-Cardona JL. Los aminoglucósidos: significación clínica. En Tratamiento Antimicrobiano. Madrid: Emisa, 1997; 227-239.
20. Navarro F. Mecanismos de resistencia a glucopéptidos. *EnfermInfecMicrobiolClin* 1996; 14: 317-323.
21. García Sánchez JE, Fresnadillo MJ, García García MI, Muñoz Bellido JL. Resistencia a los antimicrobianos que no inhiben la síntesis de la pared celular. En: Tratamiento Antimicrobiano. Madrid. Emisa 1997; 35-50.
22. Muñoz Bellido JL. Mecanismo de resistencia a quinolonas. *Rev Esp Quimioterapia* 1997; 10: 348-349.
23. Kloss WE, Schleir KH, Goirtz F. The genus *Staphylococcus*. In: Balows A, Truper HG, Dwoekin M, eds. *The Prokaryotes*, 2nd Ed. New York, Spring-Verlag; 1992.
24. “Validación de Métodos Analíticos”. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. 2001. Páginas: 190-192



11. ANEXOS

11.2. ANEXO 1

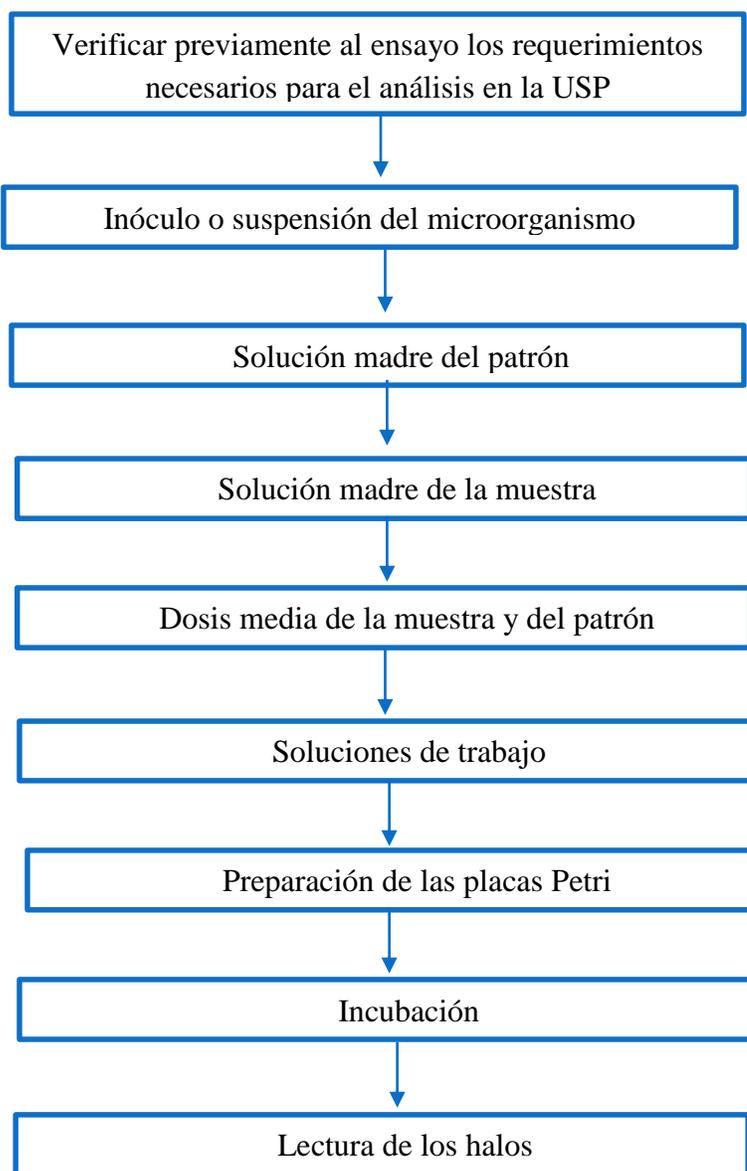
SITIO DE ACCIÓN DE LOS ANTIBIOTICOS





11.3. ANEXO 2

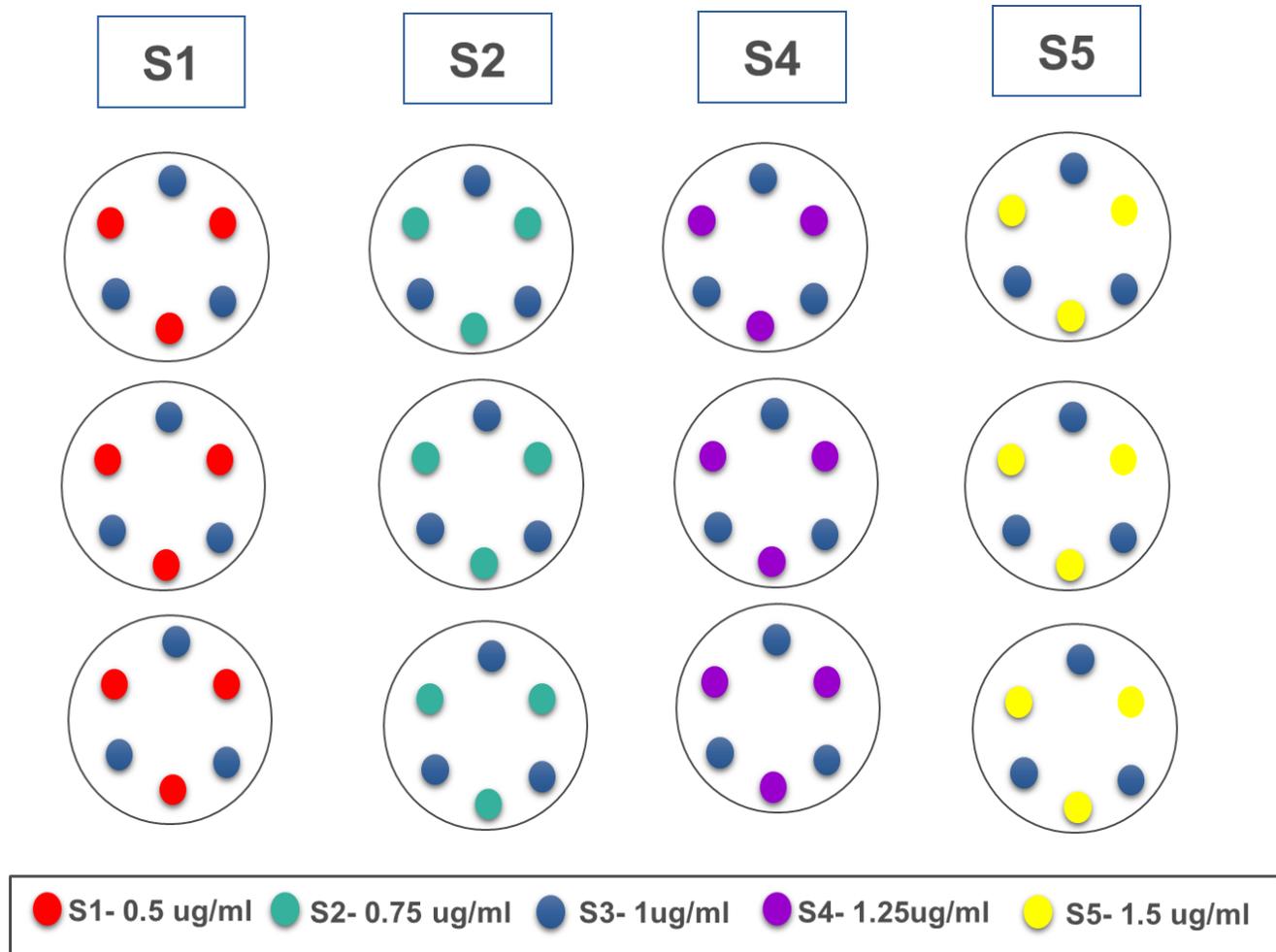
PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS





11.4. ANEXO 3

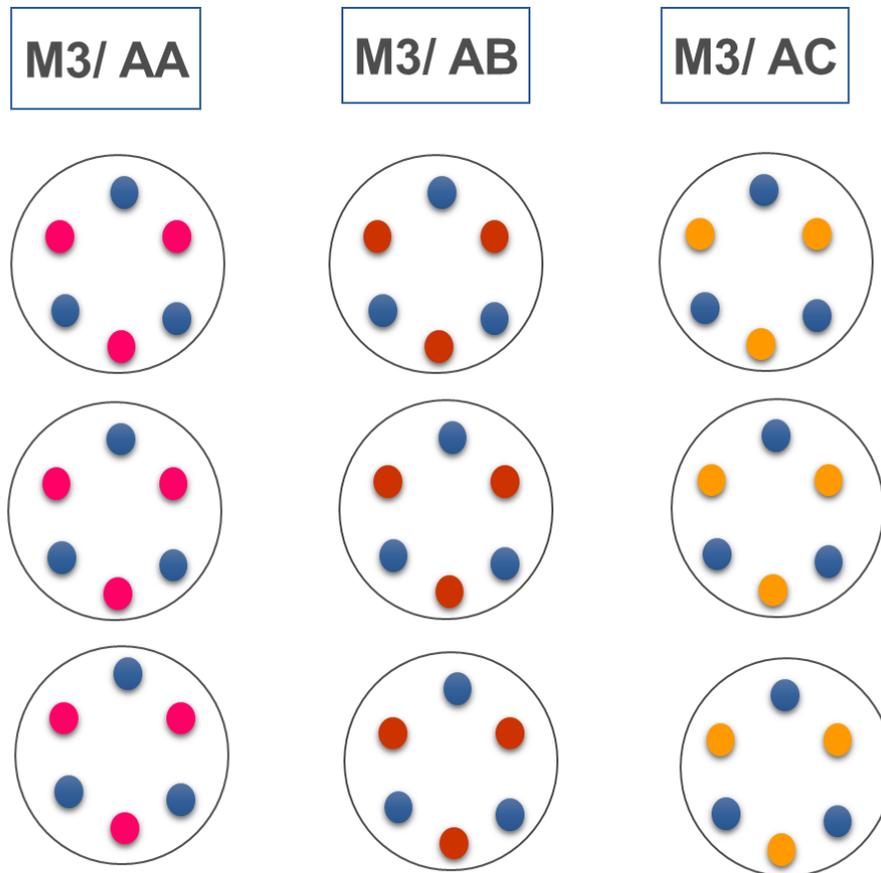
ESQUEMA DE COLOCACIÓN DE LOS CILINDROS DEL ESTANDAR





11.5. ANEXO 4

ESQUEMA DE COLOCACIÓN DE LOS CILINDROS DE LA MUESTRA



● M3/AA- 1 ug/ml ● M3/AB- 1 ug/ml ● S3- 1ug/ml ● M3/AC- 1 ug/ml



11.6. ANEXO 5 DETERMINACION DE LA LINEALIDAD

Curva de Calibración

X	Y	XY	X2	Y2
0.5	11.367	5.6835	0.25	129.208689
0.75	12.422	9.3165	0.5625	154.306084
1	13.322	13.322	1	177.475684
1.25	14.367	17.95875	1.5625	206.410689
1.5	15.211	22.8165	2.25	231.374521
5	66.689	69.09725	5.625	898.775667

SCX=	0.625
SCXY=	2.40825
SCY=	9.2911228

b= (pendiente)	3.8532
a= (Intercepto)	9.4846

r=	0.99937265	0.999
r2=	0.9987457	0.99

$$r = \frac{Scxy}{\sqrt{Scx \cdot Scy}}$$

G de Cochran

Conc. (ug/ml)	Diámetro	Desvet (S)	Promedio (x)	CV	Varianza(S2)
0.5	11.40	0.15396007	11.31	1.361140124	0.0237037
0.5	11.40				
0.5	11.13				
0.75	12.40	0.01924501	12.39	0.15534088	0.00037037
0.75	12.40				
0.75	12.37				
1	13.33	0.03469443	13.32	0.260425271	0.0012037
1	13.28				
1	13.35				
1.25	14.27	0.11547005	14.33	0.805605027	0.01333333
1.25	14.27				
1.25	14.47				
1.5	15.33	0.13333333	15.33	0.869565217	0.01777778
1.5	15.20				
1.5	15.47				

Gexp=	0.42036125
Gtabla(α=0.05, K=5, n=3)=	0.68

Gexp < Gtabla



11.7. ANEXO 6

DETERMINACIÓN DE LA POTENCIA DEL ANTIBIOTICO LAB. A

Estandar	Concentracion (µg/mL)	Placa	Diametro halo inhibicion(mm) para S3			Promedio (mm)	Desviacion STD (s)	%RSD	Diametro halo inhibicion(mm) para cada estandar			Promedio (mm)	Desviacion STD (s)	%RSD	Media corregida del halo en mm (Xc)
			1	2	3				1	2	3				
S1	0.5	1	13.4	13.4	13.2	13.267	0.100	0.8	11.2	11.4	11.6	11.311	0.203	1.8	11.367
		2	13.2	13.2	13.2				11.6	11.2	11.4				
		3	13.2	13.2	13.4				11.2	11.2	11.0				
S2	0.75	1	13.2	13.2	13.4	13.289	0.105	0.8	12.4	12.6	12.2	12.389	0.162	1.3	12.422
		2	13.4	13.2	13.2				12.4	12.2	12.6				
		3	13.4	13.2	13.4				12.2	12.5	12.4				
S4	1.25	1	13.2	13.4	13.2	13.289	0.105	0.8	14.6	14.2	14.0	14.333	0.200	1.4	14.367
		2	13.4	13.2	13.4				14.2	14.2	14.4				
		3	13.2	13.2	13.4				14.4	14.4	14.6				
S5	1.5	1	13.4	13.4	13.6	13.444	0.133	1.0	15.4	15.2	15.4	15.333	0.141	0.9	15.211
		2	13.2	13.4	13.4				15.2	15.2	15.2				
		3	13.6	13.4	13.6				15.6	15.4	15.4				
Muestra	Desconocida	1	14.0	14.0	14.2	13.911	0.362	2.6	14.0	14.2	15.2	14.156	0.456	3.2	13.567
		2	14.0	14.2	13.0				14.2	13.8	14.4				
		3	14.0	14.0	13.8				14.0	13.6	14.0				
					Punto de correccion (P)	13.322									

Concentración S 3 (µg /ml)	1.0
--------------------------------------	-----

Serie estándar	Medida corregida del halo de inhibición en mm	Concentración (µg /ml)
S 1	11.367	0.5
S 2	12.422	0.75
S 3 (referencia)	13.322	1
S 4	14.367	1.25
S 5	15.211	1.5

Pendiente	3.4797	Intercepto	13.58
------------------	--------	-------------------	-------

Calculo de la potencia de la muestra	
Logaritmo de la potencia de la muestra (Lu)	-0.005
Concentración de la muestra (Cu)	1.00
Potencia en porcentaje	99.5



11.8. ANEXO 7

DETERMINACIÓN DE LA POTENCIA DEL ANTIBIOTICO LAB. B

Estandar	Concentracion (µg/mL)	Placa	Diametro halo inhibicion(mm) para S3			Promedio (mm)	Desviacion STD (s)	%RSD	Diametro halo inhibicion(mm) para cada estandar			Promedio (mm)	Desviacion STD (s)	%RSD	Media corregida del halo en mm (Xc)
S1	0.5	1	13.4	13.4	13.2	13.267	0.100	0.8	11.2	11.4	11.6	11.311	0.203	1.8	11.367
		2	13.2	13.2	13.2				11.6	11.2	11.4				
		3	13.2	13.2	13.4				11.2	11.2	11.0				
S2	0.75	1	13.2	13.2	13.4	13.289	0.105	0.8	12.4	12.6	12.2	12.389	0.162	1.3	12.422
		2	13.4	13.2	13.2				12.4	12.2	12.6				
		3	13.4	13.2	13.4				12.2	12.5	12.4				
S4	1.25	1	13.2	13.4	13.2	13.289	0.105	0.8	14.6	14.2	14.0	14.333	0.200	1.4	14.367
		2	13.4	13.2	13.4				14.2	14.2	14.4				
		3	13.2	13.2	13.4				14.4	14.4	14.6				
S5	1.5	1	13.4	13.4	13.6	13.444	0.133	1.0	15.4	15.2	15.4	15.333	0.141	0.9	15.211
		2	13.2	13.4	13.4				15.2	15.2	15.2				
		3	13.6	13.4	13.6				15.6	15.4	15.4				
Muestra	Desconocida	1	13.4	13.0	13.2	13.578	0.494	3.6	13.2	13.8	13.0	13.556	0.508	3.7	13.300
		2	14.0	13.8	13.4				13.8	13.8	13.4				
		3	14.4	13.0	14.0				13.4	13.0	14.6				
Punto de correccion (P)						13.322									

Concentración S 3 (µg /ml)	1.0
-----------------------------------	-----

Serie estándar	Medida corregida del halo de inhibición en mm	Concentración (µg /ml)
S 1	11.367	0.5
S 2	12.422	0.75
S 3 (referencia)	13.322	1
S 4	14.367	1.25
S 5	15.211	1.5

Pendiente	3.4797	Intercepto	13.58
------------------	--------	-------------------	-------

Calculo de la potencia de la muestra	
Logaritmo de la potencia de la muestra (Lu)	-0.081
Concentración de la muestra (Cu)	0.922
Potencia en porcentaje	92.2



11.9. ANEXO 8

DETERMINACIÓN DE LA POTENCIA DEL ANTIBIOTICO LAB. C

Estandar	Concentracion (µg/ml)	Placa	Diametro halo inhibicion(mm) para S3			Promedio (mm)	Desviacion STD (s)	%RSD	Diametro halo inhibicion(mm) para cada estandar			Promedio (mm)	Desviacion STD (s)	%RSD	Media corregida del halo en mm (Xc)
S1	0.5	1	13.4	13.4	13.2	13.267	0.100	0.8	11.2	11.4	11.6	11.311	0.203	1.8	11.367
		2	13.2	13.2	13.2				11.6	11.2	11.4				
		3	13.2	13.2	13.4				11.2	11.2	11.0				
S2	0.75	1	13.2	13.2	13.4	13.289	0.105	0.8	12.4	12.6	12.2	12.389	0.162	1.3	12.422
		2	13.4	13.2	13.2				12.4	12.2	12.6				
		3	13.4	13.2	13.4				12.2	12.5	12.4				
S4	1.25	1	13.2	13.4	13.2	13.289	0.105	0.8	14.6	14.2	14.0	14.333	0.200	1.4	14.367
		2	13.4	13.2	13.4				14.2	14.2	14.4				
		3	13.2	13.2	13.4				14.4	14.4	14.6				
S5	1.5	1	13.4	13.4	13.6	13.444	0.133	1.0	15.4	15.2	15.4	15.333	0.141	0.9	15.211
		2	13.2	13.4	13.4				15.2	15.2	15.2				
		3	13.6	13.4	13.6				15.6	15.4	15.4				
Muestra	Desconocida	1	13.0	13.0	12.8	12.889	0.145	1.1	12.8	13.0	12.8	12.933	0.224	1.7	13.367
		2	12.8	12.6	13.0				12.8	13.0	13.4				
		3	13.0	12.8	13.0				12.6	13.0	13.0				
					Punto de correccion (P)	13.322									

Concentración S 3 (µg /ml)	1.0
--------------------------------------	-----

Serie estándar	Medida corregida del halo de inhibición en mm	Concentración (µg /ml)
S 1	11.367	0.5
S 2	12.422	0.75
S 3 (referencia)	13.322	1
S 4	14.367	1.25
S 5	15.211	1.5

Pendiente	3.4797	Intercepto	13.58
------------------	--------	-------------------	-------

Calculo de la potencia de la muestra	
Logaritmo de la potencia de la muestra (Lu)	-0.062
Concentración de la muestra (Cu)	0.94
Potencia en porcentaje	94.0



12. GLOSARIO

- **Concentración Mínima inhibitoria (CIM):** La concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de su incubación.
- **Cepa ATCC:** es un material biológico de referencia certificado. La colección certifica que se suministra una determinada cepa, que es un cultivo puro, y que se han observado las convenientes pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares correspondientes. ATCC (American Type Culture Collection).
- **Bioequivalencia:** es la cualidad que demuestra que un medicamento genérico y uno de marca con el mismo principio activo son equivalentes e intercambiables desde el punto de vista de la calidad, la seguridad y la eficacia.
- **Excipientes:** sustancia inactiva usada para incorporar el principio activo. Además pueden ser usados para ayudar al proceso mediante el cual un producto es manufacturado.
- **Patente:** es un conjunto de derechos exclusivos concedidos por un Estado al inventor de un nuevo producto o tecnología susceptibles de ser explotados comercialmente por un período limitado de tiempo, a cambio de la divulgación de la invención.
- **Tesitura:** Coyuntura o combinación de factores y circunstancias que caracterizan una situación en un momento determinado.



- **Farmacoterapéutica:** ciencia y aplicación de los medicamentos para la prevención y tratamiento de las enfermedades.
- **Paradigma:** aceptaciones de ideas, pensamientos, creencias incorporadas generalmente durante nuestra primera etapa de vida y que se aceptan como verdaderas o falsas sin ponerlas a prueba en un nuevo análisis.
- **Dispensar:** acto en que el farmacéutico entrega la medicación prescrita por el médico al paciente, junto a la información necesaria para su uso racional.
- **In vitro:** se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.
- **Autolítico:** proceso biológico por el cual una célula se autodestruye, ya sea porque no es más necesaria o porque está dañada y debe prevenirse un daño mayor.
- **Transpeptidación:** Transferencia de un aminoácido desde una cadena peptídica a otra.
- **Actinomicetales:** Son bacterias Gram-positivas del orden de las Actinobacteria.