

Evaluación antimicrobiana de medicamentos caducos y sus efectos sobre tejidos de *Mus musculus*.

EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DE MEDICAMENTOS CADUCOS Y SUS EFECTOS SOBRE TEJIDOS
DE *Mus musculus*.

MARCO ANTONIO GARCÍA AMEZCUA

DANIELA HERRAN CAZAUX

EDNA ITZEL VALDÉZ ARELLANO

MANUEL DE JESÚS VILLARREAL CABRERA

BIOL. LAURA IVONNE HERRERA REYES

CENTRO UNIVERSITARIO MÉXICO

CATEGORIA: MEDIO SUPERIOR

ÁREA. MEDICINA Y SALUD

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En julio de 1946 se fundó la Organización Mundial de la Salud (OMS) que en su declaración de principios estableció que “el goce del más alto grado de salud que se puede lograr es uno de los derechos fundamentales de cada ser humano, sin distinción de raza, religión, credo político o constitución económica y social”; la OMS define la salud como el estado de completo bienestar físico, mental, social y no solamente como la ausencia de enfermedad o invalidez.

Todos hemos acudido en algún momento al botiquín buscando un medicamento o analgésico que nos ayude a contrarrestar nuestro malestar y muchas veces lo hacemos sin prescripción médica y sin observar la fecha de caducidad de la sustancia que vamos a ingerir; sin pensar que el hecho de tomar un medicamento caduco puede tener consecuencias de importancia sobre nuestra salud. Por esta razón en este trabajo se pretende evaluar la actividad antimicrobiana de medicamentos caducos y el efecto que éstos pueden tener sobre los tejidos de *Mus musculus*.

MARCO TEÓRICO.

Los medicamentos son de un gran valor para todos nosotros, curan, alivian el dolor, previenen enfermedades, y en general nos permiten alargar nuestra vida y mejorar su calidad; pero cuando han caducado o se encuentran en mal estado, los medicamentos pueden ser un riesgo para nuestra salud y la de nuestra familia, además de representar un riesgo para el medio ambiente (SEMARNAT, 2008).

Las propiedades de los medicamentos que pueden alterarse por su caducidad y sus consecuencias potenciales son:

1. *Químicas*. Cada ingrediente activo puede variar su integridad química y la potencia declarada.
2. *Físicas*. Pueden alterarse algunas propiedades físicas originales: apariencia, uniformidad, disolución y color.
3. *Microbiológicas*. Puede afectarse la esterilidad o la resistencia al crecimiento bacteriano.
4. *Terapéuticas*. Pueden modificarse los efectos terapéuticos.
5. *Toxicológicas*. Pueden ocurrir cambios en la toxicidad por formación de productos tóxicos (Debesa, Fernández y Pérez, 2004)

El Metronidazol: es un medicamento que se ha utilizado desde hace casi ya medio siglo para tratar infecciones provocadas por algunos tipos de bacterias y protozoos anaeróbicos. Es un antibiótico y antiparasitario gastrointestinal que pertenece al grupo de los nitromidazoles. Este medicamento viene envasado en forma de tabletas para tomar por vía oral; generalmente se toma 2 o 3 veces al día durante 5 a 10 días.

El Metronidazol ha sido relacionado con el desarrollo de cáncer en animales de laboratorio, pero según expertos, el beneficio del tratamiento es mayor que el riesgo.
(www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS).

La Amoxicilina: es una penicilina semisintética, de amplio espectro, es bactericida y actúa inhibiendo la biosíntesis del mucopéptido de la pared celular bacteriana (*op cite*)

La Gentamicina: es un antibiótico aminoglucósido de amplio espectro, tiene actividad muy limitada sobre estreptococos. Carece de actividad sobre bacterias anaerobias. La gentamicina inyectable está indicada en infecciones causadas por gérmenes sensibles que producen infecciones abdominales, infecciones de piel y tejidos blandos, gastrointestinales y biliares entre otras (*op cite*).

Evaluación antimicrobiana de medicamentos caducos y sus efectos sobre tejidos de *Mus musculus*.

Se ha reportado un aumento en la nefrotoxicidad después de la administración concomitante de los antibióticos aminoglucósidos y las cefalosporinas (*op cite*).

El Septrim: es un medicamento de amplio espectro formulado por la acción de trimetoprima y una sulfonamida. Presenta actividad sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* entre otros. La dosis en niños es de 7.5-8 mg/kg/día de TMP (37.5-40 mg/kg/día de SMX) divididas en dos administraciones diarias cada 12 horas durante 7 a 14 días. Raramente se han reportado alteraciones hepáticas. (*op cite*).

BACTERIAS.

a) *Staphylococcus aureus*: Son cocos esféricos grampositivos ordenados en grupos irregulares que producen catalasa, se encuentran a menudo en la nariz y en la piel; crean abscesos y enfermedades de las vías respiratorias.



b) *Streptococcus pneumoniae*. Causa neumonía, meningitis e infecciones de las vías respiratorias superiores. Son cocos esféricos grampositivos ordenados por pares, se multiplican en los tejidos y causan inflamación, cuando alcanzan los alvéolos se produce un derrame de líquidos, eritrocitos y leucocitos conduciendo a la consolidación del pulmón.



c) *Escherichia coli*: Es la causa más común de infecciones en vías urinarias y sepsis por bacilos gramnegativos. Es una bacteria anaerobia facultativa muy abundante en el colon y en las heces; fermenta la lactosa y produce un gran número de padecimientos dentro y fuera de las vías intestinales (Levinson y Jawets, 1999).



d) *Vibrio cholerae*: Es una bacteria que solo afecta al hombre y que se transmite por contaminación fecal de agua y alimentos, tiene forma de coma o vibrión y es gramnegativa. La patogénesis depende de la colonización del intestino delgado por el microorganismo. Ha sido causante de epidemias y pandemias en todo el mundo (Levinson y Jawets, 1999).



Mus musculus

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Familia: Muridae

Género: *Mus*

Especie: *Mus musculus* L., 1758.



El ratón de laboratorio es un roedor, usualmente de la especie *Mus musculus*, que se utiliza para la investigación científica. Con frecuencia los ratones de laboratorio son blancos, y algunos son albinos (Álvarez-Romero y Medellín, 2005).

Los ratones de laboratorio deben pertenecer a una cepa pura o endogámica, donde los individuos de una misma cepa llevan los mismos genes, por lo cual se facilita la comparación de los efectos de los diferentes tratamientos (fármacos, entorno físico, etc.) sin que se produzca confusión debido a las diferencias genéticas. La cepa más utilizada ha sido la C57, aunque existen disponibles muchas variedades (Nowak, 1991).

Las principales vías de administración de fármacos en *Mus musculus* son: a) vía enteral que incluye la administración a través del aparato digestivo como son la vía oral y la rectal, b) vía parental que se aplica

Evaluación antimicrobiana de medicamentos caducos y sus efectos sobre tejidos de *Mus musculus*.

para las formas inyectables como la vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea e intramuscular entre otras (Llera del Portal, Llera del Portal M, y Llera Martín, 1991).

TEJIDOS

El hígado es el gran laboratorio químico del organismo. Es un órgano que se encuentra en la porción superior derecha y es el órgano más voluminoso. Es de color rojo intenso por la gran cantidad de sangre que contiene (Bergman, Afifi y Heidger Jr, 1998).

El hígado tiene tres funciones principales:

1. Almacenamiento: Grasa, vitaminas, minerales, hidratos en forma de glucógeno; cuando estas sustancias se encuentran en exceso, el hígado las almacena y las regresa a la circulación cuando disminuyen o son requeridas por otro tejido.
2. Transformaciones y conjugaciones: Es responsable de eliminar o transformar sustancias manteniendo una composición adecuada en la sangre.
3. Síntesis: Produce numerosas proteínas de la sangre como la albúmina (presión en la sangre) y la protombina (coagulación) (Higashida, 1997).

Los riñones son dos órganos que se encuentran colocados a los lados de la columna vertebral. Tienen forma parecida a la de un frijol y son de color pardo, rojizo (Higashida, 1997); cumplen muchas funciones entre ellas:

1. la excreción de desechos,
2. la regulación de la homeostasis total del cuerpo
3. la regulación del volumen de los fluidos extracelulares
4. la composición de los electrolitos (Bergman, Afifi y Heidger Jr, 1998).

El riñón tiene gran importancia como órgano de desintoxicación debido a que produce cambios en los tóxicos que los hace inocuos o menos tóxicos y facilitan su excreción vía la orina.

OBJETIVOS

Evaluar la actividad antimicrobiana de medicamentos caducos.

Comparar el efecto de medicamentos caducos con el efecto de medicamentos vigentes.

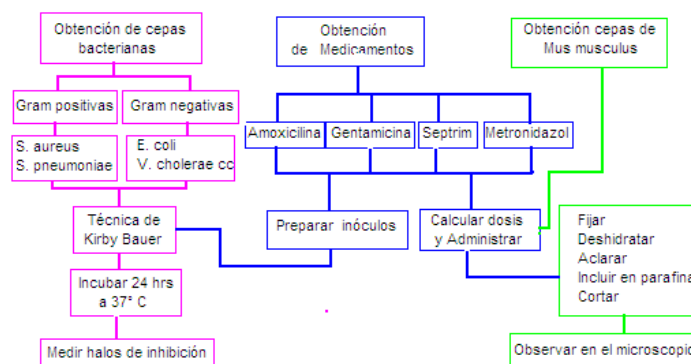
Evaluar el efecto de los medicamentos caducos sobre los tejidos de *Mus musculus*.

HIPÓTESIS.

Si los medicamentos caducos no pierden su eficacia aún después de la fecha de caducidad, entonces presentaran un halo de inhibición sobre cepas bacterianas.

Si los medicamentos se administran después de la fecha de caducidad entonces presentaran un efecto nocivo sobre los tejidos del hígado y los riñones de *Mus musculus*.

METODOLOGÍA



Evaluación antimicrobiana de medicamentos caducos y sus efectos sobre tejidos de *Mus musculus*.

MATERIALES

Cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae* caso clínico no patógeno, Agar Mueller Hinton, 50 cajas petri, Incubadora, Medicamentos caducos (Gentamicina, Amoxicilina, Septrim y Metronidazol), 50 ratones *Mus musculus* de la cepa C 57, 10 jaulas para ratones, 10 dispensadores de agua, Aserrín, Alimento para ratones, Micropipeta de 5 microlitros, Aguja para insulina, Estuche de disección, Formol, Alcohol absoluto, Xilol, Parafina, Microtomo, Microscopio óptico, Hematoxilina eosina

METODO.

I. Obtención de las cepas bacterianas.

Las cepas bacterianas fueron proporcionadas por la FES Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad de Biotecnología y Prototipos, Laboratorio de Fitoquímica. Se seleccionaron dos cepas del tracto digestivo y dos cepas del tracto respiratorio: *Escherichia coli* con número ATCC 53-218, *Vibrio cholerae* caso clínico no patógeno, *Staphylococcus aureus* con número ATCC 29213 y *Streptococcus pneumoniae* con clave ATCC 19430.

II. Obtención de los medicamentos.

Los medicamentos seleccionados fueron Amoxicilina GI de 250mg con fecha de caducidad octubre del 2008, Gentamicina GI (ampolleta) de 80mg/2 ml, con fecha de caducidad de septiembre 2005; Septrim con fecha de vencimiento octubre 2009 y Metronidazol 500 mg, con fecha de caducidad enero 2009.

III. Actividad antimicrobiana.

La actividad antimicrobiana de los fármacos caducos se determinó usando la técnica de difusión en agar de Kirby Baüer (Realizándose bioensayos con diez replicas. La concentración utilizada de las fracciones fue de: 20 µg por sensidisco. El control consistió en sensidiscos con 20 µl de agua destilada y esterilizada. Las cajas se incubaron por 24 horas a 37° C.

VI. Diseño experimental.

Se formaron 10 grupos cada uno con 5 ratones.

El primero y el sexto grupo fueron los controles negativos ya que no se les administró ningún medicamento

Los grupos 2, 3, 4 y 5 fueron los grupos experimentales ya que se les administró el medicamento caduco y los grupos 7, 8, 9 y 10 fueron los controles positivos, ya que se les administró la misma dosis de medicamento pero vigente. La dosis se calculó tomando en cuenta el peso de los individuos (ver tabla)



Grupo	Dosis	Medicamento
2	6 µl cada 8 horas por 7 días. Vía oral.	Septrim vigente
7		Septrim caduco
3	una unidad inyectable cada 24 horas por 5 días	Gentamicina vigente
8		Gentamicina caduca
4	6µl cada 8 horas por 7 días, vía oral.	Amoxicilina vigente
9		Amoxicilina caduca
5	3µl por 7 días, cada 12 horas. Vía oral.	Metronidazol vigente
10		Metronidazol caduco

VII. Obtención de los tejidos.

Una vez administrados los medicamentos y concluido el tratamiento se disectaron los ratones, los riñones y los hígados fueron fijados con formol tamponado con un buffer de potasio al 2.5%. Para la deshidratación

Evaluación antimicrobiana de medicamentos caducos y sus efectos sobre tejidos de *Mus musculus*.

se utilizaron distintas concentraciones de alcohol. La aclaración se hizo con xilol y la inclusión en parafina y el corte se realizaron bajo la dirección de la Dra. Concepción Sánchez en el hospital Infantil (ver anexo 3). Los tejidos fueron teñidos con hematoxilina-eosina (ver anexo 4).

VIII. Comparación de las muestras.

Los tejidos obtenidos de los grupos experimentales fueron comparados con los del grupo control y se observaron en el microscopio óptico a 40X.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

En la prueba de sensibilidad, los medicamentos caducos conservaron su actividad antimicrobiana.

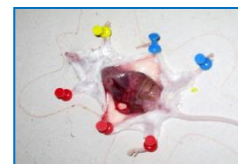
Bacteria	Septrim	Amoxicilina	Gentamicina	Metronidazol
<i>Staphylococcus aureus</i>	35	25	25	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	30	25	35	9
<i>Vibrio cholerae</i> cc	0	17	0	0
<i>Escherichia coli</i>	10	10	0	0

La tabla 1 muestra que *Staphylococcus aureus* fue sensible a todos los antibióticos, excepto para metronidazol, que no es medicamento que se administre para contrarrestar una infección por este patógeno. *Streptococcus pneumoniae* resultó sensible a todos los antibióticos, siendo más vulnerable a la gentamicina a pesar de que el

medicamento expiró en en 2005, *Vibrio cholerae* caso clínico no patógeno sólo resulto sensible a la Amoxicilina con una diámetro de 17 mm, mientras que *Escherichia coli* presentó halos de inhibición con Septrim y Amoxicilina. Esto nos permite determinar que los medicamentos arriba mencionados siguen presentando actividad antimicrobiana aún despues de la fecha de vencimiento, lo que sugiere que la fecha de caducidad puede no estar relacionada con eficacia del medicamento, sino con procesos químicos o toxicológicos del antibiótico.

El antibiótico más efectivo fue la Amoxicilina que tuvo efecto sobre todas las cepas bacterianas.

Como los medicamentos no perdieron su eficacia se determino su efecto nocivo sobre los tejidos de *Mus musculus*. Se realizaron las disecciones de los miembros de cada grupo, se separaron los hígados y riñones para fijarlos además de deshidratarlos.



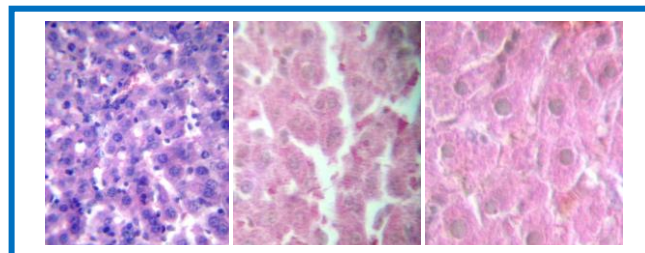
No hubo un cambio significativo en la coloración y/o forma de los hígados y los riñones de los ratones que fueron tratados con los medicamentos vigentes y los ratones del grupo control a los cuales no se les administro ningún medicamento, razón por la cual pensamos que los medicamentos normales no causan daño visible sobre los órganos de *Mus musculus*. Sin embargo los órganos y tejidos de los ratones tratados con medicamentos caducos si presentaron diferencias significativas con respecto a los grupos control (sin medicamento)



Se observa un tumor en el hígado de los ratones tratados con Metronidazol caduco.

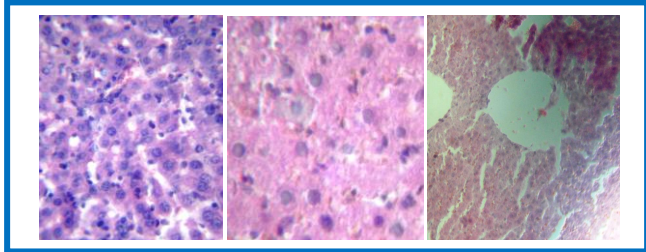
Las muestras del grupo control (sin medicamento), se compararon con las del medicamento vigente y con las del medicamento caduco

En esta imagen es posible observar los cortes histológicos de los hígados de los ratones a los que se les administró Amoxicilina y se observa una coloración distinta entre los tejidos del grupo control y los tejidos de los ratones a



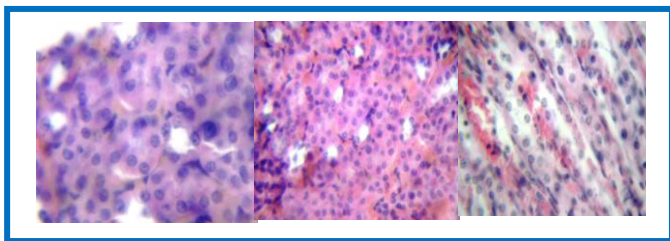
Evaluación antimicrobiana de medicamentos caducos y sus efectos sobre tejidos de *Mus musculus*.

los que se administraron los medicamentos. Se aprecia un aumento en el tamaño de las células con Amoxicilina caduca y la disminución de los espacios intersticiales con respecto al control positivo, es decir aquellos a los que se les administró amoxicilina vigente. Sería conveniente realizar pruebas para buscar ictericia y pruebas para detectar urea y poder afirmar o descartar daño hepático en los individuos. De izquierda a derecha grupo control, medicamento vigente y medicamento caduco.



Los tejidos del hígado de los animales tratados con Metronidazol. Se nota una tonalidad diferente entre el grupo control (sin medicamento) y el metronidazol vigente, no hay diferencia con respecto al tamaño y morfología de las células; sin embargo con el metronidazol caduco se observa que los hepatocitos tienen un núcleo más pequeño en relación con el citoplasma, se nota el horificio donde se encontraba el tumor y zonas dañadas.

El metronidazol caduco si causa problemas hepáticos en *Mus musculus*. Se debe tener especial cuidado al administrar este medicamento, vigilar la dosis y la vigencia del medicamento con la finalidad de proteger el ígado de las personas, ya que la dosis que consumimos podría causar un daño en este órgano que es muy importante para el correcto funcionamiento de nuestro cuerpo.



Esta lámina muestra la diferencia que existe en el tejido de hígado de riñón con Metronidazol. El control negativo y el control positivo son similares, sin embargo el grupo tratado con el medicamento caduco se ve muy diferente; el tejido se ve estriado, hay diferencias en el color de las células y éstas se ven diseminadas y separadas entre sí.

Es de primordial importancia estar alerta en la vigencia de los medicamentos que consumimos, hacer inspecciones constantes del botiquín y sobre todo evitar la automedicación.

CONCLUSIONES.

Los medicamentos en general pueden alargar su fecha de conservación hasta por 90 días si se conservan en lugares frescos y no son expuestos a cambios bruscos de temperatura, sin embargo no es conveniente usarlas despues de la fecha de vencimiento.

La gentamicina, Amoxicilina y Septrim conservan su eficacia aun despues de la fecha de caducidad.

El medicamento más efectivo contra las cepas probadas fue la Amoxicilina aunque caducoen octubre del 2008.

La Gentamicina caduca inhibio el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* a pesar de tener 5 años de haber vencido.

El Septrim caduco presentó actividad antimicrobiana para *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*, resultando inocua para *Vibrio cholerae* caso clínico no patógeno.

El Metronidazol caduco solo ayudo a inhibir el crecimiento de *Streptococcus pneumoniae*.

Los medicamentos caducos si pueden tener repercusión en el hígado y en los riñones de los individuos que los ingieren.

Es conveniente desechar los medicamentos caducos y no consumirlos

En México no existe una cultura para el correcto manejo de medicamentos caducos y no actualizamos los botiquines de manera frecuente.

La SEMARNAT y el Instituto de Ecología de la UNAM manejan programas para desechar de manera correcta los medicamentos ya que son una fuente de contaminantes y/o residuos peligrosos.

La Gentamicina caduca fue el medicamento más inocuo al no causar daño en los tejidos del hígado y riñones de *Mus musculus* aun con una fecha de caducidad anterior a 5 años.

Evaluación antimicrobiana de medicamentos caducos y sus efectos sobre tejidos de *Mus musculus*.

La Amoxicilina caduca solo causo un ligero cambio en la coloración de hepatocitos, y no tuvo ninguna repercusión sobre los riñones de *Mus musculus*.

El Septrim caduco produce cambios significativos en el riñón ya que las células se ven con una coloración distinta y el tejido se ve diseminado.

El Septrim caduco generó cambios significativos en los tejidos de riñones de *Mus musculus* que lucen una coloración distinta y el tejido se ve disgregado

El metronidazol fue el medicamento más agresivo con los tejidos de *Mus musculus*.

El Metronidazol caduco causo tumores y hepatotoxicidad con cambios morfológicos y funcionales.

En Metronidazol caduco propició un efecto nefrotóxico en *Mus musculus*.

Los riñones son los encargados de filtrar la orina y con ello eliminar toxinas y el hígado es el laboratorio químico del organismo por lo que cualquier sustancia tóxica causará una modificación en el tejido.

PROYECCIONES A FUTURO.

Realizar pruebas para detectar la hormona α feto que ayuda a identificar el carcinoma hepático.

Difundir la importancia de no utilizar medicamentos caducos y renovar continuamente los medicamentos del botiquín.

Dar a conocer las estrategias del Instituto Nacional de Ecología par el correcto desecho de los medicamentos así como los lugares establecidos para dicho propósito.

Evaluación antimicrobiana de medicamentos caducos y sus efectos sobre tejidos de *Mus musculus*.

- BIBLIOGRAFÍA.

- Álvarez-Romero, J. y Medellín, R. (2005). VERTEBRADOS SUPERIORES Y EXÓTICOS EN MÉXICO: DIVERSIDAD, DISTRIBUCIÓN Y EFECTOS POTENCIALES. Instituto Nacional de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México.
- Bergman R., Afifi, A. y Heidger Jr., P. (1998). HISTOLOGÍA. McGraw-Hill Interamericana. México. 195-248 pp.
- Collins, C. y Lyne, P. 1989. MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS. Edit Acribia. S.A. España. pp. 149-211.
- Cortinas de Nava, C. y G. S. Vega, 1993. RESIDUOS PELIGROSOS EN EL MUNDO Y MÉXICO. Serie Monografías 3. SEDESOL. México.
- Debesa, Fernández, Pérez. (2004). LA CADUCIDAD DE LOS MEDICAMENTOS: JUSTIFICACIÓN DE UNA DUDA. Revista Cubana; 38(3).
- Finegold, S., y Barón, E. 1991. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO. 7ª edición. Edit. Médica Panamericana. Argentina. pp.
- Hernández
- Higashida, B. (1996). CIENCIAS DE LA SALUD. Mc Graw-Hill. 3ª edición. México. 330-336 pp
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y GEOGRAFÍA
www.inegi.org.mx/inegi/default.aspx?s=est&c=3
- Levinson y Jawets. (1993). MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA: AUTOEVALUACIÓN Y REPASO. El manual moderno. México. 3-99 pp.
- Llera, M., Llera del Portal, M. y Llera del Portal, J. (1991). EL RATÓN Y LA RATA. Completenne. Madrid. 24-79 pp.
- Nowak, R. (1991). WALKER'S MAMMALS OF THE WORLD. The Johns Hopkins University Press. Baltimore. Maryland. EUA. 510 pp.
- Prophet, E., Mills, B., Arrington, J. y Sobin, L. (1995) MÉTODOS HISTOTECNOLÓGICOS. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas. Washington D.C. 15-67 pp.
- Schwartz RA. Histopathologic aspects of cutaneous metastatic disease. J Am Acad Dermatol. 1995;33:649-57.
- S.S.A. Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables para farmacias y público en general al 3 de agosto de 2007.
<http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/c1-1-3-6.html>
- Tailor R, Inkster C, Hanson I, Shackley DC, Smyth K. (2007) METASTIC RENAL CELL CARCINOMA PRESENTING AS A CHALAZION. Eye. Apr;21(4):564-5.
- Toxicología Ambiental (2010) EVALUACIÓN DE RIESGOS Y RESTAURACIÓN AMBIENTAL. The University of Arizona 22:36
- Vaquero www.uaeh.edu.mx/inicio/detnoticia.php?id=2306
- www.escuela.med.puc.cl/.../patologia588-596.html
- www.ispch.cl/lab_sal/doc/man_suscep
- www.Afacmed.unam.mx/bmnd/gj
- www.semarnat.com