

Estudios microbiológicos del sulfato de magnesio heptahidratado obtenido a partir de agua de mar

Microbiological studies of heptahydrate magnesium sulfate obtained from seawater

Carlos Manuel Jiménez-Martínez¹, Leobel Fajardo-Cedeño², Liannys Liens-Valdés³, Dagmaris Pupo-Pupo³

¹Universidad de Ciencias Médicas de Las Tunas, Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta", Las Tunas. ²Empresa Laboratorio Farmacéuticos Líquidos Orales, Granma. ³Policlínico Universitario "Gustavo Aldereguía Lima, Las Tunas, Cuba. **Correspondencia a:** Carlos Manuel Jiménez-Martínez, correo electrónico: luzcarlitos@ltu.sld.cu

Recibido: 18 de febrero de 2019

Aprobado: 25 de marzo de 2019

RESUMEN

Fundamento: por síntesis química se obtuvo sulfato de magnesio heptahidratado a partir de agua de mar. Se realizó la caracterización físico-química del producto, con especificaciones acorde a los estándares internacionales. Corresponde el estudio de las propiedades microbiológicas.

Objetivo: evaluar propiedades microbiológicas del sulfato de magnesio obtenido a partir del agua de mar como fuente natural, para su uso farmacéutico.

Métodos: los estudios microbiológicos fueron ejecutados en el Laboratorio Farmacéutico Líquidos Orales (MEDILIP), de la ciudad de Bayamo, Cuba. Se realizaron los análisis de límites microbianos, según la metodología para productos no estériles, descrita en la Farmacopea 38 de los Estados Unidos. Se emplearon diferentes medios de cultivo.

Resultados: durante el tiempo estudiado, el producto mostró resistencia efectiva al crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*, *E. coli*, con conteos acorde a los límites establecidos para productos no estériles.

Conclusiones: los resultados del estudio microbiológico evidencian que el sulfato de magnesio heptahidratado sintetizado cumple los requerimientos para su uso farmacéutico.

Palabras clave: SULFATO DE MAGNESIO HEPTAHIDRATADO; ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA; PRODUCTOS NO ESTÉRILES; AGUA DE MAR.

Descriptor: SULFATO DE MAGNESIO; AGUA DE MAR; SÍNTESIS DE PRODUCTOS; PREPARACIONES FARMACÉUTICAS.

ABSTRACT

Background: heptahydrate magnesium sulfate was obtained by chemical synthesis using seawater. The physicochemical characterization of the product was performed, with specifications according to international standards. The study included the microbiological properties.

Objective: to assess the microbiological properties of magnesium sulfate obtained from seawater as a natural source, for pharmaceutical uses.

Methods: the microbiological studies were conducted at the Pharmaceutical Laboratory of Oral Liquids (MEDILIP) of the city of Bayamo, Cuba. The analysis of the microbial limits was carried out according to the methodology for non-sterile products described by the 38th United States Pharmacopeia. Different culture media were used.

Results: during the study period, the product showed effective resistance to the growth of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*, *E. coli*, with counts according to the limits established for non-sterile products.

Conclusions: the results of the microbiological study showed that synthesized heptahydrate magnesium sulfate fulfills the requirements for its pharmaceutical use.

Citar como: Jiménez-Martínez CM, Fajardo-Cedeño L, Liens-Valdés L, Pupo-Pupo D. Estudios microbiológicos del sulfato de magnesio heptahidratado obtenido a partir de agua de mar. Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta. 2019; 44(3). Disponible en: <http://revzoilomarinellosld.cu/index.php/zmv/article/view/1754>.



Key words: HEPTAHYDRATE MAGNESIUM SULFATE, MICROBIOLOGICAL STABILITY; NON-STERILE PRODUCTS; SEAWATER.

Descriptors: MAGNESIUM SULFATE; SEAWATER; PRODUCT SYNTHESIS; PHARMACEUTICAL PREPARATIONS.

INTRODUCCIÓN

Los medicamentos constituyen la tecnología médica más utilizada en el mundo contemporáneo. Estos han salvado vidas y prevenido enfermedades, fundamentalmente desde la segunda mitad del siglo XX, pero su amplia utilización desde entonces lo está convirtiendo en un problema de salud. La política de medicamentos del Ministerio de Salud Pública de Cuba se ha visto afectada significativamente, la cual ha impactado en dicho sector, en especial en el campo de la producción de medicamentos. Esta situación ha traído como resultado que en la nación se desarrollen programas encaminados al aprovechamiento integral de los recursos naturales, con el propósito de sustituir importaciones de fármacos que en la actualidad no pueden ser distribuidos, porque se dificulta su producción en la Industria Farmacéutica Nacional. ⁽¹⁾

La búsqueda de alternativas, para la obtención de productos que provengan de fuentes inagotables, es una importante fuente de explotación; por ello, en la actualidad el compromiso de nuestros investigadores con la ecología y el medio ambiente posee una importancia cada vez mayor. Existe una necesidad creciente por el desarrollo de procesos para la obtención de compuestos con características ecológicas, que no alteren las condiciones del medio ambiente y que, a la vez, resulten competitivos a nivel farmacológico, técnico y económico.

Un recurso natural de inmensa pureza, que permite una explotación ecológica y sostenible y que aún no es aprovechado en su totalidad, es el agua de mar, la cual contiene una gran variedad de sales minerales disueltas y cantidades significativas de iones de magnesio, calcio y sodio, entre otros, sin embargo, este medio es el hábitat natural de muchos microorganismos.

La explotación de este recurso tiene un importante valor científico-técnico. En Cuba, el agua de mar se aprovecha en Sagua la Grande para producir dicloro, dihidrógeno, cloruro de hidrógeno, ácido clorhídrico comercial, hidróxido de sodio e hipoclorito de sodio. Es por ello que esta investigación responde al área de la química sostenible, como fuente fundamental para prevenir la contaminación, siendo en particular el diseño de productos o procesos que reducen o eliminan el uso o la producción de sustancias tóxicas. ⁽²⁾

El sulfato de magnesio, también conocido como sal de Epsom, se emplea en la medicina como medicamento para el tratamiento de afecciones que cursan con deficiencias de magnesio, convulsiones en las toxemias severas (preclampsia y eclampsia) del embarazo, arritmias cardíacas severas, colágeno para pruebas de drenaje biliar, ⁽³⁾ relajante uterino y puede contrarrestar la tetania uterina, que puede producirse con el uso de drogas oxitócicas. ⁽⁴⁾ Investigadores colombianos han publicado que el uso

del sulfato de magnesio en pacientes con embarazos viables únicos o múltiples, antes de 32 semanas, en quienes se espera el parto en las próximas 24 horas, ha demostrado ser útil para la disminución del riesgo de incapacidad motora de origen central del neonato prematuro; ⁽⁵⁾ además, como aditivos en plásticos, en fertilizantes, en agua mineral, en cosméticos, fijación de colores en seda, algodón y piel, fabricación de papel, cartones, investigación y química fina. ^(6,7) Actualmente esta materia prima es importada por la Industria Farmacéutica Nacional.

En investigación precedente fue diseñada una metodología para obtener dicha sal con calidad farmacéutica, ⁽⁸⁾ con el objetivo de sustituir las importaciones del producto. La identificación físico-química, del producto obtenido se realizó según lo establecido en las farmacopeas mejicana, europea y americana, obteniéndose una pureza de 99,94 % y los valores de las sustancias contaminantes, como metales pesados y calcio, estuvieron por debajo de los límites establecidos. Para darle continuidad a esta investigación, se propone realizar los estudios microbiológicos que representan un valor fundamental, porque es parte de la calidad farmacéutica del producto y, aún más, cuando la fuente de obtención es el agua de mar, la cual puede contener disímiles de microorganismos. Estos estudios forman parte de los protocolos tecnológicos para la obtención de una materia prima con calidad, la que puede ser usada posteriormente para la elaboración de formulaciones. Esta investigación pretende responder a la siguiente incógnita: ¿cumplirá las exigencias de calidad microbiológica el sulfato de magnesio heptahidratado obtenido por esta metodología y empleando el agua de mar como fuente natural? Por lo cual nos planteamos como objetivo la evaluación microbiológica del sulfato de magnesio obtenido a partir del agua de mar, como fuente natural.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio se realizó la determinación de propiedades microbiológicas del producto obtenido. Se realizó en la Empresa Laboratorio Farmacéuticos Líquidos Orales (MEDILIP) de la ciudad de Bayamo, entre el año 2014 y el 2017. Se tomaron como referentes las normas establecidas por la Farmacopea 38 de los Estados Unidos (USP 38). ⁽⁹⁾

No se consideró el producto basado en una formulación, por lo que no se puede definir la vía de administración del posible preparado. La determinación de microorganismos patógenos se realizó según lo establecido para sustancias de uso farmacéutico. Se utilizaron los criterios para productos no estériles, es decir, límites permisibles de hongos, bacterias y la ausencia de microorganismos patógenos que puedan crecer durante o en la etapa final del proceso de obtención.

A pesar de ello, y por las posibles consecuencias de la presencia de *Escherichia coli* (*E. coli*) en la mayoría de los medios no estériles, se realizó el ensayo correspondiente. El ensayo se efectuó por triplicado, reportando la media de las determinaciones. La caracterización microbiológica fue realizada en el laboratorio de microbiología, a temperatura y humedad controlada.

Fueron empleados los siguientes medios: Agar Soya Triptona, caldo Soya Triptona, agar dextrosa Sabouraud y caldo Sabouraud para bacterias

patógenas, agar MacConkey, agar cetrimida, agar XIL, agar manitol-sal, caldo Morel, los microorganismos se refieren en el cuadro. El equipamiento utilizado fue: incubadora friocell-5L, balanza técnica B-H, Agitador magnético (Vortex), Cabina de flujo laminar, microplacas, puntas de pipetas automáticas, pipetas automáticas y recipientes de vidrio o plásticos.

Ensayos establecidos en la Farmacopea 38 de los Estados Unidos (USP 38) para evaluar productos no estériles: ⁽⁹⁾

Ensayo	Microorganismos	Preparación
Conteo total de bacterias	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Incubar 30 -35 °C entre 18 y 24 horas
Conteo total de hongos y levaduras	<i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus brasiliensis</i>	Incubar 20 -25 °C entre 2 y 3 días, hasta 5 y 7 días <i>Aspergillus</i>
Determinación de microorganismos específicos	<i>E.coli</i>	Incubar 30 -35 °C entre 18 y 24 horas

Teniendo en cuenta que las endotoxinas pueden absorberse a la superficie de los tubos o pipetas de ciertos tipos de plástico o de vidrio, los materiales utilizados en el ensayo deben controlarse, por lo cual el analista consideró repetir los ensayos, al comenzar el nuevo control microbiano del producto. Además, conociendo que el producto puede contaminarse muy fácil desde el punto de vista microbiológico, se tuvo en cuenta la buena conservación del producto desde su obtención hasta el comienzo de las pruebas microbiológicas, usando para ello un frasco libre de partículas contaminantes, mantenido a temperatura entre 2°C y 8°C, y la dilución tuvo lugar bajo condiciones asépticas validadas, además, se redujo el tiempo transcurrido entre el final de la preparación de las diluciones y el instante en que el inóculo entra en contacto con el medio de cultivo, el cual debe ser breve. ⁽¹⁰⁾

En medios agarizados el aumento del número de bacterias produce colonias macroscópicamente visibles, algunas de cuyas características (tamaño, forma, color, etc.) pueden contribuir a la identificación del microorganismo. ⁽⁹⁾ La técnica realizada para esta determinación se efectuó según la Farmacopea 38 de los Estados Unidos (USP 38), la cual corresponde a la prueba para enumeración microbiológica e identificación de microorganismo específicos. ⁽²⁾ Aunque la tendencia final de la

investigación no es obtener el producto para la elaboración de formulaciones, sino lograr una materia prima con calidad farmacéutica, la toma de la muestra del agua de mar para la obtención del producto fue realizada lejos de la playa o estuario, zonas que concentran mayor grado de contaminación microbiológica y química, por la acumulada influencia de desechos que recalcan en la orilla. Los envases usados para la mezcla y consiguiente obtención del producto a escala de laboratorio cumplieron las instructivas de limpieza.

En cuanto a la peligrosidad en el manejo del producto, antes y durante los ensayos se siguieron las directivas de la ficha de datos de seguridad establecidas por autores españoles. ⁽¹¹⁾

RESULTADOS

Los estudios realizados responden a propiedades que deben cumplir los criterios de aceptación para productos no estériles, es decir, límites permisibles de hongos, bacterias y la ausencia de microorganismos patógenos que puedan crecer durante o terminado el proceso de obtención, según se establece en la Farmacopea 38 de los Estados Unidos (USP 38). ⁽⁹⁾ Los resultados se muestran en la **tabla 1** y evidencian que el producto cumple los parámetros microbiológicos establecidos.

TABLA 1. Resultados de los ensayos microbiológicos realizados al producto, siguiendo la USP 38

Ensayo	Límites	Resultado
Conteo total de bacterias	10 ³ ufc/g o mL	12 ufc/mL (cumple)
Conteo total de hongos y levaduras	10 ² ufc/g o mL	<10 ufc/mL (cumple)
Aislamiento de microorganismos patógenos	Ausente en 1 g o 1 mL	No se detectó <i>E.coli</i>

ufc - unidades formadoras de colonias, g - gramos, mL - mililitros

DISCUSIÓN

En la investigación precedente se logró realizar la síntesis química y control de calidad físico-químicos del sulfato de magnesio heptahidratado. Se utilizó como materia prima agua de mar, procedente de las playas del municipio Puerto Padre, Las Tunas. En la secuencia de síntesis se empleó sucesivamente el hidróxido de sodio de producción nacional, que al reaccionar con una solución de ácido sulfúrico puro para análisis (PA) originó un sólido cristalino, el sulfato de magnesio heptahidratado, corroborado en los ensayos físico-químicos. De esta forma se experimentó la factibilidad de esta fuente de obtención de dicho medicamento, el cual en la actualidad es importado por la industria farmacéutica nacional. Además, se aprovecha un recurso natural inagotable, como es el agua de mar.

El producto obtenido mostró una pureza de 99,94 %, valor que, al igual que el resto de los parámetros, se encuentran entre los límites que establecen la Farmacopea 38 de los Estados Unidos (USP 38), de lo que se infiere que la calidad es comparable con la de otras firmas reconocidas mundialmente. Se logró, además, determinar el por ciento de algunas de las impurezas metálicas salinas, tales como: calcio, ion que siempre aparece contaminando las sales de magnesio; arsénico y metales pesados expresados como plomo, todos ellos se encuentran por debajo de los estándares que establecen las normas. Se evidencia así la calidad del producto obtenido y de la pureza de las materias primas utilizadas para la síntesis. El esquema de síntesis química propuesto mostró que el producto obtenido no contiene fuentes contaminantes que puedan interferir en la pureza exigida por las regulaciones internacionales.⁽⁸⁾

Como continuidad, en la evaluación del sulfato de magnesio heptahidratado, obtenido a partir de agua de mar, se realizaron los estudios microbiológicos. En la **tabla 1** se mostraron los resultados del estudio de estabilidad microbiológica los que avalan el producto, mantiene durante el tiempo estudiado una resistencia efectiva al crecimiento microbiano,

manteniéndose dentro de los parámetros microbiológicos establecidos por la USP 38. No se descarta la posibilidad de una posible presencia inicial de microorganismos en el proceso de obtención, ya que se partió de una fuente natural y con grandes tendencias a la contaminación (agua de mar). Durante el desarrollo del método de obtención se eliminaron los microorganismos que pudieran haber estado presentes. A la materia prima para uso farmacéutico se debe estudiar la realización del proceso de esterilización como etapa final, para asegurar la calidad microbiológica, proporcionando una mejor eliminación de elementos microbianos.

La comprobación de las variables microbiológicas a mitad del proceso de obtención puede ser monitorizada, es decir, al producto intermedio, lo cual ofrecería información de posibles errores o aspectos que pudieran controlarse durante el proceso, los cuales pudieran ser modificados, con el fin de obtener un producto con calidad; dicho control fue realizado para comprobar las características físico-químicas del producto obtenido por esta metodología de síntesis.

A partir de los resultados obtenidos de las propiedades determinadas, los autores concluyen que el producto mantiene estable sus características microbiológicas y tiene el grado de pureza necesario. Los valores logrados son comparables con los resultados reportados en la USP 38. Se enfatiza en lo importante de realizar estos ensayos microbiológicos obligatorios para certificar, se ha obtenido una materia prima con calidad farmacéutica, siendo esencial para los asuntos regulatorios y farmacopeicos, la investigación, el desarrollo de métodos y los servicios analíticos.⁽¹²⁾

Se puede inferir que el producto obtenido cumple con los estándares internacionales, resultando efectiva la metodología propuesta para la obtención del sulfato de magnesio heptahidratado. Se ha obtenido un producto con un alto grado de pureza, mostrado por los resultados alcanzados en los estudios realizados.


REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Castro Armas R, O'Farrill Mons E, Ricardo Díaz V. Información de medicamentos en Cuba: realidad y perspectivas de los sistemas automatizados. Rev Cubana Farm [revista en internet]. 2006, Dic [citado 3 de abril 2019]; 40(3). Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Ricardo_Castro_Armas/publication/262742687_Informacion_de_medicamentos_en_Cuba_realidad_y_perspectivas_de_los_sistemas_automatizados/links/542025920cf203f155c2abf2.pdf.
2. USP, C. 61. Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbial Enumeration Tests. United States Pharmacopeia [revista en internet]. 2015 [citado 3 de abril 2019]; 32: 71-75. Disponible en: <https://www.uspnf.com/official-text/proposal-statuscommentary/usp-38-nf-33>.
3. Alfonso Orta I, Cruz Barrios MA, Alonso Carbonell L, Delgado Martínez I, Alonso Galván P, Domínguez Caballero JL, et al. Formulario Nacional de Medicamentos. 4ta ed [en línea]. La Habana, Cuba: ECIMED; 2011 [citado 3 de abril 2019]. Disponible en: <http://www.bvscuba.sld.cu/libro/formulario-nacional-de-medicamentos-cuarta-edicion/>.
4. MINSAP. Resumen de las características del producto. Sulfato de magnesio 10% [en línea]. La Habana: CECMED; 2013 [citado 3 de abril 2019]. Disponible en: https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/rcp/1772-sulfato_de_magnesio.pdf.

5. Muñoz-Martínez C, Parra-Pineda MO. Sulfato de magnesio para neuroprotección fetal: revisión de la literatura. Rev. Colombiana de obstetricia y Ginecología [revista en internet]. 2014 [citado 3 de abril 2019]; 65(3). Disponible en: <https://revista.fecolsog.org/index.php/rcog/article/view/49/51>.
6. Codisa Dicaher S.L. Sulfato de Magnesio Heptahidratado. España: CODISA. Dicaher SL; S/f. Disponible en: http://www.codisa-dicaher.com/fichas_seguridad/fdeseguridad%20simple4.pdf.
7. Control técnico y representaciones, S.A. Sulfato de magnesio heptahidratado [en línea]. México: Control técnico y representaciones, S.A; 2018 [citado 3 de abril 2019]. Serie de Informe: 64320. Disponible en: <https://www.ctr.com.mx/pdfcert/MSDS%20SULFATO%20DE%20MAGNESIO%20HEPTAHIDRATADO.pdf>.
8. Jiménez Martínez CM. Propuesta Metodológica para la obtención de Sulfato de Magnesio Heptahidratado mediante el agua de mar. Rev. de Innovación Tecnológica CIGET Las tunas [revista en internet]. 2009 [citado 3 de abril 2019]; 15(4). Disponible en: <http://innovacion.ciget.lastunas.cu/index.php/innovacion/article/view/88>.
9. United States Pharmacopeia 38-National Formulary 33. Microbiological Examination of Nonsterile Products: Acceptance Criteria for Pharmaceutical Preparations and Substances for Pharmaceutical Use (Chapters 1111). Vol 1. 2015. Disponible en: <https://www.uspnf.com/official-text/proposal-statuscommentary/usp-38-nf-33>.
10. Díaz MA, Barrio MP, Darré ME, López M, Cofre M, Condor MS, et al. Análisis microbiológicos de los alimentos. Vol. 3 [en línea]. RENALOA: Ministerio de Salud; 2014. [citado 3 de abril 2019]. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_III.pdf.
11. Carl Roth GmbH + Co KG. Magnesium sulphate heptahydrate, USP, BP [en línea]. Alemania: Department Health, Safety and Environmen; 2015 [citado 3 de abril 2019]. Serie de Informe: T888. Disponible en: https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/T/SDB_T888_ES_ES.pdf.
12. The United States Pharmacopeial Convention. Farmacopea de los Estados Unidos. Maryland: The United States Pharmacopeial Convention; 2016. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.corpmontana.com/bitstream/handle/123456789/806/USP%2c%20Vol%201%20-%202.pdf?sequence=14&isAllowed=n>.


Declaración de autoría

Carlos Manuel Jiménez-Martínez

 <https://orcid.org/0000-0003-2740-6812>


Participó en la concepción y diseño, revisión bibliográfica, determinación de las propiedades microbiológicas y discusión de los resultados. Elaboró las versiones original y final del artículo.

Leobel Fajardo-Cedeño

 <https://orcid.org/0000-0002-4832-5088>


Participó en la concepción y diseño, revisión bibliográfica, determinación de las propiedades microbiológicas, discusión de los resultados y la revisión de las versiones original y final del artículo.

Liannys Liens-Valdés

 <https://orcid.org/0000-0003-1020-5547>

Realizó revisión bibliográfica. Participó en la discusión de los resultados y la revisión de las versiones original y final del artículo.

Dagmaris Pupo-Pupo

 <https://orcid.org/0000-0001-8847-4224>

Realizó revisión bibliográfica. Participó en la discusión de los resultados y la revisión de la versión final del artículo.

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Copyright Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta. Este artículo está bajo una [licencia de Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), los lectores pueden realizar copias y distribución de los contenidos por cualquier medio, siempre que se mantenga el reconocimiento de sus autores.