

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL
DE LAS AMÉRICAS
CARRERA DE LICENCIATURA EN FARMACIA**

**“ANÁLISIS DE EFICACIA DE UNA CREMA
FORMULADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE
ACEITE DE UVA (*VITIS VINIFERA*, *VITIS LABRUSCA*,
VITIS TILIIFOLIA) COMO UN AGENTE
ANTIBACTERIANO CONTRA *STAPHYLOCOCCUS
AUREUS*”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR
EL GRADO DE LICENCIATURA EN FARMACIA**

JULIANA FERNÁNDEZ PANIAGUA

Tutora:

Dra. Clemencia Cruz Dyachkov

Lector:

Dra. Gloria Ledezma Gutiérrez

San José, Costa Rica

CONTENIDO

CONTENIDO.....	6
Figuras	8
Tablas	9
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	10
Planteamiento del problema	10
Objetivo General.....	12
Objetivos Específicos.....	12
Justificación	12
Antecedentes.....	14
Internacionales	14
Nacionales.....	18
Proyecciones	19
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	20
Fitofármacos	20
Uva (Vitis Vinifera, Vitis Labrusca, Vitis tiliifolia).....	21
Taxonomía	21
Componentes.....	24
Beneficios para la salud	26
Infecciones.....	30
Staphylococcus aureus	31
Tratamiento	34
Aceites esenciales	36
Aceite de uva contra Staphylococcus aureus.....	36
Extracción del aceite de uva	37
Pruebas de identificación	42
HPLC	46
Prueba in vitro	46
La piel	49
Formulación de la forma farmacéutica de aplicación tópica.....	50
Descripción de la crema de referencia	52

Descripción aceite natural Cerverilla natural.....	53
Descripción del material vegetal utilizado.....	53
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	54
Enfoque.....	54
Diseño	54
La uva	55
Variables.....	55
Instrumentos	56
Equipo y reactivos.....	56
Proceso de recolección y análisis de datos	57
CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS	62
Selección del método para extraer aceite de las semillas y del epicarpio de la uva.	62
Maceración con etanol 96%	63
Identificar la obtención del aceite de uva mediante pruebas reactivas.....	66
Descripción de pruebas	67
Prueba de identificación de antocianinas	67
Prueba para identificación de taninos	67
Prueba de identificación de flavonoides	67
Prueba identificación de fenoles	68
Formulación de la crema.....	71
Comparar la efectividad antimicrobiana contra Staphylococcus aureus del aceite de uva y dos preparaciones comerciales.....	72
Sugerir la concentración efectiva de aceite de uva en la formulación de una crema antimicrobiana contra Staphylococcus aureus.....	75
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	77
Conclusiones.....	77
Recomendaciones	77
Recomendaciones para la investigación	77
Recomendaciones para futuras investigaciones.....	78
Recomendaciones para profesionales e instituciones de la salud	78
Referencias	79

Figuras

Figura 1. Señalización de las partes de la uva.....	24
Figura 2. Equipo de destilación simple	38
Figura 3. Equipo de destilación fraccionada	39
Figura 4. Equipo de destilación por arrastre de vapor.....	40
Figura 5. Tabla para medir sensibilidad antibiótica	48
Figura 6. Diferentes formulaciones tópicas y su uso más adecuado.....	50
Figura 7. Tratamientos tópicos según el tipo de lesión.....	51
Figura 8. Separación por filtración.....	64
Figura 9. Equipo de rotavapor utilizado en el primer extracto.....	64
Figura 10. Extracto dentro del rotavapor	65
Figura 11. Evaporación	65
Figura 12. Prueba positiva para antocianinas.....	68
Figura 13. Prueba positiva para taninos	69
Figura 14. Extracto antes de agregar HCl	69
Figura 15. Extracto luego de agregar HCl.....	70
Figura 16. Molécula resveratrol	70
Figura 17. Prueba positiva para fenoles	71
Figura 18. Recipiente que contiene la cepa de la bacteria	73
Figura 19. Fucidin® vs. Aceite de semilla de uva comercial.....	73
Figura 20. Prueba microbiológica del extracto	74
Figura 21. Pruebas microbiológicas de la crema al 1%, 2% y 3%	75

Tablas

Tabla 1. Taxonomía híbrido Isabella.....	21
Tabla 2. Taxonomía Híbrido Lasigral	22
Tabla 3. Diferencias entre uvas blancas y negras.....	23
Tabla 4. Componentes bioactivos de la uva	25
Tabla 5. Ventajas y desventajas de las destilaciones	40
Tabla 6. Definición de variables	55
Tabla 7. Lista de materiales.....	56
Tabla 8. Descripción de fases.....	57
Tabla 9. Procedimientos de extracción	58
Tabla 10. Ingredientes de la crema.....	59
Tabla 11. Material y procedimiento	60
Tabla 12. Métodos de extracción utilizados.....	62
Tabla 13. Porcentajes de extracción	66
Tabla 14. Resultados pruebas de identificación	67
Tabla 15. Concentración de las cremas realizadas	72

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Planteamiento del problema

La uva es una fruta que presenta muchas propiedades, las cuales promueven la salud de las personas. Nassiri-Asl y Hosseinzadeh (2009) mencionan las propiedades antimicrobianas, que se deben a los componentes de las semillas y el epicarpio de la fruta, las partes menos consumidas y destacan el aprovechamiento de sus propiedades, uno de los pilares de la presente investigación.

La mejor manera de aprovechar esas propiedades del epicarpio y las semillas de la uva es por medio de su aceite esencial, en donde se pueden encontrar la mayoría de los componentes activos, que incluyen: flavonoides, polifenoles, antocianinas y resveratrol, entre otros (Nassiri-Asl y Hosseinzadeh, 2009, p. 1). En la información relacionada al tema, no se registra un método óptimo para obtener el aceite; por lo tanto, proponer un método para su extracción ayudaría a enriquecer la teoría que existe sobre los beneficios del aceite y su aprovechamiento.

En la actualidad, la manera de aprovechar los beneficios de fuentes naturales como el aceite de uva se da a través de la formulación de los productos naturales. Un producto natural, como menciona De la O (s.f), “es un compuesto químico o sustancia producida por un organismo encontrado en la naturaleza que tiene generalmente una actividad farmacológica o biológica para su uso en el descubrimiento de fármacos farmacéuticos y drogas de diseño” (párr. 2)

Al usar productos naturales, se abre la puerta a la investigación de nuevas opciones de tratamientos para patologías conocidas, por ejemplo, las enfermedades infecciosas tratadas con antibióticos; estos, por su parte tienen su lugar en el arsenal de la medicina convencional y natural, que han proporcionado una gama de opciones. Sin embargo, como mencionan Navarro Solórzano, Olmo, Nieto, Dueñas, Gutiérrez, Romero y Rodríguez (2017):

El uso inadecuado de los tratamientos antibióticos, incluyendo las terapias incompletas, la omisión de dosis o la automedicación, pueden conducir al fallo terapéutico, a las recaídas y a las complicaciones posteriores... contribuye al surgimiento de resistencias bacterianas, mermando considerablemente las opciones de tratamientos efectivos (p. 1).

La disminución de esas opciones de tratamiento convencionales abre las puertas para incursionar en opciones naturales como tratamiento antibiótico.

De las implicaciones mencionadas, destaca la falta de adherencia al tratamiento antibiótico, el cual se debe principalmente a las reacciones adversas o interacciones que presentan los antibióticos. Esto ha generado otro de los problemas citados y que puede considerarse el más preocupante, la resistencia bacteriana. En GreenFacts (2014) “se menciona que como consecuencia, hay casos en que no es posible tratar adecuadamente a los pacientes infectados con ninguno de los antibióticos disponibles. Esta resistencia podría ralentizar y dificultar el tratamiento, pudiendo causar complicaciones” (párr. 3), lo que provoca que una nueva infección ya no sea tratable con el mismo antibiótico o que la infección provoque mayor impacto en el paciente y este a su vez deba usar nuevamente antibióticos inclusive más potentes.

Incluido dentro de las bacterias que reportan más resistencia a antibióticos se encuentra *Staphylococcus aureus*, que se encuentra comúnmente en el organismo y es causante de muchas enfermedades. El repositorio de información MedlinePlus (2017) afirma que esta bacteria “es la que causa más infecciones: Infecciones en la piel, neumonía, intoxicación por alimentos, síndrome del shock tóxico e intoxicación sanguínea” (párr. 1). Haciendo una referencia específica en cuanto a infecciones en la piel, esta bacteria es un agente causante de forúnculos, impétigo, celulitis e infecciones de heridas expuestas, que en muchos casos se complican si no se tratan de la manera adecuada.

Dada la importancia de la información mencionada, se infiere que la búsqueda de nuevos agentes activos para tratar las infecciones provocadas por el *Staphylococcus aureus* es pertinente según el estado actual de la terapia con antibióticos. Debido al alcance de productos naturales como la uva, cuyas propiedades indican un prometedor beneficio en este ámbito, la formulación de un producto natural aplicado de manera tópica es un promisorio tratamiento contra infecciones que afectan la piel. Por lo anterior, se plantea la siguiente interrogante: ¿Se puede obtener un efecto antimicrobiano del extracto del aceite de uva?

Hipótesis

El extracto de aceite de uva presenta actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus* a nivel tópico.

Objetivo General

Analizar la eficacia de una crema formulada a partir del extracto de aceite de uva como un agente antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*.

Objetivos Específicos

- Seleccionar un método apropiado para extraer aceite de las semillas y del epicarpio de la uva.
- Identificar la obtención del aceite de uva mediante pruebas reactivas.
- Comparar la efectividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* del aceite de uva y dos preparaciones comerciales.
- Sugerir la concentración efectiva de aceite de uva en la formulación de una crema antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*.

Justificación

Esta investigación está enfocada en el estudio de un producto natural proveniente de la uva con actividad antimicrobiana, que pretende la formulación de una crema cuya efectividad contra *Staphylococcus aureus* sea probada a través de un ensayo *in vitro* de crecimiento bacteriano, dirigida con el fin de que los productos naturales se sigan representando como opciones prometedoras en el tratamiento de infecciones bacterianas.

La uva es una de las frutas que más se consumen, pero su valor en cuanto a los beneficios que provee al organismo no es tan conocido (Nassiri-Asl y Hosseinzadeh, 2009, p. 6). Por tanto, la importancia de la presente investigación es precisamente mostrar una propiedad que presenta esta fruta y que no todos conocen.

Urbi, Hossain, Rahman y Zayed (2014) mencionan que: “La uva contiene compuestos bioactivos importantes incluyendo flavonoides, polifenoles, antocianinas y derivados de estilbeno como resveratrol que tienen diferentes efectos terapéuticos como anti-oxidantes, anti-cancerígenos, antimicrobianos, antivirales, anti-envejecimiento, antiinflamatorios, antidiabéticos, cardioprotectores, hepatoprotectores y neuroprotectores” (p. 1). Este proyecto

enfocado en la propiedad antimicrobiana dejaría evidencia de que el aceite de uva es efectivo, lo que a su vez se podría utilizar como punto de referencia para investigaciones futuras.

Morales S. y Morales, M. (2009) afirman que: “En la actualidad se estima que alrededor del 80 % de la población utiliza medicina alternativa herbolaria (Fitoterapia) como tratamiento paralelo a la medicina tradicional y su uso ha estado siempre muy arraigado a la tradición” (p. 2). Sin embargo, en algunos casos no se conoce exactamente el resultado terapéutico o los efectos adversos que podrían generarse en el paciente, lo cual expresa la importancia de investigar productos naturales con potencial aplicación en la medicina.

La creación de fitofármacos abre las puertas para que los farmacéuticos, como expertos en medicamentos, tengan a disposición opciones no convencionales de tratamiento que –a su vez– se han probado según sus efectos, con la ventaja de que generalmente los productos naturales son aceptados por los pacientes.

La terapia de enfermedades como celulitis, forúnculos, abscesos cutáneos, así como infecciones de heridas expuestas, provocadas por bacterias –específicamente *Staphylococcus aureus*– se ha visto afectada por los problemas mencionados. Aunque hay disponibilidad de antibióticos convencionales y productos naturales, la búsqueda de alternativas más efectivas sigue vigente.

Bustos, Hamdan y Gutiérrez mencionan (2006) que “*Staphylococcus aureus* es un microorganismo que posee características particulares de virulencia y resistencia a los antibióticos. En los humanos causa una amplia variedad de enfermedades infecciosas. El principal impacto de este microorganismo se debe a las cepas resistentes” (p. 2). Las opciones de tratamiento a este tipo de bacteria se van agotando en cuanto la resistencia va aumentando.

Todo lo anterior justificaría la necesidad de aprovechar los recursos que no han sido tan utilizados como nuevas opciones de tratamiento antimicrobiano, haciendo referencia al aceite esencial de uva. El efecto sería tangible mediante pruebas de detección *in vitro* y su comparación contra otras formulaciones existentes que hayan demostrado el uso o la efectividad en el tratamiento de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*.

La utilidad metodológica del presente proyecto es generar información principalmente a nivel nacional que propicie el desarrollo de proyectos relacionados, así como evidenciar opciones terapéuticas que existen en el ámbito de los productos naturales como perspectiva aparte de la medicina convencional.

En cuanto a la viabilidad de la investigación, se presentan desafíos como la obtención del material vegetal, la selección del método adecuado para extraer el aceite esencial y la comprobación de su efectividad comparada con productos que se utilizan o han demostrado actividad antimicrobiana.

Antecedentes

Para obtener la información necesaria como antecedentes se revisaron bases de datos como la BINASSS, se visitaron las universidades nacionales como la Universidad Iberoamericana y la Universidad de Costa Rica, y se consultó en la biblioteca virtual de la Universidad de Ciencias Médicas. Se obtuvieron alrededor de 60 artículos relacionados; de los cuales, alrededor de 13 se consideraron importantes para fundamentar la realización de la investigación.

Internacionales

En el 2009, Nassiri-Asl y Hosseinzadeh de Irán publicaron en Wiley InterScience un artículo titulado “Review of the Pharmacological Effects of *Vitis vinífera* (Grape) and its Bioactive Compounds (Revisión de los efectos farmacológicos de la *Vitis vinífera* (Uva) y sus componentes bioactivos)”. El objetivo de esta revisión fue intentar dar una breve reseña de los estudios farmacológicos, toxicológicos y clínicos de la uva y sus componentes activos, así como los efectos farmacológicos y los componentes importantes de la uva. Se recopiló información de varios estudios realizados para obtener la información de la revisión. Dentro de los resultados se encontró que el ácido hidroxicinámico y los flavonoides son algunos de los componentes que le dan la propiedad antimicrobiana al aceite de uva, además de los muchos otros beneficios que se obtienen de ella. Este es uno de los antecedentes más importantes, porque fundamenta ese efecto antimicrobiano del extracto de la uva. Por eso en las conclusiones se resalta la necesidad de seguir estudiando la uva para tratamiento farmacológico.

Durante la búsqueda del tema del proyecto se encontró que el aceite de uva tiene propiedades cicatrizantes y a pesar de ser una característica clínica que no es posible probar tan fácilmente, puede resultar fundamental para describir los componentes de los que se obtienen los elementos positivos de la fruta, que son muy parecidos a los agentes antimicrobianos. En el 2011 en Canadá se publicó en Wiley Online Library un artículo llamado “Wound – Healing

properties of the Oils of *Vitis vinífera* and *Vaccinium macrocarpon* (Propiedades cicatrizantes del aceite de *Vitis vinífera* and *Vaccinium macrocarpon*)”, el cual resalta las propiedades cicatrizantes de dos especies, una de uva y otra de arándanos, y además menciona el efecto antimicrobiano de las semillas de uva. Se investigaron las propiedades farmacológicas de los constituyentes fitoquímicos presentes en aceites de arándano y uva, los cuales han sido evaluados para su actividad de cicatrización de heridas por medio del uso de un modelo de herida de escisión en ratas. El aceite de semillas de uva y de arándano se obtuvo comprimiendo semillas de uva con una prensa de extrusión de tornillo. En los resultados para apoyar la eficacia del aceite de uva y arándano, el análisis microbiano reveló que los aceites concentrados de ambas frutas exhibían algunos efectos antibacterianos. En las conclusiones se menciona que la actividad cicatrizante de la uva podría deberse a una combinación de actividades: antimicrobiana, antiinflamatoria y antioxidante.

El resveratrol es uno de los componentes de la uva de donde se pueden obtener propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, entre otras, lo que es importante para el proyecto en curso, porque ayuda a conocer más sobre los componentes de la uva. En el artículo “Resveratrol: distribución, propiedades y perspectivas”, publicado por Gambini, López-Grueso, Olaso-González, Inglés, Abdelazid, El Alami, Bonet-Costa, Borrás y Viña en el año 2012 en España en la Revista Española Geriatria y Gerontología, el objetivo principal era resaltar las propiedades *in vivo* e *in vitro* del resveratrol mediante estudios realizados. Entre los objetivos específicos se encuentran describir la biodisponibilidad del componente y conocer su distribución en la naturaleza. Se realizó una revisión de varios artículos para obtener los resultados, dentro de los cuales están las propiedades *in vivo* como el efecto antiinflamatorio o *in vitro*, que tienen efectos antialérgicos. Estas propiedades resultan relevantes en el proyecto, porque –al ser una formulación a nivel de piel– esas características son fundamentales. Las conclusiones mencionan que, según la bibliografía revisada en el artículo, el resveratrol puede ser considerado el “elixir de la vida” y presenta aspectos importantes a nivel de longevidad, como el efecto antioxidante que se obtiene.

En el 2015 en Estados Unidos Informa Healthcare publicó un artículo de Viljoen, Cowley, du Preez, Gerber y du Plessis titulado “Penetration enhancing effects of selected natural oils utilized in topical dosage forms (Efectos potenciadores del aceite natural utilizados para dosis de administración tópica)”, acerca de los efectos potenciadores de los aceites naturales

para penetrar la piel y así utilizarlos en formulaciones tópicas. El objetivo principal era investigar las posibles propiedades de mejora de la penetración de aceites seleccionados, usando flurbiprofeno como compuesto marcador en formulaciones de emulgel y comentar los componentes que ayudan a tener ese efecto de mayor penetración. El estudio se realizó mediante un análisis de cromatografía de gases a temperatura ambiente. Los resultados arrojaron cuáles fueron los componentes con mejor penetración, como el ácido oleico. A grandes rasgos, la conclusión del artículo fue que los aceites naturales poseen efectos de mejora de penetración. Formular una crema es parte de lo que se quiere desarrollar en el presente proyecto y el artículo habla sobre cómo aprovechar esas propiedades de penetración de nivel tópico y los beneficios que se pueden obtener.

Pérez, Ruiz del Castillo, Gil, Blanch y Flores son los autores de un artículo llamado “Supercritical fluid extract chemical composition, antioxidant activity and inhibition of nitrite production in LPS – simulated Raw 264.7 cells (La extracción de aceite de uva por medio de fluidos supercríticos para aprovechar la actividad antioxidante de las semillas de la fruta)”, publicado en el 2015 por la ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY con el objetivo de investigar el uso de la extracción de fluidos supercríticos para obtener un extracto rico en compuestos bioactivos, así como también la composición de los ácidos grasos del aceite de uva y describir el procedimiento de extracción por el cual se obtuvo el aceite. La actividad antioxidante se determinó mediante ensayos de ABTS y DPPH. Para la actividad antiinflamatoria se evaluó la inhibición de la producción de nitrito. En los resultados se confirmó que el aceite de semilla de uva extraído era rico en compuestos fenólicos y ácidos grasos con importantes actividades antioxidantes y antiinflamatorias. En la conclusión se menciona que dicho método de extracción se propone utilizando técnicas ambientales amigables. Este antecedente es de importancia para conocer algunos de los posibles métodos de extracción para el aceite de uva.

Los taninos son parte de los componentes que tienen la semilla y la piel de la uva, la cual brinda beneficios a la salud. Al respecto debe mencionarse el manuscrito publicado en el 2015 en la página FOOD CHEMISTRY en Francia, elaborado por Figueroa-Espinoza, Zafimahova, Alvarado, Dubreucq, Poncet-Legrand, llamado “Grape seed and Apple tannins: emulsifying and antioxidant properties (Taninos de uva y manzana: propiedades emulsionantes y antioxidantes)”, en el cual comentan las propiedades de los taninos, propiamente de las semillas de las frutas descritas. Estos autores propusieron como objetivo general el uso de taninos como

emulsionantes antioxidantes, además de identificar y optimizar los parámetros principales que influyen en la estabilidad de las emulsiones. Las emulsiones de aceite en agua estabilizadas con taninos se compararon con las estabilizadas con dos agentes emulsionantes comerciales. Las mediciones de conductividad se realizaron usando un conductímetro para determinar si las emulsiones eran directas o inversas. La capacidad antioxidante de las fracciones de tanino se midió utilizando el procedimiento de CAT (conjugado autooxidizable trieno). Los taninos se disolvieron en el tampón de fosfato adecuado a concentraciones comprendidas entre 0,1% y 1% (p / p), 24 horas antes de la preparación de la emulsión.

Asimismo, cabe señalar que las propiedades antioxidantes de los taninos proceden de sus grupos hidroxilo y más específicamente de sus restos de catecol. Los taninos de semilla de uva son galoylados y contienen más unidades de catecol que los de manzana, lo que puede explicar que también sean más antioxidantes. Estos son algunos de los resultados que arrojó el estudio. En una de las ideas de las conclusiones se demostró por primera vez que, dependiendo de su origen, concentración y grado de oxidación, los taninos presentan buena actividad antioxidante en las emulsiones de aceite en agua y por lo tanto, protegen el aceite contra los daños por oxígeno. Esta información es relevante a la hora de formular una crema, ya que muchas veces deben adicionarse agentes antioxidantes en las formas farmacéuticas para evitar efectos negativos en el organismo.

“Grape Seed Oil Compounds: Biological and Chemical Actions for Health (Compuestos del aceite de las semillas de uva: acciones biológicas y químicas sobre la salud)” es el nombre de un artículo publicado en el 2016 por Garavaglia, Markoski, Oliveira y Marcadenti en Brasil, artículo de Libertas Academica, cuyo objetivo principal fue revisar brevemente la composición y los aspectos nutricionales del aceite de semilla de uva, así como también hablar de las interacciones de sus compuestos (los de la uva) con las vías moleculares y celulares, y sus posibles efectos beneficiosos para la salud. Se realizó una revisión bibliográfica para obtener los datos de la investigación. Entre los resultados se encontraron efectos inhibitorios del aceite de uva contra *Staphylococcus aureus* y *E. Coli*, lo que ayuda a las pruebas *in vitro* que se quiere realizar en el presente proyecto. En las conclusiones del estudio se menciona que la uva presenta efectos antiinflamatorios y numerosos beneficios para la salud humana. La información que brinda este artículo es de suma importancia para tener un mayor fundamento a la hora de elaborar la crema para este proyecto.

Nacionales

Acosta y Céspedes (2004), en su tesis presentada en Costa Rica en la UNIBE, llamada “Actividad antibacteriana de los aceites esenciales derivados del tomillo y el orégano”, buscaron demostrar la presencia de carvacrol y timol en los aceites esenciales extraídos del orégano y el tomillo, para verificar su potencial inhibitorio hacia el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, así como determinar la concentración mínima inhibitoria hacia el crecimiento de la bacteria. Extrajeron los aceites por arrastre de vapor de agua y probaron la actividad antibacterial de ambos aceites frente a las tres cepas mediante la técnica de difusión de disco. Además, lograron encontrar que la concentración mínima inhibitoria del tomillo y el orégano contra *Staphylococcus aureus* resultó ser muy parecida a la de la amoxicilina. En las conclusiones del trabajo se resalta la importancia de explotar ese potencial antibacteriano de los aceites naturales. Este antecedente muestra un método de extracción que podría servir para obtener el aceite deseado. Asimismo, prueba que existen aceites a base de productos naturales que presentan efecto inhibitorio contra algunas bacterias.

En el 2005 Araya presentó, en Costa Rica en la UNIBE, la tesis llamada “Estudio comparativo del potencial químico y bacteriostático del aceite esencial de *Eucalyptus Cinerea* y *Eucalypto Globulus*”. Dentro de los objetivos estaba evaluar comparativamente *in vitro* el potencial de los aceites esenciales extraídos de las hojas de eucalipto, así como también analizar ese potencial de los aceites para inhibir el crecimiento de bacterias. Los aceites esenciales fueron obtenidos mediante dos métodos: destilación por arrastre de vapor y el prensado. Se utilizaron cultivos frescos de *Staphylococcus aureus* para las pruebas microbiológicas. Parte de los resultados determinó que no se halló un efecto bacteriostático, pero se pudo ver influenciado por el método de extracción utilizado. En las conclusiones se resaltan otras propiedades del aceite natural. Es de relevancia el tema porque, al repasar el trabajo, se puede identificar algún error durante el proceso que no permita hallar ese efecto inhibitorio.

En el 2007, Morera (UNIBE, Costa Rica) realizó una tesis llamada “Identificación preliminar de floroglucinoles como potenciales agentes bacteriostáticos y antifúngicos en hojas de *Eucalyptus Cinerea*”. El objetivo principal era evaluar comparativamente *in vitro* el potencial antimicrobiano de extractos derivados de las hojas de *Eucalyptus Cinerea* en derivados del floroglucinol. Además, se analizó de manera *in vitro* el potencial inhibitorio de los componentes

de la planta hacia el crecimiento de bacterias del tracto respiratorio, tales como *Staphylococcus aureus*, entre otras bacterias y hongos. Se preparó un extracto crudo hidroalcohólico derivado de las hojas recolectadas y se purificó con varios disolventes. Entre los resultados se observó que uno de los extractos con uno de los disolventes presentó actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*. En las conclusiones se resalta que se le puede dar otro uso a las hojas de eucalipto, aprovechando ese efecto terapéutico inhibitorio. Aunque este proyecto no trata acerca de los efectos de la uva, sirve como referencia para obtener información sobre agentes que ayudan contra el *Staphylococcus aureus*.

Proyecciones

Preparar un recurso que evidencie por escrito a nivel nacional el beneficio antibacteriano que presenta el aceite de uva. El resultado promisorio de la formulación de una crema que contenga el aceite esencial de la uva ensayado a través de pruebas “*in vitro*” contra *S. aureus* es una forma de potenciar el interés industrial y el uso de productos naturales como terapia antibacteriana

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

En el presente capítulo se desarrollará la base teórica para la realización de la investigación. Se describirán conceptos básicos fundamentales para comprender los pilares importantes dentro del estudio a realizar y también se hará una descripción de los procedimientos que se llevarán a cabo para obtener el aceite, formular la crema y comprobar su eficacia.

Fitofármacos

“La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a los fitofármacos, como: productos obtenidos por procesos tecnológicamente adecuados, empleando exclusivamente materias primas vegetales, con finalidad profiláctica, curativa, paliativa o para fines de diagnóstico” (Cea de Amaya, 2013, p. 2). De estos productos se conoce su eficacia y el riesgo de uso, así como en qué dosis se pueden utilizar, la calidad y qué tan reproducible es el proceso.

Se pueden describir como productos naturales que se procesan e investigan para obtener un beneficio sobre la salud humana, los cuales se pueden formular de muchas maneras para aprovechar esas propiedades positivas. En muchas ocasiones, las potenciales acciones activas de los productos naturales se obtienen de los aceites, por lo que se debe realizar un proceso de extracción, que no siempre es de la planta o la fruta como tal, sino de los tallos, las hojas, las cascara o las semillas. Con respecto a esto Avello y Cisternas (2010) confirman: “la fitoterapia utiliza matrices vegetales complejas. Estas matrices las constituyen plantas enteras, partes de ellas (hojas, raíces, etc), y también productos de éstas...” (p. 2)

En cuanto a la prevención de ciertas enfermedades, los fitofármacos reducen el riesgo de padecer: diabetes, hipertensión, arterosclerosis, etc. Enfermedades que son la principal causa de muerte en los países industrializados. Los fitofármacos pueden comercializarse en diferentes formas farmacéuticas, como: tabletas, cápsulas, grageas, ungüentos, polvos, talcos, elixires y otros. (Cea de Amaya, 2013, p. 3)

Con respecto a los tipos de fitofármacos, Salazar (2014) refiere: Si un fitofármaco contiene, como principio activo, un solo extracto vegetal se conoce como monopreparado. Si contiene dos o más extractos con principios activos se conocen como preparado de combinación. (p.3)

Otro concepto que es importante mencionar es el del fitocomplejo el cual, Salazar (2014) lo define como: El fitocomplejo es la mezcla de sustancias activas y otras acompañantes que actúan en conjunto para lograr un mismo fin terapéutico, que no sería el mismo si se administraran por separado, o sea como monosustancias. (p.22)

Los fitofármacos son cada vez más aceptados en la población como opción de tratamiento en algunas patologías, pues al ser naturales, los pacientes infieren que son más confiables. Avello y Cisternas (2010) se refieren al respecto:

Hoy día y desde hace aproximadamente dos décadas se ha observado un especial interés por el empleo de plantas medicinales en los países desarrollados del mundo occidental. Por ejemplo, en los últimos años, la prevención del cáncer y enfermedades cardiovasculares se ha asociado con la ingestión de frutas frescas, vegetales o infusiones ricas en antioxidantes naturales. (p. 2)

Para identificar fitofármacos es importante evidenciar que los productos naturales conocidos e inclusive consumidos brindan propiedades positivas para la salud que comúnmente no se conocen, un ejemplo de estos es la uva.

Uva (*Vitis Vinifera*, *Vitis Labrusca*, *Vitis tiliifolia*)

Taxonomía

Las siguientes tablas describen las características taxonómicas de la uva (Tablas 1 y 2)

Tabla 1. Taxonomía híbrido Isabella

Reino	Plantae
Clase	Magnoliophyta
División	Magnoliopsida
Orden	Vitales
Familia	<i>Vitaceae</i>
Genero	<i>Vitis</i>
Especie	<i>V. Vinifera x V. Labrusca</i>

Fuente: Viñedo Vitis Vidor

Tabla 2. Taxonomía Híbrido Lasigral

Reino	Plantae
Clase	Magnoliophyta
División	Magnoliopsida
Orden	Vitales
Familia	<i>Vitaceae</i>
Genero	<i>Vitis</i>
Especie	<i>V. Labrusca x V. Tiliifolia</i>

Fuente: Viñedo Vitis Vidor

La uva es conocida como el fruto de la vid (la vid forma parte de la familia *Vitaceae*). Es una fruta redondeada, por definición jugosa, que crece en forma de racimo.

El Grupo de investigación en Viticultura (s.f.) describe la planta de la siguiente manera:

El racimo está formado por un tallo principal llamado pedúnculo hasta la primera ramificación. La primera ramificación genera los denominados hombros o alas, éstas y el eje principal o raquis, se siguen ramificando varias veces, hasta llegar a las últimas ramificaciones denominadas pedicelos que se expansionan en el extremo constituyendo el receptáculo floral que porta la flor (p. 10).

Existe en varios tipos, como las uvas negras o moradas, de las que se obtiene el vino tinto o las uvas blancas o verdes de donde se obtiene el vino blanco. El sabor es característico del color y otras de sus propiedades. Por lo general, es una planta tipo arbusto que crece alrededor de un metro. “La uva es el nombre que recibe el fruto que crece formando racimos de la vid común... Pertenece al género *Vitis* de la familia de las Vitáceas... por lo general trepadores y que producen frutos en baya” (Fundación Eroski, 2017, párr. 1).

Las especies de uva no presentan muchas diferencias visuales, la diferencia más notoria es el color, en la tabla 3 se presentan las diferencias nutricionales con respecto al color de las uvas.

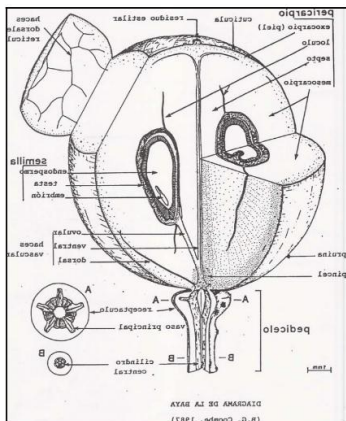
Tabla 3. Diferencias entre uvas blancas y negras.

Diferencias entre uvas blancas y negras	
Blancas	Negras
Es más rica en azúcar.	El color denota mayor cantidad de componentes activos.
Posee más cantidad de magnesio.	Es más rica en potasio.
Las demás vitaminas son prácticamente iguales.	Mayor cantidad de ácido fólico y vitaminas del grupo B.
Menos cantidad de antioxidantes	Mayor cantidad de antioxidantes

Fuente: Grupo de investigación en Viticultura (s.f.)

Existen otras partes de la planta de la uva que se pueden describir. La pulpa –conocida botánicamente como el mesocarpio– suele ser rica en agua, conformar la mayor parte de la fruta y es translúcida. Las pepitas –de nuevo un término botánico– son las semillas. Por lo general hay de 0-4 semillas y están recubiertas por una fina capa que les da protección. La piel de la semilla lleva por nombre epicarpio y es la parte más externa del fruto. (Grupo de investigación en Viticultura, s.f, p. 11). En la figura se pueden observar las partes de la uva. (Figura 1)

Figura 1. Señalización de las partes de la uva



Fuente: (Grupo de investigación en Viticultura, s.f, p. 11)

Sus flores son hermafroditas, lo que quiere decir que presentan ambos sexos de las plantas. Se sabe que la uva es originaria del suroeste de Asia y parte de Europa. Algunos de los requerimientos para su crecimiento son climas templados, ya que necesita el frío para un adecuado desarrollo. No obstante, este frío debe ser aplicado por cantidad de horas. (Grupo de investigación en Viticultura, s.f, p. 10)

La uva es una fruta rica nutricionalmente. Presenta una cantidad importante de glucosa, fructosa, sacarosa, ácido fórmico, ácido cítrico, así como también ácido tartárico y málico. A pesar de esto, su nivel calórico es bajo. Resulta una gran fuente de hierros y vitaminas como las del complejo B, C, K y minerales. Además, brinda cierta cantidad de carbohidratos y algunos antinutrientes, como el oxalato. Al respecto, la Fundación Eroski (2017) menciona:

Uvas blancas o negras. En ambas destacan dos tipos de nutrientes: los azúcares, principalmente glucosa y fructosa, más abundantes en las uvas blancas y las vitaminas (ácido fólico y vitamina B6), su aporte calórico es aproximadamente cuatro veces superior al de la uva fresca. El resto de nutrientes también se concentra, por lo que su contenido en fibra, vitaminas y minerales es notablemente superior (párr. 2 y 4).

Componentes

Los principales componentes encontrados en la piel y se semillas de uva se describen en la tabla 4

Tabla 4. Componentes bioactivos de la uva

Componentes bioactivos de la uva	
Componentes hidrófilos de la uva	
Componentes	Características
Compuestos fenólicos	Se encuentran en 60-70% mayormente en las semillas, la piel y las hojas. Los más comunes son catequinas, epicatequinas. Se encuentran mayormente La proantocianinas son los componentes fenólicos más abundantes.
Flavonoides	Son alrededor del 4% al 5% del total de componentes activos presentes en las semillas y piel.
Estilbenos	El resveratrol es un estilbeno que se encuentra bastante en las uvas. Se produce en defensa de la planta.
Antocianinas	Se han identificado un total de 29 antocianinas, presentan derivados de mono y di glucósidos. Son los responsables del pigmento de la uva.
Taninos	Son antioxidantes naturales. Se encuentran en gran cantidad en la piel y semillas.
Otros: componentes lipófilos como los acidos linoleico y oleico.	

Fuente: Garavaglia, Markoski, Oliviera y Marcadenti (2016, pp. 1-2)

Cuando los productos naturales son estudiados, se investigan los componentes que los conforman. Muchos de estos elementos son semejantes. Sin embargo, se pueden encontrar en mayor o menor proporción, según la fuente que se está analizando. Es bien conocido que los taninos son abundantes en las uvas, así como responsables de muchos de sus beneficios.

Asimismo, ha sido posible poner de manifiesto las potenciales propiedades curativas de las antocianinas, que se encuentran en diferentes concentraciones y son alrededor de 29

identificadas en total y de los polifenoles –hallados en la piel y las semillas con alrededor del 60% de los componentes bioactivos–, como resveratrol que está presente en el extracto de la uva (Nayak, Ramdath, Marshall, Isitor, Sue y Shi, 2011, p. 1). Estas sustancias bioactivas y otras más son las responsables del efecto positivo en la salud de las personas. El resveratrol, que se puede encontrar en las semillas y la cáscara de la uva, es uno de los componentes de los que más se ha estudiado sus beneficios.

El resveratrol es un polifenol natural presente en numerosas plantas y frutos como cacahuètes, moras, arándanos y, sobre todo, en la uva y el vino tinto... En las plantas actúa como fitoalexina. (Gambini, Grueso, González, Inglés, Abdelazid, El Alami, Costa, Borrás y Viña, 2012, p. 1).

Otro de los elementos que se encuentran en la uva son los flavonoides. Se encuentran más que todo en las semillas de la uva y pueden ser alrededor del 5% de los componentes activos de la fruta. También, la uva posee ciertos componentes lipófilos, como ácidos grasos, ácido linoleico y ácido oleico, entre otros en menor proporción.

Las plantas en ocasiones producen unos componentes llamados estilbenos, que se crean como mecanismo de defensa y aparecen en respuesta a una infección o lesión de las plantas. Los estilbenos poseen capacidad antifúngica y protección contra los hongos que podrían atacar a la planta; es decir, son un mecanismo de defensa que presenta la planta contra el ataque de hongos que puedan llegar a dañarla (Garavaglia, Markoski, Oliviera y Marcadenti, 2016, p. 2).

Beneficios para la salud

Gracias a todos esos componentes descritos, la uva posee muchos beneficios para la salud no solo con su consumo, sino también por medio de la extracción del aceite, el cual posee todas estas sustancias activas. Es importante describir todo lo que estas sustancias causan a nivel del organismo, así como mencionar cuál es el componente responsable del efecto beneficioso para la salud.

Los polifenoles presentes en las semillas de la uva son capaces de inhibir la liberación del ácido araquidónico, responsable de la liberación de leucotrienos y prostaglandinas, que a su vez activa la respuesta antiinflamatoria (Garavaglia, Markoski, Oliviera, Marcadenti, 2016). Muchas veces una herida a nivel de la piel viene acompañada de una respuesta inflamatoria y

todos los procesos inflamatorios inician de la misma manera, lo que vuelve el aceite de uva un potencial agente antiinflamatorio. (Garavaglia, Markoski, Oliviera, Marcadenti, 2016)

Para comentar el siguiente beneficio proveniente de la piel y semillas de uva se de hablar de antioxidantes, MedlinePlus (2017) los define como: “Los antioxidantes son sustancias naturales o fabricadas por el hombre que pueden prevenir o retrasar algunos tipos de daños a las células. Los antioxidantes se encuentran en muchos alimentos, incluyendo frutas y verduras.” (párr. 1). Son importantes para evitar el daño oxidativo de las especies reactivas del oxígeno.

El Oxígeno es esencial para la vida de esta molécula se obtienen otras más reactivas, Marquez (2012) refiere que estas son “conocidas como especies reactivas de oxígeno (EROs), como el superóxido (O_2^-), el hidroxilo (OH.) y el peróxido de hidrógeno, así como los oxiradicales (O_2 singulete y doblete). Debido a su función primordial de producción de energía química, la mitocondria es considerada la mayor productora de EROs.” (p.1)

Las especies reactivas del oxígeno son altamente dañinas para el organismo, aunque este tiene mecanismos para que dichas especies no generen tanto daño. En algunas ocasiones, se generan situaciones de estrés para el cuerpo que pueden resultar bastante perjudiciales para el ser humano, ya que causan deterioros celulares a nivel estructural. Esta oxidación es la responsable de que en la piel se hagan las arrugas. Las semillas de uva son ricas en componentes antioxidantes, que son los que contrarrestan la oxidación. Al respecto, Garavaglia, Markoski, Oliviera y Marcadenti (2016) afirman que

La propiedad bioactiva que más se puede resaltar de los compuestos fenólicos es su capacidad antioxidante. Esta propiedad ha sido ampliamente estudiada en extractos de semilla de uva cuyos compuestos son capaces de eliminar las especies reactivas del oxígeno (ROS) e inhibir la oxidación de lípidos (p. 3).

Esa alta capacidad antioxidante está relacionado con el alto contenido de ácido gálico y otros componentes como catequina, epicatequina y proantocianinas presentes en la semillas y aceite de uva, esa capacidad antioxidante puede ser el resultado de un sinergismo de todos estos compuestos fenólicos. Subyacente a la propiedad antioxidante se asocia con la eliminación de radicales libres y la quelación de metales. (Garavaglia, Markoski, Oliviera y Marcadenti, 2016)

El radical hidroxilo es el principal causante de la oxidación en el organismo, el cual identifica estas especies mediante varios tipos de señalización interna. Se ha comprobado que

la extracción del aceite de la semilla de uva puede proteger la membrana de ese daño oxidativo; esto podría servir como un mecanismo de complementación, además de los que utiliza el cuerpo, por lo que consumir las uvas con todo y semillas resultaría muy beneficioso para la salud.

Además de los beneficios ya mencionados el aceite de uva ser otro de los bienes que reportan están los efectos sobre el metabolismo de lípidos y lipoproteínas podrían reducir eficazmente el riesgo de aterosclerosis y así ayudar a los pacientes con las complicaciones causadas por el metabolismo anormal de lípidos (Urbi, Hossain, Rahman y Zayed, 2014). Los taninos son considerados los agentes responsables de este efecto tan provechoso. La manera en la que se disminuiría el riesgo de arterosclerosis sería gracias a que se reduce la absorción de colesterol, logrando niveles más bajos de colesterol total.

Para continuar con las propiedades de la uva, el extracto etanólico de las hojas de uva demostró con éxito el efecto hepatoprotector contra el daño hepático inducido por el tetracloruro de carbono (Urbi, Hossain, Rahman y Zayed, 2014), lo cual resulta de suma relevancia, ya que el hígado es uno de los órganos más importantes, por ser el encargado de transformar la mayoría de los componentes para que cumplan su efecto en el organismo, lo cual realiza mediante varios mecanismos que se alteran cuando el órgano sufre lesiones hepáticas. Además, el extracto de las raíces de la uva también presenta un efecto hepatoprotector.

Dentro de los posibles mecanismos hepatoprotectores que sugieren Urbi, Hossain, Rahman y Zayed, (2014) se encuentran: inhibición de la actividad oxigenasa dependiente del citocromo P450, prevención de la peroxidación lipídica, así como la estabilización de la membrana del hepatocito. (p.7)

Por su parte, el extracto rico en proantocianidinas de la semilla de la uva mostró efectos cardioprotectores contra la lesión inducida por reperfusión en el corazón, así como ser eficaz para disminuir el daño isquémico en este órgano (Urbi, Hossain, Rahman y Zayed, 2014). El efecto cardioprotector también está relacionado con el efecto antioxidante de la fruta, gracias a los compuestos polifenólicos presentes en las semillas.

Otro de los beneficios que presenta la uva es el efecto antidiabético. El extracto no solo reduce el azúcar en sangre en ayunas, sino también los niveles de glucógeno en el hígado. Cabe destacar que todos estos estudios fueron realizados en ratas. Con respecto a este tema, Urbi, Hossain, Rahman y Zayed (2014) afirman que

Las hojas de uva contienen polifenoles, como el resveratrol de estilbeno, la catequina, el flavanol, la quercetina y antocianinas, que tiene potencial para reducir una glicemia alta en la diabetes tipo 2 mejorando la función de las células beta y protegiendo contra la pérdida de células beta. (p.4)

Con lo que se puede conocer de qué manera actúa el extracto para evitar el aumento de la glicemia, evidenciando el efecto antidiabético.

Igualmente, el consumo en gran cantidad de elementos de la uva puede reducir el riesgo de ciertas condiciones cancerosas, tales como cáncer de mama, de colon, de próstata y células de melanoma, además de cáncer de estómago (Urbi, Hossain, Sahúman y Zayed, 2014). De nuevo, estas propiedades se deben en parte al efecto antioxidante que presenta el aceite de uva, ya que este efecto hace que se detengan los signos celulares y mejore la apoptosis de las células cancerosas.

Otro hecho que vale la pena mencionar es que la administración del extracto de semilla de uva a ratas envejecidas mejoró el uso de la memoria y redujo la producción de ROS, lo cual puede estar relacionado con el aumento del estado antioxidante en el sistema nervioso central (Nassiri-Asl y Hosseinzadeh, 2009). Esta información reflejaría el efecto neuroprotector de la semilla de uva.

Por su parte, el extracto de proantocianidina de semilla de uva –que contiene 5.000 ppm de resveratrol– podría acelerar la contracción y cicatrización de las heridas. La aplicación del extracto tópico facilita la expresión del factor de crecimiento endotelial (Nassiri-Asl y Hosseinzadeh, 2009). Un efecto se puede observar más a nivel de piel y se probó en ratas. Por lo tanto, el consumo diario de esta fruta sería bastante provechoso para el buen estado de la salud.

Finalmente, la actividad antimicrobiana ha sido reportada en varios componentes de las uvas, incluyendo ácido gálico, ácidos hidroxicinámicos flavanoles, trans-resveratrol y taninos (Nassiri-Asl y Hosseinzadeh, 2009). Se ha comprobado que tiene actividad contra varias especies bacterianas y ocurre mediante un daño oxidativo de la membrana bacteriana, sin afectar las células del huésped. Urbi, Hossain, Rahman y Zayed (2014). Además, se reporta actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, así como también la sepa resistente de *Staphylococcus aureus* y *E. coli*. Para obtener este beneficio no basta con el simple consumo de

la fruta. Extraer el aceite de la semilla es primordial para lograr la mayoría de las actividades biológicas mencionadas. Igualmente, es importante resaltar que el extracto de las semillas y hojas mostró actividad antibiótica de amplio espectro frente a los microorganismos gram positivos y negativos.

Infecciones

La actividad antimicrobiana mencionada es primordial cuando una infección ataca el organismo. Por definición esta última es

Invasión y desarrollo de un microorganismo, generalmente parásito (bacteria, hongo), en los tejidos del hospedador aun sin darse manifestaciones clínicas importantes. Para que se desencadene la enfermedad infecciosa el organismo que infecta debe poder penetrar a través de los revestimientos cutáneos y mucosos, multiplicarse, y en algunos casos, elaborar sustancias tóxicas (Doctissimo.com, s.f., párr. 1).

Las bacterias son las principales causantes de infecciones. En la mayoría de las ocasiones se encuentran dentro del organismo sin producir ningún efecto dañino. Algunas incluso ayudan en procesos regulares, como la digestión de la comida, destruir células malas y dar vitaminas al organismo. Las infecciones se producen cuando estas bacterias producen unas sustancias químicas conocidas como toxinas, que dañan los tejidos y causan la enfermedad. Al respecto Raiteri (2011) dice:

Si bien algunas son responsables de causar enfermedades, la mayoría nos proveen muchos beneficios, ya que cuando están en perfecto equilibrio, las bacterias fermentan los residuos de nuestra dieta, transforman la energía, producen ácidos grasos, nos protegen de las bacterias que nos enferman incluso estimulando nuestras defensas o formando barreras, producen la vitamina B y K y colaboran evitando la pérdida de minerales en nuestro cuerpo (párr. 4).

Las bacterias causan una gran variedad de infecciones. Las infecciones de oído, estreptococo, infecciones del tracto urinario (ITU) y neumonía bacteriana son algunos ejemplos.

Pero hay muchas otras infecciones bacterianas graves y mortales. La enfermedad en sí es un efecto secundario, ya que solo se producen si algo altera o estresa la bacteria y produce que esta libere toxinas. Por lo general, las infecciones tienen síntomas muy característicos diferentes de las enfermedades virales. Los resfriados y gripes son producidos por virus. Un agravamiento de la infección puede ocurrir cuando se ignoran los síntomas que se pueden tener.

Estos patógenos también pueden causar enfermedades a nivel de piel. Al respecto Dhar (s.f) menciona: “Las infecciones bacterianas de la piel pueden ser complicadas o no complicadas. Las infecciones no complicadas suelen responder rápido a los antibióticos sistémicos y el cuidado local de las lesiones.”(párr. 1). Las infecciones complicadas a nivel de piel, cumple con ciertos rasgos: una lesión preexistente, se ven involucrados tejidos blandos. Además, en algunos casos no responde al tratamiento antibiótico convencional y requiere de un procedimiento quirúrgico. (Dhar, s.f. párr. 1)

Saavedra, Santos, González, Hernández y Navarro (s.f) refieren que las infecciones en la piel se puede producir por: “Factores que pueden favorecer las infecciones cutáneas son la humedad, el aumento de temperatura, diversas enfermedades o inmunosupresión” (p. 1). La población que se ve más afectada por estas infecciones, es la pediátrica. Debido a que es más fácil su diseminación, aunque la infecciones en la piel van en aumento en la población. (Saavedra, et.al, s.f, p. 2).

Dentro de los agentes más comunes causantes de infecciones a nivel de piel (Saavedra, et.al (s.f) comenta que: “Las bacterias más importantes como flora transitoria de la piel, y por lo tanto, implicadas en infecciones cutáneas, son *S. aureus* y *S. pyogenes*.” (p. 2). El *Staphylococcus aureus*, es el que tiene más relevancia en estas infecciones. Las infecciones por esta bacteria van en aumento, especialmente causadas por *Staphylococcus aureus* meticilina-resistente. (Saavedra, et.al, s.f, p. 3).

Generalmente, los antibióticos o antimicrobianos son los medicamentos encargados de contrarrestar o atacar las afecciones del organismo.

Staphylococcus aureus

“El *Staphylococcus aureus* es una bacteria anaerobia (no utiliza oxígeno en su metabolismo), grampositiva” (DATABiO, 2012, p. 1). Es una de las principales bacterias causantes de infecciones y se encuentra en la piel mayormente. Según Gupta (2014), “Los

estafilococos son el nombre común de las bacterias del género *Staphylococcus*... Existen más de 30 especies diferentes en este género de bacterias, que pueden provocar diferentes tipos de enfermedades. Pero la mayoría de las infecciones por estafilococo están provocadas por una especie denominada *Staphylococcus aureus*” (p. 1).

La mayoría de las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* son a nivel de piel. Algunas de las enfermedades son la foliculitis, los forúnculos, la celulitis y el impétigo. Estos padecimientos se pueden adquirir tocando áreas infectadas con una herida expuesta. Este tipo de infecciones tienen más posibilidades de adquirirse en lugares calurosos y húmedos, así como una sudoración excesiva puede aumentar el riesgo de infección. (Gupta, 2014, p. 1)

Gupta (2014) define un forúnculo –llamado divieso– “como un bulto hinchado, rojo y doloroso en la piel, generalmente provocado por un folículo piloso infectado. El bulto suele llenarse de pus, aumenta de tamaño y se vuelve más doloroso hasta que revienta” (pág. 3). Puede aparecer en diferentes partes del cuerpo como las axilas, el cuello, los glúteos, la cara o en la parte interna de los muslos, lugares donde la sudoración es mayor y el vello fino suele irritarse. (Gupta, 2014, p. 3)

Cuando los forúnculos se forman, se debe tener estrictas normas de higiene, ya que es altamente probable que aparezca otro si no se maneja el área infectada de la mejor manera. Incluso podría darse una fusión entre forúnculos y crear una protuberancia aún más dolorosa. Cuando la persona tiene un divieso, no solo siente dolor, sino también picazón en la zona donde se encuentra, así como fiebre y fatiga. Es común que –conforme crece el bulto– se vuelva más doloroso. Los forúnculos tienen la apariencia de una gran espinilla. Sin embargo, es esencial no tratar de reventar el bulto como si lo fuera. Estos diviesos suelen sanar con el paso del tiempo con la ayuda del antibiótico y por lo general, necesitan una pequeña incisión para un mejor drenaje del líquido. La aplicación de un antibiótico tópico es importante para evitar esa propagación de la bacteria y ayudar a la maduración del divieso. (Gupta, 2014, p. 3)

El *Staphylococcus aureus* es el responsable de que se infecten muchas heridas a nivel de piel. La infección no suele ser inmediata, sino que aparece a los días y si empeora, puede presentar síntomas como fiebre y malestar general. En la zona afectada se puede observar pus o algún fluido turbio y la costra de la herida se vuelve amarillenta. La infección puede aparecer no solo después de que se hace una herida, sino también en la herida obtenida por algún procedimiento quirúrgico. (Gupta, 2014, p. 1-4)

El impétigo es una infección que ocurre de manera superficial sobre la piel y afecta principalmente a los niños. Según Gupta (2014): “La mayoría de las infecciones por impétigo afectan a la cara, las manos o los pies. Una infección de piel por impétigo empieza como una pequeña ampolla o granito y luego desarrolla una costra de color miel” (pág. 3). Por lo general, no presenta mayores síntomas, como dolor o fiebre. Si causa una sensación de prurito en las ampollas, el rascado puede provocar que se disemine por el resto del cuerpo. (Gupta, 2014, p. 3)

En cuanto a enfermedades a nivel de piel, se debe mencionarse es la celulitis. Gupta (2014) dice al respecto: “Empieza como un área reducida de piel enrojecida, dolorosa, hinchada y caliente” (pág. 3). Cuando la celulitis comienza a diseminarse, puede presentar otros síntomas, como malestar general o fiebre. También afecta el tejido debajo de la piel y la infección se puede dar en cualquier parte de cuerpo. Se sabe que es mucho más común en las piernas. (Gupta, 2014, p. 3)

El *Staphylococcus aureus* también suele ser el responsable del orzuelo, el cual Gupta (2014) define como “un bulto doloroso en el párpado. Se desarrolla cuando las glándulas conectadas a la base de las pestañas se inflaman e irritan” (p. 3). Comúnmente, se presenta en el borde del párpado, genera una sensación de molestia y suele hincharse y calentarse. (Gupta, 2014, p. 3)

Otras de las enfermedades que se puede producir por el *Staphylococcus aureus* es el Shock Tóxico (SST). Al respecto Harris (s.f.) afirma:

Muy a menudo las bacterias entran en el cuerpo a través de un tampón o un dispositivo anticonceptivo. No sólo afectan a las mujeres, sino también los hombres y los niños pueden desarrollar el SST a través de una lesión en la piel o durante una cirugía (párr. 2).

Algunos de los síntomas que puede presentar el SST son fiebre alta, confusión, una baja repentina en la presión arterial, vómitos y erupción cutánea. Es importante la atención médica inmediata, ya que esta condición podría causar la muerte.

Además de las enfermedades ya citadas, el *Staphylococcus aureus* también puede causar algunas intoxicaciones alimentarias. Según Harris (s.f.): “Muy a menudo, la contaminación de los alimentos proviene directamente del contacto con el alimento. Los alimentos más

comúnmente afectados son la mayonesa, los postres con crema y los productos horneados. La bacteria crece en el alimento” (párr. 3). Los síntomas por lo general no tardan mucho en manifestarse. Los vómitos, la diarrea, las náuseas, la falta de apetito y los calambres aparecen de 4 a 6 horas después de que el paciente se intoxicó. (Harris, s.f, párr. 3)

Existe una cepa de *Staphylococcus aureus* que se ha vuelto más difícil de eliminar con el tratamiento convencional. El *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) es un tipo de estafilococo que ha desarrollado una resistencia a los antibióticos que los médicos suelen utilizar para estafilococo. (Gupta, 2014, p. 2). Para tratar una infección de este tipo generalmente son necesarios tratamientos más fuertes. (Gupta, 2014, p. 2)

Tratamiento

Los antibióticos son sustancias que matan las bacterias. Sin embargo, no pueden prevenir o tratar infecciones causadas por virus o protozoarios. Algunos antibióticos son ampliamente eficaces contra la mayoría de las bacterias, pero no todos logran el objetivo en todos los diversos tipos de bacterias o contra los que presentan resistencia.

Con respecto a este tema, es importante hacer la diferencia entre un cuadro viral y una infección, ya que –al dar tratamiento para una infección en un cuadro viral– se puede crear un estado de resistencia en el paciente y provocar que, cuando se enfrente de verdad con un cuadro infeccioso, el tratamiento no sea lo suficientemente efectivo, lo que puede causar un agravamiento del paciente y al final, generar más daño que beneficio.

Dentro de los betalactámicos, presentan buena capacidad de inhibición contra el patógeno oxacilina, cloxacilina, amoxicilina + ácido clavulánico y piperacilina-tazobactam. De las cefalosporinas se podría utilizar cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima. Otras opciones antibióticas podrían ser la clindamicina y el cotrimoxazol, además de la fosfomicina y el linezolid. La rifampicina y la doxiciclina también podrían usarse para tratar la infección. (Mensa, Soriano, Llinares, Barberán, Montejo, Salavert, Álvarez, Maseda, Moreno, Pasquau, Gómez, Parra, Candel, Azanza, García, Marco, Soy, Grau, Arias, Fortún, aristides de Alarcón, Picazo, Sociedad Española de quimioterapia, Sociedad Española de medicina interna, Sociedad Española de Anestesiología y Reanimación, 2013, pp 1-4)

La vancomicina es una de las opciones de tratamiento más fuertes contra el SARM y en pacientes que presentan alergias a los betalactámicos. Dentro de la familia de los

aminoglucósidos, la gentamicina y la amikacina tienen una fuerte inhibición de *Staphylococcus aureus*. Podría administrarse una flouroquinolona como el levofloxacino o una combinación de ambos, como ciprofloxacino + gentamicina. (Mensa, et.al, 2013, pp 2-4)

Es necesario mencionar los tratamientos utilizados para tratar afecciones a nivel de piel. García, M y García, L (2014) refieren al respecto: “Algunos ejemplos son: eritromicina, clindamicina (para el acné); mupirocina, ácido fusídico (para infecciones cerca del orificio nasal, infecciones postdepilación o en pliegues del cuerpo; donde suele estar implicado el germen *Staphylococcus aureus*); neomicina con bacitracina (para heridas de superficies grandes de piel, quemaduras, picaduras), etc.” (párr. 4). Suelen utilizarse en forma de crema, el tiempo de uso debe controlarse para no provocar una alergia o resistencia. (García, M y García, L, 2014, párr. 4)

De todos los tratamientos utilizados en piel, se debe destacar el ácido fusídico. En la página de LEOPharma (s.f) lo describen: “es un antibiótico activo frente a *Staphylococcus aureus*, el principal causante de las infecciones de la piel y los tejidos blandos. La estructura única del ácido fusídico hace que sea química y estructuralmente diferente de otros antibióticos disponibles comercialmente.” (párr. 1). Este antibiótico, presenta una estructura que no permite la inactivación por enzimas bacterianas. Por ejemplo, las betalactamasas no pueden hidrolizarlo. (LEOPharma, s.f, párr. 3)

Que no sea pueda utilizar cualquier antibiótico para tratar la bacteria se debe a que muchas veces se usa inadecuadamente, en algunas ocasiones no existe ningún agente infeccioso de por medio y aun así recomiendan el antibiótico. Al respecto, Valenzuela (s.f) menciona: “Conocidos actualmente también con el término antibacteriales, se utilizan para tratar enfermedades causadas por bacterias y no virus. Pueden actuar de dos formas: matando a las bacterias o inhibiendo su crecimiento y proliferación”. (párr. 3).

Esa resistencia se genera porque el paciente no termina todo el tratamiento, ya que a la mitad de este se siente mejor y lo abandona. Con al respecto Valenzuela (s.f) menciona: “Debido a su mal uso, han ido apareciendo las llamadas súper bacterias, que son resistentes a los medicamentos actuales, por lo que su tratamiento se hace muy complicado” (párr. 11). Este es un factor que ayuda a la resistencia bacteriana.

Aceites esenciales

Una de las maneras de aprovechar los beneficios que un producto natural brinda es extrayendo el aceite esencial Martínez (2003) lo define como: “son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética, de alimentos y farmacéutica.” (p.1)

Los aceites esenciales pueden clasificarse de acuerdo a su origen como naturales, Martínez (2003) define los naturales como los que “se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores” (p. 2). Con respecto a los sintéticos como su nombre lo dice sus componentes son obtenidos por medio de procesos de síntesis química, y los naturales y los artificiales se obtienen por el enriquecimiento de alguno de los componentes presente en el aceite. (Martínez, 2003, p.2)

Los aceites esenciales son mezclas de diferentes componentes según Martínez (2003) estos compuestos pueden ser: “Compuestos alifáticos de bajo peso molecular, monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos. En su gran mayoría son de olor agradable, aunque existen algunos de olor relativamente desagradable” (p. 1). Estos aceites contienen más de 100 componentes activos que se pueden aprovechar para el beneficio de la salud.

Aceite de uva contra *Staphylococcus aureus*

Gambini, López, Olaso, Inglés, Abdelazid, El Alami, Bonet, Borrás y Viña (2012) afirman que “El resveratrol pertenece al llamado grupo de las fitoalexinas. Estas sustancias químicas se caracterizan por tener bajo peso molecular y ser capaces de inhibir el progreso de ciertas infecciones” (p. 6). El resveratrol fue mencionado como uno de los componentes que se encuentran en el extracto de la semilla de uva y presenta actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*.

De acuerdo con Urbi, Hossain, Rahman y Zayed (2014), los extractos del aceite de uva obtenido de la piel y las semillas de la fruta resultaron ser efectivos contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus subfava*, *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*, entre otros. Además, los extractos de semilla de uva también son capaces de inhibir eficazmente el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. (p. 8)

Según Urbi, Hossain, Rahman y Zayed (2014) la capacidad inhibitoria del aceite de uva, se debe a varios componentes entre ellos están: el ácido hidroxicinámico, flavonoides, trans resveratrol y taninos. En una análisis microbiológico con un extracto concentrado de aceite se muestra efecto antibacteriano, aunque el estudio realizado no se dio contra *Staphylococcus aureus* (Nayak, Ramdath, Marshall, Isitor, Sue y Shi, 2011, p. 4).

Con respecto al mecanismo de acción Garavaglia, Markoski, Oliviera y Marcadenti (2016) plantean que, el resveratrol induce un daño oxidativo en la membrana de la bacteria, sin afectar las células del huésped. Sugieren que el resveratrol podría usarse como antimicrobiano, en los casos en los que las terapias con antibióticos tradicionales no resultan efectivas. Todos esto realizado en pruebas *in vitro* (p. 4)

Extracción del aceite de uva

Existen diferentes maneras de extraer un aceite esencial. El éxito del método depende de muchos factores, como las propiedades del aceite a extraer, el tipo de disolvente que se necesita para la extracción y el material que se va a usar para realizar la extracción. Con respecto a esto Peredo, Palou, García y López (2009) refieren que: “Los metodos de obtención de los aceites determinan el uso de los mismos. El tipo de disolvente puede contaminarlos o limitar su uso, dependiendo de la toxicidad del disolvente y de las técnicas utilizadas para su eliminación” (p.2). Dejando en claro que se debe escoger el método con cautela para no dañar el aceite.

Una manera de realizar la extracción es por medio de una infusión. Se utiliza cuando los principios activos de una planta son solubles en agua. Acevedo (2007) menciona al respecto: “El proceso de obtención de una infusión se realiza por medio de la aplicación de un solvente caliente, sobre un tipo de hierba o producto orgánico que libera sustancias que poseen ciertas propiedades curativas” (párr. 1). Se trata de un procedimiento que se puede realizar muy rápidamente.

Otro de los métodos que se utilizan para obtener aceites esenciales es la destilación. Moreno (2012) comenta que: “Consiste en extraer las sustancias volátiles mediante vapor de agua” (párr. 2). La destilación se puede llevar a cabo de tres formas: destilación simple, fraccionada y por arrastre de vapor.

La destilación simple es definida por Vargas (s.f) como: “una operación utilizada con el fin de purificar y aislar líquidos orgánicos generalmente. Ésta aprovecha las volatilidades y

puntos de ebullición de los componentes líquidos a separar” (párr. 49). Consiste en separar de uno o varios componentes de una mezcla, este método se utiliza cuando las sustancias a separar tienen una diferencia de al menos 25°C en sus puntos de ebullición y el punto de ebullición de ambos debe ser inferior a 150°C . (Vargas, s.f, párr. 50)

El equipo utilizado en una destilación simple se muestra en la figura 2. Guerra, Mallén, Struck, Varela, Zitlalpopoca (2008) los describen de la siguiente manera: “Consta de un recipiente donde se almacena la mezcla a la que se le aplica calor, un condensador donde se enfrían los vapores generados, llevándolos de nuevo al estado líquido y un recipiente donde se almacena el líquido concentrado” (p.3). La primera parte del destilado es la que más componente de destilado contiene, a medida que la destilación continúa, el evaporado se va empobreciendo. (Guerra, Mallén, Struck, Varela, Zitlalpopoca, 2008, p.4)

Figura 2. Equipo de destilación simple

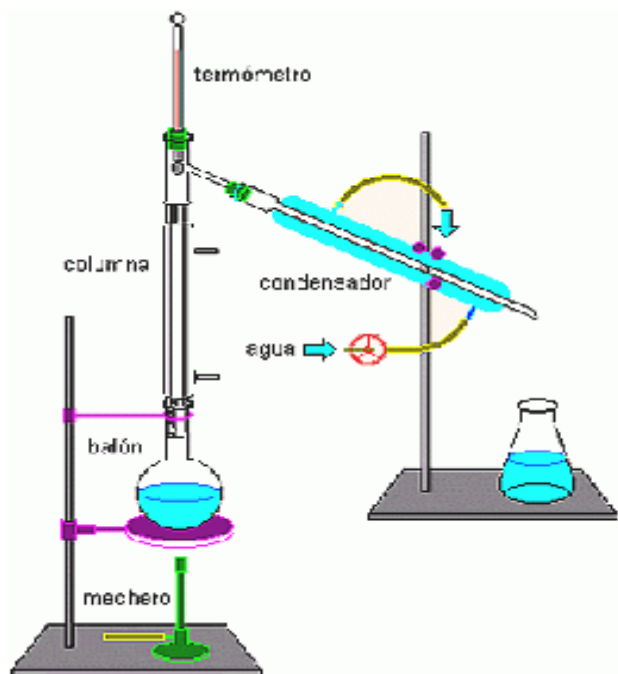


Fuente: (Guerra, Mallén, Struck, Varela, Zitlalpopoca, 2008, p.3)

Otro tipo de destilación que se utiliza para separar mezclas, es la destilación fraccionada. López (s.f) menciona que: “es un proceso físico utilizado para separar mezclas de líquidos mediante el calor, y con un amplio intercambio. Se emplea principalmente para separar compuestos de sustancias con puntos de ebullición distintos pero cercanos.” (párr. 21). La diferencia entre esta destilación y la destilación simple es que se usa una columna de fraccionamiento. Una destilación fraccionada se usa comúnmente cuando la mezcla de líquidos tiene una diferencia entre puntos de ebullición demasiado pequeña.

El usar una columna de fraccionamiento, permite un mayor intercambio de vapores López (s.f) explica que: “Ese intercambio produce un intercambio de masa, donde los líquidos con menor punto de ebullición se convierten en vapor, y los vapores de sustancias con mayor punto de ebullición pasan al estado líquido.” (párr. 22). El proceso de destilación fraccionada, es como realizar varias destilaciones simples de manera simultánea.

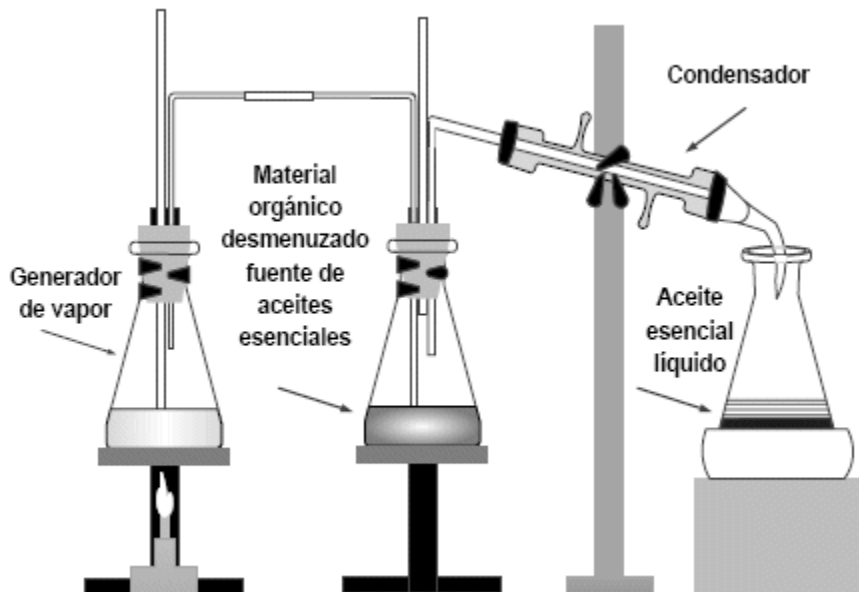
Figura 3. Equipo de destilación fraccionada



Fuente: Fernández (2012)

La destilación por arrastre de vapor es otro de los métodos de destilación que existen, con respecto a este tema, Solaegui (2012) acerca de las destilaciones menciona: “Por arrastre con vapor es una técnica usada para separar sustancias orgánicas insolubles en agua y ligeramente volátiles, de otras no volátiles que se encuentran en la mezcla, como resinas o sales inorgánicas, u otros compuestos orgánicos no arrastrables” (párr. 1). Con respecto al equipo utilizado en la destilación por arrastre de vapor se describe en la figura 4.

Figura 4. Equipo de destilación por arrastre de vapor



Fuente: Balboa (2016)

Como todos los métodos de destilación ya mencionados, la destilación por arrastre de vapor también de cumplir con ciertas condiciones Peredo, Palou, López (2009) describen: la condición más importante para que este tipo de destilación pueda ser aplicado es que tanto el componente volátil como una impureza sean solubles en agua, ya que el producto destilado formará dos fases al condensarse, lo cual permitirá la separación del producto.” (p.3).

La destilación por arrastre de vapor es el método más recomendable para obtener aceites esenciales Peredo, Palou, López (2009) mencionan: “Los aceites esenciales son los principales constituyentes del aroma y sabor de las especias. Estos son destilados por arrastre de vapor, en seco u obtenidos por presión en frío” (p.3). Confirmando que este tipo de destilación es el más conveniente para la investigación.

Los procesos de destilación en general presentan ventajas y desventajas, en la tabla 5 se pueden encontrar cual son estas características.

Tabla 5. Ventajas y desventajas de las destilaciones

Ventajas y desventajas de las destilaciones
--

<p>Destilación simple</p>	<p>Ventajas</p> <p>En muchos casos la separación de la muestra es rápida.</p> <p>Desventajas</p> <p>No es recomendable para algunas mezclas de componentes que no tengan puntos de ebullición muy cerca.</p> <p>Los destilados no son 100% puros.</p>
<p>Destilación fraccionada</p>	<p>Ventajas</p> <p>Se pueden separar sustancias con puntos de ebullición muy cercanos.</p> <p>Los destilados obtenidos son relativamente puros.</p> <p>Desventajas</p> <p>En algunos casos la energía para alcanzar la evaporación es muy alta.</p>
<p>Destilación por arrastre de vapor</p>	<p>Ventajas</p> <p>Se pueden obtener aceites esenciales.</p> <p>Se pueden separar mezclas muy complejas.</p> <p>Los destilados se obtienen puros.</p> <p>Desventajas</p> <p>Ciertas mezclas no se pueden calentar porque sufrirían descomposición.</p> <p>No se usa con sustancias altamente reactivas o corrosivas.</p>

Fuente: (Aramayo, Cordova, Estrada, 2011)

Otra extracción química que se puede hacer mediante el método de Soxhlet consiste en la extracción sólido-líquido. Haciendo referencia al tema Guarnizo y Martínez (s.f) comentan: “se usa a menudo a para extraer un producto natural a partir de su fuente natural, tal como una

planta. Se escoge el disolvente que selectivamente disuelva el compuesto deseado pero que deje los sólidos insolubles indeseables en la fuente natural” (p. 71). Lo que confirmaría que es un buen método para obtener un aceite esencial.

Además de los métodos mencionados, se puede usar la trampa de Dean Stark, la cual se utiliza para separar el agua de un componente, obteniendo el material puro. De este método Guarnizo y Martínez (s.f) refieren que: “El reflujo con trampa de Dean Stark permite la remoción de agua por decantación... El líquido se destila en la cámara principal de la trampa, que funciona como un embudo de separación” (p. 114) En la punta de la trampa se forman dos fases: la orgánica y el agua, que gracias a una llave se puede ir desechando.

La extracción del aceite de uva se puede hacer por medio de la maceración, Morales, Oranday y Verde (2016) lo definen como: “un método de extracción solido-liquido donde el material vegetal que se pretende extraer contiene compuestos solubles en el líquido de extracción” (p. 6)

Se debe obtener un porcentaje de extracción para saber cuánta cantidad de aceite se conseguirá cada vez que se realice el proceso. La extracción puede repetirse las veces que sean necesarias.

Pruebas de identificación

Las pruebas de identificación consisten en mezclar el aceite con diferentes reactivos para saber si dentro del líquido se obtuvieron los componentes deseados. Por lo general y lo ideal es realizar una prueba para cada componente que tiene el aceite y así tener la certeza de que va a ser lo más efectivo posible. Para realizar estas pruebas no se necesita demasiado material. Casi siempre unas gotas de la muestra y unas gotas o mililitros de los reactivos son suficientes.

Prueba de identificación para antocianinas

Como ya se ha descrito el resveratrol forma parte del grupo de las antocianinas, realizar esta prueba confirmaría la presencia del componente. Según, García (2013), la prueba se realiza de la siguiente manera: “Con unos mililitros del extracto y 5 ml de hidróxido de sodio. La solución se oscurece, demostrando presencia de antocianinas” (p. 4)

Prueba de identificación para taninos

Los taninos, ya descritos anteriormente, son los componentes activos más abundantes en la uva. Sobre cómo realizar **la prueba de K_2CrO_7 al 5%**, Toledo (2013) refiere: “Al extracto se le añade dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$). Si se observa un precipitado amarillo, indica que la prueba es positiva.” (p. 8). Que la prueba sea positiva ratificaría la obtención del aceite.

Existen varias maneras de identificar taninos Alfaro, Choque, Paredes, Uzátegui (2015) describen varias de estas pruebas, una de ellas es la **reacción con solución de $FeCl_3$** , sugieren realizar la prueba de la siguiente manera: "Colocar 1 ml a 2 ml de la solución de la muestra en un tubo de ensayo y agregar 1 gota de cloruro férrico 1 % en exceso al tubo". Se observara un precipitado que tendrá un color del verde a azul, el color varía según el tipo de tanino. (p.8)

La reacción con KCN al 5% es otra prueba que se puede realizar para identificar taninos Alfaro, Choque, Paredes, Uzátegui (2015) proponen realizar la prueba colocando de “1 ml a 2 ml de la solución de la muestra en un tubo de ensayo y agregar gotas de cianuro de potasio al 5% en exceso en el tubo.” Un cambio de color entre rojo a amarillo indicara que la prueba es positiva. (p.9)

Reacción con solución de acetato de plomo: El acetato de plomo también puede ayudar a identificar taninos, con respecto a esta prueba Alfaro, Choque, Paredes, Uzátegui (2015) formulan realizar la prueba de la siguiente manera: "colocar 1 ml a 2 ml de la solución de la muestra en un tubo de ensayo y agregar gotas de acetato de plomo en el tubo". Con la formación de un precipitado o la coloración pardo oscuro la prueba es positiva. (p.9)

Reacción con Hipoclorito de sodio: la prueba se realiza colocando de 1 a 2ml de la solución en un tubo de ensayo, dentro del tubo agregar gotas de hipoclorito de sodio. La solución cambia de color entre anaranjado y rojo. (Alfaro, Choque, Paredes, Uzátegui, 2015, p.9)

Prueba de identificación para flavonoides

Al igual que los otros componentes, los flavonoides y sus propiedades ya fueron descritos, son los responsables de muchas de las propiedades de la uva, por lo que lograr identificarlos es relevante para corroborar la obtención del extracto deseado. En una presentación, que lleva por título Flavonoides (s.f) comenta:

“Test de NaOH

Cerca de 5 ml del compuesto se disuelve en agua, se calienta y se filtra. NaOH acuoso al 10% se añade a 2 ml de esta solución. Esto produce una coloración amarilla. Un cambio de color de amarillo a incoloro en la adición de HCl diluido indica la presencia de flavonoides.” (p. 15)

Otra de las pruebas que se puede realizar para identificar flavonoides es **la prueba Shinoda o Cianidina**. Con el extracto disuelto en alcohol Palacios (s.f) sugiere que la prueba se haga de la siguiente manera: “se diluye con 1mL de HCl concentrado y un pedacito de cinta de Mg. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1mL de alcohol amílico, se mezclan fases y se deja reposar hasta que se separen.” (p. 2). El ensayo resulta positiva cuando el alcohol se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo intensos (Palacios, s.f, p.2)

Prueba de Fenoles

Prueba de cloruro Férrico: La molécula del resveratrol presenta Fenoles en su estructura. (Figura 9) Realizar una prueba para identificar esta grupo funcional, es de total relevancia. El grupo Quiorod, de la Universidad de Granda (s.f) sugieren que: “el Ensayo de $FeCl_3$, se realice exponiendo el extracto al reactivo. Los fenoles en la muestras se tornan de color verde, azul o violeta.” (p. 1)

Prueba de agua de bromo: Con 1ml de la solución se le agrega una solución saturada de bromo gota a gota y con agitación. La reacción es positiva cuando la coloración desaparece y aparece un precipitado. (Sandoval, s.f, pág. 3)

Espectroscopía y curva de calibración

Existen pruebas para identificar componentes de tipo cuantitativas, se puede realizar un estudio por espectroscopía para poder obtener mayores datos sobre los componentes de una molécula Fernández (2011) refiere que: “proporciona la mayor parte de la información sobre los niveles energéticos en átomos y moléculas. Esta información se obtiene mediante el estudio de la absorción y emisión de radiación electromagnética por parte de la materia.” (párr. 1). Esta radiación permite determinar la estructura de un compuesto.

El instrumento utilizado para medir esta radiación es un espectrómetro Montiel, Ballinas, Jiménez describen el instrumento como: “un instrumento de medición que analiza el tipo de

espectro que emite una fuente o que es absorbida por una sustancia que se encuentra en el camino de la luz que emite una fuente.” (párr. 1). Este instrumento se basa en la descomposición de la luz en las diferentes longitudes de onda para su funcionamiento, esto a partir del fenómeno de la refracción que sucede en un prisma o a partir del fenómeno de difracción de la luz que sucede en una red difracción.

Una manera de aprovechar este método para cuantificar componentes es mediante la realización de una curva de calibración, Padial en el 2016 la define como:

Es un método muy utilizado en química analítica para determinar la concentración de una sustancia (analito) en una muestra desconocida, sobre todo en disoluciones. El método se basa en la relación proporcional entre la concentración y una determinada señal analítica (propiedad). Conociendo esta relación, será posible conocer la concentración en una muestra dada mediante la medida de esa señal. La relación concentración – señal se suele representar en una gráfica a la que se le conoce como curva de calibración o curva de calibrado (párr. 1)

Para realizar la curva de calibración es necesario que se lleve a cabo en varios pasos Padial (2016) explica que la elaboración de una curva: “Se puede dividir en dos pasos: preparación de las disoluciones patrón y obtención de la función señal – concentración. Una vez obtenida la curva de calibración se podrá utilizar para conocer la concentración de analito en una muestra desconocida.” (párr. 3). La preparación de las disoluciones patrón poseen una cantidad de analito (sustancia a medir) conocida, estas concentraciones se encuentran dentro del rango válido de cuantificación para la sustancia a analizar.

La curva se construye midiendo la señal analítica en cada uno de los patrones, Padial (2016) menciona que es necesario que: “En el eje de ordenadas se asigna el valor de la señal medida y en el eje de abscisas la concentración del patrón. De esta forma podemos señalar puntos en la gráfica según las coordenadas (concentración (x), señal (y))” (párr. 6). Para acomodar los puntos obtenidos, se aplica una regresión lineal, lo que genera una recta que uno los puntos y su respectiva función. (Padial, 2016, párr. 7).

La concentración de la mezcla desconocida, se mide la señal analítica y la concentración se estima por una extrapolación con la curva de calibración.

HPLC

La cromatografía líquida es una técnica cuantitativa utilizada para identificar los componentes de una muestra Miranda y Martín (s.f) describen esta técnica:

Es utilizada para separar los componentes de una mezcla. Consiste en una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil. La fase estacionaria es sílica. La fase móvil actúa de portador de la muestra. La muestra en solución es inyectada en la fase móvil. Los componentes de la solución emigran de acuerdo a las interacciones no-covalentes de los compuestos con la columna. Estas interacciones químicas, determinan la separación de los contenidos en la muestra (párr. 1)

Esta técnica es usada para la separación de compuestos orgánicos semivolátiles, en el HPLC se puede utilizar una fase estacionaria constituida por partículas de tamaño pequeño (μm), esto hace que el método sea muy eficaz a la hora de identificar un componente, esta cromatografía es de los métodos más utilizados para detectar materiales biológicos o sintéticos.

Prueba *in vitro*

En las pruebas *in vitro* se someten los productos a condiciones parecidas a las cuales se enfrentaría en el organismo. Por lo general se realizan bajo condiciones controladas y fuera del organismo. De la Fuente (2015) confirma el concepto: “las **pruebas *in vitro*** son las que se llevan a cabo generalmente en un ambiente controlado (como un laboratorio) fuera del organismo vivo, sobre una muestra extraída del mismo.” (párr. 4). Aunque se expone el producto al patógeno en un ambiente diferente al lugar de acción, la piel en este caso, se realiza para conocer el poder inhibitorio que tendría.

Estas pruebas se hacen en cultivos previamente realizados en agares de *Staphylococcus aureus*. Estos cultivos deben mantenerse en ciertas condiciones de temperatura y humedad para evitar el crecimiento de las bacterias y generar una probable contaminación de ambiente de trabajo. Para una bacteria como *Staphylococcus aureus* se necesita un agar no selectivo, ni específico. Casado, Torrico y Medina (2012) confirman que: “El desarrollo adecuado de los

microorganismos en un medio de cultivo se ve afectado por una serie de factores de gran importancia y que, en algunos casos, son ajenos por completo al propio medio.” (p. 4)

Todo este procedimiento debe realizarse en un laboratorio microbiológico que cuente con la cepa cultivada, además de las condiciones necesarias para obtener los resultados óptimos. Es importante saber que no se puede hacer una sola prueba para obtener lo que se conoce como la concentración mínima inhibitoria (CMI). Esta es la manera en la que se mide la sensibilidad de una bacteria. Según Horna, Silva, Vicente, Tamariz. (2005) se define como:

Se define como la mínima concentración de antimicrobiano (en $\mu\text{g/mL}$) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37°C . La CMI se ha establecido como "*gold Standard*" frente a otros métodos que evalúan susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado. (p.3)

Con la concentración mínima inhibitoria (CMI) se logra averiguar cuál será la cantidad mínima necesaria de un antibiótico para conseguir un efecto terapéutico. Se puede medir mediante tres escalas: sensible, lo que significaría el éxito terapéutico; resistente, no existe probabilidad de éxito terapéutico o intermedia, en ciertas condiciones podría obtenerse un efecto terapéutico. (Horna, Silva, Vicente, Tamariz, 2005)

La actividad antibiótica de una sustancia se puede medir mediante varios métodos pero se escoge el método de la CMI porque es un método que se utiliza para identificar la sensibilidad bacteriana de un agente en específico. (Universidad Javeriana de Bogotá, Facultad de Medicina, s.f, párr. 5). La concentración mínima inhibitoria se logra obtener midiendo el halo de inhibición de la sustancia analizada, Mantilla, Pulido y Jaime (2010) explican que: “Luego del periodo de incubación se miden los halos con una regla de medición común. Los resultados se interpretaron como sensible, sensibilidad media o resistente de acuerdo con el diámetro del halo de inhibición tomado en mm”. (párr. 11). Como referencia se usa la tabla que se muestra en la figura.

Figura 5. Tabla para medir sensibilidad antibiótica

TABLA 1. Lectura e interpretación de las zonas de inhibición

Antimicrobiano	Resistente (Halo mm)	Sensibilidad media (Halo mm)	Sensible (Halo mm)
Amikacina	12	13-14	15
Amoxicilina	16	17-20	21
Ampicilina	12	13-15	16
Cefalexina	13	14-17	18
Ciprofloxacina	12	13-17	16
Cloramfenicol	12	13-16	17
Doxiciclina	10	11-15	16
Enrofloxacina	14	15-18	19
Estreptomicina	12	13-16	17
Florfenicol	12	13-17	18
Fosfomicina	15	16-20	21
Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato	13	14-16	17
Fosfomicina más fructosa 1,6 difosfato y Tilosina	16	17-20	21
Gentamicina	12	13-15	16
Kanamicina	15	16-20	21
Norfloxacina	14	15-16	17
Tetraciclina	14	15-17	18
Trimetoprim sulfa	18	19-22	23

Fuente: Normas CLSI-NCCLS, 2005.

Fuente: Mantilla, Pulido y Jaime (2010, p.11).

Por definición una prueba de sensibilidad es un antibiograma, Cantón (2010) este estudio “tiene como objetivo evaluar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o a varios antimicrobianos, y traducir, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica” (p.2). La lectura del antibiograma es un complemento para caracterizar los resultados de sensibilidad. (p.1)

Las pruebas de sensibilidad se realizan en un agar Mueller-Hinton que se tiene a una temperatura de 40°C y luego se vierte sobre las placas de Petri, luego de esto se coloca la sustancia a estudiar. La placa debe incubarse por no más de 24 horas y a una temperatura constante de 37°C. (Mantilla, Pulido y Jaime, 2010, párr.10 y 11). Se usa el agar Mueller-Hinton porque es un medio de cultivo no selectivo ni específico, lo que permite el crecimiento de cualquier patógeno. (MicroLabs)

La piel

No se puede hablar de una formulación para aplicación tópica sin antes hablar de la piel, se dice que es el órgano más grande del cuerpo. Dentro de sus funciones se encuentran brindar protección al organismo de factores como bacterias, sustancias químicas y temperatura. La piel contiene una sustancia llamada melanina pigmento que sirve para proteger la piel contra los rayos ultravioleta que pueden dañar las células de la piel. (MedlinePlus, 2017, párr. 1)

Existen dos tipos de piel, la piel fina o blanda Tapia (s.f) menciona que: “es aquella que se encuentra principalmente en los párpados y las zonas genitales.” (párr. 3), así como también se refiere a la piel gruesa como la piel que se localiza en labios, plantas y palmas. Es importante mencionar que la piel presenta pliegues, surcos, arrugas y poros cutáneos (Tapia, s.f, párr. 4 y 36)

La piel presenta tres capas importantes, la epidermis es la más superficial, el espesor de esta capa es delgado aunque pueden encontrarse zonas con diferente grosor, es la que ayuda a mantener el nivel adecuado de líquidos, gracias a su permeabilidad. La capa que sigue después de esta es la dermis Tapia (s.f) menciona que: “Está constituida por una red de colágeno y de fibras elásticas, capilares sanguíneos, nervios, lóbulos grasos y la base de los folículos pilosos y de las glándulas sudoríparas”. (párr. 14)

En la dermis se encuentran, las glándulas sudoríparas, las sebáceas los folículos pilosos y en la parte inferior de esta capa, se encuentran las células adiposas, también se encuentran las fibras nerviosas. La última capa de la piel es la hipodermis, es la capa adiposa del organismo. Con respecto a esta capa Tapia (s.f) refiere que: “Representa la reserva energética más importante del organismo gracias al almacenamiento y a la liberación de ácidos grasos, sus células grasas, los adipocitos, son células voluminosas.” (párr. 15)

Existen preparaciones farmacológicas que se aplican sobre la piel, con diferentes funciones, puede ser con la intención de proteger la piel o con el fin de introducir en el organismo una sustancia activa dentro de la preparación. (Lullmann, Mohr, Hein, 2010, p. 16). Dentro de las preparaciones dermatológicas para la protección de la piel se encuentran: los polvos, las pomadas lipófilas y grasas, las pastas, las cremas lipófilas, hidrogeles y las cremas hidrófilas. (Lullmann, Mohr, Hein, 2010, p. 16).

También existe las preparaciones dermatológicas portadoras de sustancias activas, es necesario que la formulación atraviese las capas de la piel para obtener un efecto de la sustancia activa, Lullmann, Mohr, Hein, (2010) mencionan que: “como la piel constituye una barrera lipófila cerrada, solo pueden absorberse sustancias activas lipófilas. Los principios activos hidrófilos no atraviesan la piel por sí mismos cuando están incorporados a una base lipófila” (p.16). También se menciona que los compuestos hidrófilos se usan cuando se requiere una alta concentración de sustancia en la superficie.

Formulación de la forma farmacéutica de aplicación tópica

Se pueden realizar varias formas farmacéuticas de aplicación tópica, que se puede usar como vehículo de una sustancia activa, en la siguiente figura se pueden observar las diferentes formulaciones que existen y cuál sería el uso más adecuado si se quiere usar como tratamiento.

Figura 6. Diferentes formulaciones tópicas y su uso más adecuado.

Tabla 1. Selección de formas farmacéuticas¹

Forma farmacéutica	Características	Tratamiento
Pasta	La pasta acuosa tiene acción superficial La pasta grasa se absorbe muy poco	Lesiones exudativas de tipo agudo o subagudo, idóneo para los pliegues
Polvos	No atraviesan la capa córnea Acción superficial	Secantes, refrescante y antiinflamatorio superficial en áreas intertriginosas
Gel	Absorción baja/media Deposita el fármaco superficialmente	Lesiones agudas, heridas exudativas Áreas pilosas y cara, pieles grasas
Crema	Absorción media, poca capacidad oclusiva Acción refrescante	Lesiones agudas, subagudas o húmedas Áreas de piel fina (axilas, cara, escroto), pieles normales
Pomada	Absorción alta, capacidad oclusiva media Acción emoliente y lubricante	Lesiones crónicas, secas o escamosas Áreas de piel gruesa (palmas, plantas) Pieles secas o hiperqueratósicas
Ungüento	Absorción muy alta, capacidad oclusiva importante y emoliente	Lesiones crónicas, dermatosis localizadas Áreas de piel gruesa (palmas, plantas), pieles hiperqueratósicas y liquenificadas Ideal para ablandar escamas y costras

Fuente: (López, Ortonobes, García, 2015, p.3).

Todas las formulaciones de la figura anterior presentan diferente grado de absorción, López, Ortonobes, García (2015) mencionan del grado de absorción que: a igualdad de principio activo, dosis y concentración, la potencia o grado de absorción disminuye en el siguiente orden: unguento > pomada > crema > gel > loción > polvo. (p. 4). El grado de absorción queda sujeto al estado de la piel, si el estrato córneo está ausente o dañado o si la lesión es seca o con exudado,

ya que todo lo anterior hace que aumente el grado de absorción. (López, Ortonobes, García, 2015, p.4).

El grado de inflamación de la piel también se debe tomar en cuenta a la hora de escoger una formulación tópica, López, Ortonobes, García (2015) mencionan que: “Los preparados acuosos no oclusivos (leche, cremas) son de elección para los procesos agudos que suelen cursar con lesiones húmedas, inflamación y vesiculación, pues ejercen una acción de secado de la piel y las heridas.” (p.4). En la siguiente figura se explica que tipo de formulación se debe usar según el tipo de herida cutánea que se presenta.

Figura 7. Tratamientos tópicos según el tipo de lesión.

Tabla 2. Indicación de la forma farmacéutica según el tipo de lesión cutánea¹

Estadio de la lesión	Tipo de la lesión	Características	Tratamiento de lesiones
Aguda	Lesiones húmedas Procesos eritematosos y exudativos Seborrea	Eritema Vesículas Ampollas Exudación	Con eritema agudo: polvos, emulsiones, cremas
			Si son muy edematosas: fomentos con compresas húmedas
			Vesiculosas, ampollas: soluciones, lociones, fomentos
Crónica	Lesiones secas Lesiones encostradas y fisuradas Psoriasis, eccemas	Xerosis Liquenificación Descamación Costras	Costrosas: fomentos para secar, pomadas para desprender
			Escamoso-costrosas: pomadas, pastas
			Queratóticas y liquenificadas: cremas W/O, pomadas y ungüentos

Fuente: (López, Ortonobes, García, 2015, p.4).

Según la información anterior lo ideal para este caso es elaborar una formulación en crema, para que la preparación no sea incómoda a nivel de la herida y para que el aceite –que es un agente viscoso– no sea incompatible con la formulación. El término crema se utiliza para describir formas farmacéuticas que contienen uno o más fármacos disueltos en una base adecuada. En este caso en particular, el fármaco pasaría a ser el aceite de uva.

La crema se encuentra dentro de la clasificación de semisólidos con una consistencia relativamente líquida. Contiene alrededor de 20% de agua y sustancias volátiles, y por lo general, menos de 50% de hidrocarburos, ceras o algún otro ingrediente que se use para transportar el principio activo. La crema generalmente está destinada a la aplicación a nivel de piel. USP 37 NF 32

Existen dos maneras de plantear una crema con una base lipófila o una base hidrófila López, Ortonobes, García (2015) definen una crema lipófila como: “emulsiones de agua

dispersa en grasa, llamadas cremas water in oil (W/O). Ideales para formular fármacos liposolubles.” Estas poseen un efecto oclusivo moderado, pero tan fuerte como el de las pomadas o los ungüentos. Con esa mayor proporción de grasa no se quitan con agua tan fácilmente (p.2). Las cremas hidrófilas son definidas por López, Ortonobes, García (2015) como: “emulsiones de grasa en agua o crema oil in water (O/W). Son las más adecuadas para formular fármacos hidrosolubles”. Estas son las más adecuadas con exudados cutáneos ya que al tener poco efecto oclusivo la grase se absorbe rápidamente. (p.2)

La mezcla de los ingredientes para la preparación de la crema se planteará en dos fases: una oleosa, es decir, una parte de la crema con carácter más aceitoso, lo que favorece la adición del aceite y la otra parte es un poco más acuosa, donde se encontraría el porcentaje de agua necesario para formular la crema. Es importante saber en qué momento mezclar ambas fases y además en cuál de ellas agregar cada ingrediente.

Descripción de la crema de referencia

La crema patrón que se utilizará para hacer la prueba *in vitro* es la Fucidin®, la cual está compuesta por ácido fusídico que posee efecto antibacteriano. Se usa para tratar infecciones cutáneas causadas en su mayoría por bacterias grampositivos. El *Staphylococcus aureus* y el SARM están entre los microorganismos más sensibles a esta crema. Dentro de sus indicaciones registradas se encuentran las afecciones en la piel como el impétigo, lesiones infectadas, foliculitis, forúnculos e hidradentitis, entre otras. (LEOPharma, s.f, p.1)

Fucidin® tiene un efecto bacteriostático y bactericida, dependiendo del tamaño de la cepa de bacterias. La crema presenta la ventaja de que penetra hasta el foco de infección, incluso en piel intacta y actúa inhibiendo la síntesis bacteriana. Las bacterias resistentes a las penicilinas y otros antibióticos suelen tener sensibilidad al ácido fusídico. (LEOPharma, s.f, p.1) La crema puede aplicarse 2-3 veces al día. Entre los efectos adversos están que podría presentar erupción a nivel de piel e irritación en las membranas mucosas, por vía oral se reportan náuseas, indigestión y dolor estomacal. Es importante mencionar que esta crema puede usarse durante la lactancia. (LEOPharma, s.f, p.1)

En cuanto a la farmacocinética del medicamento en el Vademecum de MK® explica en cuanto a la absorción: “penetra en la piel intacta hasta en 2% de la dosis aplicada. En la capa córnea dañada la concentración alcanza hasta 100-150 mcg/mL, cuando se encuentra intacta la

concentración alcanza 0,8 mcg/mL.” Después de 16 horas luego de su aplicación se remueve el 80% de ácido fusídico, con lo que se deduce que entre el 10 y el 20% penetra la piel. (párr. 10)

Cuando se habla de la distribución del medicamento alrededor de un 95% viaja unido a proteínas y es ampliamente distribuido en todo el organismo. Su metabolismo se da a nivel hepático con metabolitos con pobre actividad farmacológica. La excreción se da mayormente por vía biliar y su vida media sérica es de 5-6 horas. (Vademecum de MK®, s.f, párr. 11-13).

Dentro de las contraindicaciones se encuentran: la sensibilidad al medicamento, infecciones por gérmenes gramnegativos, tampoco debe emplearse en pacientes con gastroenteritis. La administración oral de manera prolongada puede causar hepatitis. Cuando se usa el ácido fusídico de manera tópica no experimenta ningún tipo de interacción con otros medicamentos, se ha reportado rabdomiólisis con el uso concomitante del ácido fusídico y simvastatina. (Vademecum Argentino, 2011, párr.7-11)

Descripción aceite natural Cervilla natural.

Como referencia comercial de un producto natural se usa el aceite de uva Cervilla natural, entre sus usos se encuentran el tratamiento de afecciones en la piel, en los anexos se agrega la hoja que se entrega con la compra del aceite. El producto no presenta registro y se desconoce el método de extracción por el cual se obtiene el aceite.

Descripción del material vegetal utilizado

La piel y las semillas de uva se obtuvieron del viñedo *Vitis Vidor*, ubicado en Villas de Ayarco. Las condiciones climáticas de Costa Rica no son las más óptimas para el cultivo de *Vitis Vinifera*, además de que existe una bacteria que impide el crecimiento de esta especie en el país. Por esto las especies que se cosechan en Costa Rica son híbridos, del material utilizado un 40% es del híbrido Isabella (*Vitis Labrusca x Vitis Vinifera*) y un 30% de híbrido entre *Vitis Labrusca x Vitis Tiliifolia* y el 30% restante es una combinación de las tres especies descritas anteriormente.

El material se obtiene de los residuos de la fabricación de vino, no existe una época del año específica en la que se coseche la uva, eso es criterio de cada viticultor, se prefiere el material vegetal de un viñedo para tener la misma fuente de material durante toda la investigación.

CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

En el capítulo se puntualizará la manera en la que desarrollará el presente trabajo, así como el enfoque y el diseño que se presenta. Se describirá el objeto de estudio, las variables y qué aspectos se investigarán de cada uno de ellos. Posteriormente, se hará referencia a los instrumentos que utilizados en cada paso del proceso. Se explicará la forma en que la que se recopilaron los datos fase por fase. Además, se detallará paso por paso los procedimientos realizados para obtener los resultados del proyecto.

Enfoque

El presente proyecto tiene un enfoque de tipo cuantitativo. Hernández, Fernández y Baptista (2014) lo definen como: “Un conjunto de procesos, es secuencial y probatorio. Cada etapa precede a la siguiente y no podemos “brincar” o eludir pasos, con ideas delimitadas se derivan objetivos y preguntas... De las preguntas se establecen las hipótesis y se establecen variables” (pp. 4-6). En las investigaciones de tipo cuantitativa la hipótesis se formula primero y luego se recolectan los datos que prueben esa hipótesis. La investigación debe hacerse lo más objetiva posible.

El proyecto en curso es de carácter cuantitativo, ya que se obtiene de artículos, revistas y páginas de carácter científico que del aceite esencial de uva se puede obtener un efecto antimicrobiano, especialmente contra *Staphylococcus aureus* y las maneras en las que se puede probar esa propiedad a nivel de laboratorio, tratando de dar una respuesta a la pregunta y la hipótesis planteada.

Diseño

El diseño de la investigación es de tipo experimental. Según Hernández, Fernández y Baptista (2014), un diseño es experimental cuando: “La general se refiere a “elegir o realizar una acción” y después observar las consecuencias... Es decir, los diseños experimentales se utilizan cuando el investigador pretende establecer el posible efecto de una causa que se manipula”. También comentan sobre las variables que son parte fundamental del estudio experimental y es importante delimitarlas.

El efecto antimicrobiano se comprobará por métodos realizados en el laboratorio. El aceite se extraerá químicamente en el laboratorio y el efecto se probará formulando una crema y exponiéndola frente a la bacteria en placas microbiológicas, para comprobar la eficacia de la

formulación y del aceite. Debido a estos procedimientos por llevar a cabo es que se considera la investigación en curso con un diseño experimental.

La uva

Las propiedades farmacológicas del aceite de uva, especialmente la propiedad antimicrobiana, fundamentalmente contra *Staphylococcus aureus* a nivel de infecciones en piel, serán el objeto de estudio de la investigación, así como también el método de extracción por el cual se tiene planeado obtener el aceite y el porcentaje de extracción que se espera conseguir. El proceso de extracción se llevará a cabo en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas. El efecto antimicrobiano se probará en placas microbiológicas en el Laboratorio Microlabs.

Variables

Tabla 6. Definición de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional e instrumental
<i>Staphylococcus aureus</i>	Una bacteria anaerobia facultativa, grampositiva (MedlinePlus)	Corroborar que la bacteria sea la cultivada en los agares del laboratorio. Medios de cultivo que contienen la bacteria.
Actividad antimicrobiana	Capacidad de inhibir microorganismos o impedir su crecimiento (Horna, Silva, Vicente, Tamariz, 2005)	Realizar análisis microbiológicos para comprobar la actividad antimicrobiana. Medir la concentración mínima inhibitoria
Aceite de uva	Aceite vegetal obtenido del fruto de la uva, de la planta conocida como vid.	Se extraerá mediante el método Soxhlet. Equipo requerido para extraer por Soxhlet.
Resveratrol	El resveratrol es un polifenol natural presente en numerosas plantas y frutos (Gambini et. al, 2012, p. 1)	Componente que se extraerá en el aceite de uva. Se identificará mediante pruebas de laboratorio. Tubos de ensayo para realizar la prueba.

Flavonoides	Los flavonoides son metabolitos secundarios polifenólicos comúnmente con un grupo cetona y normalmente pigmentos de coloración amarilla (Fundacion-canna.es, s.f., párr. 1)	Componente que se extraerá en el aceite de uva y se identificará mediante pruebas de laboratorio. Tubos de ensayo para realizar la prueba.
Taninos	Una sustancia química natural, que se encuentra mayoritariamente en la uva (Lavinoteca.info, s.f., párr. 1)	Componente que se extraerá en el aceite de uva y se identificará mediante pruebas de laboratorio. Tubos de ensayo para realizar la prueba.
Concentración mínima inhibitoria (CMI)	Esta es la manera en la que se mide la sensibilidad a una bacteria, del antibiótico (Horna, Silva, Vicente, Tamariz, 2005)	Para averiguar (CMI) se utilizarán varios medios de cultivo con la bacteria y la formulación a diferentes concentraciones. Medios de cultivo (placas de agar) cultivadas con la bacteria.

Fuente: Elaboración propia

Instrumentos

Los instrumentos que se utilizarán del Laboratorio Microlabs son las placas de agar cultivadas con las bacterias. Del laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas se usará la siguiente lista de materiales:

Tabla 7. Lista de materiales

Equipo y reactivos		
Equipo	Calentador	Equipo soxhlet
	Beaker	Equipo trampa de Dean-Stark
	Gotero	Equipo de destilación de arrastre por vapor
	Termómetro	

	Balanza granataria (± 0.001)	Viales de vidrio
	Tubos de ensayo	Equipo rotavapor
	Pastilla de agitación	Espátula
Reactivos	Ácido clorhídrico diluido (HCL)	Metilparabenos
	Tricloruro Férrico	Propilparabenos
	Dicromato de potasio	Aceite mineral liviano
	Alcohol cetílico	Trietanolamina
	Ácido esteárico	Agua destilada
	Glicerina	Hidróxido de sodio
	Etanol	Aceite de oliva

Fuente: Elaboración propia

Proceso de recolección y análisis de datos

En esta sección se describe el proceso a realizar en la investigación por medio de fases.

Tabla 8. Descripción de fases

Descripción de fases	
Fase 1	Recopilación de información en artículos sobre las propiedades del aceite de uva mediante el uso de bases de datos con información internacional y de bibliotecas de universidades nacionales como la Universidad de Costa Rica y la Universidad Iberoamericana.
Fase 2	Selección de información relevante y necesaria para el tema en estudio.
Fase 3	Recolección de la materia prima: semillas y piel de uva.
Fase 4	Identificación de métodos de extracción del material vegetal y de formulación de la crema.
Fase 5	Ejecución de procedimientos de extracción del aceite de uva. Descritos en la tabla. (Tabla 9)
Fase 6	Empleo de Pruebas de identificación. (metodología previamente descrita) Prueba de Fenoles: Prueba de cloruro Férrico. Prueba taninos: La prueba de K_2CrO_7 al 5%. Prueba antocianinas.

	Prueba flavonoides: Test NaOH.
Fase 7	Elaboración la formulación que incluye el aceite.
Fase 8	Aplicación de pruebas microbiológicas. Prueba de sensibilidad a antibióticos.

Fuente: Elaboración propia

Para los procesos experimentales cabe mencionar que todos se realizaron en las siguientes condiciones: el material vegetal triturado utilizado consistió en semillas y piel de uva previamente secadas en un horno de calor seco durante una hora a aproximadamente 100°C, el pesaje de los componentes de la formulación se realizó en recipientes adecuados a los reactivos (beaker o papel encerado según corresponda) previamente tarados en balanzas granatarias.

A continuación se describen los procedimientos seguidos para realizar los métodos de extracción, la formulación de la crema y las pruebas microbiológicas

Procedimientos para la extracción del aceite de uva

En la tabla 9 se describen los procedimientos empleados para elaborar la extracción del aceite de uva a partir del material vegetal ya descrito. Cabe destacar que el material seco fue pesado previo a su utilización.

Tabla 9. Procedimientos de extracción

Procedimientos	
Maceración en aceite vegetal de oliva	Se colocó aproximadamente 10g de material vegetal en un vial de vidrio ámbar de 20ml. El aceite vegetal se agregó a modo que cubriera la totalidad del material. La maceración se efectuó durante 10 días a temperatura ambiente, protegido de la luz.
Maceración en etanol 96%	Se colocó aproximadamente 10g de material vegetal en un vial de vidrio ámbar de 20ml. El etanol se agregó a modo que cubriera la totalidad del material. La maceración se efectuó durante 2 días a temperatura ambiente, protegido de la luz.

Extracción con Soxhlet	<p>En el cartucho del equipo soxhlet se agregó aproximadamente 80g de material vegetal.</p> <p>El funcionamiento del equipo fue a aproximadamente 70°C (ebullición) con etanol 96%.</p> <p>El tiempo de funcionamiento fue de 3 horas.</p>
Trampa Dean-Stark	<p>En el balón del equipo se agregó aproximadamente 100g de material vegetal.</p> <p>El solvente empleado fue agua, a una temperatura de aproximadamente 100°C (ebullición).</p> <p>El tiempo de funcionamiento fue de 4 horas con 30 minutos.</p>
Destilación por arrastre de vapor	<p>En el balón del equipo se agregó aproximadamente 100g de material vegetal.</p> <p>El solvente empleado fue agua, a una temperatura de aproximadamente 100°C (ebullición).</p> <p>El tiempo de funcionamiento fue de 4 horas con 30 minutos.</p>

Fuente: Elaboración propia

Para determinar el porcentaje de extracción obtenido, se utilizó la fórmula 1, que se muestra a continuación.

Fórmula 1. Cálculo del Porcentaje de extracción

$$PE: \frac{\text{extracto obtenido}}{\text{material pesado}} \times 100$$

Procedimiento para elaborar la crema

La crema que contiene el extracto obtenido, se formuló a partir del procedimiento para realizar una crema base de la USP37 NF32.

A continuación (Tabla 10) se mencionan los ingredientes que contiene la crema base, esta se compone de dos fases, una fase oleosa (fase I) y una fase acuosa (fase II).

Tabla 10. Ingredientes de la crema

Ingredientes para la crema 50g	
Ingredientes Fase I	Ingredientes Fase II

Alcohol cetílico 1g	Glicerina 5g
Acido esteárico 3.5g	Metilparabenos 0.075g
Propilparabeno 0.025 g	Trietanolamina 1g
Aceite mineral liviano 10g	Agua destilada csp.
Extracto 0.5g, 1g, 1,5g	

Fuente: Elaboración propia.

La cantidad de extracto que se agregó a la preparación se obtuvo dividiendo una cantidad del extracto entre el peso total de la crema (50g) por 100, hasta obtener los gramos que formarían las concentraciones del 1-3%

La formulación se llevó a cabo tres veces debido a que se prepararon tres concentraciones con el aceite de uva. En general el procedimiento de formulación es el siguiente:

Se pesaron los ingredientes de la fase I y fase II.

Fase I: se fundieron ácido esteárico y alcohol cetílico a 70°C. Se adicionó aceite mineral, propilparabeno y el aceite de uva, manteniendo la temperatura a 75°C durante 35 minutos.

Fase II: se calentó agua, glicerina y trietanolamina a 80°C, se disolvió metilparabeno manteniendo la temperatura en agitación durante 35 minutos.

Seguidamente se añadió la fase I a la fase II con agitación constante, mezclado durante 30 minutos. Se disminuyó la temperatura entre 40 °C y 45 °C y se trasvasó la crema antes de su enfriamiento.

Procedimiento para realizar las pruebas microbiológicas

Las pruebas microbiológicas de sensibilidad se efectuaron en el Laboratorio Microlabs según las disposiciones de procedimiento establecidas dentro de una cámara de flujo laminar, con los materiales provistos por el mismo. Los materiales y el procedimiento se mencionan a continuación.

Tabla 11. Material y procedimiento

Materiales	Procedimiento
Cámara de flujo laminar	Agregar el agar Mueller-Hinton a la placa de Petri a 40°C y esperar su endurecimiento.
Agar líquido Mueller-Hinton	
Placa de Petri	

Micro pipeta Aplicador punta de algodón Cepa <i>Staphylococcus aureus</i> Incubadora	Realizar los orificios para colocar el material a analizar. Se esparce la cepa en la placa con agar. Colocar las muestras en los orificios previamente generados. Incubar por 24 horas a 37°C.
---	---

Fuente: Elaboración propia

El cálculo de la concentración mínima inhibitoria se describe en el capítulo III, marco teórico.

CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En el siguiente capítulo se discutirán los resultados obtenidos durante el proceso de investigación. Se mencionará cuál es el mejor método para obtener el aceite de uva y por qué se eligió, comparación del extracto obtenido con dos formulaciones comerciales, que poseen actividad bilógica estudiada. Se dirá si el aceite de uva presenta efecto antibiótico o no. En caso de que la respuesta sea negativa, se explicarán las razones por las que pudo haber pasado.

La investigación se realizó en su mayoría en los laboratorios de la Universidad Internacional de las Américas, donde se llevaron a cabo los métodos de extracción del aceite y las pruebas de identificación pertinentes. Con respecto a las pruebas microbiológicas, fueron hechas en el Laboratorio Microlabs. Se adjuntan las facturas en los anexos como comprobante de que este estudio fue completado.

Selección del método para extraer aceite de las semillas y del epicarpio de la uva.

La tabla 12 muestra los resultados obtenidos tras la ejecución de los cinco métodos de extracción previamente descritos.

Tabla 12. Métodos de extracción utilizados

Métodos de extracción realizados	
Método	Resultados
Extracción por Soxhlet	El extracto inestable, en forma de grumos, a temperaturas de aproximadamente 8°C, temperatura ambiente y aproximadamente 70°C
Destilación por arrastre de vapor	Resultado de extracción negativo tras una destilación por 4h30min
Trampa de Dean-Stark	Resultado de extracción negativo tras un funcionamiento de 4h30min
Maceración con aceite vegetal de oliva	Pruebas reactivas resultaron negativas, tras la maceración a temperatura ambiente de hasta 10 días.

Maceración con etanol 96%	Pruebas reactivas resultaron positivas, tras la maceración a temperatura ambiente por 2 días
---------------------------	--

Fuente: Elaboración propia.

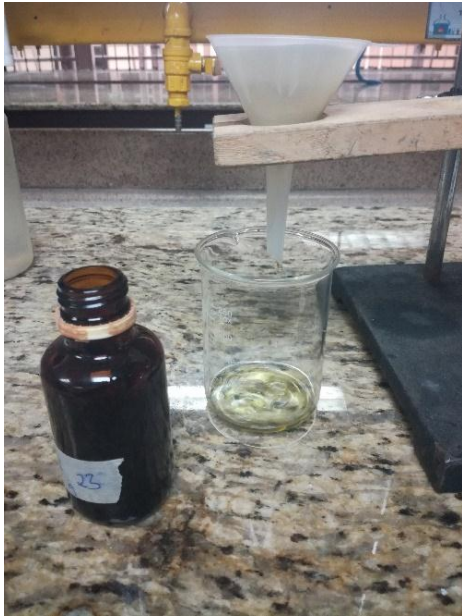
Los resultados demuestran que el método de extracción apropiado para obtener el aceite esencial a partir de semillas y piel de uva, es la maceración con etanol 96%, esta técnica fue favorable para posteriormente ejecutar las pruebas de identificación que a su vez, fueron positivas, haciendo constar que los componentes como polifenoles, taninos, antocianidinas y flavonoides, están presentes en el extracto. Los componentes mencionados son necesarios para la actividad antibacteriana.

A continuación, se detallan los resultados obtenidos a partir de la maceración con etanol 96%.

Maceración con etanol 96%

La maceración con etanol se realizó por duplicado en las mismas condiciones debido a que el resultado de las pruebas reactivas fue positivo, como se mencionó. En ambas ocasiones el material macerado por dos días, fue separado del medio líquido (disolvente y aceite) mediante filtración (Figura 5). Posteriormente se separó el aceite esencial del etanol, este procedimiento se realizó diferente para cada muestra. La primera se separó mediante el uso de un equipo rotavapor, el cual se emplea comúnmente para separar compuestos volátiles de compuestos volátiles. El tiempo de separación fue de 3 horas aproximadamente (Figura 6 y 7). El segundo método empleado fue evaporación en calentador, la cual se ejecutó de forma que se eliminara el etanol previendo que el tiempo transcurrido no promueva la afectación del aceite (Figura 8).

Figura 8. Separación por filtración



Fuente: Elaboración propia

Figura 9. Equipo de rotavapor utilizado en el primer extracto



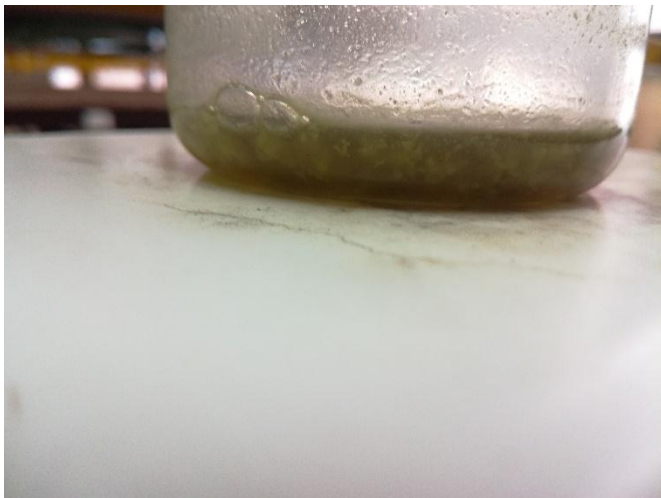
Fuente: Elaboración propia

Figura 10. Extracto dentro del rotavapor



Fuente: Elaboración propia

Figura 11. Evaporación



Fuente: Elaboración propia

Al finalizar ambos métodos de separación del aceite de etanol, se pesó a temperatura ambiente la cantidad de extracto conseguido, lo cual es necesario para posteriormente calcular el porcentaje de extracción obtenido por ambos métodos (Fórmula 1). A continuación se muestran los porcentajes de extracción obtenidos (Tabla 13).

Tabla 13. Porcentajes de extracción

Porcentaje de extracción	
Extracto 1 (Rotavapor)	El porcentaje de extracción del primer extracto fue de 13,68%.
Extracto 2 (Evaporación)	El porcentaje de extracción del segundo extracto fue de 10,51%.

Fuente: Elaboración propia

El resultado muestra que se obtuvo un mejor porcentaje de extracción al separar el aceite del solvente mediante el equipo rotavapor, lo cual es evidente debido a que este equipo es especializado para ejecutar una evaporación de solventes de forma eficiente, dejando como resultado el aceite que contiene compuestos volátiles contenido en el balón.

Identificar la obtención del aceite de uva mediante pruebas reactivas.

Tabla 14. Resultados pruebas de identificación

Descripción y resultados de las pruebas de identificación	
Descripción de pruebas	Resultados
<p>Prueba de identificación de antocianinas</p> <p>Se realizó con hidróxido de sodio y el extracto. (Figura 9)</p>	<p>La prueba es positiva cuando el extracto se torna oscuro. La prueba resulta positiva porque al aumentar el pH las antocianinas tienden a tornarse oscuras.</p>
<p>Prueba para identificación de taninos</p> <p>Se utilizó 1 ml del extracto. Se le agregó dicromato de potasio.</p>	<p>La formación de un precipitado amarillo en el extracto, lo que significó un resultado positivo para la presencia de taninos. (Figura 10) El precipitado se obtiene debido a que el tanino sufre una reducción.</p>
<p>Prueba de identificación de flavonoides</p> <p>Test de NaOH</p> <p>Se colocó extracto en un tubo de ensayo. Se disolvió con agua, se calentó y seguidamente se filtró. Se agregó NaOH, lo que hizo que la disolución se volviera amarilla. (Figura 11)</p>	<p>La prueba es positiva para flavonoides cuando al agregar HCl diluido la disolución pierde la coloración amarilla. (Figura 12). Los flavonoides en ocasiones se encuentra unido a glucósidos que son solubles en agua, al agregar el NaOH el flavonoide toma el color que lo caracteriza el amarillo,</p>

	<p>reacción con el HCl porque estos compuestos son neutros en medio ácido.</p>
<p>Prueba identificación de fenoles</p> <p>Para realizar esta prueba se va a tomar como referencia uno de los muchos compuesto fenólicos presentes en la uva: El resveratrol. (Figura 13)De ahí la importancia de realizar esta prueba, para comprobar de la manera más certera la obtención del componente.</p>	<p>En un tubo de ensayo se colocó la disolución y se le agregó FeCl₃. La prueba es positiva cuando el extracto se torna verde. (Figura 14). El cambio de coloración se debe a una oxidación del grupo fenol.</p>

Fuente: Elaboración propia.

Figura 12. Prueba positiva para antocianinas



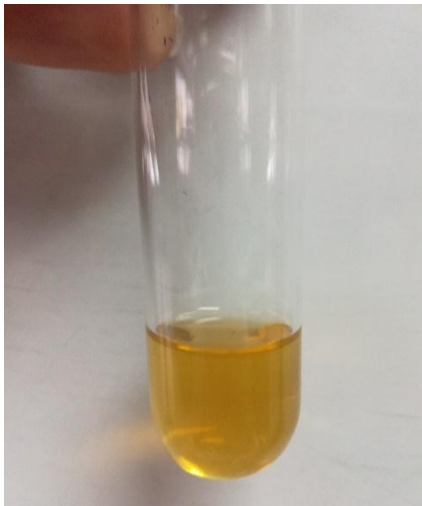
Fuente: Elaboración propia

Figura 13. Prueba positiva para taninos



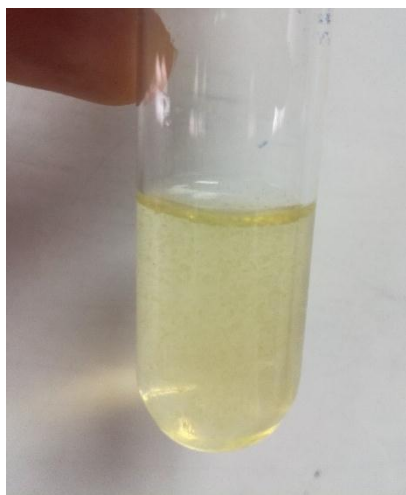
Fuente: Elaboración propia

Figura 14. Extracto antes de agregar HCl



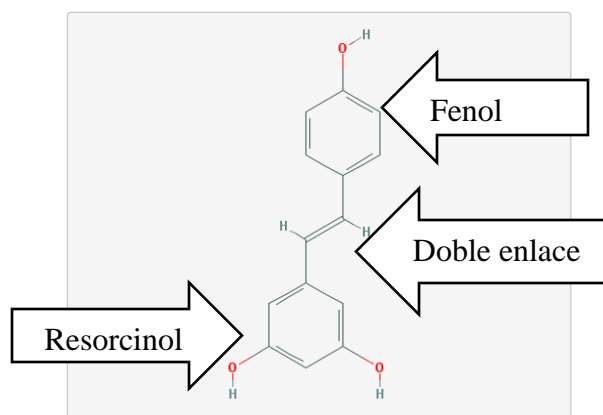
Fuente: Elaboración propia

Figura 15. Extracto luego de agregar HCl



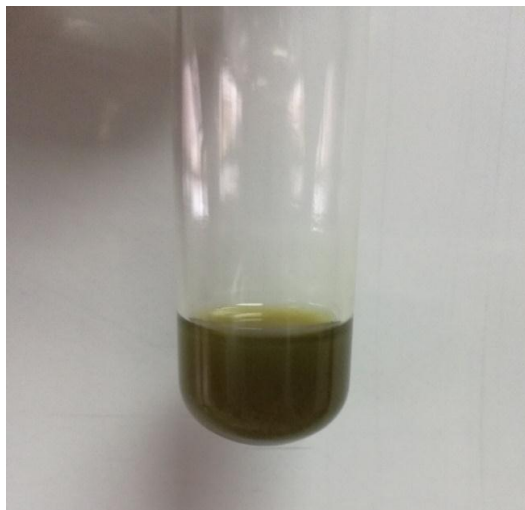
Fuente: Elaboración propia

Figura 16. Molécula resveratrol



El resveratrol (encontrado en la piel y semillas de la uva negra) es un compuesto fenólico cuya fórmula estructural presenta dos formas isoméricas, cis y trans. El trans-resveratrol fue encontrado en el vino por primera vez en el año 1992 por Siemman y Creasy, y en el año 1993 se describió la presencia de su isómero cis. Más reciente ha sido la identificación de los dos isómeros de su glucósido, piceído, en el vino.(Cavaller, 2008, pág. 3)

Fuente: PubChem

Figura 17. Prueba positiva para fenoles

Fuente: Elaboración propia

Los resultados presentados confirman la obtención del aceite de uva debido a que se demuestra la presencia de componentes como polifenoles, antocianinas, taninos y flavonoides. No se realizan más pruebas reactivas por la falta de accesibilidad a algunos reactivos. Estos componentes pueden identificarse de forma cuantitativa por medio de métodos espectrométricos, sin embargo, para aplicarlos se requiere el empleo de patrones de referencia que permitan la identificación efectiva, lo cual no fue asequible para la presente investigación.

Formulación de la crema

Se utilizó una formulación de una crema base para uso farmacéutico descrita anteriormente. Debido a que la crema posee dos fases, una fase oleosa y una fase acuosa, cabe destacar que antes de agregar el extracto a la formulación se debe identificar en cuál de las dos fases se debe agregar para obtener un resultado homogéneo.

Dado a que el componente activo agregado es de naturaleza lipídica, fue conveniente agregarlo a la fase oleosa. A su vez, para generar la formulación, se debe agregar la fase oleosa a la fase acuosa para lograr un núcleo de emulsión.

La crema se formuló de forma que se probara su actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* en diferentes concentraciones de extracto, para lo cual se varió el peso

del extracto según el peso de la crema. Los porcentajes de extracto en la crema se reflejan en la Tabla 15.

Tabla 15. Concentración de las cremas realizadas

Concentración de cremas realizadas	
Porcentaje de la crema	Cantidad de extracto
1%	0,5%
2%	1g
3%	1,5g

Fuente: Elaboración propia

Los porcentajes de extracto en la crema fueron de 1, 2 y 3% únicamente, debido a que un ligero aumento posterior en la cantidad de extracto en la crema, provoca que la fase oleosa sobrepase la fase acuosa de forma que se pierda la homogeneidad de la formulación.

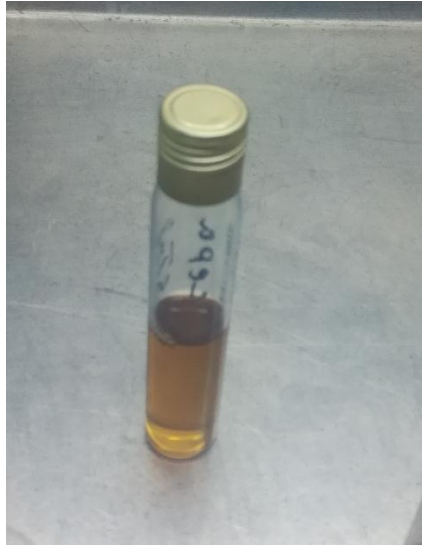
La eficacia de la formulación se vería afectada si se guarda en un lugar con altas temperaturas, ya que provocaría una separación o degradación de los componentes, la formulación no se puede utilizar de manera preventiva, antes de que la afección aparezca. Para determinar cuántas veces se debe aplicar la crema se deben determinar otros parámetros como el tiempo de vida media.

Comparar la efectividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* del aceite de uva y dos preparaciones comerciales.

Para comparar la efectividad antimicrobiana del aceite de uva contra *Staphylococcus aureus* se comparó el poder inhibitorio de dos marcas comerciales utilizadas para este fin: una crema incluida en la medicina alopática (Fucidin®) y un aceite de uva comercial como medicina natural (Cervilla natural). La metodología empleada para efectuar las pruebas se describió previamente. Se inocularon las placas con la cepa de *Staphylococcus aureus* (Figura 15). Se agregó en los agujeros, el material de prueba, lo cual será descrito más adelante. Es importante recordar que este procedimiento se hizo todo dentro de una cámara de flujo laminar y que una

vez listas las placas, se incuban durante 24 horas para después evaluar la capacidad inhibitoria de cada sustancia estudiada.

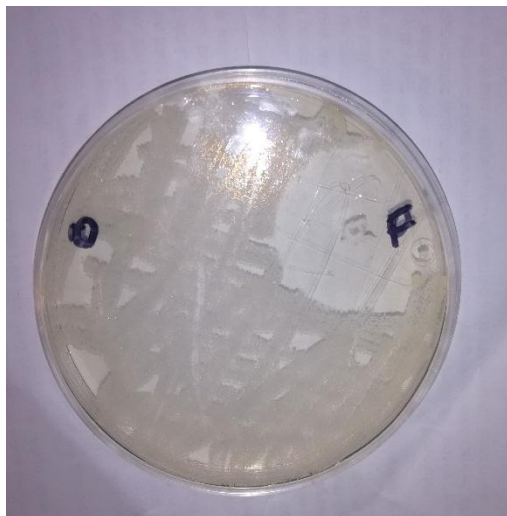
Figura 18. Recipiente que contiene la cepa de la bacteria



Fuente: Elaboración propia

Las primeras muestras que se analizaron por medio del proceso ya descrito en la misma placa fueron Fucidin® y el aceite de semilla de uva Cervilla natural. Para que un componente se considere con efecto inhibitorio importante, el halo alrededor de este debe medir más de 18 mm. A continuación se observa el resultado obtenido. (Figura 16)

Figura 19. Fucidin® vs. Aceite de semilla de uva comercial

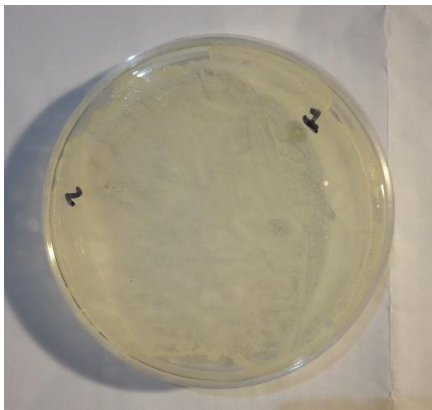


Fuente: Elaboración propia

Como se observa en la figura, la capacidad inhibitoria del aceite comercial es nula (izquierda). Se desconoce de qué manera se obtiene el aceite, por lo que no podría identificarse la razón del resultado negativo. Por otro lado, el Fucidin® si presentó capacidad inhibitoria notoria en la placa (derecha).

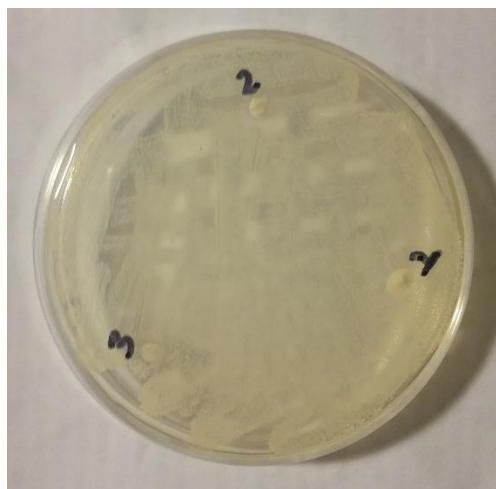
El segundo ensayo, incluyó las pruebas microbiológicas del aceite de uva extraído durante la presente investigación, con el fin de comprobar su capacidad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*. Este se realizó mediante dos metodologías, utilizando el aceite esencial obtenido de la maceración con etanol 96% por duplicado (Figura 17) y por otro lado utilizando la crema formulada a partir del aceite esencial al 1%, 2% y 3% (Figura 18).

Figura 20. Prueba microbiológica del extracto



Fuente: Elaboración propia

Figura 21. Pruebas microbiológicas de la crema al 1%, 2% y 3%



Fuente: Elaboración propia

En los resultados se observa que ni el extracto, ni la crema a partir del aceite de uva presentaron capacidad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*, por lo que al compararla con Fucidin®, queda en evidencia que el ensayo de sensibilidad a pesar de estar preparado correctamente, el resultado no fue positivo para el producto de interés.

Se infiere que la hipótesis formulada es negativa, lo que se podría explicar por diversos factores, por ejemplo, la calidad del material vegetal, los métodos de extracción evaluados, el método de extracción seleccionado, errores de ejecución, el porcentaje de extracción, la composición del aceite, la concentración del aceite, entre otros, que no permitieron medir su potencial antimicrobiano.

Sugerir la concentración efectiva de aceite de uva en la formulación de una crema antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*.

Dado al resultado negativo en las pruebas de capacidad inhibitoria *in vitro*, no se puede sugerir una concentración efectiva de aceite de uva como agente antimicrobiano, por lo que se plantea que realizar el proceso ampliado, tomando en cuenta mayor cantidad de variables, podría significar en la obtención de un extracto con mayor contenido de sustancias activas provenientes de la piel y las semillas, de forma que podría identificarse su actividad. Esto sería hipotéticamente.

Finalmente, el resultado no es concluyente, puesto que no es posible indicar una concentración mínima efectiva cuando los resultados son totalmente negativos. Aunque el procedimiento de extracción realizado se ejecutó de la manera adecuada, para efectuar una formulación se necesita un precedente de información bastante amplio y así poder certificar de la mejor manera el efecto presente en una sustancia.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El método de extracción con el que se obtuvieron resultados positivos fue la maceración con etanol 96% por lo que se considera un método conveniente para extraer aceite de uva

Para evaluar el aceite es conveniente eliminar el solvente, el método por rotavapor promovió la obtención de mejores porcentajes de extracción.

Se obtuvieron resultados positivos al aplicarle cuatro pruebas reactivas de identificación al aceite de uva obtenido mediante maceración con etanol 96% lo que evidencia la presencia de componentes fenólicos, taninos, flavonoides y antocianinas

Mediante pruebas *in vitro* de sensibilidad de *Staphylococcus aureus*, se demostró la sensibilidad del Fucidin®, no así para el extracto de aceite de uva y el aceite de cervilla natural comercial.

Debido a que los resultados de sensibilidad al extracto de aceite esencial de uva fueron negativos, no se determina una concentración mínima inhibitoria eficaz contra *Staphylococcus aureus*.

Recomendaciones

Recomendaciones para la investigación

Realizar la extracción del aceite de uva a mayor escala evaluando el material vegetal obtenido de diferentes fuentes.

Es conveniente que además de realizar pruebas de identificación se apliquen pruebas espectrométricas de elucidación de los componentes del extracto de uva que haya sido evaluado en cuanto a su composición

Determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite de uva frente al *Staphylococcus aureus* a partir de resultados positivos de elucidación de componentes.

Ejecutar pruebas de sensibilidad *in vitro* a partir de un aceite esencial

Recomendaciones para futuras investigaciones

Verificar el mantenimiento periódico del equipo de laboratorio, la calidad de los reactivos y la calidad de material vegetal utilizado.

Recomendaciones para profesionales e instituciones de la salud

Ejercer farmacovigilancia sobre los fitofármacos comercializados actualmente

Investigar nuevos componentes activos contra bacterias resistentes

Promover actividades de educación continua que mantenga a los profesionales de la salud actualizados en temas de antibióticos.

Referencias

- Alfaro, W. Choque, D. Paredes, M. Uzátegui, M. (s.f). Identificación de taninos. Perú. Recopilado de: <https://es.scribd.com/document/260313175/Identificacion-de-Taninos>
- Acosta y Céspedes (2004). “Actividad antibacteriana de los aceites esenciales derivados del tomillo y el orégano”. Costa Rica. UNIBE. Tesis
- Aramayo, C. Cordova, R. Estrada, P. (2011). Destilación: Tipos, ventajas y desventajas. Recopilado de: <https://vdocuments.site/documents/109061766-destilacion-tipos-ventajas-y-desventajas.html>
- Araya. (2005) “Estudio comparativo del potencial químico y bacteriostático del aceite esencial de *Eucalyptus Cinerea* y *Eucalypto Globulus*”. Costa Rica. UNIBE. Tesis
- Acevedo, R. (2007). Infusiones. (Extracción por solvente de calor). Recuperado de: <http://adonisquimica.blogspot.com/2007/10/1-infusiones-extraccion-por-solvente-en.html>
- Avello, M y Cisternas, I. (2010). Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Chile. Recopilado de: <http://www.scielo.cl/pdf/rmc/v138n10/art%2014.pdf>
- Bustos, J; Hamdan, A y Gutiérrez, M. (2006). *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad (revisión). México. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2006/bio064f.pdf>
- Cea de Amaya. (2013). Fitofármacos. El Salvador. Recopilado de: <http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/Cea2013.pdf>
- Cantón, R. (2010). Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. España. Doi:10.1016/j.eimc.2010.01.001
- Cañigüeral, S; Dellacassa, E y Bandoni, A. (2003). Plantas medicinales y Fitoterapia ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? España. Recuperado de http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf
- Casado, M. Torrico, G. Medina, M. (2012). Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología. Recopilado de: <https://libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf>

- Cavaller, V. (2008). Análisis de la producción científica y de patentes en el caso del tratamiento del resveratrol. Recopilado de: http://www.raco.cat/index.php/QUICVECT_es/article/viewFile/122880/170152
- DATABiO. (s.f). *Staphylococcus aureus* Recopilado de <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Staphylococcus%20aureus.pdf>
- De la Fuente, J. (2015). ¿A qué llamamos pruebas in vivo y pruebas in vitro? Recopilado de: <http://alergiayasma.es/a-que-llamamos-pruebas-in-vivo-y-pruebas-in-vitro/>
- De la O, N. (s.f). ¿Qué son los productos naturales y por qué el concepto se confunde? Recopilado de: <http://www.organicosas.com/que-son-los-productos-naturales-y-porque-el-concepto-se-confunde/>
- Deutsche Pharma S.A. Fucidin crema prospecto. Recopilado de: <http://www.farmaciasahumada.cl/fasa/MFT/PRODUCTO/P2698.HTM>
- Dhar, D. (s.f) Manual MSD. Revisión sobre las infecciones bacterianas de la piel. Recopilado de: <http://www.msmanuals.com/es-cr/professional/trastornos-cut%20C3%A1neos/infecciones-bacterianas-de-la-piel/revisi%C3%B3n-sobre-las-infecciones-bacterianas-de-la-piel>
- Doctissimo.com. Definición de infección. (s.f). Recopilado de: <http://www.doctissimo.com/es/salud/diccionario-medico/infeccion>
- Fernández, G. (2012). Destilación sencilla, Fraccionada y a Vacío. Recuperado de: <http://www.quimicaorganica.net/destilacion.html>
- Fernández, G. (2011). Importancia de la espectroscopía. Recuperado de: <http://www.quimicafisica.com/importancia-de-la-espectroscopia.html>
- Figueroa-Espinoza, M. Zafimahova, A. Alvarado, P. Dubreucq, E. Poncet-Legrand, C. (2015) “Grape seed and Apple tannins: emulsifying and antioxidant properties. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.056>

Freeman-Cook, L., Freeman-Cook, K. D., & Alcamo, I. E. (2006). *Staphylococcus aureus infections*. InfobasePublishing. Recopilado de https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=EPI-hgRlnSkC&oi=fnd&pg=PA5&dq=staphylococcus+aureus+infections&ots=pS_58Z1uT&sig=1YbwKGP3VM5tH2EO_O97BSU4R7g#v=onepage&q=staphylococcus%20aureus%20infections&f=false págs. 21-22-23

Fundacion-canna.es. Flavonoides. (s.f) España. Recuperado de: <http://www.fundacion-canna.es/flavonoides>

Fundación Eroski Consumer. Frutas, Guía práctica de frutas. Uva. (s.f). Recopilado de: <http://frutas.consumer.es/uva/propiedades>

García, M y García L. (2014). Familia y Salud. “CREMAS” para las infecciones de la piel: antibióticos, antifúngicos y antivirales. Recopilado de: <http://www.familiaysalud.es/medicinas/farmacos/cremas-para-las-infecciones-de-la-piel-antibioticos-antifungicos-y-antivirales>

García, J. (2013). Pigmentos de las plantas “ANTOCIANINAS”. Recopilado de: <https://es.slideshare.net/ChrisCorella/practica-7-antocianinas>

Gambini, López-Grueso, Olaso-González, Inglés, Abdelazid, El Alami, Bonet-Costa, Borrás y Viña (2012). Resveratrol: distribución, propiedades y perspectivas (Revisión). España. Revista española de Geriátría y Gerontología. www.elsevier.es/regg

Garavaglia, Markoski, Oliviera y Marcadenti (2016). Grape Seed Oil Compounds: Biological and Chemical Actions for Health (revision). Brasil. Nutrition and Metabolic Insights 2016:9 59–64 doi:10.4137/NMI.S32910.

González, M. (2011). Antocianinas. Recopilado de: <https://quimica.laguia2000.com/elementos-quimicos/antocianinas>

Guarnizo, A. Martínez, P. (s.f). Experimentos de química orgánica con enfoque en ciencias de la vida. Recopilado de: http://fjartnmusic.com/Personal/8o_Semestre_files/DS.pdf https://books.google.co.cr/books?id=Otm5wsEeKYEC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

- Guerra, F. Mallén, C. Struck, A. Varela, T. Zitlalpopoca, M.C.A. (2008). Destilación Simple. México. http://fjartnmusic.com/Personal/8o_Semestre_files/DS.pdf
- Gupta. Infecciones por Estafilococo. (2014). The Neumors Fundation. Recopilado de: <http://kidshealth.org/es/teens/staph-esp.html>
- GreenFacts (2014). Resistencia a los antibióticos: causas,, consecuencias y formas de contenerla. Recopilado de: <https://www.greenfacts.org/es/resistencia-antibioticos/index.htm>
- Grupo de investigación en Viticultura (s.f). Morfología de la vid (Vitis vinífera L). Recopilado de: <http://ocw.upm.es/produccion-vegetal/viticultura/contenidos/tema1morfologia.pdf>
- Harris, D. (s.f) Enfermedades causadas por el *Staphylococcus aureus*. Recopilado de: https://muyfitness.com/enfermedades-causadas-por-el-staphylococcus-aureus_13112682/
- Hernández Fernández y Baptista. (2014). Metodología de la investigación. Mexico. McGrawHill. Sexta edición.
- Horna, Silva, Vicente, Tamariz. (2005) Concentración mínima inhibitoria y concentración minima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Revista Médica Herediana. Doi: <https://doi.org/10.20453/rmh.v16i1.862>
- Lamarque, A. Maestri, D. (2008). Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica. Argentina. 1era Edición. Editorial Brujas. Recopilado de: https://books.google.co.cr/books?id=dehU11JRKy8C&printsec=frontcover&source=gs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Lavinoteca.info. ¿Taninos?. España Recopilado de: <https://lavinoteca.info/taninos>
- LEO Pharma. (s.f). Infecciones en piel: Ácido fusídico. Recopilado de: <http://www.leo-pharma.es/Profesional-Sanitario/Infecci%C3%B3n-Piel.aspx>
- López, B. Ortonobes, S. García, C.A. (2015). Ungüentos, pomadas, cremas, geles y pastas: ¿es todo lo mismo? Recopilado de: http://archivos.fapap.es/files/639-1294-RUTA/FAPAP_4_2015_Unguentos_pomadas.pdf

- Lüllmann, H. Mohr, K. Hein, L. (2010). Farmacología texto y atlas. 6ta Edición. Editorial Médica Panamericana. Recopilado de: https://books.google.co.cr/books?id=BXC_e6SiK94C&printsec=frontcover&source=gs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Mantilla, J. Pulido, M. Jaime, J. (2010). PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE *Salmonella* GRUPO D (MÓVILES E INMÓVILES) AISLADAS DE PONEDORAS COMERCIALES EN COLOMBIA. Bogotá. Recopilado de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remezvez/article/view/18252/19836>
- Macedo-Márquez, A. (2012). La producción de especies reactivas de oxígeno en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*. México. Recopilado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/tip/v15n2/v15n2a3.pdf>
- Martínez, A. (2003). Aceites esenciales. Medellín. Recopilado de: http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
- MedlinePlus. (2017). Infecciones por estafilococo. Estados Unidos. Recuperado de: <https://medlineplus.gov/spanish/staphylococcalinfections.html>
- MedlinePlus. (2017). Capas de la piel. Estados Unidos. Recuperado de: https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/8912.htm
- Mensa, Soriano, Llinares, Barberán, Montejo, Salavert, Álvarez, Maseda, Moreno, Pasquau, Gómez, Parra, Candel, Azanza, García, Marco, Soy, Grau, Arias, Fortún, aristides de Alarcón, Picazo, Sociedad Española de quimioterapia, Sociedad Española de medicina interna, Sociedad Española de Anestesiología y Reanimación. (2013). Guía para el tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. (Suplemento). Recopilado de <http://public-files.prbb.org/publicaciones/f2bbad80-cb68-0130-27bb-263316c03650.pdf>
- Meštrović, T. (s.f) ¿Cuál es Espectroscopia? Recopilado de: [https://www.news-medical.net/health/What-is-Spectroscopy-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/What-is-Spectroscopy-(Spanish).aspx)

- Miranda, A. y Martín, O. (s.f). Cromatografía Líquida (HPLC). Recopilado de: <http://www.ucm.es/data/cont/docs/650-2013-12-02-gases%20%20C3%ADquidos.pdf>
- Montiel, D. Ballinas, M. Jiménez, M. Espectrómetro. México. Recopilado de: <http://www.acmor.org.mx/cuam/2009/Fisico-Mate/101-CUM-%20Espectrometro.pdf>
- Morera (2007) llamada “Identificación preliminar de floroglucinoses como potenciales agentes bacteriostáticos y antifúngicos en hojas de *Eucalyptus Cinerea*”. Costa Rica. UNIBE. Tesis.
- Nassiri, M y Hosseinzadeh, H. (2009) Review of the Pharmacological Effects of *Vitis vinifera* (Grape) and its Bioactive Compounds. Irán. Doi: 10.1002/ptr.2761
- Navarro, P. Solórzano, A. Olmo, M. Nieto, G. Dueñas, R. Gutiérrez, J. Romero, R. y Rodríguez, M. (2017). Valoración de la adherencia al tratamiento antibiótico en Atención Primaria mediante la determinación de niveles del fármaco utilizando una técnica de cromatografía líquida. España. Recopilado de: <http://seq.es/wp-content/uploads/2017/09/navarro18jul2017.pdf>
- Nayak, S. Ramdath, D. Marshall, J. Isitor, G. Xue, S. John, S. (2011) Wound-healing Properties of the Oils of *Vitis Vinifera* and *Vaccinium Macrocarpon*. Canada. Doi: 10.1002/ptr.3363
- Núñez, M. (s.f). Curso: Operaciones Unitarias I. Tipos de destilación. Universidad de Sonora, México. Recopilado de: <http://operaciones-unitarias-1.wikispaces.com/Tipos+de+Destilacion>
- Padial, J. (2016). ¿Qué es una curva de calibración? Recopilado de: <https://curiosoando.com/que-es-una-curva-de-calibracion>
- Palacios (s.f) Guías de prácticas de Farmacognosia y Fitoquímica. Universidad Los Ángeles de Chimbote. Perú. p. 2 <https://es.scribd.com/doc/223449088/Determinacion-de-Flavonoides>
- Peredo, H. Palou, E y López, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. México. Recopilado de: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)

- Pérez y Gardey. Publicado: 2015. Actualizado: 2016. Definicion.de: Definición de uva (<http://definicion.de/uva/>)
- Pérez, C. Ruiz del Castillo, M. Gil, C. Blanch, G y Flores, G. (2015)“Supercritical fluid extract chemical composition, antioxidant activity and inhibition of nitrite production in LPS – simulated Raw 264.7 cells. España. Doi: 10.1039/c5fo00325c
- Pozo, B. Salazar, C. (s.f). Test de Fenoles. Recopilado de: https://sites.google.com/site/organicaiii/quimica_organica/quimica-organica-iii-nueva/quimica-organica-iii-2009-2012/test-analisis-funcional-2011/e4_2011/e4_2011
- Quiored®. (s.f). Identificación de grupos funcionales. Recopilado de: <http://www.ugr.es/~quiored/doc/p14.pdf>
- Raiteri (2011) La importancia de las bacterias. Vix. Recopilado de: <http://www.vix.com/es/btg/curiosidades/2011/06/10/la-importancia-de-las-bacterias>
- ResearchGate. Morales, S y Morales, M (2009). Plantas medicinales, fitofarmacos y fitomedicamentos: hacia una fitomedicina basada en la evidencia científica. (PDF Download Available). Recopilado de: https://www.researchgate.net/publication/281747269_Plantas_medicinales_fitofarmacos_y_fitomedicamentos_hacia_una_fitomedicina_basada_en_la_evidencia_cientifica
- Rivas, C. Oranday, M. Verde, M. (2016). Investigación en plantas de importancia médica. México. Recopilado de: https://books.google.co.cr/books?id=8kgcDQAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbv_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Saavedra, J. Santos, M. González, F. Hernández, T y Navarro, M.L. (s.f). Infecciones bacterianas de la piel y tejidos blandos. España. Recopilado de: <http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/piel.pdf>
- Salazar, I. (2014). Fitofármacos: Relación entre fitofármacos y productos naturales, definiciones, características, la relación que existe entre fitofármacos y productos naturales. Recopilado de: <https://es.scribd.com/doc/226522196/FITOFARMACOS>

Sandoval, M. (s.f). Identificación y caracterización de alcoholes fenoles. Recopilado de:
http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/practicass6a8CoordinadoraDraSandoval_21489.pdf

Scott, R. (2017). ¿Cuáles son los fundamentos de la técnica de HPLC y qué tipos existen?. Recuperado de: <http://blog.analitek.com/cuales-son-los-fundamentos-de-la-tecnica-hplc-y-que-tipos-existen-0>

Solaegui, A. (2012). Práctica 3. “Destilación por arrastre de vapor”. Recopilado de:
<http://practicassdequimicaorganica.blogspot.com/2012/03/practica-3-destilacion-por-arrastre-de.html>

Somos Vino. (s.f). Diferencias entre uva blanca (verde) y negra (morada). Blog. Recopilado de:
<http://www.puentederus.com/blog/?p=298>

Tapia, R. (s.f). La piel y sus partes. Recopilado de:
<http://www.monografias.com/trabajos91/piel-y-sus-partes/piel-y-sus-partes.shtml#ixzz50RppbmnC>

Toledo, F. (2015). Determinación de taninos. Recopilado de:
<https://es.slideshare.net/FranKlinToledo1/determinacin-de-taninos>

Universidad Javeriana. (s.f). Introducción al tema de antibióticos. Colombia. Recopilado de:
<http://med.javeriana.edu.co/fisiologia/fw/cintro.htm>

Urbi, Hossain, Rahman y Zayed. (2014) Grape: A Medicinal Fruit Species in the Holy Qur'an and its Ethnomedicinal Importance. World Applied Sciences Journal 30 (3): 253-265. DOI: 10.5829/idosi.wasj.2014.30.03.81114

USP 37 NF 32

VademécumMK® (s.f). TQFarma. Recopilado de:
<https://www.tqfarma.com/productos/vademecum-mk/dermatologicos/acido-fusidico-2-crema-mk>

Vademécum Argentino. (2011). Recopilado de:
<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/f071.htm#>

Valenzuela, I. (s.f). Cómo funcionan los antibióticos. Recopilado de:
<https://www.vix.com/es/btg/curiosidades/4520/como-funcionan-los-antibioticos>

Viljoen, J. Cowley, A. du Preez, J. Gerber, M y du Plessis, J (2015) “Penetration enhancing effects of selected natural oils utilized in topical dosage forms”. Estados Unidos. Informa HealthCare. Doi: 10.3109/03639045.2015.1047847