

# Administración de Amoxicilina-Ácido clavulánico mediante celulosa bacteriana

A. Alvarez Flores<sup>1\*</sup>, D. Patiño Vélez<sup>1</sup>, A. Veles Bustillos<sup>1</sup>, O. A. Rosas de la Rosa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias e Ingenierías, Universidad Iberoamericana Puebla, Puebla, México.

\*[alejandro.alvarez.flores@iberopuebla.mx](mailto:alejandro.alvarez.flores@iberopuebla.mx)

**Abstract**— This article addresses the development of a drug delivery medium, specifically antibiotics, using bacterial cellulose in response to problems detected in the wound dressings commonly used in patients with burns, such as biocompatibility, its regenerative tissue capacity and availability to cover large areas. The project consists of three parts, the first consisted of the culture of bacterial cellulose, the second dealt with the addition of an antibiotic, in this case, amoxicillin-clavulanic acid and finally antibiogram tests were carried out. For the culture of bacterial cellulose, a solution of 2 liters was prepared, being 10% sucrose, 2% black tea and 1% acetic acid, subsequently adding 10% of the inoculum of *Acetobacter Xylinum*. The culture was covered with a sterilized cloth and left to stand for 25 days. The formed layer was then extracted and introduced into a 0.1 M solution of NaOH in hot water for 15 minutes, rinsed and left in an oven for 20 hours at 50 °C. The drug was added, dipping it in amoxicillin-clavulanic acid at 0.04M, 0.027M and 0.013M, keeping them in an orbital shaker at 100 rpm for 44 hours. To check the release of the antibiotic and determine its effectiveness against pathogens such as *Staphylococcus Aureus* and *Staphylococcus spp*, antibiogram tests were performed. It was identified that the tests that showed the highest inhibition rate were those of amoxicillin-clavulanic acid at 0.027M, inhibiting 1143.69 mm<sup>2</sup>. It was concluded that bacterial cellulose can be used as a medium for the administration of drugs as antibiotics.

**Keywords**— *Acetobacter Xylinum*, amoxicillin-clavulanic acid, antibiogram, bacterial cellulose.

## I. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con un artículo publicado por la OMS en 2018, a nivel mundial, las quemaduras provocan aproximadamente 180 mil muertes al año, por lo cual se considera un problema de la salud pública. De igual forma, las quemaduras no fatales son una de las principales causas de morbilidad que conduce a la hospitalización prolongada, discapacidad, desfiguración, estigmatización y rechazo [1].

En México, las quemaduras son las causas más frecuentes de atención médica en las salas de urgencias. En el año 2017, en el país se reportaron alrededor de 16,183 casos de quemaduras en menores, de los cuales 623 casos se presentaron en menores de un año; 5336 en menores de entre 1 y 4 años; 3342 casos en menores de entre 5 y 9 años; 2956 casos en menores de entre 10 y 14 años y, por último,

3926 casos en menores de entre 15 y 19 años, por lo que se considera como una de las principales causas de muerte en los niños y adolescentes en México [2].

De manera general, el tratamiento de las quemaduras de espesor profundo consiste en controlar la pérdida de fluidos, prevenir o tratar infecciones y promover el proceso de cicatrización de la herida para finalmente reparar el tejido. Sin embargo, pese a los avances que han experimentado las alternativas terapéuticas, Prado menciona que persisten problemas en la recuperación de la funcionalidad del tejido dañado, la biocompatibilidad con el tejido humano para evitar el rechazo inmune y la falta de disponibilidad para cubrir grandes extensiones [3].

Por ello, una de las alternativas de solución se encuentra en el uso de biomateriales, dentro de los cuales destaca la celulosa bacteriana. Esta es un polímero de origen orgánico del cual 90% de su peso es agua [4]. Es producida extracelularmente por cultivo de bacterias gram-negativo como la *Acetobacter Xylinum*. Presenta distintas propiedades, principalmente la biocompatibilidad, la cual posibilita su uso como suministro de fármacos y evita rechazos inmunológicos por parte del paciente [5, 6, 7].

En torno a la aplicación de la celulosa bacteriana en los métodos de administración de fármacos, se encontraron dos investigaciones por parte de universidades extranjeras [8, 9], las cuales realizaron pruebas de liberación del diclofenaco y amoxicilina respectivamente. Mientras que, en el mercado existen 2 patentes [10, 11], el primero consiste en un apósito hecho de celulosa bacteriana que administra lidocaína y en el segundo se menciona que su método de administración es a través de cápsulas incrustadas en la membrana.

Considerando la problemática que existe a nivel mundial y nacional con respecto a la tasa de mortalidad por quemaduras y las consecuencias que generan las quemaduras no letales, se propone el diseño de un método medio de administración de medicamentos empleando celulosa bacteriana, la cual, debido a su estructura y propiedades mecánicas, sea capaz absorber y liberar fármacos como la amoxicilina-ácido clavulánico. Así como, por medio de sus propiedades biológicas minimice las posibilidades de infección y estimule el proceso de cicatrización en las lesiones.

## II. METODOLOGÍA

La metodología del prototipo se divide en tres secciones: la obtención de la celulosa bacteriana, la adición de medicamento y las pruebas de antibiograma.

Para obtener la celulosa bacteriana se preparó una solución de 2 litros con una concentración de 10% de sacarosa, 2% de té negro y 1% de ácido acético a la cual se le adicionó 10% del inoculo de *Acetobacter Xylinum*. El envase donde se preparó el cultivo quedó cubierto por tela esterilizada y se le dejó en cultivo estático por 10 días. Se extrajo la capa de celulosa bacteriana, sin embargo, resultó ser muy delgada para los objetivos del proyecto y se desechó. Como consecuencia de esto, se dejó el cultivo por 15 días obteniendo una capa más gruesa. Se obtuvo una película de celulosa húmeda de 29 cm x 16 cm x 3.56 mm con un peso de 228.2 g.

Para eliminar los restos de sacarosa y bacterias se enjuagó la celulosa con agua caliente por 10 minutos con agitación constante; posteriormente, se sometió a un tratamiento de hidrólisis en el cual se preparó una solución de NaOH a 0.1 M con agua caliente y se sumergió con constante agitación. Se volvió a enjuagar con agua caliente para eliminar los últimos residuos. Este proceso se realizó 3 veces para eliminar todos los restos de bacteria y sacarosa. La celulosa se dejó en un horno por 20 horas a 50° C para evaporar el agua residual.

La adición de medicamento consistió en sumergir la celulosa bacteriana en distintas concentraciones de Amoxicilina-Ácido Clavulánico: 0.04M, 0.027M, 0.013M, se dejaron absorber en un agitador orbital a 100 rpm por 44 horas y se sometieron a prueba de antibiograma. Para medir los resultados se propuso medir los radios de antibiograma, con el objetivo de determinar cuál de las tres concentraciones resultó más efectiva contra la *Staphylococcus Aureus* y *Staphylococcus spp.*

## III. RESULTADOS

A modo de prueba del prototipo se efectuó una prueba de antibiograma, en la cual, si el prototipo presentaba un radio de repelencia, es decir, un radio en el que alrededor de la celulosa no se presentaran bacterias, sería prueba de que el proyecto cumplió su objetivo general.

Se propuso añadir un antibiótico a la celulosa; esto se realizó con amoxicilina de 500mg y ácido clavulánico de 125 mg. Para ello, se trituró una pastilla del medicamento y se creó una disolución que tuviera las siguientes concentraciones: 0.04M, 0.013M y 0.027M. Al obtener estas soluciones, se sumergieron los parches de celulosa en ella y se dejaron absorbiendo el medicamento en agitación orbital a 100 rpm durante 44 horas, esto con el objetivo de que la celulosa la absorbiera de forma homogénea en su membrana.

Al momento de realizar la prueba de antibiograma se procuró eliminar el exceso de la solución poniendo la celulosa sobre una toalla de papel. Así, el resultado que se

observa en Fig. 1 y Fig. 3 del antibiograma no se ven afectadas por el exceso de solución.

La prueba de antibiograma se realizó con dos bacterias, en la caja de Petri A (Fig. 1) se cultivó *Staphylococcus spp.*, en el cual se puede observar que la sección a la que se le añadió 15 mg de amoxicilina en 10ml (equivalente a 0.04M) cuenta con un radio de repelencia promedio de 11.46 mm (Fig. 2) y una desviación estándar de 1.10 mm. Las mediciones obtenidas de cada prueba en función de la concentración del antibiótico se encuentran en la Tabla 1, en donde se observa que el radio de repelencia es proporcional a la concentración de amoxicilina que se le agregó. Cabe destacar que fue posible crear una zona libre de bacteria de hasta 16.6 veces mayor con respecto al área correspondiente a la celulosa.

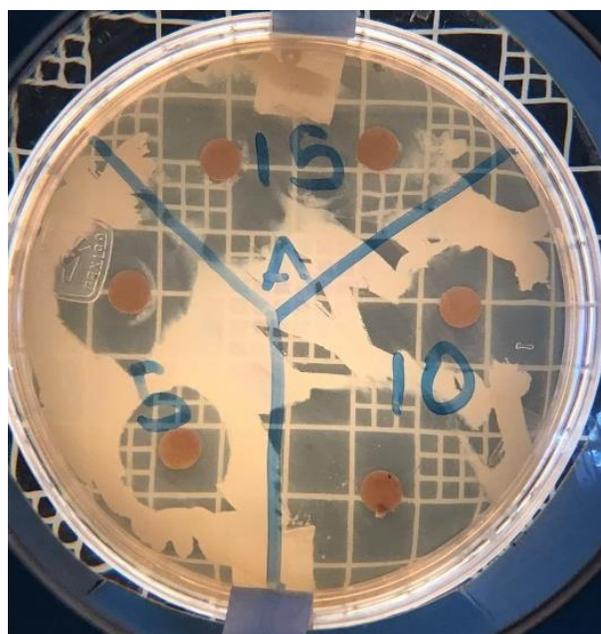


Fig. 1. Prueba de antibiograma en Caja Petri A con *Staphylococcus spp* y parches de celulosa con amoxicilina en concentraciones de 1.5 mg, 1.0 mg y 1.5 mg.

Tabla 1. Radios y áreas de inhibición de la celulosa sobre la bacteria *Staphylococcus spp* tras 24 horas de incubación.

Concentración 1.5 mg		Concentración 1.0 mg		Concentración de 0.5 mg	
Radio inhibido (mm)	Área inhibida (mm <sup>2</sup> )	Radio inhibido (mm)	Área inhibida (mm <sup>2</sup> )	Radio inhibido (mm)	Área inhibida (mm <sup>2</sup> )
12.24	470.67	9.8	301.72	7.58	180.50
10.68	358.34	8.7	237.79	7.02	154.82

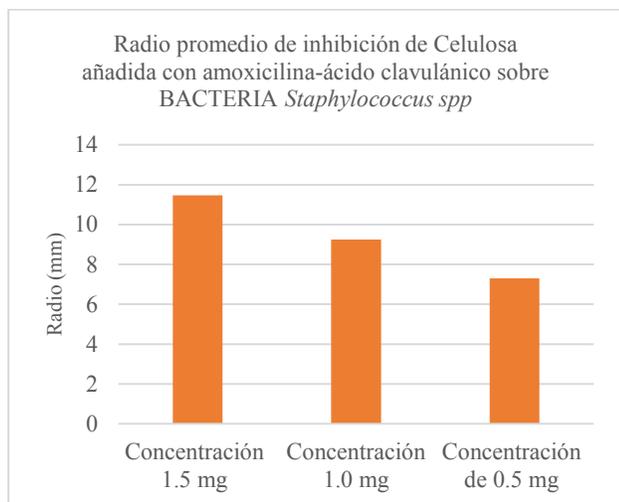


Fig. 2. Radio promedio de inhibición de la celulosa con amoxicilina-ácido clavulánico sobre la bacteria *Staphylococcus spp*.

En la caja Petri B se cultivó *Staphylococcus aureus*, la cual siguió el mismo tratamiento que los parches de la caja A. Para la bacteria *Staphylococcus aureus*, el aro de repelencia varía de forma proporcional a la concentración de antibiótico que la celulosa absorbió en determinado periodo. En la Tabla 2 y Fig. 4 se presentan los radios y áreas de inhibición correspondiente a la concentración de la amoxicilina-ácido clavulánico y el radio promedio, respectivamente. En ambas se aprecian valores similares a la prueba anterior, aunque, mínimamente inferiores en las concentraciones de 1.5 y 0.5 mg de amoxicilina-ácido clavulánico.

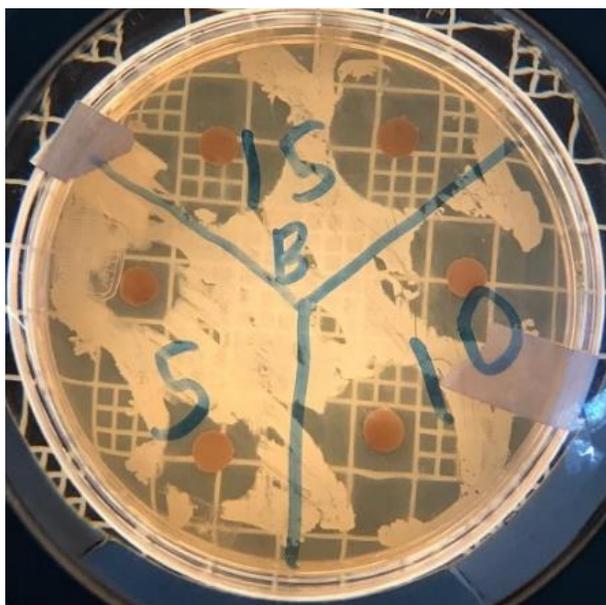


Fig. 3. Prueba de antibiograma en Caja Petri B con *Staphylococcus aureus*. Se analizan los radios de inhibición de la celulosa añadida con amoxicilina en distintas concentraciones.

Tabla 2. Radios y áreas de inhibición de la celulosa sobre la bacteria *Staphylococcus aureus* tras 24 horas de incubación.

Concentración 1.5 mg		Concentración 1.0 mg		Concentración de 0.5 mg	
Radio inhibido (mm)	Área inhibida (mm <sup>2</sup> )	Radio inhibido (mm)	Área inhibida (mm <sup>2</sup> )	Radio inhibido (mm)	Área inhibida (mm <sup>2</sup> )
10.9	373.25	9.9	307.91	6.30	124.69
11	380.13	9.5	283.53	5.80	105.68

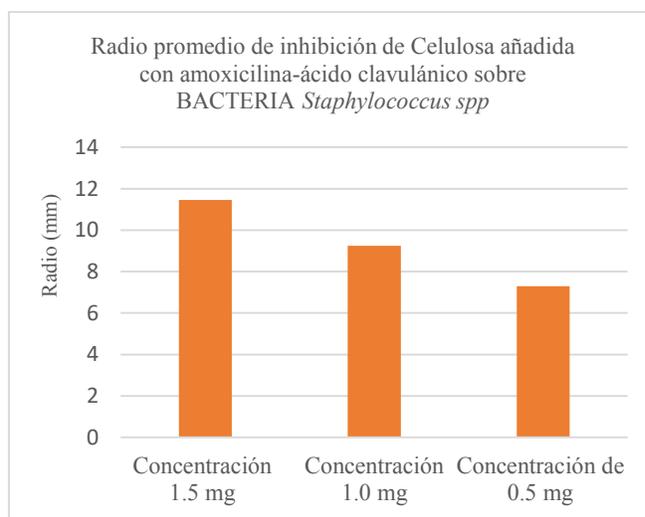


Fig. 4. Radio promedio de inhibición de la celulosa con amoxicilina-ácido Clavulánico sobre la bacteria *Staphylococcus aureus*.

#### IV. DISCUSIÓN

Con respecto al cultivo de la celulosa bacteriana, se determinó que debe durar por lo menos 15 días para obtener un grosor adecuado que permita manipularla y a su vez, absorber un mayor volumen de la sustancia o fármaco que se pretenda administrar. De igual forma, con base en los resultados obtenidos, la elección de la bacteria *Acetobacter Xylinum* para la producción de celulosa fue acertada al permitir la absorción y liberación del antibiótico. Hecho que se respalda al ser capaz de crear un área de inhibición 16.6 veces mayor que el área presentada por el parche de celulosa.

En cuanto a las pruebas de antibiograma, se generaron los aros de repelencia en las dos pruebas efectuadas contra dos cepas de bacterias distintas. Comparando el radio de los aros producidos por los parches que inhibieron el crecimiento de la *Staphylococcus spp* (Tabla 1) contra los que inhibieron a la *Staphylococcus aureus* (Tabla 2), se observó que los primeros fueron los que obtuvieron los mayores radios de inhibición y dentro de estos, conforme aumentaba la concentración del antibiótico, aumentaba el radio, siendo el más grande 12.24 mm. Aunque ambos patógenos pertenecen a la misma familia de bacterias, es probable que el antibiótico escogido sea más eficaz ante una

de las especies, en este caso la *Staphylococcus spp.* Sin embargo, estas diferencias en el radio pueden atribuirse al fármaco escogido o a un margen de error en las mediciones, así como cabe destacar que la celulosa bacteriana, por sí sola, no cuenta con propiedades antibacterianas.

Finalmente, es posible afirmar que se cumplió el objetivo general de administrar un medicamento como la amoxicilina y el ácido clavulánico, razón por la cual, sienta las bases para su empleo en la administración de otros fármacos (hidrosolubles).

#### V. CONCLUSIONES

Se concluye que las características de retención y liberación de fármaco, en este caso antibióticos, de la celulosa bacteriana son adecuadas para la inhibición de los patógenos que comúnmente se presentan en las infecciones cutáneas. Esto se confirma con la prueba de antibiograma donde se sometió a la *Staphylococcus spp.* a un tratamiento de Amoxicilina-Ácido Clavulánico al 0.027 M, presentando un área de inhibición de 1143.69 mm<sup>2</sup>.

Se recomienda efectuar diferentes experimentos donde se modifiquen los antibióticos administrados sobre la celulosa y las concentraciones de estos. Demostrando su efectividad en las pruebas de antibiograma. **Por otro lado, se recomienda realizar un sistema de control positivo y negativo con la finalidad de establecer el grado de eficiencia que se obtuvieron en las pruebas.**

Por otro lado, se recomienda experimentar con diferentes métodos de recubierto de celulosa, diferentes bacterias y los tiempos de reposo, de modo que se determine cuál presenta las mejores características que le permiten ser empleado en la administración de fármacos. Así como, se recomienda experimentar con las geometrías y texturas de los parches.

#### RECONOCIMIENTO

Los autores agradecen a la M. en C. Rocío Ramírez Rodríguez y al Dr. Manuel Acevedo por el asesoramiento brindado a lo largo del proyecto.

#### REFERENCIAS

- [1] OMS. Quemaduras. 2018. Accessed on: July 11, 2021. [Online]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/burns>
- [2] N. F. Castañón, "Gaceta del Senado". April 2019. Accessed on: July 12, 2021. [Online]. Available: [https://www.senado.gob.mx/64/gaceta\\_del\\_senado/documento/93720#\\_ftn9](https://www.senado.gob.mx/64/gaceta_del_senado/documento/93720#_ftn9)
- [3] Prado, G. "Desarrollo y caracterización de materiales compuestos basados en polímeros biocompatibles y nanopartículas de óxido de Zinc (ZnO) fabricados mediante la técnica de electrohilado, para potenciales aplicaciones en el tratamiento de quemaduras," Ph. D. tesis, Ciencia e Ingeniería de Materiales, UNAM, Ciudad de México, 2018.
- [4] Almedia, I., Pereira, T., Silva, N., Gomes, F., Silvestre, A., Freire, C., Sousa, J. & Costa, P. "Bacterial cellulose membranes as drug delivery systems: An in vivo skin compatibility study," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.*, vol. 86, no. 3, pp. 332-336, August 2013. Accessed on: September 8, 2019. DOI: 10.1016/j.ejpb.2013.08.008, [Online].
- [5] Shah, N., Ul, Islam, M., Ahmad, W. & Kon, J. "Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material," *Carbohydrate Polymers*, vol. 98, no. 2, pp. 1585-1598, August 2013. Accessed on: September 8, 2019. Doi: 10.1016/j.carbpol.2013.08.018, [Online].
- [6] Fadel, G., Luiz, C., Sierakowski, M., Woehl, M., Novak, C., Fernandes, C. Amado, A., da Silva, R. & Alves, R. "Bacterial cellulose in biomedical applications: A review." *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 104, no. 1, pp. 97-106, June 2017. Accessed on: September 8, 2019. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.05.171, [Online].
- [7] Silva, N., Rodrigues, A., Almeida, I., Costa, P., Rosado, C., Rosado, C., Neto, C., Silvestre, A. & Freire, C. "Bacterial cellulose membranes as transdermal delivery systems for diclofenac: In vitro dissolution and permeation studies," *Carbohydrate Polymers*, vol. 106, no. 1, pp. 264-269, February 2014. Accessed on: September 8, 2019. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.02.014, [Online].
- [8] Pavaloiu, R. D., Stoica, A., Stroescu, M. & Dobre. T. "Controlled release of amoxicillin from bacterial cellulose membranes," *Central European Journal of Chemistry*, vol. 12, no. 9, pp. 962-967, March 2014. Accessed on: September 8, 2019. Doi: 10.2478/s11532-014-0541-3, [Online].
- [9] Serafica, G., Mink, R., Hoon, R. & Damien, C. "Microbial Cellulose materials for use in transdermal drug delivery systems, method of manufacture and use," U. S. Patent 2006/0240084. Oct. 26, 2006.
- [10] Chen, P.Y., Lai, J.T., Hsiao, H.C., Chu, Y.H. & Liao, C.C. "Bacterial Cellulose Composite with capsules embedded therein and preparation thereof," U. S. Patent. 8 871 743. Oct. 28, 2014.
- [11] Maneerung, T., Tokura, S. & Rujiravanit, R. "Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing," *Carbohydrate Polymers*, vol. 72, no. 1, pp. 43-51, July 2017. Accessed on: September 8, 2019. Doi: 10.1016/j.carbpol.2007.07.025, [Online].