

## Efecto de medicamentos genéricos y de patente sobre *Salmonella typhimurium*

Hernández Monterde Eduardo Adrián, Delgado Moreno Francisco Javier, Campoy Otero Emelia,  
Herrera Rojas Diana, Villalobos Ezeta Jorge Luis

Universidad Nacional Autónoma de México. FES-Iztacala. Avenida de los Barrios No. 1,  
Colonia los Reyes Iztacala, Estado de México, CP 54090.

ecojc@unam.mx

Fecha de aceptación: 5 de agosto de 2015

Fecha de publicación: 23 de septiembre de 2015

### RESUMEN

Las enfermedades gastrointestinales provocadas por el género *Salmonella* son una de las primeras causas de morbilidad y muerte en México. En el país la patente es el título oficial que otorga un organismo del estado por 20 años desde la fecha de solicitud. Cuando la patente o modelo de utilidad expira, pasa al dominio público. Se evaluó el efecto inhibitorio de Ampicilina y Ceftriaxona en sus presentaciones de patente y genérico sobre *Salmonella typhimurium*. Se siguió la técnica de susceptibilidad antimicrobiana de Kirby Bauer, empleando una cepa de *Escherichia coli* de referencia ATCC 95922 como testigo. Los datos se analizaron mediante una prueba t de student y una ANOVA bifactorial con  $\alpha$  0.05. *S. typhimurium* y *E. coli*, resultaron ser sensibles a la ceftriaxona y ampicilina en ambas presentaciones. *S. typhimurium* resultó ser resistente a ampicilina patente y genérico. *E. coli* presentó sensibilidad intermedia a la ampicilina patente y genérico.

**Palabras clave:** patente; resistencia antibacteriana; *Salmonella typhimurium*.

### ABSTRACT

Gastrointestinal diseases caused by *Salmonella* is one of the leading causes of morbidity and death in México. Patent in the country is the official title that confers a state agency for 20 years from the application date. When the patent expires or utility model then is of the public domain. The inhibitory effect of Ampicillin and Ceftriaxone in their presentations on patent and generic *Salmonella typhimurium* was evaluated. Antimicrobial susceptibility technique Kirby Bauer was followed using a strain of *Escherichia coli* ATCC 95922 as reference control. Data were analyzed by Student t test and bivariate ANOVA with  $\alpha$  0.05. *S. typhimurium* and *E. coli* were found to be sensitive to both ampicillin and ceftriaxone presentations. *S. typhimurium* were resistant to ampicillin patent and generic. *E. coli* presented intermediate sensitivity to the patent and generic ampicillin.

**Key words:** patente; antibacterial resistance; *Salmonella typhimurium*.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades gastrointestinales son una de las primeras causas de consulta médica y también una de las primeras causas de muerte en México y en el mundo, representan una de las infecciones gastrointestinales de mayor morbilidad y mortandad entre los lactantes y niños, se ha estimado que en Asia, África y Latinoamérica la probabilidad de que un niño muera antes de los 5 años puede llegar a 50%, aunque esto depende de factores socioeconómicos y nutricionales (Hernández, 2011).

Estudios gubernamentales realizados en México en el 2003 reportaron 4 556 decesos causados por infecciones intestinales, en el 2001 la Secretaría de Salud (SSA) informó que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos, ocupaban la decimocuarta causa de fallecimientos a nivel nacional, y que los estados con mayor incidencia eran: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla, y el Distrito Federal. Tan solo en el 2008, el Seguro Social brindó 2 millones 188 consultas por enfermedades gastrointestinales. La falta de un sistema de vigilancia con comunicación entre epidemiólogos, clínicos y el sector veterinario, así como la falta de infraestructura necesaria, impide que países como el nuestro pueda identificar las principales serovariedades de *Salmonella* en las diferentes clases de alimentos, así como el riesgo que cada una de estas para la salud de los seres humanos (Zaidi, 2006).

Una de las enfermedades gastrointestinales de importancia, es la salmonelosis, que presenta cuadros de recurrencia debido a diferentes factores como lo son la variedad de climas, la forma de vida de sus habitantes, que les obliga muchas veces a tener que alimentarse de comida cuya procedencia y preparación no es del todo higiénica, aunado a esto la economía les obliga a consumir dichos productos. Los animales de corral para el consumo humano, como pollos, cerdos y bovinos, son los reservorios más frecuentes de *Salmonella*, por tanto, la ingestión de alimentos directa o indirectamente contaminados es la causa más común de las infecciones en el humano (Benavente, 2010).

La participación de los distintos microorganismos difiere de un área geográfica a otra y del grupo de población estudiado, la principal población vulnerable a las enfermedades infecciosas del aparato gastrointestinal se hallan entre los 25 y 44 años de edad; le siguen los grupos de 1 a 4 años y los menores de 1 año (cólera, fiebre tifoidea, infecciones intestinales por otros organismos, y las mal definidas intoxicación alimentaria bacteriana, paratifoidea y otras salmonelosis y shigelosis) teniendo presentes los datos reportados, del año 2000 al 2008, en el boletín epidemiológico de México.

### Salmonelosis

El cuadro clínico de Salmonelosis se caracteriza por tener un periodo de incubación muy variable, que puede ir de las 6 a las 72 h en promedio. Provoca gastroenteritis o endocolitis, cuya sintomatología es fiebre, diarrea (de leve a fulminante), náuseas, vómito y dolor abdominal.

En el 2003, la paratifoidea y otros tipos de enfermedades relacionadas al género ocuparon el vigésimo cuarto lugar dentro de todas las causas de enfermedad, con 103 815 casos. Para el 2008, ocupó el décimo noveno lugar, con 122 422 casos, los estados en los que se ha reportado el mayor número de casos son: Tabasco, Chiapas, Coahuila, Sinaloa, y Veracruz. Las entidades federativas con menos reportes fueron Durango, Hidalgo, México, San Luis Potosí, y Tlaxcala. Con respecto al sexo, en 2008, el mayor porcentaje de casos correspondió a mujeres, con 67%.

Durante el período 2000-2008 se ha dado un incremento en el número de casos en paratifoidea y otros tipos de salmonelosis (Figura 1).

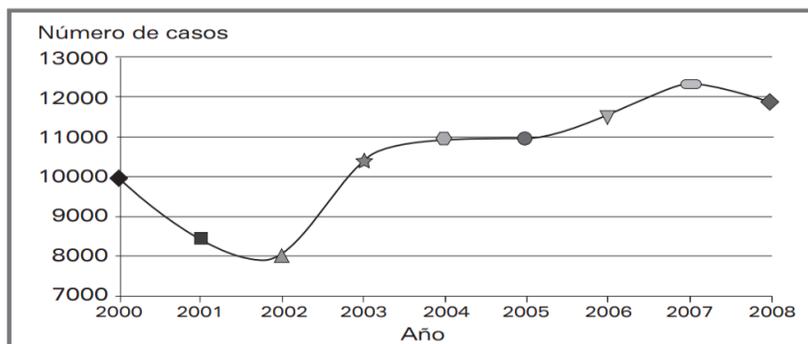


Figura 1. Distribución de casos de paratifoidea y salmonellosis entre 2000 y 2008.

La salmonellosis es causada por *Salmonella spp.*, de la que existen más de 2 500 serotipos, los serotipos aislados en México más frecuentes son: *typhimurium* y *enteritidis* (Hernández, 2011). Se caracteriza por pertenecer a la familia enterobacteriaceae, es Gram negativa, anaerobia facultativa, no esporulada y con flagelos peritricos.

El tratamiento que se utiliza para combatir este padecimiento consiste en la prescripción médica de cloranfenicol, ampicilina, amoxicilina, trimetoprima-sulfametoxazol, ciprofloxacino y ceftriaxona (Zaidi, 2006).

### Ampicilina

Antibiótico bactericida de amplio espectro, particularmente eficaz contra algunos microorganismos Gram-negativos. Su efecto se atribuye a que se une e inactiva a la transpeptidasa, acción que evita el entrecruzamiento de las cadenas de peptidoglucano, que le dan fuerza y rigidez a la pared bacteriana, además de inhibir la reproducción y crecimiento, y provoca alargamiento y lisis de las bacterias susceptibles (Rodríguez, 2005).

### Ceftriaxona

Las cefalosporinas tienen un espectro antibiótico más amplio que las penicilinas, y la mayoría son resistentes a las  $\beta$ -Lactamasas; así mismo su mecanismo de destrucción bacteriana es similar al de las primeras. La resistencia bacteriana de las cefalosporinas explica principalmente a la hipermeabilidad del microorganismo al sitio de acción del fármaco, así por la producción de la enzima  $\beta$ -Lactamasa. Las cefalosporinas de tercera generación son menos activas contra los organismos gram-positivos, pero más potentes con enterobacterias (Uriate, 2003).

### Patentes en México

En México la patente es el título oficial que otorga un organismo del Estado, a quien registra una invención que confiere el derecho de explotarla en forma exclusiva durante 20 años desde la fecha de solicitud. Este régimen es uno de los mecanismos de incentivo que las leyes prevén para alentar la innovación. Cuando la patente o modelo de utilidad expira, así mismo la protección y la invención pasa a pertenecer al dominio público; es decir, el titular deja de tener derechos exclusivos sobre la invención, que pasa a estar disponible para la explotación comercial por terceros interesados (R.I.S., 2011).

Después de liberada la patente, esta queda a disposición de otros laboratorios que han visto una oportunidad de producir el medicamento y a su vez ofrecerlos a un precio más cercanos al costo de producción (PROFECO, 2010), tomando en cuenta las posibilidades económicas de los diferentes sectores poblacionales. Previo a autorizar la producción de un medicamento genérico de un laboratorio

interesado, la Secretaria de Salud debe verificar que este cumpla con todos los requerimientos del Reglamento de Insumos para la Salud.

Un medicamento genérico, es aquel que contiene el mismo principio activo que el de patente, sin embargo, su eficacia no ha sido demostrada en ensayos clínicos, y por lo tanto, sus parámetros farmacéuticos no son equiparables a los del medicamento innovador

A mediados de los 80's hubo una reducción en la cantidad de patentes registradas, a lo que la industria farmacéutica respondió dándole mayor responsabilidad a los departamentos de publicidad y marketing (PROFECO, 2010).

Estudios realizados entre 1994 y 2008 por el Instituto de Medicina de Harvard demostraron que los medicamentos evaluados resultaron tener el mismo efecto, contrario a lo que aseguraban las empresas farmacéuticas en comunicados de prensa. Si se considera que el precio de los medicamentos genéricos es hasta un 80% menor que los medicamentos de patente, para el público en general resulta mucho más accesible adquirir este tipo de medicamentos para cumplir con el tratamiento o prescripción que el médico indica.

En 2010, la Secretaria de Salud estableció que todo medicamento genérico o similar debería de someterse a pruebas de bioequivalencia para su subsecuente producción; sin embargo se concedió a los laboratorios de medicamentos similares un permiso especial pero con un plazo límite para cumplir con la reglamentación establecida. Aún hoy en día no se tiene certeza de que todos los laboratorios se atengan a dicha reglamentación por lo cual es indispensable que instituciones públicas lleven a cabo pruebas para determinar la equivalencia entre diversos medicamentos.

En caso del género *Salmonella* el medicamento que debería utilizarse como primera opción es la ceftriaxona, una cefalosporina de tercera generación que posee un espectro mayor que las penicilinas, sin embargo la cuestión es que el medicamento señalado para el tratamiento de la infección continua siendo en muchos casos la ampicilina, por lo que surge la cuestión si ¿verdaderamente hay una diferencia entre el efecto de ambos medicamentos en el tratamiento de salmonelosis de patente y genérico?.

Bamfi *et al.*, (1989) llevaron a cabo un estudio con respecto a la sensibilidad, de 641 cepas de *Salmonella typhi*, aisladas entre los años 1958 y 1974, frente a cloranfenicol. El autor señala la necesidad de realizar estudios sistemáticos sobre la sensibilidad de *S. typhi* a este antibiótico dada la existencia de algunas cepas de *Salmonella* a dicho antibiótico

Andraca *et al.*, (2001), realizaron una revisión y síntesis de información sobre un grupo importante de antibióticos que recientemente ha tenido gran desarrollo: las cefalosporinas. Se señalan aspectos tan diversos como su origen, absorción, mecanismo de acción, farmacocinética, clasificación, actividad *in vitro*, así como sus dosificaciones e indicaciones y contra indicaciones con el propósito de lograr que médicos generales integren y actualicen el espectro en el uso clínico de estos agentes antimicrobianos.

Navarro *et al.* (2007), argumentan que el patrón de resistencia en enterobacterias se relaciona con el principal mecanismo de los medicamentos betalactámicos y a los aminoglicosidos, respectivamente, por lo que se traduce en un patrón de resistencia concreto que permite deducir la/las enzimas implicadas. Sin embargo, la resistencia enzimática no es el único mecanismo y muy frecuentemente el patrón observado es multifactorial. La resistencia a las quinolonas se debe a mutaciones puntuales y secuenciales, que pueden ir seleccionando escalonadamente su resistencia.

Es por ello que debido a todo lo anterior y bajo los antecedentes que se tienen sobre la efectividad de los antibióticos de patente y genérico y sobre los mecanismos de resistencia que pueden desarrollar las bacterias se propuso determinar el efecto inhibitorio de Ampicilina y Ceftriaxona en sus presentaciones de patente y genérico sobre *S. typhimurium*.

## METODOLOGÍA

### Bacteria

La cepa de *S. typhimurium* se obtuvo del laboratorio de Fitoquímica y bacteriología de la FES Iztacala y se conservó en agar nutritivo a 4° C.

### Antibióticos

Los antibióticos se obtuvieron en farmacias de medicamentos genéricos y fueron almacenados en un lugar fresco.

Se prepararon soluciones isotónicas de NaCl al 20%, con 10 ml cada una a una concentración de 11.27 mg de ampicilina patente, 10.24 mg de ampicilina genérico, 36.17 mg de ceftriaxona patente y 36.31 mg de ceftriaxona genérico.

### Prueba de susceptibilidad microbiana por difusión en agar Prueba de Kirby Bauer

A partir de un cultivo bacteriano de 24 horas Se seleccionaron de 5 a 6 colonias y se inocularon en solución salina fisiológica, hasta alcanzar la turbidez de 0.5 de la escala de Mac Farland equivalente 1.5 X10<sup>8</sup> cel/ml.

La bacteria se sembró por estría en medio agar Muller Hinton utilizando un hisopo estéril, girando la caja seis veces con la finalidad de formar un tape celular homogéneo. Se dejaron 15 min en reposo.

Se utilizaron discos de papel Watman de 6 mm de diámetro para aplicar cuatro tratamientos: ampicilina genérica y patente 10 µg cada una ceftriaxona patente y genérico 30 µg. Los sensibilizadores se colocaron sobre la superficie del agar, presionando para asegurar contacto pleno con la superficie. Las placas se incubaron a 35 °C durante 24 h.

Se utilizó una cepa de referencia de *Escherichia coli* 95922, como grupo testigo.

Se midieron los halos de inhibición y se interpretaron los datos de acuerdo al CLSI. Se analizaron mediante un estadístico ANOVA.

Se realizaron 10 repeticiones para el tratamiento *S. typhimurium* y 10 repeticiones para control con *E.coli*, aplicando un diseño experimental en bloques.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

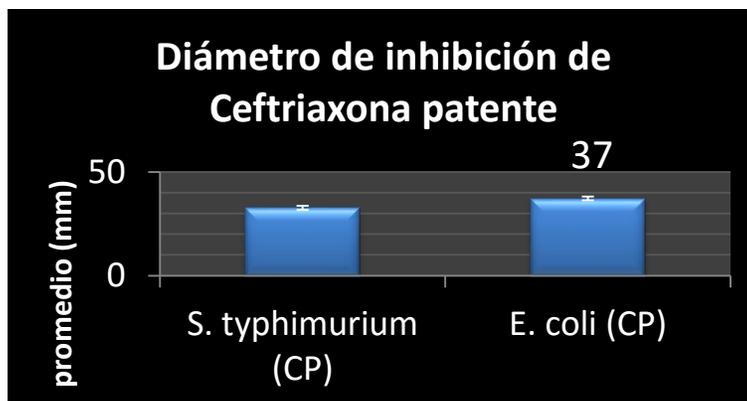
De acuerdo con el estadístico t de Student, se presentaron diferencias significativas para el efecto de ceftriaxona de patente entre *S. typhimurium* y *E. coli*, en los cuales se presentaron halos de inhibición promedio de 33 mm y 37 mm de diámetro respectivamente (Figura 2).

De igual modo se presentaron diferencias significativas para el efecto de ceftriaxona presentación genérico entre las dos bacterias, también se presentaron halos de inhibición de 33 y 36 mm de diámetro respectivamente (Figura 3).

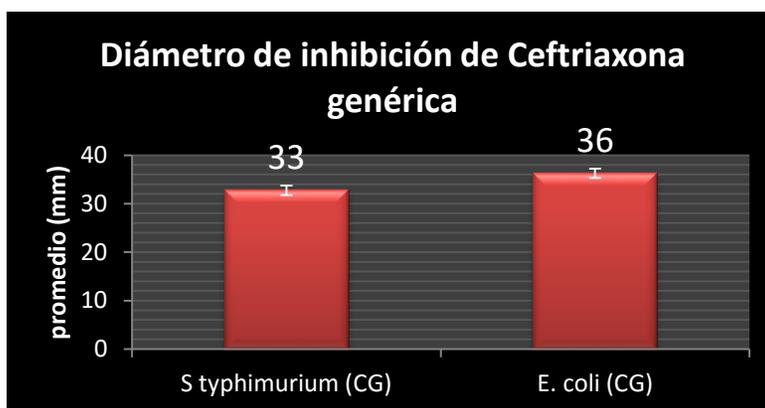
De acuerdo con los criterios de CLSI, las bacterias resultaron ser sensibles a ambos medicamentos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Criterios establecidos por CLSI para la Ceftriaxona

Diámetro en mm (CLSI)	
Susceptible	≥23
Intermedia	20-22
Resistente	≤19



**Figura 2.** Efecto inhibitorio de Ceftriaxona de Patente



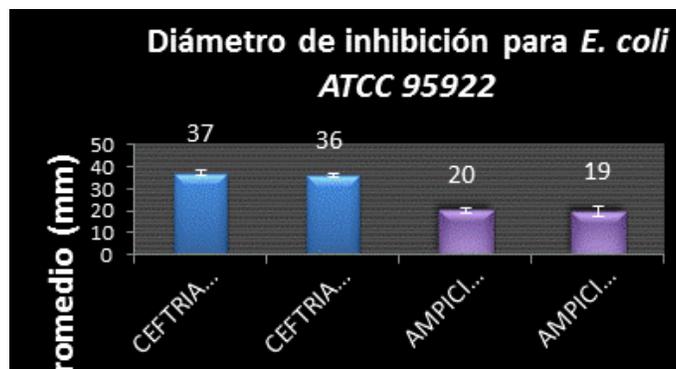
**Figura 3.** Efecto inhibitorio de Ceftriaxona presentación genérico

En cuanto al efecto de la ampicilina patente y genérico, se observó que *S. typhimurium* resulto ser resistente a este medicamento en sus dos presentaciones (Figura 4).



**Figura 4.** Se muestra en la imagen la difusión del principio activo, pero no la inhibición de la bacteria a la ampicilina.

De acuerdo con el estadístico ANOVA de dos factores para determinar la significancia del efecto de los medicamentos en ambas presentaciones y el análisis LSD con un  $\alpha$  0.05 para *E. coli*, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, siendo la Ceftriaxona patente y genérico la que mostro mayor efecto con halos de inhibición promedio de 37 y 36 mm y para la ampicilina patente y genérico los halos de inhibición fueron de 20 y 19 mm en promedio. De acuerdo con CLSI, la bacteria resulto ser sensible a la ceftriaxona y de sensibilidad intermedia para la ampicilina patente y genérico, Figuras 5 y 6.



**Figura 5.** Efecto inhibitorio de Ceftriaxona y ampicilina de patente y genérico en *E. coli*.



**Figura 6.** Se muestran los halos de inhibición de *E. coli* por ambos medicamentos en sus dos presentaciones.

Los datos sobre la inhibición en *E. coli* validan de alguna manera la metodología empleada, ya que como cepa de referencia, los valores se hallan dentro de los rangos establecidos por el CLSI para el control de calidad en la evaluación de los antibióticos empleados.

Los datos permiten inferir que la cepa de *Salmonella typhimurium* al ser una cepa ambiental, probablemente le confiere un mayor grado de resistencia a la ampicilina.

Si bien la ampicilina es un antibiótico de amplio espectro, eficaz contra algunas bacterias Gramnegativas que inhibe la transpeptidación para la formación de la pared del peptidoglicano (Rodríguez, 2005), existen cepas que han desarrollado mecanismos de resistencia, tal es el caso de la cepa de estudio *S. typhimurium*.

Por otro lado, las cefalosporinas tienen un espectro antibiótico más amplio que las penicilinas, la existencia de cepas resistentes se explica principalmente por la presencia de la enzima  $\beta$ -Lactamasa que impide la unión del antibiótico a los puentes peptídicos del peptidoglicano. Sin embargo en este estudio no fue el caso, debido a que las bacterias resultaron ser sensibles a este fármaco. Los datos difieren con lo señalado por Uriate (2003), quien demostró la resistencia de las bacterias como *E. coli* y *Salmonella* al fármaco, probablemente se debe a la existencia de cepas resistentes debido a su información genética y al origen de la muestra. Mientras que para *E. coli* que es una cepa de referencia,

quizá el hecho de estarla manteniendo bajo condiciones de cultivo estándar ha perdido la capacidad de desarrollar factores de virulencia.

## CONCLUSIONES

*S. typhimurium* y *E. coli* resultaron ser sensibles a la ceftriaxona y ampicilina en ambas presentaciones.

*S. typhimurium* resultó ser resistente a ampicilina patente y genérico.

*E. coli* presentó sensibilidad intermedia a la ampicilina patente y genérico.

## REFERENCIAS

### PROFECO

[http://www.profeco.gob.mx/encuesta/mirador/2010/cons\\_med\\_2010.pdf](http://www.profeco.gob.mx/encuesta/mirador/2010/cons_med_2010.pdf)

Mendoza, M. del. C., Herrero, A., Rodicio, M. R. 2009. Ingeniería evolutiva en *Salmonella*: la emergencia de plásmidos híbridos de virulencia-resistencia a antimicrobianos en serotipos no tifoideos. *Enferm Infecc. Microbiol. Clin.*, 27: 37–43

Navarro, F., Mesa, R.J., Miro, E., Gómez, L., Mirelis, B., Coll. P. 2007. Evidence for convergent evolution of CTX-M-14 ESBL in *Escherichia coli* and its prevalence. *FEMS Microbiol. Lett.* 273: 120–123

Zaidi, M.B., López, M.C., y Calva, E. 2006. Estudios mexicanos sobre *Salmonella*: epidemiología, vacunas y biología molecular. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 48: 121-125