

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS
AMÉRICAS**

CARRERA DE FARMACIA

**FORMA FARMACÉUTICA A BASE DE
NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON EFECTO
CICATRIZANTE EN LA EPIDERMIS,
FORMULADAS A PARTIR DE NITRATO DE PLATA,
MENTHA PIPERITA, LAMIACEAE (MENTA) Y
CROTON DRACO, EUPHORBIACEAE (TARGUÁ):
*ESTUDIO IN VITRO***

YENDRY MELISSA ARIAS MORA

FRANCINY FABIOLA LEITÓN ROJAS

TUTOR: M.Sc. DENNIS JIMÉNEZ VARGAS

SAN JOSÉ, COSTA RICA, AGOSTO, 2019

TABLA DE CONTENIDO

Resumen.....	15
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	16
Planteamiento del Problema.....	16
Objetivos	18
• Objetivo General.....	18
• Objetivos Específicos	18
Justificación.....	18
Antecedentes	20
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	29
Piel	29
• Anatomía de la piel	30
• Funciones de la piel	37
• Bacterias que afectan la piel	40
• Farmacología dermatológica.....	48
Quemaduras.....	53
• Definición de una quemadura	54
• Según la profundidad de la quemadura se pueden clasificar en:	54
• Clasificación de las quemaduras según el punto de vista clínico, práctico y pronóstico	58
• Fisiopatología de las quemaduras	62
• Contaminación en las heridas por quemaduras.....	63
• Tratamiento de las quemaduras	64
Formas farmacéuticas de uso tópico	64

• Cremas	65
• Geles	66
• Pomadas	67
• Pastas	68
• Ungüentos	68
Nanotecnología	69
• Definición	69
• Clasificación de la nanotecnología	70
• Métodos generales para la obtención de elementos nanométricos	71
• Aplicaciones de nanotecnología	72
• Diversos productos en nanotecnología	73
• Aplicaciones de nanopartículas y nanomateriales	75
Plata como cicatrizante	76
• Generalidades de la plata	76
• Propiedades medicinales de la plata	80
• Mecanismo de acción de la plata	80
• Efectos de la plata en la salud	81
Nanopartículas de plata	84
• Definición de nanopartículas	84
• Mecanismo de acción de las nanopartículas de plata	84
• Qué es una nanopartícula metálica	85
• Métodos de síntesis de las nanopartículas de plata	85
• Uso del funcionalizante en la síntesis de nanopartículas de plata	88
• Toxicología de las nanopartículas de plata	89

• Factores que afectan a la toxicidad de las nanopartículas de plata	93
• Diferentes aplicaciones de las nanopartículas de plata	95
Productos Naturales	96
• Aspectos generales.....	96
• Elaboración de compuestos farmacológicos naturales	97
Menta (<i>Mentha piperita</i> , Lamiaceae).....	98
• Aspectos generales.....	98
• Uso medicinal	100
Targuá (<i>Croton draco</i> , Euphorbiaceae)	101
• Aspectos generales.....	101
• Uso medicinal	102
Evaluación de la actividad antimicrobiana	103
• Concepto	103
103	
• Pruebas de sensibilidad antimicrobiana	104
• Método Kirby-Bauer.....	105
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	108
Enfoque y diseño.....	108
Procedimiento	112
• Fase I: Obtención y funcionalización de las nanopartículas de plata	112
• Fase II. Caracterización de las nanopartículas de plata	113
• Fase II-a-b: Caracterización de las nanopartículas de plata funcionalizadas	
114	
• Fase III. Elaboración de las cremas a diferentes concentraciones de	
nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá (0.5%, 1%).....	115

• Fase IV: Medición de la actividad antimicrobiana	117
CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS	119
Fase I: Análisis de la obtención y funcionalización de las nanopartículas de plata..	119
• Análisis de la obtención del extracto acuoso de menta	119
• Análisis de la preparación de la sangre de Targuá (<i>Croton draco</i>)	121
• Análisis de la síntesis de nanopartículas de plata con el extracto acuoso de menta.....	123
• Análisis de la funcionalización de las nanopartículas de plata	125
Fase II. Caracterización.....	127
• Análisis de la caracterización mediante espectroscopia UV-vis de las nanopartículas de plata sin funcionalizar.....	127
• Análisis de la caracterización mediante espectroscopia UV-vis de las nanopartículas de plata Funcionalizadas con Targuá	129
• Análisis de interferencia mediante espectroscopia UV-vis del extracto acuoso de menta y del Targuá	130
• Análisis mediante espectroscopia de infrarrojo de nanopartículas de plata sin funcionalizar	131
• Análisis mediante espectroscopia de infrarrojo de nanopartículas de plata funcionalizadas	132
• Análisis mediante espectroscopia de infrarrojo para el extracto acuoso de menta y Targuá	133
Fase III. Análisis de resultados de la elaboración de las cremas	134
• Análisis de la elaboración de la crema del control positivo: Sulfadiazina de plata al 1%	137
• Análisis de la elaboración de la crema de control negativo: sin principio activo.....	139

• Análisis de la elaboración de la crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 0,5%	140
• Análisis de la elaboración de la crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 1%	141
Fase IV. Análisis del efecto antibacterial de las cremas frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Escherichia coli</i>	143
• Análisis de la concentración mínima inhibitoria de <i>Staphylococcus aureus</i>	144
• Análisis de la concentración mínima inhibitoria de <i>Pseudomonas aeruginosas</i>	146
• Análisis de la concentración mínima inhibitoria de <i>Escherichia coli</i>	148
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	152
Conclusiones	152
Recomendaciones.....	152
CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA	154

TABLA DE FIGURAS

FIGURA 1. ESQUEMA DE LA LOCALIZACIÓN DE LOS MELANOCITOS EN LA CAPA BASAL DE LA EPIDERMIS. A. EPIDERMIS. B. DERMIS. C. CAPA CÓRNEA. D. CAPA ESPINOSA. E. CAPA BASAL. F. MEMBRANA BASAL. G. DERMIS PAPILAR. H. VASO SANGUÍNEO ARTERIAL. I. MELANOCITO. J. FIBROCITOS	32
FIGURA 2. REPRESENTACIÓN DE LA CÉLULA DE MERKEL.....	35
FIGURA 3. CONFORMACIÓN ESTRUCTURAL DE LAS BACTERIAS	40
FIGURA 4. MICROSCOPIA DE LA TINCIÓN DE GRAM DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	41
FIGURA 5. TINCIÓN DE GRAM DE <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	45
FIGURA 7. CUADRO DE REACCIONES ADVERSAS CUTÁNEAS	53
FIGURA 8. QUEMADURA DE PRIMER GRADO	55

FIGURA 9. QUEMADURA DE SEGUNDO GRADO, SUPERFICIAL DÉRMICA	56
FIGURA 10. QUEMADURA DE SEGUNDO GRADO, PROFUNDA DÉRMICA	56
FIGURA 11. QUEMADURA DE TERCER GRADO, SUBDÉRMICA SUPERFICIAL	57
FIGURA 12. QUEMADURA SUBDÉRMICA, PROFUNDA.....	58
FIGURA 13. QUEMADURA TÉRMICA.....	59
FIGURA 14. QUEMADURA POR RADIACIÓN	59
FIGURA 15. QUEMADURA QUÍMICA	60
FIGURA 16. QUEMADURA ELÉCTRICA.....	61
FIGURA 17. FÓRMULA PARA EL CÁLCULO DEL ÁREA CORPORAL QUEMADA	62
FIGURA 18. USOS COMERCIALES DE LA PLATA	79
FIGURA 19. VÍAS DE EXPOSICIÓN DE LA PLATA Y SUS EFECTOS EN LA SALUD HUMANA	83
FIGURA 20. PRINCIPALES VÍAS DE EXPOSICIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA ...	92
FIGURA 21. MENTHA PIPERITA.....	100
FIGURA 22. CROTÓN DRACO	102
FIGURA 23. HALOS DE INHIBICIÓN EN UN MEDIO DE CULTIVO POR TÉCNICA DE DIFUSIÓN DE DISCO.....	106
FIGURA 24. RECOLECCIÓN DE LA PLATA <i>MENTHA PIPERITA</i> EN LA ZONA DE CIUDAD COLÓN	120
FIGURA 25. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE <i>MENTHA PIPERITA</i>	120
FIGURA 26. SECADO DE LA SANGRE DE TARGUÁ.....	121
FIGURA 27. OBTENCIÓN DEL POLVO FINO DE LA SANGRE DE TARGUÁ.....	122
FIGURA 28. DILUCIÓN DEL POLVO FINO DE LA SANGRE DE TARGUÁ EN ETANOL AL 50%	123
FIGURA 29. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA	124
FIGURA 30. FORMACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA	125
FIGURA 31. FUNCIONALIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON TARGUÁ.	126
FIGURA 32. ABSORBANCIAS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA SIN FUNCIONALIZAR SEGÚN LA LONGITUD DE ONDA PARA DETERMINACIÓN DEL PICO DE ABSORCIÓN MÁXIMA	128

FIGURA 33. ABSORBANCIAS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA FUNCIONALIZADAS CON TARGUÁ SEGÚN LA LONGITUD DE ONDA PARA DETERMINACIÓN DEL PICO DE ABSORCIÓN MÁXIMA	129
FIGURA 34. ABSORBANCIAS DEL EXTRACTO ACUOSO DE <i>MENTHA PIPERITA</i> SEGÚN LA LONGITUD DE ONDA PARA DETERMINACIÓN DE INTERFERENCIA EN LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA	130
FIGURA 35. ABSORBANCIAS DEL <i>CROTON DRACO</i> SEGÚN LA LONGITUD DE ONDA PARA DETERMINACIÓN DE INTERFERENCIA EN LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA	130
FIGURA 36. ANÁLISIS DE IR DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA SIN FUNCIONALIZAR	131
FIGURA 37. ANÁLISIS DEL IR DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA FUNCIONALIZADAS CON TARGUÁ.....	132
FIGURA 38. ANÁLISIS DE IR DEL EXTRACTO ACUOSO DE <i>MENTHA PIPERITA</i>	133
FIGURA 39. ANÁLISIS DE IR DEL EXTRACTO ACUOSO DE <i>CROTON DRACO</i>	134
FIGURA 40. ELABORACIÓN DE LAS CREMAS	135
FIGURA 41. BAÑO MARÍA DE LOS EXCIPIENTES DE LAS CREMAS	136
FIGURA 42. ELABORACIÓN DE LAS CREMAS	136
FIGURA 43. PRINCIPIO ACTIVO DE SULFADIAZINA DE PLATA.....	137
FIGURA 44. CREMA DE SULFADIAZINA DE PLATA AL 1% (CONTROL POSITIVO)	137
FIGURA 45. CREMA SIN PRINCIPIO ACTIVO (CONTROL NEGATIVO).....	139
FIGURA 46. CREMA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA FUNCIONALIZADAS CON TARGUÁ AL 0,5%	140
FIGURA 47. CREMA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA FUNCIONALIZADAS CON TARGUÁ AL 1%	142
FIGURA 48. PREPARACIÓN DE LAS PLACAS PETRI PARA EL CULTIVO DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> , <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> , <i>ESCHERICHIA COLI</i>	143
FIGURA 49. PLACA DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> CON LAS MUESTRAS DE CREMA A PROBAR	144
FIGURA 50. GRÁFICO DEL TIPO DE CREMA VS. HALO DE INHIBICIÓN EN <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	145

FIGURA 51. PLACA DE <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSAS</i> CON LAS MUESTRAS DE CREMA A PROBAR	146
FIGURA 52. PLACA DE <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSAS</i> CON LAS MUESTRAS DE CREMA A PROBAR EN ULTRAVIOLETA	146
FIGURA 53. GRÁFICO DEL TIPO DE CREMA VS. HALO DE INHIBICIÓN EN <i>PSEUDOMONA AERUGINOSA</i>	147
FIGURA 54. PLACA DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> CON LAS MUESTRAS DE CREMA A PROBAR. 148	
FIGURA 55. GRÁFICO DEL TIPO DE CREMA VS. HALO DE INHIBICIÓN EN <i>ESCHERICHIA COLI</i>	148
FIGURA 56. GRÁFICO COMPARATIVO DE LA INHIBICIÓN DE LAS BACTERIAS FRENTE A LOS TIPOS DE CREMAS	150

TABLA DE CUADROS

CUADRO 1. PROPIEDADES FÍSICO QUÍMICAS DE LA PLATA	77
CUADRO 2. CUADRO DE OPERACIONALIZACIÓN	110
CUADRO 3. TAMAÑO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA SEGÚN LA POSICIÓN DE LOS PICOS DE ABSORCIÓN EN EL ESPECTRO UV-VIS.....	127
CUADRO 4. CARACTERÍSTICAS DE LA CREMA SULFADIAZINA DE PLATA (CONTROL POSITIVO).....	138
CUADRO 5. CARACTERÍSTICAS DE LA CREMA CONTROL NEGATIVO	139
CUADRO 6. CARACTERÍSTICAS DE LA CREMA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA AL 0,5%	140
CUADRO 7. CARACTERÍSTICAS DE LA CREMA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA AL 1%	142
CUADRO 8. COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN DE LAS BACTERIAS <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> , <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> Y <i>ESCHERICHIA COLI</i> FRENTE A LOS DIFERENTES TIPOS DE CREMAS ESTUDIADOS.....	149

Agradecimientos de Franciny Leitón

Primeramente, agradecerle a Dios por brindarme salud, paciencia, persistencia, sabiduría, fuerza y mucho amor. Sin él jamás hubiese logrado concluir mis estudios, siempre me he sentido acompañada y guiada por él.

A mis papás, Francisco y Patricia por siempre estar conmigo en todo momento, apoyarme incondicionalmente, por todos los sacrificios que han hecho para que yo lograra terminar mis estudios.

Un agradecimiento especial a mi mamá, Patricia Rojas, por ser la mujer más importante en mi vida, por ser mi modelo a seguir, porque sin ella yo no sería nada. Es la mujer más valiente y fuerte que conozco en este mundo y sin duda alguna la mejor mamá del mundo; Te amo

A mi novio, Daniel Fuentes, por incondicional, ser un pilar en todo mi proceso de estudio, por desvelarse conmigo siempre que lo necesite; gracias por cada consejo, por cada palabra. Eres el mejor regalo que me puedo dar Dios mi amor, eres el mejor novio del mundo, te amo muchísimo.

A mi hermana, Graciela, por siempre apoyarme, escucharme y aconsejarme cada vez que lo necesite. Te amo

A mi familia, por siempre apoyarme, alentarme en todo momento de mi proceso de estudio. Siempre estar pendientes de mis progresos y siempre desearme muchísimo éxito.

A mis amigos, Melissa, Sofía, Valery, Roger y Diana, por ser las personas más especiales que pude haber conocido en esta etapa tan importante en mi vida, fueron cinco años, llenos de risas, alegrías, tristezas, momentos difíciles que superamos juntos y apoyándonos, nunca los voy a olvidar, son la familia que elegí y una enorme bendición de Dios. Los amo chiquillos.

A mi tutor de tesis, Dennis Jiménez, por brindarme la oportunidad de trabajar con él en el desarrollo de esta investigación, por toda el ayuda, los consejos y la guía que me brindo en el desarrollo de la tesis.

A el Laboratorio Microbiológico Microlabs, permitírnos trabajar en sus instalaciones, la ayuda y el tiempo brindado.

A todos los profesores de la Universidad Internacional de las Américas, por las enseñanzas, consejos y apoyo en todos estos cinco años.

Agradecimientos de Melissa Arias

En primer lugar, quiero agradecerle a Dios, a la Virgen María y a los Ángeles, por estar presentes en mi vida, por guiarme en cada uno de mis pasos, por protegerme y ayudarme a completar mis estudios, porque sé que en cada paso que doy, me guían y me ayudan a ser mejor persona.

Gracias a mis papás, por decirme que sí cuando elegí farmacia como carrera, gracias por no dudar de mí y por hacer tantos sacrificios para ayudarme, gracias papi porque mientras yo dormía, usted estaba trabajando para ayudarme a cumplir mi sueño, gracias de corazón por enseñarme a luchar por lo que realmente deseo, por apoyarme y darme lo necesario para salir adelante, gracias a mi mamá por hacerme la mujer que soy, gracias mamita porque cuando desee dejar todo tirado ahí estabas diciéndome que si lo iba a lograr, que no debía abandonar la carrera y seguir adelante, sin duda alguna Dios me dio los mejores padres, porque a pesar de ser tan jóvenes cuando me tuvieron nunca me hizo falta nada, me enseñaron tantas cosas buenas, este logro no es solo mío, es de ustedes, las personas que más creyeron en mí, los amo.

A mis hermanitas, Amy y Hillary, mis amigas del alma, gracias porque cuando deseaba irme a dormir me ayudaban a quedarme hasta tarde, me preguntaban la materia y estaban ahí conmigo, gracias chiquillas, porque ustedes también hicieron sacrificios por mí, espero algún día verlas ser profesionales, las amo y les deseo lo mejor.

A mi esposo, Manuel, llegaste a mi vida a enseñarme tantas cosas buenas, me diste la confianza para creer en mí, me enseñaste a ser más responsable y esforzada, me has hecho una mejor persona desde que estas en mi vida, gracias por hacer sacrificios por mí, toda mi vida te estaré agradecida por todo el apoyo durante estos años y sobre todo los últimos dos. Te amo, eres una bendición en mi vida.

A mi tía Gaby, gracias por ser mi amiga, gracias por brindarme apoyo y motivación, por creer en mí y estar pendiente en todo el proceso de tesis, te amo tía gracias por todo.

Gracias a mis abuelos, tíos y primos por darme apoyo en todos estos años, por ayudarme con palabras de motivación para seguir adelante y desearme éxitos en todo momento, gracias familia por ser una bendición.

A mis amigos, Franciny, Sofía, Valery, Roger y Diana, gracias chiquillos, jamás pensé que en mis últimos años de universidad iba a encontrar amigos tan valiosos, ustedes me han enseñado el significado verdadero de amistad, gracias por tantos momentos vividos, son personas súper especiales, que llenan mi vida de bendición, gracias por todo y les deseo lo mejor en cada paso que den, los amo montones y espero que sean muchos años más de amistad.

Dedicatoria

Queremos dedicarle esta Tesis a Dios, debido a que sin él no hubiese sido posible lograr la conclusión de nuestros estudios en Farmacia, dado a que él siempre estuvo con nosotras y siempre nos bendijo en todo momento.

A nuestros padres, Patricia, Francisco, Magdalena y Roger; que hicieron todos sus esfuerzos para que nosotras pudiésemos terminar los estudios. Les agradecemos infinitamente todos los sacrificios y toda la confianza que depositaron en nosotras. Estamos infinitamente agradecidas con ustedes

A nuestras parejas, Daniel y Manuel; dado a que fueron un pilar en todo nuestro proceso de estudio.

Pensamiento

“Es la emoción del aprendizaje la que separa a la juventud de la vejez. Mientras usted está aprendiendo, no tiene edad”

ROSALYN S. YALOW

RESUMEN

El presente trabajo de investigación trata sobre “FORMA FARMACÉUTICA A BASE DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON EFECTO CICATRIZANTE EN LA EPIDERMIS, FORMULADAS A PARTIR DE NITRATO DE PLATA, MENTHA PIPERITA, LAMIACEAE (MENTA) Y CROTON DRACO, EUPHORBIACEAE (TARGUÁ): ESTUDIO IN VIVO”. Tiene como finalidad realizar una síntesis de nanopartículas de plata, funcionalizadas con Targuá y en base a esto realizar cremas a distintos porcentajes de principio activo para después, evaluar la actividad antibacteriana frente a microorganismos comúnmente presentes en la epidermis como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Las nanopartículas de plata se realizaron mediante una síntesis verde, para que fuese amigable con el ambiente, se funcionalizaron con el fin de hacer las nanopartículas más grandes, después se realizaron cremas con las nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá,

El análisis antibacteriano fue por medio de la técnica de Bauer y Kirby, en la cual se midieron los halos de inhibición para determinar el poder antibacterial de cada crema. Además, se buscó determinar la concentración mínima inhibitoria de cada crema.

Se obtuvo que la crema con mayor porcentaje de inhibición fue la crema a base de nanopartículas de plata al 1%, seguido de la crema a base de nanopartículas de plata al 0.5%, después la crema de sulfadiazina de plata al 1%, y por último la crema de control negativo la cual no contenía principio activo.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Planteamiento del Problema

En el presente trabajo de investigación se tiene como motivación conocer el efecto de las nanopartículas de plata como agente antibacterial, en comparación con la sulfadiazina de plata, ya que cuando se sufren quemaduras en la piel se requiere de una mejor cicatrización y un ambiente antiséptico para controlar las bacterias que pueden provocar infecciones graves. Por esa razón se va a estudiar el efecto de las nanopartículas de plata en tres especies diferentes de bacterias: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Alfaro (2003) menciona que “las infecciones en las quemaduras se deben, en su mayoría, a bacterias endógenas, es decir, que están en el paciente y ocurre por dos mecanismos; las bacterias en el borde de la herida, o la infección presente en otras partes del cuerpo”.

Las bacterias han tenido 3,5 billones de años para adaptarse a diferentes ambientes de la Tierra; considerando todo el tiempo que estos microorganismos han estado en el mundo, es presumible que entraron en contacto con antimicrobianos naturales antes que el ser humano los descubriera, favoreciendo la aparición de resistencia como un mecanismo adaptativo natural adquirido durante su evolución. (Labarca & Araos, 2009).

La resistencia a los antibióticos aparece como consecuencia de mutaciones y de presiones de selección por el uso indiscriminado de estos medicamentos, y se disemina rápidamente con alcance global. (Moncayo, 2014).

Según estudios epidemiológicos, América Latina se encuentra entre las regiones con más alta incidencia de brotes nosocomiales producidos por bacterias que presentan resistencia a múltiples antibióticos. (Carrera *et al.*, 2007).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) lo dice claramente:

“Ante el aumento inexorable de las infecciones por microorganismos resistentes, la escasez de nuevos antibióticos en desarrollo y el poco interés de la industria para invertir en I+D en este campo, se requieren soluciones innovadoras para detener el incremento de las infecciones por microorganismos resistentes.”

En las quemaduras ocurre un daño en la capa dérmica o inferior de la piel; acá es donde ocurre la cicatrización, la cual es un proceso dinámico mediado por proteínas solubles (citocinas y factores de crecimiento) y células encargadas de la proliferación celular, para el restablecimiento del tejido lesionado. (Valencia, 2010).

Una herida normal tiene de 60.000 a 80.000 bacterias por gramo de tejido; la saliva tiene 10^8 a 10^{12} bacterias por mL. Hay evidencia definitiva de que la infección se debe, en su mayoría, a bacterias endógenas; es decir, que están en el paciente, y ocurre por dos mecanismos: las bacterias en el borde de la herida o infección presente en otras partes del cuerpo. Si se habla de antibiòticoterapia profiláctica, que es el uso de antibiòticos en ausencia de infección para prevenirla, hay que recordar que hay un nivel sanguíneo y un nivel terapéutico, el cual es el nivel del antibiòtico en los tejidos. Para alcanzarlo se necesitan de 2 a 4 horas. (Alfaro, 2003).

La cicatrización de una quemadura está relacionada con la edad, el origen étnico y la gravedad, profundidad y localización de la quemadura. Las cicatrices se forman cuando se ha dañado la capa dérmica o inferior de la piel, como en el caso de una quemadura. El cuerpo forma una proteína llamada colágeno, para ayudar a cicatrizar la piel dañada. El sanado de una cicatriz puede llevar mucho tiempo. Por lo general, la cicatrización se desarrolla dentro de los primeros meses posteriores a la quemadura, alcanza su máximo alrededor de los 6 meses y se resuelve o "madura" en 12 a 18 meses. A medida que la cicatriz madura, su color se desvanece, se hace más plana, más suave y, por lo general, menos sensible. (Peñalba *et al.*, 2015).

Objetivos

- **Objetivo General**

Evaluar el potencial de nanopartículas de plata, sintetizada a partir de nitrato de plata y extractos naturales de plantas, como agente antimicrobiano para mejorar el proceso de cicatrización en quemaduras superficiales de la epidermis.

- **Objetivos Específicos**

-Sintetizar nanopartículas de plata usando como precursor el nitrato de plata, como reductores extractos de menta (*Mentha piperita*, Lamiaceae) y como funcionalizante Targuá (*Croton draco*, Euphorbiaceae).

-Desarrollar una forma farmacéutica de uso tópico, empleando las nanopartículas de plata a diferentes porcentajes.

-Examinar la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata sobre bacterias que comúnmente causan infecciones durante el proceso de cicatrización en quemaduras superficiales de la epidermis.

Justificación

El llevar a cabo una investigación que incluya habilidades de prácticas de laboratorio (síntesis de nanopartículas de plata), para la obtención de formas farmacéuticas y manejo de cepas microbiológicas en laboratorio, es altamente conveniente, ya que en el mercado actual no existen fármacos que logren alcanzar un efecto cicatrizante acelerado y, a la vez, se cree un ambiente antiséptico para poder obstaculizar el crecimiento de bacterias, que ocurre frecuentemente cuando se sufre una quemadura en la epidermis. “Si no se protegen las heridas con agentes antimicrobianos, las bacterias proliferan, lo mismo ocurre si no se hace escisión de la escara, se agrava la infección y se produce invasión de bacterias a tejidos viables.” (Alfaro, 2003). Es por ello que se debe tener un manejo adecuado de las quemaduras, e innovar con una formulación que permita ir cicatrizando y, a la vez, manteniendo el ambiente libre de bacterias que eventualmente podrían causar infecciones, y así evitar que el proceso de cicatrización sea retardado y doloroso.

Las quemaduras generan problemas serios y deben ser tratadas de la mejor manera: en Estados Unidos se estima que 1.25 millones de personas son tratadas anualmente por algún tipo de quemadura, y aproximadamente 50.000 pacientes requieren hospitalización, con una estancia aproximada de un día, con el 1% de superficie corporal quemada y con una mortalidad de un 4%, por la quemadura o sus complicaciones. (Alfaro, 2003).

En un paciente quemado, el tejido dañado posee condiciones favorables para la colonización bacteriana, ya que existe un daño en las proteínas y sobre todo en la albumina: “El uso de agentes antimicrobianos tópicos evita la colonización y penetración de bacterias hacia los tejidos viables subescara”. (Rangel, 2005).

Es necesario tratar a tiempo las quemaduras, ya que cuanto mayor sea el lapso en el que esté expuesta la herida del paciente, se permite que las bacterias se desarrollen más rápido y, como consecuencia, se infecte y sea mayor la resistencia: “según la etapa de evolución de la quemadura, en los primeros días se aíslan bacterias Gram positivas y a partir de la segunda semana predominan bacterias Gram negativas”. (Rangel, 2005). Por eso se debe tratar adecuadamente la herida, con un fármaco que cicatrice rápido y aisle en mayor medida las bacterias, ya que, conforme pasan los días, es mayor el riesgo de presencia de bacterias fuertes y más difícil de tratar.

En el área de la Salud se ha creado el concepto de que el uso inadecuado de los antibióticos es el factor predominante en la resistencia bacteriana. Sin embargo, según la Organización Mundial de la Salud (OMS) entre los factores causantes de dicha resistencia se encuentran:

“Uso inapropiado de antibióticos, falta de sistemas de vigilancia efectivos en cada país, ausencia de legislación que permita un control en el mercado de la venta de medicamentos a farmacias y uso extendido de antibióticos en animales para el consumo humano.”

Una alternativa para esta problemática es el uso de nanopartículas de plata como tratamiento ante la resistencia bacteriana, ya que en diversos estudios se ha comprobado que actúan tanto en bacterias como en virus: “El efecto antimicrobiano de la plata frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas se conoce desde la antigüedad, pero ha sido

recientemente cuando se ha promovido el empleo de nanopartículas de plata como agentes antimicrobianos en diferentes áreas”. (García *et al.*, 2016).

Flores (2016) menciona, en su trabajo de tesis, dos características relevantes que tienen las nanopartículas en el área de la biomedicina: i) debido a su tamaño pueden llegar con mayor rapidez y efectividad a un blanco elegido luego de ser administradas, y ii) la relación área/volumen es mayor que en un material macroscópico. Esto permite comprender por qué resulta beneficioso invertir en fármacos que incluyan las nanopartículas, ya que, comparado con los demás fármacos, su efecto es más rápido.

El realizar una experimentación con nanopartículas de plata agrega un valor a nivel científico, puesto que, en Costa Rica, hasta el momento, no se ha realizado un fármaco que las incluya, y para tratar las quemaduras se emplea la sulfadiazina de plata, que favorece un proceso de cicatrización en la piel más lento, y no tiene un efecto antiséptico, por lo cual se corre el riesgo de presentar bacterias y, por lo tanto, una infección.

Antecedentes

En el trabajo de investigación de Fernández (2017), se describe la utilidad que los griegos y los egipcios le dieron a la plata en la Antigüedad. La plata fue utilizada para lograr la preservación del agua y de los alimentos que ellos consumían. Además, se sabe que Hipócrates le dio uso a la plata también, por medio de preparaciones a base de este elemento de origen natural, con el fin de poder curar úlceras, y de esta forma se suscitó su uso medicinal.

Según Cardoso (2016), la plata fue empleada para la eliminación de bacterias del agua desde la Antigüedad. La plata se detalló como un producto con propiedades medicinales que posee varias intenciones, en el siglo XVII. Luego, al finalizar el siglo XIX, se introduce una solución a base de nitrato de plata, con la finalidad de ser utilizada como un colirio para los bebés que están recién nacidos.

La plata fue referida como un elemento médico desde varias disciplinas científicas o culturales. Este elemento se utilizó en diversas patologías como la epilepsia y cólera, durante el siglo XVII. (Edwards *et al.*, 2009). El médico cirujano llamado Quitar (2008) inculcó la utilización de un tipo de vendaje que contenía plata, el cual permaneció en la lista de Physician's Desk. (Silver *et al.*, 2006). La administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos -FDA- aprobó una disolución de electrocoloidal hecha a base de plata, con el fin de ser utilizada como un agente que eliminaba las bacterias. (Silver *et al.*, 2006).

Según Quintili (2012), la nanotecnología y la nanociencia tienen existencia, debido a que sacaron los conceptos de lo que se conoce como la física clásica y, además, generaron la física cuántica. La física cuántica se dio gracias a que los átomos fueron desnudados, hasta entender cómo era el funcionamiento del núcleo de los electrones, y también de los fotones. De esta forma se dio el hallazgo de que ellos son los encargados fundamentales, de que todo comienza con términos de energía; esto crea un tipo de vida, la cual no puede ser observada a simple vista. La ingeniosa ocurrencia de comenzar a usar las estructuras químicas construyendo átomos sobre otros átomos fue del Dr. Richard Feynman, durante 1952, y esto fue porque él se expresó sobre los conceptos que el día de hoy se conocen como actividades de nanotecnología.

Gutiérrez (2013) indica que la nanotecnología tuvo un auge hasta los años 80 en el área científica; esto fue porque se dio el descubrimiento de nuevos métodos, que son más idóneos para los estudios y la fabricación de las nanoestructuras. En 1981 se dio un avance sobre el método, para lograr un gran cúmulo metálico por medio del uso de un láser concentrado, que permitiera lograr vaporizar metales y lograr la formación del plasma.

La denominación de la palabra Nanotecnología fue reconocida al Profesor Norio Taniguchi, quien trabajaba para la Universidad de Ciencias de Tokio; él publicó, en 1974: "Nanotecnología consiste en el procedimiento de separación, consolidación y deformación de materiales átomo por átomo o molécula por molécula". La nanotecnología a fuerza creció desde 1974, lo que permitió encaminar a los científicos que presentaban más persistencia a trabajar en variados temas de investigación importantes sobre la nanotecnología. (Quintili, 2012).

La plata tiene su utilidad para el tratamiento de las quemaduras. Según Carrillo & colaboradores (2014), y De la Torre & colaboradores (2014), las quemaduras tienen importante impacto a nivel del mundial, y se ha observado un crecimiento en la consulta por estas situaciones, y también la hospitalización por distintas complicaciones que se asocian a la morbimortalidad. El proceso de curación de un paciente quemado es bastante complicado, debido a múltiples factores y, dependiendo de la gravedad de la herida, los distintos tratamientos.

Por ejemplo, en Estados Unidos, cada año aproximadamente unos dos millones de personas sufren heridas por quemaduras. De las personas con quemaduras, una cantidad de 130,000 pacientes ocupan una hospitalización. Por otro lado, en Latinoamérica, un aproximado de 300 personas adquieren una quemadura, y al menos de estos 100,000 en un año. Luego, en Chile, existe una tasa de personas hospitalizadas que llega a 37.5 por cada 100,000 personas. Hay diferentes razones por las que un paciente sufre una quemadura, pero una gran parte de estos sucesos son por un accidente a nivel del hogar; otras razones menos frecuentes son con productos que se encuentran en los trabajos, agresiones y maltrato. (Carrillo *et al.*, 2014).

Según Alfaro (2003), una herida común tiene aproximadamente por lo menos de 60.000 a 80.000 microorganismos por cada gramo de tejido. En la saliva se albergan de 10^8 a 10^{12} bacterias por cada centímetro. Hay certeza: la responsable de que una infección se da es la presencia de bacterias endógenas en la quemadura. Los microorganismos que están presentes sobre el margen de la herida están en otras partes del cuerpo.

Heriberto (2005) realiza un análisis, de tipo comparativo, de gérmenes aislados en el Hospital Brook Army y en la Unidad de Quemados. En los dos estudios expone la variación que existe en los patógenos que no son bacterianos, por un porcentaje superior de la infección en el Hospital Brook Army, con un 42%, mientras que en la Unidad de Quemados del IMSS expone un 8,8%. Se da a conocer que la presencia de los Gram negativos es más alta en los porcentajes en los de la Unidad de Quemados, presentando un 58,6%, mientras que los de Brook Army son de un 29,1%. Se sabe que toda quemadura, que presenta un porcentaje mayor o igual al 30% de la superficie de la piel, indica que hay posibilidades de una infección.

Según Aguilar, 2016, una quemadura de primer grado afecta la primera capa de la piel, la cual presenta una inflamación dolorosa. Sin embargo, se sabe que hay complicaciones en las quemaduras -son una infección a nivel de la piel, y una infección representa una complicación importante-. Se sabe también que las bacterias más comunes que se encuentran en una quemadura son las Gram positivas, como la Estafilococos y la Estreptococos, y aparte de estas también se pueden encontrar las Gram negativas.

Burn Injury Model System (2011), en “Cuidado y manejo de la cicatriz después de una lesión por quemadura”, indica la dificultad para determinar cuánto tiempo va a durar una cicatrización, pero las múltiples investigaciones sobre esto han demostrado que comúnmente una quemadura superficial, como de primer grado, que posee un espesor superficial de piel afectada cuando presenta una curación menor a 10 días, no deja ningún tipo de cicatriz; mientras que las quemaduras más severas, que afectan un espesor de piel mayor, logran una sanación de 14 a 21 días, y hay posibilidades de una cicatriz.

Como se ha mencionado anteriormente, la plata es un tratamiento importante para la cicatrización de una quemadura. En la investigación de Cardoso (2016) se indica que se ha avanzado en el desarrollo de tratamientos, debido a que la plata presenta variedad de vendajes que son fácil de aplicar. Con una mezcla de los polímeros correctos, se puede lograr generar un aumento de la potencia de la actividad antimicrobiana de la plata iónica. Aparte de esto, genera un aumento en la sustentabilidad, aumenta la actividad de cicatrización en las heridas, con una mejora de los fluidos y una disminución de la toxicidad. La plata se administra sobre las quemaduras, ya sea en forma de vendajes con plata o como una crema; por ejemplo: la sulfadiazina de plata como principio activo.

El uso de la plata para las quemaduras es un hecho. Sin embargo, se han buscado nuevos tratamientos para sanar las quemaduras; uno de estos ha sido el uso de nanopartículas a base de plata. En la Universidad Autónoma de México (UNAM) realizaron una solución de Nanopartículas de plata para lograr una desinfección y, así, de una vez, mejorar la cicatrización de las úlceras de un pie diabético en más del 90%. Este producto permitió salvar las extremidades de varios pacientes. Este nanomaterial no es tóxico, aunque se administre en altas concentraciones; no es un producto alergénico; no presentó resistencia ni bacteriana ni fúngica. Además, la presentación de este fármaco es en aerosol, y puede ser utilizado en

úlceras por presión, acné severo y heridas que presentan una complicada cicatrización en enfermos con VIH. Para la aplicación de este producto se necesita un diagnóstico en que se indique cuál es la gravedad que presenta el paciente. Así, si las personas están en las primeras etapas, podrían tener un tratamiento de tres meses en pacientes adultos y, si son jóvenes, se necesitan hasta dos semanas en ellos. Sin embargo, si las personas están en la fase número cuatro, ya la amputación es inevitable.

La propiedad fundamental que presenta el uso de la plata en el tratamiento de heridas es el gran poder antimicrobiano, además da una buena colaboración en la cicatrización, generando una disminución en la carga bacteriana. Así se comporta como una barrera en frente del microorganismo. Se ha comparado un apósito impregnado con plata con equivalentes del mismo que el fabricante; si se utiliza Biatain Ag y se aplica en una úlcera, se llega a una reducción del diámetro de esta en la mitad del tiempo y, además, la cicatrización también es más rápida, debido a que hay una disminución de los microorganismos en el área afectada. Mientras que, si se utilizan apósitos de plata, llamados Mepilex Ag y Acticoat, se da una disminución de los signos inflamatorios y una mejora de la vascularización. (Aláez, 2015).

Vergara & Toledo (2017) realizaron la síntesis de unas nanopartículas de plata con extractos de *Aloe vera* con eficiencia en heridas, porque las nanopartículas de plata tienen un gran potencial en las aplicaciones de carácter biomédico como un agente, ya sea bactericida, fungicida, antibacterial o también cicatrizante. En el proceso común de una síntesis de nanopartículas de plata se utilizan sustancias como nitrato de plata, bromuro de sodio y bromuro de cetil trimetil amonio. Con una obtención de estas nanopartículas utilizando *Aloe vera*, lo que se desea lograr es una sustitución del nitrato de plata que el reductor por el *Aloe vera*, ya que esto es un proceso más amigable con el ambiente, debido a que se reduce el uso de sustancias contaminantes y peligrosas. Aparte de lo mencionado anteriormente, el *Aloe vera* posee características que son beneficiosas para una persona con una herida por quemadura, ya que tiene atribuciones de inflamatorias en la piel y, así también, es un buen antioxidante, que va a permitir que la nanopartícula no sufra un proceso de oxidación.

Santorum (2017) desarrolló un nuevo método de síntesis de las nanopartículas de plata, por medio de una reducción química, utilizando como reductor un extracto hidro-

etanólico al 50% de las hojas de Matico. Este es un árbol perteneciente a la familia de la pimienta (Piperaceae); tiene propiedades muy buenas y beneficiosas como cicatrización, antiinflamatoria y antibacterial. De esta forma, al utilizarlo en el método de la síntesis de estas nanopartículas, les dio la particularidad de entrar en una metodología de una química verde; o sea, amigable con el ambiente. Se utilizaron 0,5ml del extracto hidro-etanólico al 50% de matico.

Triana (2014) analizó el perfil farmacocinético de una administración de nanopartículas de plata en dos tipos de animales de laboratorio. Para el estudio de farmacocinética, se utilizaron perros de raza Beagle, y para el análisis de la distribución en órganos y la eliminación de la plata se usaron ratas de raza Wistar. Se logró concluir que los perros presentaron un tiempo de vida media de 98.5 horas, y obtuvieron una concentración máxima a las 6.5 horas, a diferencia de que las ratas de raza Wistar dieron como resultado que las nanopartículas de plata lograron atravesar la barrera hematoencefálica y, además, se encontró un daño a nivel de hígado, bazo, cerebro; por último, se determinó que las Wistar realizaron una eliminación por vía fecal.

En la revisión sistemática de Rosanova & colaboradores (2012), se indica la importancia y la amplia utilización que se les da a los diferentes agentes tópicos, para lo que es el cuidado de personas con heridas de quemaduras, con la esperanza de poder lograr una evaluación de forma comparativa entre los otros agentes tópicos, que también son utilizados para poder evitar una posible infección en la quemadura. Se determinó que varios agentes de uso tópico han sido utilizados y recomendados en personas con heridas de quemaduras. A pesar de que el uso de estos es a nivel masivo, se comprobó, con la evidencia, que previenen poco el riesgo que existe de una infección, así que se ha planteado que la sulfadiazina de plata llega a la reducción del ambiente bacteriano, pero hay poca información que demuestra que ella actúa de la mejor manera en heridas por quemadura. También, en algunos artículos se evaluó la eficacia de la miel, de la cual se logró demostrar que presentaba una revitalización más eficaz. También se evaluó la Bacitracina con neomicina como un posible tratamiento para las quemaduras; sin embargo, concluyeron que hacían falta más estudios con un número de pacientes adecuados, para poder dar fe de los beneficios de un tratamiento tópico.

Fernández (2017) estudió las múltiples aplicaciones en las que se pueden utilizar las nanopartículas de plata en el área de la biomedicina, y además el impacto que pueden tener el tamaño y la forma de la nanopartícula en la gran variedad de propiedades que presenta. Por ejemplo, poseen la propiedad de eliminar microorganismos en una herida; registró un aumento en el número de estudios sobre las nanopartículas de plata en los últimos 5 años. También se concluyó que el tamaño de la partícula está ligado de forma directa con la actividad antimicrobiana y, por último, determinó que las nanopartículas de plata son una opción para cuando el paciente es resistente a los antibióticos.

Según Minerva Sánchez (2017), en su investigación sobre “Nanopartículas de plata: preparación, caracterización y propiedades con aplicación de inocuidad de los alimentos”, habla de que:

Los usos más recientes de las AgNPs en este sector, están relacionados con el desarrollo de envases con recubrimientos antimicrobianos debido al potencial que poseen con funciones en la calidad y seguridad alimentaria. Los recubrimientos con NMs incorporados son útiles para evitar que la comida conservada en estos recipientes se contamine, con el fin de retrasar su maduración y alargar su vida útil. Esto es debido a la liberación lenta de AgNPs de la superficie revestida. Con ello se consiguen envases alimentarios dotados de propiedades antimicrobianas con menor riesgo de migraciones tóxicas al alimento. Es por ello, que estas medidas pueden reducir en gran medida la incorporación de aditivos en el propio alimento (que, aunque está regulada en cuanto a su composición y concentración, es positivo la reducción de los mismos). Las actuales investigaciones sobre ese tipo de superficies tienen por objeto conseguir sensores capaces de detectar la contaminación bacteriana y reaccionar contra ella.

Guadarrama (2013) se presenta, como objetivo principal de esta investigación, el poder estudiar y evaluar el efecto que poseen estas partículas a nivel antibacterial, en comparación con la clorhexidina sobre los microorganismos de *Streptococcus mutans* y los *Lactobacillus casei*. En esta investigación, para la obtención de las nanopartículas de plata, se utilizaron por aparte tres agentes que fueran reductores distintos, los cuales son Borohidruro de sodio, Camelia síntesis, y por último la *Heterotheca inuloides*, siendo uno de

ellos un método químico y dos de ellos amigables con el ambiente. Para poder caracterizar estas partículas sintetizadas, se realizó un barrido mediante microscopía electrónica de barrido y luego, para saber el tamaño y las dimensiones, se analizaron por espectroscopia de luz visibles ultravioleta. Por último, se hizo un análisis de carácter microbiológico mediante el aislamiento y el cultivo de cepas *S. mutans* y *L. casei* que son introducidas en cajas Petri a diferentes concentraciones de nanopartículas de plata. Y se concluyó que la síntesis con *Heterotheca inuloides* presentó nanopartículas de plata más pequeñas, estables y una cantidad más abundante.

Según Morales, Morán, Quintana & Estrada (2009), en la “Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta sol-gel a partir de nitrato de plata”:

Se sintetizaron coloides de nanopartículas de plata por el método sol-gel, a partir de la reducción de nitrato de plata, de fabricación nacional, por etilenglicol en un proceso denominado polirol. Se controló el crecimiento de las nanopartículas mediante la estabilización estérica del coloide por medio de la polivinil pirrolidona (PVP, $M = 40\ 000$). Las nanopartículas de plata obtenidas varían en tamaño y estructura dependiendo del control de parámetros tales como la relación de concentraciones molares entre el nitrato de plata y el PVP, la temperatura de la reacción y el tiempo de reflujo. A determinados tiempos de reflujo, se analizaron las muestras con medidas de espectrofotometría UV-vis en el rango entre 300-1000 nm. Los resultados muestran que entre 400-450 nm se forma el típico pico de la resonancia de plasmon superficial, el cual indica la formación de las nanopartículas de plata. Mediante la microscopia electrónica por transmisión (TEM) se observó la presencia de nanopartículas de plata de forma esférica con tamaños entre 20-40 nm. Por la técnica de difracción de electrones se confirmó que los coloides sintetizados contienen plata metálica nanopartícula con una estructura cubica de caras centradas FCC.

Según Lara (2010), en su estudio sobre “Interacción de VIH-1 con nanopartículas de plata npp”, habla sobre la importancia que tienen las nanopartículas en el campo biomolecular y también a nivel de la eliminación de los microorganismos, ya que este es un campo importante en la investigación en proceso de crecimiento. El resultado de un

crecimiento a la resistencia a los antirretrovirales da a saber que es un tema importante de solucionar, con el descubrimiento de nuevos biocidas que posean es espectro más amplio. En el área de la nanobiotecnología, ha sido poco estudiada la función que tienen las nanopartículas metálicas como la plata sobre el virus de VIH-1; por eso, en este trabajo, para conocer el mecanismo de las nanopartículas de plata en el VIH-1, se utilizó un panel de variados ensayos a nivel in vitro, que incluyen: 1) Citotoxicidad CC50, 2) Inhibición de la absorción viral, 3) Ensayo de células fotogénicas, entre otras. Los resultados que obtuvieron fueron que las nanopartículas de plata actual, en la etapa temprana del ciclo replicativo del virus del VIH-1. Además, estas nanopartículas de plata hacen una inhibición en otras etapas luego de que el virus entra a la célula huésped.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

Piel

La piel, que también es conocida como la membrana cutánea, forma parte del sistema tegumentario; además, incluye los derivados, los cuales son las uñas, el pelo y las glándulas subcutáneas. La piel se puede definir como un órgano más del cuerpo, siendo esta el órgano más grande que posee el ser humano. Este órgano está conformado por varios tejidos, los cuales se encuentran unidos para desempeñar funciones específicas. Como se mencionó anteriormente, la piel es el órgano más grande del cuerpo, presentando un área superficial y un peso superior a cualquier órgano. En un adulto promedio, este tegumento puede recubrir un área hasta de 2m^2 y lograr un peso hasta de unos 4,5-5 Kg, y así un grosor que puede andar entre los 0,5-5mm, dependiendo del lugar del cuerpo, ya que hay partes del cuerpo que poseen una capa de piel más gruesa que otras. La piel, además de recubrir la superficie del cuerpo, también se encarga de otras funciones adicionales, que son muy importantes y esenciales para el humano, como, por ejemplo, de protección. (Colegio Oficial de Enfermas Barcelona, 2012, p. 2).

- **Historia de la piel**

Cinco mil años a. de C., los asirios, babilonios y sumerios tenían una costumbre de sacarles los demonios a las personas que los tenían en la piel mediante la aplicación del lodo, ungüentos y platas; ellos solían utilizar el aceite de castor, anís, belladona, canela, cardamomo, mirra, sacra, mostaza, entre otras más. En el Papiro de Ebers ya se da la aparición del Aloe vera, para múltiples enfermedades de la piel. (González & Bravo, 2017).

Los egipcios también hacían utilidad de minerales y plantas para que los ojos tomaran una apariencia más grande y brillante. También ellos decoraban la piel de los párpados utilizando malaquita (Cu), Galena (PbS), que poseían trazas de antimonio y luego, sobre la cara, aplicaban una mezcla de polvos hecha a base de inciensos, cera de abeja, aceite de oliva, resina de ciprés y leche. (González *et al.*, 2017).

El término cosmético proviene del griego kosmetos; esto lo que define en un orden adecuado, adorno u ornamento. Los griegos mandaron reglas para la belleza; por ejemplo, la Venus de Milo era todo un ícono conocedor del culto de cuerpo; se depilaba toda la piel de todo el cuerpo, como un signo de juventud y, al caer la noche, era necesario aplicar sobre la piel un ungüento a base de resina de ciprés, cedro e incienso. Los griegos trataban la piel de la cara con acetato de plomo y cinabrio (Hg); aplicaban un perfume de agua de rosas y esencias orientales. Dioscórides llamaba al romero como Libanotis coronaria, y mencionaba que esta planta presentaba propiedades de uso externo, para tonificar la piel del cuerpo fatigado. (González *et al.*, 2017).

En Roma se dio mucha popularidad del Higo después de la conquista de Cartago, donde realizaron una mezcla de banano con avena y agua de rosas, obteniendo una crema facial. Los romanos utilizaban el aceite de oliva para limpiar la piel de todo el cuerpo en general y para combatir las arrugas. Luego utilizaban el plomo de color blanco, conocido como cerusa, para blanquear la piel de la cara, y cuando querían agregar color a la piel, lo combinaban con plomo rojo. (González *et al.*, 2017).

Las grandes industrias, que manejan muchas influencias a nivel de cosmetología, fueron fundadas por científicos farmacéuticos y químicos en los Estados Unidos y también en Francia. Luego de la Primera Guerra Mundial, se puso muy de moda que las personas presentasen un aspecto físico estilo atlético y también tener ojos oscuros, el labial color rojo, tener la uñas con esmalte rojo y la piel con un bronceado. Esta moda fue impuesta por Coco Chanel, como una especie de contrapunto al hábito de tener una tez blanca. (González *et al.*, 2017).

- **Anatomía de la piel**

La piel es un órgano fundamental que es totalmente indispensable para la vida. Esta consta de tres diferentes partes, las cuales son:

- **Epidermis**

Esta es la capa de la piel que se encuentra más superficial, y la cual está en contacto con el exterior; posee un epitelio poliestratificado. Esta capa posee un grosor en los párpados superior de 0,4mm, 1,5 mm en las palmas de las manos, conformado aproximadamente por

cuatro capas, y en ella se pueden encontrar cuatro tipos de células diferentes, las cuales son: los queratinocitos, los melanocitos, las células de Langerhans y, por último, las células de Merkel. (Buendía *et al.*, 2018).

- **Queratinocitos**

Estas células se pueden localizar en la parte de la capa basan, conformando una sola hilera celular, y presentan una figura de cubo, adquiriendo un núcleo con figura ovalada; en este se destaca un gran número de cromatina, y puede ser de uno o dos núcleos de forma esférica, que se encuentran bastante lejos de la membrana celular, y también un citoplasma con mitocondrias de gran tamaño, aparato de Golgi, ribosomas, tonofibrillas y una buena cantidad de retículo endoplasmático liso y también rugoso. Al rodear por completo la célula, están unidos por los desmosomas que, de igual manera, poseen en las células que se encuentran en las capas superiores, donde se introducen los tonofilamentos de queratina. Mientras tanto, en la parte de la base se encuentran reposando en la membrana basal las hemidesmosomas, que se ocupan como elementos para hacer una unión de epidermis y dérmis. Se da una multiplicación por medio de mitosis, guiándose por un medio de un ritmo circadiano, el cual se aumentó durante la noche. Acorde con el ascenso, se va a ir dando un cambio en la morfología. (Buendía *et al.*, 2018).

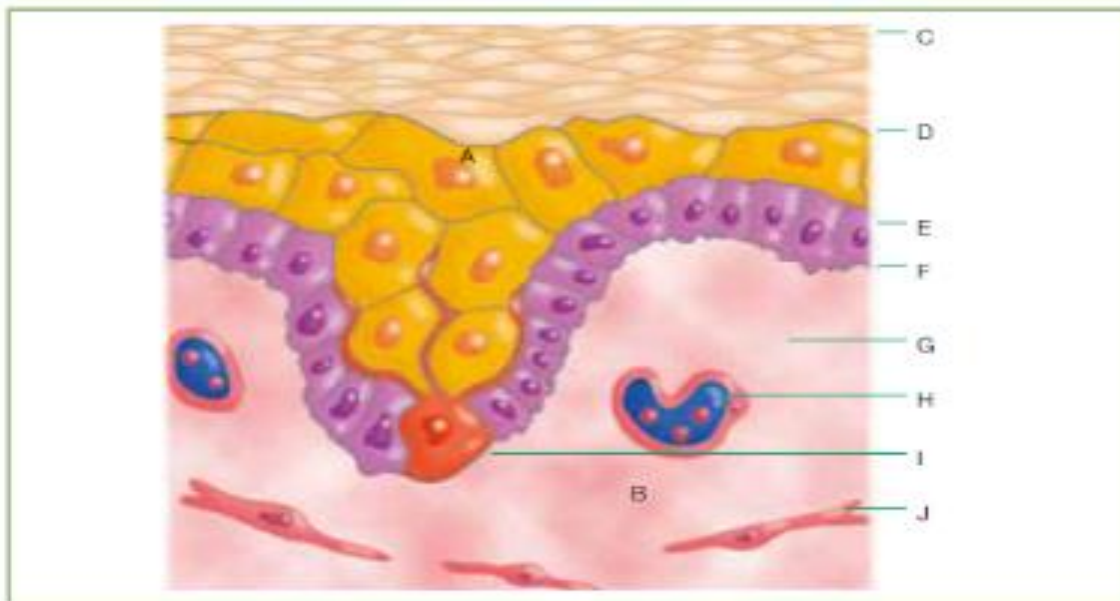
Los queratinocitos presentan también una organización en forma de capas o también conocidos como estratos, ordenados de la capa más superficial a la capa más interna, y estas son:

- Estrato córneo (véase la figura 2).
- Estrato lúcido.
- Estrato granuloso.
- Estrato espinoso (véase la figura 2).
- Estrato basal (véase la figura 2).

La capa conocida como *córnea* está conformada por células que no poseen núcleo; por esta razón, de los colorantes comunes como la hematoxilina y la eosina, solo la segunda logra teñirlo. El grosor de esta capa va a variar de acuerdo con el área del cuerpo donde se

encuentre; por ejemplo, en las partes de plantas y las palmas el grosor es mayor. Luego de la capa córnea viene el estrato *lúcido*; esta capa presenta una característica de línea que está intensamente eosinófila, y se encuentra presente por debajo de la primera capa (capa córnea) y esta se puede identificar por estar presente en las capas más gruesas. Seguida de esta capa está la *granulosa*, la cual está conformada por células con la forma de rombo que tienen gránulos de queratohialina; por esta razón es que se le dio este nombre a este estrato; esta capa logra ser teñida por hematoxilina; el grosor de esta capa depende de la capa córnea. La cuarta capa *espinosa*, o también conocida como Malpighiano, está formada por células de forma poligonales, que tienen un medio de unión entre ellas y, a su vez, con las que se encuentra adyacentes a ellas. La cantidad de estas células también va a depender del área del cuerpo donde se encuentre, pero generalmente puede ser de 5 a 7 hileras, las cuales pueden teñir poco con la hematoxilina. Y, por último, está la capa más profunda, llamada *basal*, *germinal* o *germinativa*, conformada por células de forma cilíndrica, las cuales se colocan en forma de hilera; en este estrato se puede encontrar melanina, la cual se sabe que es el pigmento natural de piel. (Navarrete, 2003).

Figura 1. Esquema de la localización de los melanocitos en la capa basal de la epidermis. A. Epidermis. B. Dermis. C. Capa córnea. D. Capa espinosa. E. Capa basal. F. Membrana basal. G. Dermis papilar. H. Vaso sanguíneo arterial. I. Melanocito. J. Fibrocitos



Fuente: Navarrete, 2003.

- **Melanocitos**

Estas son células dendríticas que se derivan de los conocidos melanoblastos, que son los precursores derivados de la creta neural, los cuales poseen la función de realizar la síntesis de melanina, encargada de darles color a la piel, los vellos y los ojos. Estas células se localizan entre los queratinocitos de la capa basal, de los que se diferencian por no poseer desmosomas y tonofilamentos, y con los que tienden a interactuar por medio de las células de adhesión celular llamadas las Cadherinas. Tienen prolongaciones citoplasmáticas detriticas y un citoplasma bastante extenso de apariencia clara; por esta razón son conocidas como células claras de Masson. (Buendía *et al.*, 2018).

- **Células de Langerhans**

Lo mencionado previamente describe las células que conforman las epidermis; las células de Langerhans también son parte de esta área de la piel. Así, Buendía & colaboradores (2018) mencionan que estas células:

Son células dendríticas y sin desmosomas ni tonofilamentos, como los melanocitos, aunque a diferencia de estos no producen tirosinasa y se tiñen con cloruro de oro. Se localizan en las capas suprabasales epidérmicas, pero también pueden encontrarse en la dermis y pueden identificarse con técnicas inmunohistoquímicas que detectan la proteína S-100, al igual que los melanocitos, HLA-DR y CD1a. Gracias a su reactividad con los anticuerpos monoclonales OKT6, se ha podido demostrar que su número varía dependiendo de la zona observada y del individuo biopsiado, siendo, en general, menos frecuentes en el tronco que en las extremidades. Al microscopio electrónico muestran un núcleo lobulado y un citoplasma claro donde se observan los característicos gránulos en forma de «raqueta de tenis», llamados de gránulos de Langerhans-Birbeck, que se originan desde la membrana celular e intervienen en el proceso de endocitosis. Estos gránulos son subestructuras del compartimento reciclante endosómico donde se acumula la langerina, que es una lectina de superficie celular que tiene una especificidad de unión con la manosa. También pueden observarse gránulos de melanina que les han sido inyectados, como a los

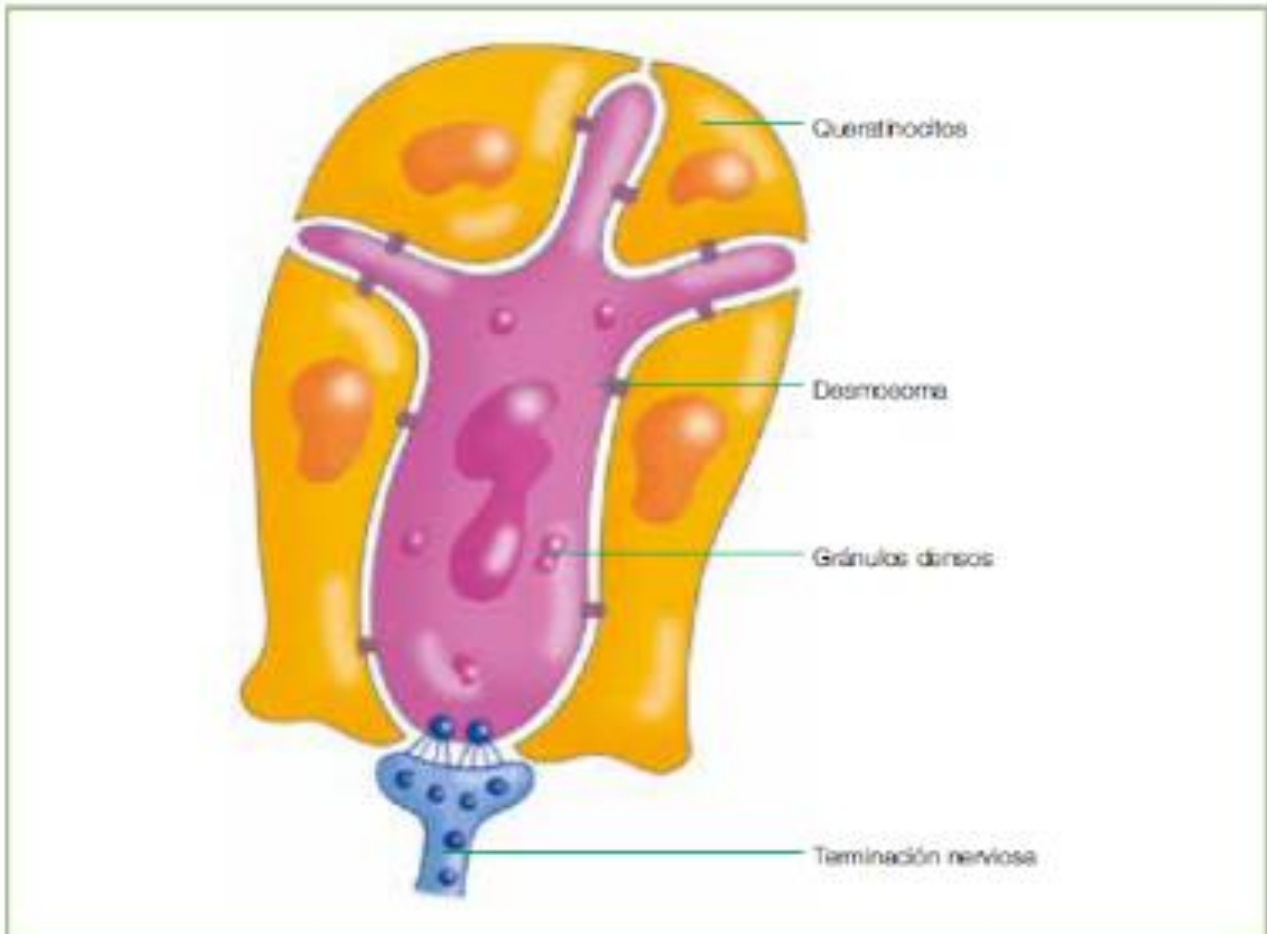
queratinocitos, desde los melanocitos. Igual caso. Solo tengo duda con el margen derecho.

- **Células de Merkel**

Estas células se localizan en la capa basal de la epidermis, fundamentalmente en las yemas de los dedos, en la mucosa de boca, y la de la boca y otro lugar es la vaina epitelial externa de los folículos pilosos. Las células de Merkel presentan características endocrinas y epiteliales. Estas poseen un origen neural, que proviene de la cresta neural. (Buendía *et al.*, 2018)

Estas células presentan una relación con la invasión de los mielínicos; al acercarse cada vez a la epidermis, pierden su vaina de mielina, continuando como los axones amielínicos que terminan cumpliendo la función de sinapsis química. Aún hay existencia de gran variedad de dudas sobre las funciones que desempeña las células de Merkel; sin embargo, parece estar claro que se comportarían como mecanorreceptores que se adaptan lentamente, estando en contacto cercano con las fibras nerviosas amielínicas, formando los discos táctiles de la epidermis, a pesar de que la gran cantidad de péptidos que se sintetizan y liberan hacen que se comuniquen con las otras células diferentes a las neuronas, y que pueden lograr una intervención de la fisiología. (Buendía *et al.*, 2018).

Figura 2. Representación de la célula de Merkel



Fuente: Buendía *et al.*, 2018.

➤ Dermis

Como anteriormente se ha hecho una descripción de cada parte de la piel como la epidermis y sus partes, ahora Navarrete (2003), en “La Histología de la piel” habla sobre que:

La dermis está situada por debajo de la epidermis y está constituida por tejido conectivo, sustancia fundamental y células. El tejido conectivo a su vez está formado por tres tipos de fibras: Colágenas, elásticas y reticulares.

Es la capa que sirve de sostén a la epidermis, a la que aporta sus nutrientes, y que contiene los anejos y las estructuras vasculonerviosas. Es una fascia superficial de tejido conjuntivo compuesta por células, fibras y sustancia fundamental, que tiene diferente textura según zonas del cuerpo y edad de la persona, variando su grosor

desde 1 mm en los párpados hasta los 5 mm en la espalda. Es de 15 a 40 veces más gruesa que la epidermis.

Las fibras colágenas son las más numerosas; la disposición y el grosor de las mismas varía de acuerdo con el nivel en que se encuentran: en la dermis superficial o papilar son fibras delgadas, a diferencia de la dermis media y profunda, donde son más gruesas y se disponen en haces casi paralelos a la superficie de la epidermis.

Las fibras elásticas se observan con tinciones especiales de orceína o resorcina-fucsina; son fibras delgadas de 1 a 3 micras de diámetro; el grosor, al igual que el de la colágena, varía de acuerdo con el nivel en que se encuentran: delgadas en dermis superficial y gruesas en dermis profunda. En la dermis papilar configuran un plexo: son las fibras de elauina y de oxitalán.

Las fibras reticulares también requieren de tinciones especiales para su observación. Miden de 0.2-1 micra de diámetro; son un tipo especial de fibra colágena de tipo III. La sustancia fundamental de la dermis contiene glucosaminoglicanos o mucopolisacáridos ácidos.

- **Funciones de la dermis**

La dermis presenta varias funciones; una de ellas es la protección, debido a que el tejido conjuntivo propone instrumento de defensa de segunda línea para los traumatismos. Por lo mencionado anteriormente, la protección es de las principales funciones que presenta esta capa. Cuando sobre la epidermis se aplica una fuerza, esta se encarga de transmitirle a la dermis que está superficial, y el gel fluido que la conforma la disipa, haciendo que no sea fácil de romper la cohesión de la epidermis y, aparte de esto, la estructura de la dermis reticular colabora en hacerla más resistente a los golpes. Una segunda función de la dermis es la de soporte. La tercera y última función de esta capa es la de almacenamiento, la cual es debido a que da este almacenamiento no solo al sistema vascular, sino también a la sustancia fundamental. (Buendía *et al.*, 2018).

➤ **Hipodermis**

La última capa de la piel, que también es conocida como tejido subcutáneo, es definida, por Merino y Noriega (2016), como:

La dermis se integra con la capa de tejido subcutáneo no teniendo un límite definido. Esta capa está formada de tejido conectivo laxo y muchas de sus fibras se fijan a las de la dermis, formando franjas de anclaje, fijando así la piel a las estructuras subyacentes (fascia, periostio o pericondrio). Si estas franjas de retención están poco desarrolladas, la piel se mueve en su sustrato formando plegamientos. Si están muy desarrolladas o son muy numerosas, como es el caso de la planta de los pies o del cuero cabelludo, la piel es casi inamovible. El espesor de la hipodermis es muy variable dependiendo de la localización, el peso corporal, el sexo o la edad. Está formada por tejido adiposo (de ahí las denominaciones de grasa subcutánea o panículo adiposo) que forma lobulillos separados por tabiques de tejido conectivo, continuación del conectivo de la dermis reticular y por donde discurren vasos y nervios. El tejido subcutáneo sirve de almacén de energía, además de aislante térmico y de protector mecánico frente a golpes.

• **Funciones de la piel**

La función de la piel depende de su situación única entre el "entorno" y el "interior". Sus funciones principales de protección y comunicación se realizan tanto respecto del exterior como del interior.

➤ **Funciones protectoras de la piel.**

1. La defensa contra los virus, bacterias y hasta los hongos: debido a que la superficie de la piel tiene carácter antimicrobiano, la capa conocida como estrato córneo tiene una barrera contra los patógenos. Cuando aquí se produce una lesión que representa una puerta de entrada para los microorganismos, comienza una reacción de defensa para la piel en forma de una inflamación en el área afectada. (Palomino, 2001).

2. Defensa contra los estímulos nocivos mecánicos: las características beneficiosas biológicas mecánicas de la piel conforman una barrera contra las heridas.
3. Defensa frente a estímulos de carácter nocivo-térmicos: en este caso la piel presenta la función de ser una barrera aislante, especialmente la capa hipodérmica. La circulación sanguínea y la secreción de las glándulas sudoríparas permite tener una termorregulación reactiva. (Palomino, 2001).
4. Defensa frente a las radiaciones nocivas: la piel refleja y absorbe la luz. Después de la reflexión y la absorción de la luz en la película superficial y en la capa córnea, se produce la absorción de los rayos que hayan penetrado por la melanina. No obstante, los daños celulares (de los ácidos nucleicos) por la radiación se evitan por los mecanismos de reparación enzimáticos. (Palomino, 2001).
5. Defensa frente a estímulos nocivos químicos: la piel posee capacidad de tampón en la película superficial cutánea, y es una "barrera a la penetración" por el estrato córneo. (Palomino, 2001).

- **Barrera respecto al mundo interior**

La piel no permite que se dé un intercambio que no esté controlado por sustancias entre el cuerpo y el entorno que lo rodea; esto termina por resultar esencialmente para lograr una homeostasis interna. Cuando se da la formación de lesiones o defectos, existe el riesgo de pérdida de líquido, electrolitos y de proteínas, con las consiguientes variaciones del metabolismo o la pérdida de sangre. (Palomino, 2001).

- **Función sensitiva**

La piel presenta receptores con carácter sensitivo, que están distribuidos en toda la superficie, lo que le permite hacer el reconocimiento del medio ambiente y, además, de la defensa ante los peligros. Los estímulos correctos van a causar las sensaciones de tacto, presión, temperatura, dolor y, además, permiten identificar la intensidad y la procedencia del estímulo, ya sea por medio de una palpación de un tumor cutáneo, una picadura de un insecto, agua demasiado caliente, entre otras cosas. Los estímulos pueden provocar una desencadenación de reacciones motoras voluntarias o también involuntarias reflejas. (Palomino, 2001).

- **Función de comunicación y expresión**

La piel, como órgano superficial, desempeña un papel esencial en la comunicación psicosocial, sobre todo a nivel facial. Su aspecto sería valorado para obtener conclusiones acerca de su edad, estado anímico, carácter ("la piel como espejo del alma"), pero también para descartar posibles enfermedades internas ("la piel como espejo de las enfermedades internas"). El estado y el aspecto de la piel determinan también, en gran medida, la propia imagen de uno mismo, y por eso se manipulan de modo voluntario. Por tanto, la piel normal y patológica tiene una importante dimensión psicosocial. (Palomino, 2001).

- **Función metabólica y de reserva**

La piel tiene la capacidad de acumular agua en forma de edema y desecarse por medio de una pérdida de agua, conocida como exicosis. Cuando se da una sobrealimentación, se puede dar una acumulación de un exceso de grasa en la piel, la cual se llama adiposidad, mientras que en la desnutrición se pierde este tipo de depósito. A nivel metabólico se resalta la síntesis fotoquímica de la vitamina D; en el caso de una ausencia de luz proveniente del sol puede provocar un raquitismo. En los humanos, aproximadamente el 90% de la vitamina D se deriva de la piel, y solo un 10% de los alimentos que se consumen. (Palomino,2001).

- **Órgano con alta complejidad inmunológica**

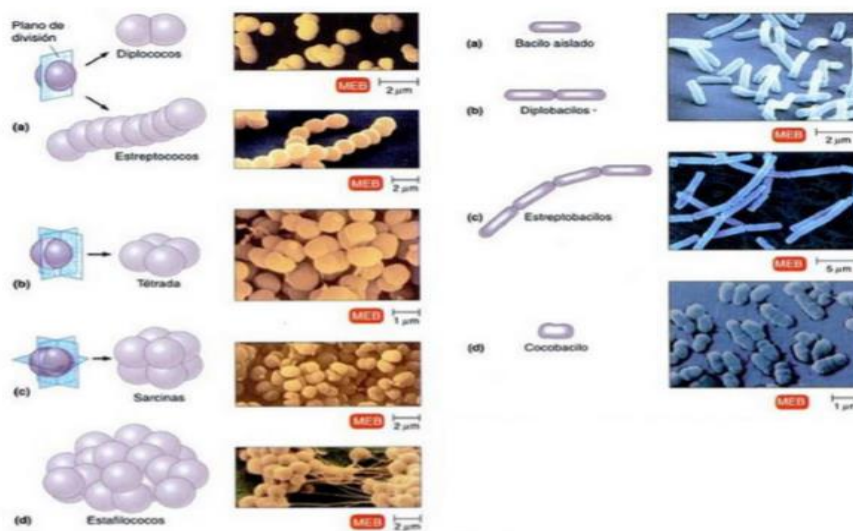
Participa en la vigilancia inmunológica. Dado que sus células: queratinocitos, linfocitos, fibroblastos, melanocitos y células de Langerhans, entre otras, sintetizan numerosas sustancias inmunológicamente activas, intervienen a modo de portero inmunológico en el reconocimiento y la internalización de antígenos, autorregulan el crecimiento y la diferenciación de sus componentes celulares, participan activamente en el tráfico linfocitario, y es uno de los órganos diana, en los intrincados mecanismos de la inflamación. Las sustancias inmunológicamente activas son interleuquinas, factores transformadores de crecimiento, factores estimuladores de colonias, interferones y citolisinas. (Palomino, 2001).

- **Bacterias que afectan la piel**

Las bacterias son microorganismos con una sola célula, por lo que son relativamente simples, de tamaños y formas muy variables, donde la mayoría miden entre 0,2-2 micrómetros de diámetro y de 2 a 8 micrómetros de largo. Dado que su material genético no está encerrado por una membrana nuclear especial, es por ello que estas células se denominan procariotas. Estas células suelen presentar diversas formas; dentro de ellas están las que poseen formas de bastón y se llaman bacilos, y las de forma esférica u ovalada se conocen como cocos.

Además, los cocos pueden ser elongados o con uso de sus lados planos; también existen los diplococos, los cuales se encuentran unidos en pares después de su división, y por otro lado se encuentran los estreptococos, que forman cadenas de bacterias posteriores a su división; así mismo, existe división de cocos en dos planos denominados tétradas, en tres planos llamados sarcinas y en planos múltiples formando racimos de uvas, que se les conoce como estafilococos. (Tortora *et al.*, 2007).

Figura 3. Conformación estructural de las bacterias



Fuente: Tortora *et al.*, 2007.

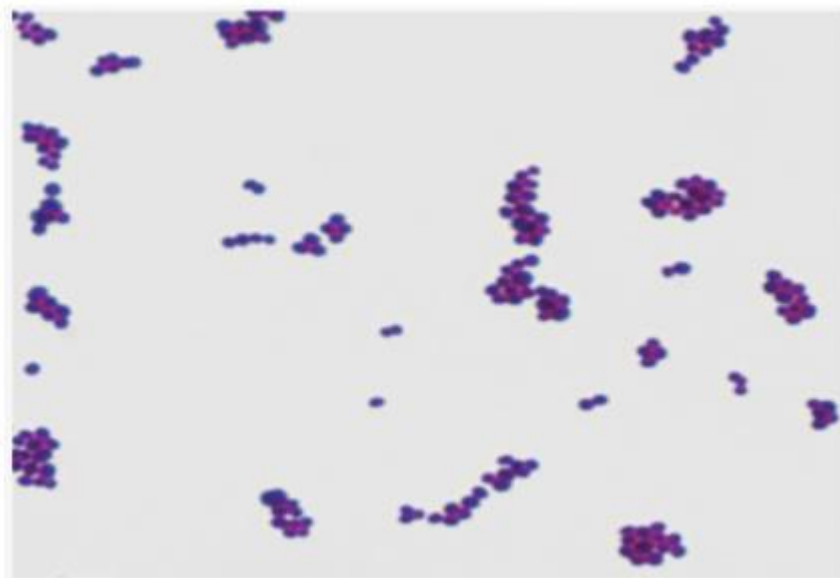
➤ **Staphylococcus aureus**

El género *Staphylococcus* procede del griego staphylé, “racimo de uvas”, el cual hace referencia a que las células de estos cocos se van a desarrollar en un patrón que recuerda a

un racimo de uvas. La mayor parte de los estafilococos presentan un diámetro entre 0,5-1 μm y son anaerobios facultativos, inmóviles, y son capaces de crecer en un medio, el cual presente una elevada concentración de sal y a unas temperaturas de hasta 40 °C. (Murray *et al.*, 2008).

Las colonias de *S. aureus* son de color doradas, debido a los pigmentos carotenoides formados durante su crecimiento; de ahí se debe el nombre dado a la especie. Cuando se suspende una colonia de *S. aureus* en un tubo con plasma, la coagulasa logra unirse a un factor sérico, y el complejo va a convertir el fibrinógeno en fibrina, dando como resultado la formación de un coágulo. Como el resto de las especies estafilocócicas no tienen la capacidad de producir coagulasa, se les conoce como coagulasa negativa. (Murray *et al.*, 2008).

Figura 4. Microscopía de la Tinción de Gram de *Staphylococcus aureus*



Fuente: Carroll *et al.*, 2016.

- **Características de cultivo e identificación de *Staphylococcus aureus***

Rojas (2017) describe que el *S. aureus* posee dos componentes en la pared celular: ácido lipoproteico, el cual juega un papel en la adherencia, mientras que la parte covalente del peptidoglicano se une a las proteínas con función de adhesinas. La mayoría de los estafilococos produce catalasa (enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua

y oxígeno libre), característica que se utiliza para diferenciar el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*, que son catalasa negativa.

Además, Carroll & colaboradores (2016) establecen que el cultivo de los estafilococos es de rápido crecimiento en casi todos los medios bacteriológicos bajo condiciones aerobias o microaerofílicas. Se desarrollan con más rapidez a una temperatura de 37 °C.

Para el aislamiento selectivo de *Staphylococcus aureus* se emplea el agar sal manitol, que contiene una concentración de cloruro sódico del 7.5%, el cual es el agente activo del medio, e inhibe parcial o completamente a los organismos bacterianos diferentes de los estafilococos.

Los estafilococos coagulasa (+) (*Staphylococcus aureus*) producen colonias de color amarillo y un medio circundante de ese mismo color, mientras que los estafilococos negativos a la coagulasa producen colonias de color rojo, y no provocan cambios en el color del indicador rojo fenol. (Zendejas *et al.*, 2014).

Para la identificación de *Staphylococcus aureus*, Zendejas & colaboradores (2014) describen que es necesario utilizar pruebas bioquímicas y medios de cultivo específicos que permitan su fácil determinación, dentro de los cuales se encuentran agar Baird-Parker, sal manitol.

- Agar Baird-Parker: es un medio moderadamente selectivo para *Staphylococcus aureus*, el cual se compone de piruvato sódico, que favorece la recuperación de bacterias lesionadas; además, posee compuestos como telurito, cloruro de litio y glicina, que enriquecen el medio para su crecimiento; este se expresa con un aspecto negro y un halo transparente, debido a la actividad lipolítica.
- Agar estafilococos N° 110: es un medio sumamente selectivo para el aislamiento de estafilococos patógenos a partir de muestras clínicas y no clínicas; este método se basa en la fermentación de manitol para la formación de una pigmentación característica de color amarillento.

- Agar DNAsa: es utilizado para la identificación de estafilococos potencialmente patógenos, debido a que manifiesta actividad desoxirribonucleasa, lo que es indicador de su patogenicidad; así mismo, la aparición de halos transparentes alrededor de la zona de crecimiento indica la presencia de enzimas que hidrolizan el ADN.

En cuanto a las pruebas bioquímicas, se encuentra la catalasa, que consiste en la capacidad de la bacteria de producir la enzima catalasa, encargada de convertir el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno; esto funciona como mecanismo de defensa ante células fagocíticas del cuerpo humano. Se dice que la prueba es positiva cuando se da la liberación de burbujas, que es la reacción característica antes mencionada.

Por otra parte, se tiene que la prueba denominada coagulasa es utilizada para diferenciar y determinar las distintas especies de estafilococos; el *Staphylococcus aureus* tiene la capacidad de coagular dicha enzima, lo que lo hace un factor característico y específico para su reconocimiento. La principal función de esta enzima es unirse al fibrinógeno y formar fibrina insoluble, lo cual tiende a formar depósitos donde las bacterias pueden agregarse.

- **Infección por *Staphylococcus aureus***

Una infección causada a nivel tópico por *Staphylococcus aureus* aporta características como un “grano”, infección del folículo piloso o absceso. Suele haber una reacción inflamatoria intensa, circunscrita y dolorosa que supura del centro y que cicatriza con rapidez cuando se drena el pus.

Aunado a esto, en el Manual Merck Sharp & Dohme (MSD), en su versión para profesionales de la Salud (2017), publican “Infecciones por estafilococos”, donde describen que:

Las infecciones de la piel son la forma más común de enfermedad por estafilococos. Las infecciones superficiales pueden ser difusas, con pústulas vesiculosas y formación de costras (impétigo), o a veces celulitis o abscesos focales con abscesos nodulares (forúnculos y ántrax). Son comunes los

abscesos cutáneos profundos. Pueden producirse infecciones cutáneas necrosantes graves.

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

La *Pseudomonas* tiene una amplia distribución en el suelo, el agua, las plantas y los animales; a menudo está presente en pequeñas cantidades en el microbiota intestinal normal y en la piel del ser humano, y es el principal microorganismo patógeno del grupo.

- Características de *Pseudomonas aeruginosa*

Se dice que se distribuye de manera amplia en la naturaleza y suele encontrarse en medios húmedos en los hospitales; puede colonizar al ser humano normal, en quien es un saprófito; causa enfermedades en personas con defensas afectadas. Además, es una bacteria móvil, con forma de bastón, mide casi $0.6 \times 2 \mu\text{m}$, gramnegativa y se observa como bacteria individual, en pares y, a veces, en cadenas cortas. (Carroll *et al.*, 2016).

Aunado a esto, Fragozo & Villalobos (2016) mencionan que las *pseudomonas* son oxidasas positivas y que tienen la capacidad de crecer a temperaturas de 37 a 42 °C; su facilidad de crecimiento en varios tipos de medios de cultivo permite observar colonias redondeadas, lisas y con un color característico a uva, y se aprecia un color verde-azulado. Dicho color se debe a la producción de compuestos, como piocianina, que ocasiona un color azul, la pioverdina un color verde; algunas cepas pueden producir otros pigmentos como piorrubina, que se expresa visualmente de un color rojo oscuro, y la piomelanina, que se observa de color negro.

Este mismo autor describe que otra característica microbiológica de las *pseudomonas* es la producción de un polisacárido extracelular conocido como alginato; la formación excesiva de esta sustancia da lugar a la formación de una colonia de fenotipo mucoide, la cual ha sido aislada en pacientes con fibrosis quística y otras infecciones crónicas.

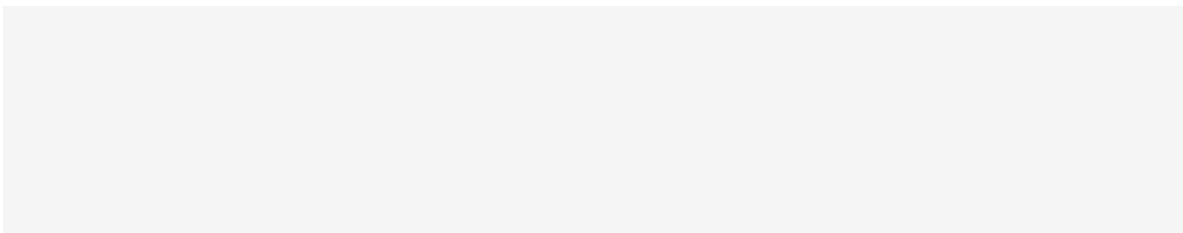
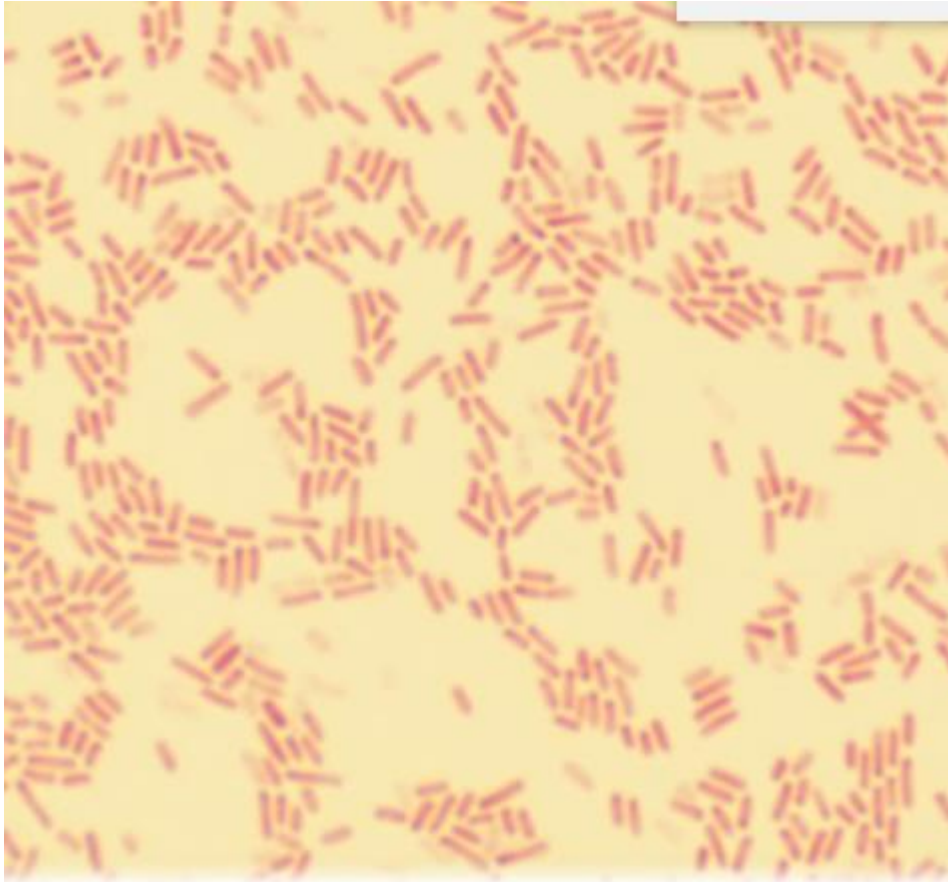


Figura 5. Tinción de Gram de *Pseudomonas aeruginosa*



Fuente: Carroll *et al.*, 2016.

- **Cultivo e identificación de *Pseudomonas aeruginosa***

Carroll *et al.* (2016) mencionan que la *Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo aerobio obligado, por lo que se multiplica con facilidad en muchos tipos de medios de cultivo; produce en ocasiones un olor dulce o parecido al de las uvas o a la tortilla de maíz; algunas cepas originan hemólisis.

Guzmán (2016) describe que ante una posible infección por *Pseudomonas aeruginosa* se debe tomar una muestra y llevar a un medio de cultivo adecuado, como el agar sangre, donde esta bacteria va a producir una β -hemólisis y provoca un olor característico a uvas. También cita que en el agar MacConkey se puede apreciar un gran crecimiento de colonias

pálidas con la presencia de un pigmento verdoso. Algunas pruebas usadas son las de oxidasa y ureasa, donde ambos resultados deben ser positivos.

- **Infección por *Pseudomonas aeruginosa***

El Manual MSD cita, en su publicación “Infecciones por *Pseudomonas* y patógenos relacionados”, que la mayoría de las infecciones por *P. aeruginosa* se producen en pacientes internados, en especial los debilitados o inmunocomprometidos. La *P. aeruginosa* es una causa frecuente de infecciones en las unidades de cuidados intensivos. Los pacientes infectados por HIV, especialmente los que están en etapas avanzadas, y los pacientes con fibrosis quística, tienen riesgo de adquirir infecciones por *P. aeruginosa* extrahospitalaria.

Además, describe que las infecciones por *pseudomonas* pueden aparecer en muchos sitios anatómicos, entre ellos la piel, los tejidos subcutáneos, el hueso, los oídos, los ojos, las vías urinarias, los pulmones y las válvulas cardíacas. El sitio afectado varía según la puerta de entrada y la susceptibilidad del paciente. Por lo general las afectaciones en piel se presentan en pacientes quemados, donde las bacterias se acumulan debajo de la cicatrización de la herida, pudiendo ocasionar una bacteriemia; otras zonas donde suele invadir esta bacteria son heridas punzantes profundas en los pies, lo que puede conllevar a la formación de fístulas, celulitis y osteomielitis; el líquido drenado de estas heridas suele tener un aroma dulce y frutal.

Otro tipo de patología ocasionada por esta bacteria es la foliculitis, adquirida en tinas de baño, producida por el mal tratamiento químico del agua; las manifestaciones clínicas más relevantes son dolor leve, prurito e irritación; también la presencia de una pústula superficial. La ectima gangrenosa es una lesión causada por *Pseudomonas aeruginosa*, y se caracteriza por el desarrollo de áreas eritematosas con úlceras centrales de color púrpura negruzco y de aproximadamente 1 centímetro de diámetro; por lo general se localizan en zonas inguinales, axilares o anogenital. Esta ectima ocurre típicamente en pacientes con bacteriemia producida por *P. aeruginosa* (Manual MSD: Infecciones por *Pseudomonas* y patógenos relacionados, 2016).

Adicional a las infecciones a nivel de piel, esta bacteria también afecta las vías aéreas, urinarias, y en ocasiones es capaz de causar endocarditis bacteriana; se dice que la principal causa de afectación aérea es asociada al respirador, lo que ocasiona una neumonía en el

paciente. En personas con fibrosis quística es común que la *P. aeruginosa* desarrolle un cuadro de bronquitis.

➤ ***Escherichia coli***

Escherichia coli es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, tribu Escherichia; esta bacteria coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento, y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño, produciendo diferentes cuadros clínicos, entre ellos diarrea. (Rodríguez, 2002).

- **Aislamiento, identificación y caracterización de *E. coli* patógena**

Se aplican métodos tradicionales, métodos in vivo e in vitro y de biología molecular.

El método tradicional es el aislamiento de la bacteria, tomada directamente de materia fecal o con hisopo rectal. Después se siembra con la punta del hisopo en la parte superior de una placa de agar Mac Conkey u otro medio selectivo y, con un asa redonda de nicromel, se continúa el aislamiento, sembrando por estría cruzada; después se incuba a 37 °C durante 18-24 h. Posteriormente, se seleccionan de 5 a 10 colonias típicas de *E. coli* lactosa positivas. En muestras provenientes de casos de diarrea con sangre, se deben seleccionar también cepas lactosa negativa que pudieran ser EIEC. (Rodríguez, G. 2002).

La caracterización y clasificación de cepas patógenas de *E. coli* se pueden hacer con métodos de biología molecular, una de las herramientas de diagnóstico más recientes; tal es el caso del uso de sondas para la hibridación en fase sólida, como es el “colony blot”. Las sondas son fragmentos pequeños de DNA que contienen parte de los genes que codifican para algún factor de virulencia, y pueden estar marcadas radioactivamente con ³²P o no radiactivamente con biotina o digoxigenina, y se pueden usar en ensayos sensibles y específicos para detectar cepas patógenas de interés clínico. (López, C., 2002).

- **Infección por *Escherichia coli***

Las lesiones cutáneas que cursan concomitantemente con procesos sépticos podrían clasificarse en secundarias a coagulopatías (coagulación intravascular diseminada), afección vascular directa por el propio microorganismo, vasculitis inmunes, embolias por

endocarditis, efectos vasculares por sus toxinas y, por último, algunas bacterias se pueden propagar directamente a la piel y provocar lesiones en las que se pueden aislar aquellas. En el caso de sepsis provocada por *E. coli*, se dan unas lesiones cutáneas bullosas. (López, C., 2002).

También mencionan que estos cuadros reciben el nombre de gangrena simétrica periférica o púrpura. Esta es una lesión isquémica de la piel y tejidos blandos, que se manifiesta en las porciones distales de la anatomía y de manera bilateral, en ausencia de enfermedad oclusiva vascular.

- **Farmacología dermatológica**

- **Definición de fármaco dermatológico**

Los fármacos dermatológicos son medicamentos destinados a tratar la piel, ya sea lesionada o enfermedades que la afectan. Dentro de esta especialidad se incluye la dermatología.

La farmacología dermatológica se ocupa de estudiar la aplicación de los fármacos a la piel para tratar las enfermedades que le afectan, Zeas (2016) menciona que dicho tratamiento tiene como objetivos los siguientes:

- El mantenimiento de las condiciones funcionales y estéticas de la piel.
- La protección de la piel de nocivos efectos de los agentes físicos (principalmente radiación solar).
- El tratamiento de las enfermedades que afectan a otros órganos o sistemas (sistema transdérmico).

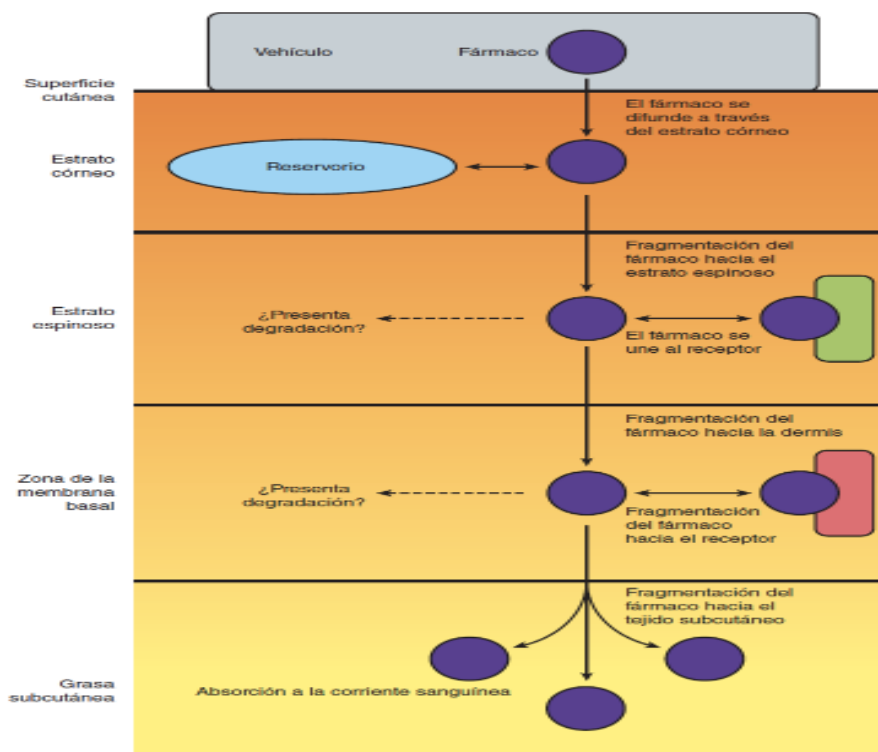
Según lo descrito anteriormente, la subdivisión de fármacos dermatológicos es necesaria para realizarla, ya que este tipo de medicamentos se enfoca directamente sobre la lesión provocada en la piel, y se encargan no solo de mejorar el estado de la piel, sino de proteger la misma mientras se va sanando.

➤ Farmacocinética cutánea

La farmacocinética se define como el estudio matemático de la evolución temporal de los medicamentos y sus metabolitos en el organismo. (Alos & Ferriols, 2014). La farmacocinética cutánea implica lo mismo que la farmacocinética en diferentes vías de administración; el proceso ADME, por sus siglas, se deriva de la absorción, distribución, metabolismo y excreción. El doctor Armijo, en su libro Absorción, distribución y eliminación de fármacos, menciona que:

La absorción comprende los procesos de liberación del fármaco de su forma farmacéutica, su disolución, la entrada de los fármacos en el organismo desde el lugar de administración, los mecanismos de transporte y la eliminación presistémica, así como las características de cada vía de administración, la velocidad y la cantidad con que el fármaco accede a la circulación sistémica y los factores que pueden alterarla. (Armijo, 2014).

Figura 6. Esquema de absorción cutánea



Fuente: Orkin *et al.*, 1991.

La absorción de un fármaco depende de diversas características:

- **Características fisicoquímicas**

En este punto se relaciona el peso de la molécula y el tamaño, así como la solubilidad, la pka, el grado de ionización y diversos factores que van a depender del fármaco. (Alos & Ferriosls, 2014).

- **Características de la preparación farmacéutica**

La preparación farmacéutica condiciona la velocidad con que el fármaco se libera, se disgrega y se disuelve. Algunas características son: la formulación (solución, polvo, cápsulas o comprimidos), el tamaño de las partículas, la presencia de aditivos y excipientes, y el propio proceso de fabricación. (Alos & Ferriosls, 2014).

- **Características del lugar de absorción**

La absorción será tanto más rápida si tiene mayor contacto con la superficie. Algunas de estas características son: la superficie y el espesor de la membrana, el flujo sanguíneo que mantiene el gradiente de concentración; en la administración oral, el pH del medio y la motilidad gastrointestinal, y en la administración intramuscular o subcutánea, los espacios intercelulares. Por ejemplo, el escroto, la cara, las axilas y el cuero cabelludo son mucho más permeables que el antebrazo, y pueden requerir menos fármaco para un efecto equivalente. (Orkin *et al.*,1991).

- **Fenómeno de primer paso**

Se entiende por primer paso hepático la metabolización del fármaco absorbido en el tracto gastrointestinal, que llega al hígado a través de la vena porta y que se metaboliza en él antes de llegar a la circulación sistémica. La fracción de extracción hepática es la fracción del fármaco que hay en el cuerpo, que se metaboliza en un solo paso por el hígado. (Alos & Ferriosls, 2014).

Otro de los procesos que se da en la farmacocinética es la distribución, la cual permite que los fármacos tengan acceso a los órganos en los que deben actuar y a los órganos que los van a eliminar, y condiciona las concentraciones que alcanzan en cada tejido.

La cinética de distribución se divide en distintos compartimentos, ya que en el cuerpo humano existen regiones acuosas y no acuosas. El doctor Luciano Aguilera, jefe de servicio de anestesiología, menciona que son tres los compartimentos donde el fármaco se distribuye:

- Compartimento central: integrado por el plasma y los tejidos mejor irrigados: corazón, cerebro, riñones, pulmones e hígado; este compartimento recibe el 75% del gasto cardíaco, representa exclusivamente el 10% de toda la masa corporal y es donde inicialmente se distribuye el fármaco, para hacerlo posteriormente a los otros compartimentos.
- Compartimento periférico rápido: es el compartimento donde el fármaco difunde con rapidez desde el central. Está constituido por territorios peor irrigados: masa muscular.
- Compartimento periférico lento: constituido por los tejidos pobremente perfundidos (piel o grasa), es el compartimento donde el fármaco difunde con lentitud mayor desde el central. Este volumen tiene gran importancia, ya que puede “captar” a los fármacos muy liposolubles como el sufentanil, incluso después de suspender su infusión, pudiendo actuar como “reservorio” y siendo el responsable de los episodios de “despertar” prolongado. (Armijo, 2014).

Otro de los fenómenos farmacocinéticos que menciona Armijo es el metabolismo; la velocidad con que se metaboliza cada fármaco, la variedad de sus metabolitos y su concentración dependen del patrón metabólico genéticamente establecido de cada individuo y de la influencia de numerosos factores fisiológicos, patológicos y yatrogénicos, que condicionan notables diferencias de unos individuos a otros. (Armijo, 2014).

Y por último, se tiene el proceso de eliminación de fármacos, los cuales se excretan, por orden decreciente de importancia, por vía urinaria, vía biliar-entérica, sudor, saliva, leche y epitelios descamados. La excreción tiene interés en cuanto a que se trata de uno de los mecanismos por los que se eliminan del organismo los fármacos y sus metabolitos (excreción renal y biliar), y también por la posibilidad de tratar enfermedades localizadas en dichos órganos de excreción. (Armijo, 2014).

➤ **Factores que debe poseer el vehículo para un fármaco tópico**

Durante el proceso de fabricación de un fármaco para uso tópico, es necesario considerar a los vehículos, ya que, al igual que un excipiente, ellos facilitan la dilución del medicamento. Sellares (2013) menciona que el vehículo se escoge en función del grado de inflamación de la dermatosis y de su localización:

- **Según la inflamación se considera:**
 - Inflamación aguda con exudación: utilizar fomentos y líquidos.
 - Inflamación aguda o subaguda con eritema, pero con exudación leve: utilizar cremas.
 - Inflamación crónica con descamación o liquenificación: utilizar pomadas y ungüentos.
- **Según la localización:**
 - En la cara: utilizar vehículos poco grasos como geles y cremas.
 - Zonas pilosas: utilizar compuestos no grasos como lociones y geles.
 - Zonas intertriginosas: utilizar fomentos, polvos o cremas. Evitar pomadas y ungüentos que producen oclusión y maceración.
 - Zona genital: la capa córnea es muy delgada; evitar tratamientos oclusivos.
 - Palmas y plantas tienen una capa córnea gruesa, y en general las lesiones son secas; se utilizarán pomadas y ungüentos (mantienen durante un tiempo más prolongado el contacto del principio activo con la piel).
 - En las lesiones exudativas: se utilizarán inicialmente fomentos hasta secar la lesión. (Sellares, 2013).

➤ Reacciones adversas de fármacos dermatológicos

Las reacciones adversas a fármacos son comunes que se encuentran presentes en la mayoría de la población que consume medicamentos para una o diversas patologías. Garrido (2004) define la reacción adversa como:

El efecto indeseado que sucede tras la administración de un fármaco a dosis terapéuticas, diagnósticas o profilácticas, se estima que el 15-30% de los pacientes hospitalizados presentan una reacción adversa al medicamento (RAM) pero tan solo el 6-10% de ellas son de causa alérgica.

Figura 7. Cuadro de reacciones adversas cutáneas

CUADRO 61-1

Reacciones cutáneas locales a los fármacos tópicos.

Reacciones cutáneas locales a los fármacos tópicos.

Tipo de reacción	Mecanismo	Comentario
Irritación	No alérgico	La reacción local más común
Fotoirritación	No alérgico	Fototoxicidad; por lo general requieren exposición a rayos UVA
Dermatitis de contacto alérgica	Alérgico	Hipersensibilidad tardía de tipo IV
Dermatitis de contacto fotoalérgica	Alérgico	Hipersensibilidad tardía de tipo IV; por lo general requiere exposición a rayos UVA
Urticaria de contacto inmunitaria	Alérgico	Hipersensibilidad inmediata de tipo I mediada por IgE; puede ocasionar anafilaxia
Urticaria de contacto no inmunitaria	No alérgico	Más a menudo urticaria por contacto; ocurre sin sensibilización previa

Fuente: Orkin *et al.*, 1991.

La piel reacciona a fármacos sistémicos con una variedad de respuestas que generan síntomas, además de que ciertos medicamentos dermatológicos provocan reacciones cutáneas por sí mismos, ya que la mayoría de pacientes tienen pH distintos y son más sensibles a unos medicamentos que otros.

Quemaduras

- **Definición de una quemadura**

Las quemaduras son lesiones en la piel, que en su mayoría son provocadas por haber exposición a altas temperaturas de calor. Crespo & colaboradores (2010) mencionan que son traumatismos térmicos producidos por la transferencia de calor a los tejidos, donde la piel es el principal órgano afectado, porque es la superficie de contacto con el medio externo. La lesión puede afectar a toda la piel, o solo a algunas capas de la misma; es decir, puede ocasionar desde una lesión superficial tipo eritema reversible y de escasa importancia, a una grave con muerte celular e irreversible, como sería un gran quemado.

Según la Organización Mundial de la Salud (2018), las quemaduras constituyen un problema de salud pública a nivel mundial, y provocan alrededor de 180 000 muertes al año, de las cuales la mayoría se produce en los países de ingreso bajo y mediano, y casi dos tercios, en las regiones de África y de Asia Sudoriental.

- **Factores para determinar la severidad de las quemaduras**

Hay cinco factores que son tomados en cuenta, los cuales son según la profundidad, ya sea de 1º, 2º y 3º grado, extensión de la quemadura, afectación de regiones críticas, edad del paciente y el estado general de salud de la persona. (Bueno, 2010).

- **Según la profundidad de la quemadura se pueden clasificar en:**

- **Quemaduras epidérmicas o de primer grado**

Este tipo de quemadura corresponde a las provocadas por el sol; son muy dolorosas e incómodas; además, existe una vasodilatación local, postliberación de prostaglandinas, produciendo edema local, y duran aproximadamente de 4 a 5 días en sanar; el calor ocasiona una vasodilatación de la microcirculación de la dermis, provocando un aumento de la temperatura local, lo que se manifiesta con la aparición de eritema, dolor, sobre todo al tacto y al roce, prurito y escozor. (Bueno, 2010).

Figura 8. Quemadura de primer grado



Fuente: Bueno, 2010.

➤ **Quemaduras dérmicas o de segundo grado**

En su mayoría son las ocasionadas por agua caliente y exposición de la piel a fuego directo sobre ella; afectan a las dos primeras capas de la piel, con una destrucción de la epidermis, que se extiende a la dermis con una profundidad variable; la cicatrización ocurre aproximadamente a los 10-20 días de forma espontánea, salvo complicaciones, y siempre y cuando se mantenga la quemadura limpia y protegida. Es de apariencia húmeda, y la piel está brillante, seguida de una inflamación que da paso a la formación de ampollas, que cuando se rompen son de color rojo vivo muy intenso y dolorosas para el paciente. (Bueno, 2010).

Figura 9. Quemadura de segundo grado, superficial dérmica



Fuente: Bueno, 2010.

Figura 10. Quemadura de segundo grado, profunda dérmica



Fuente: Bueno, 2010.

➤ **Subdérmica o de tercer grado**

Cuando las quemaduras dérmicas son superficiales, presentan destrucción del estrato dermo-epidérmico, son indoloras, el paciente quemado no siente el daño que ocurrió producto de la destrucción total de los nervios; a la exploración con aguja no presenta dolor en la zona más afectada, pero sí se aprecia dolor intenso alrededor de la quemadura, posiblemente causado por áreas de quemaduras de primer y segundo grado adyacentes. También existen quemaduras subdérmicas profundas, en las cuales ocurre un traumatismo de grasa, músculos, huesos y tendones; también son indoloras y, en este caso, el paciente necesita injertos de piel para poder sanar estas heridas. (Bueno, 2010).

Figura 11. Quemadura de tercer grado, subdérmica superficial



Fuente: Bueno, 2010.

Figura 12. Quemadura subdérmica, profunda



Fuente: Bueno, 2010.

- **Clasificación de las quemaduras según el punto de vista clínico, práctico y pronóstico**

- **El agente causal**

Este se divide en cuatro subcategorías, de acuerdo con eventos o factores exteriores que son causantes de las quemaduras:

- **Quemaduras térmicas**

Son originadas por cualquier fuente de calor, ya sea fuego, líquidos o sólidos calientes, que son capaces de elevar la temperatura de la piel tan alto que logran causar muerte celular, coagulación de las proteínas o calcinación. (Bueno, 2010).

Figura 13. Quemadura térmica



Fuente: Bueno, 2010.

- **Quemaduras por radiación**

Se producen por la exposición a la radiación solar ultravioleta, tanto de la luz solar como de otras fuentes artificiales de radiación, ya sean lámparas para bronceado, radiodermatitis por tratamientos radioterápicos, por láser, por otras radiaciones ionizantes. (Bueno, 2010).

Figura 14. Quemadura por radiación



Fuente: Bueno, 2010.

- **Quemaduras químicas**

Estas son causadas por sustancias líquidas, sólidas o gaseosas, ya sea de origen ácido o básico, y llegan a producir necrosis de los tejidos, pudiendo extenderse su acción en profundidad durante largo tiempo. En este tipo de lesiones, la exposición al agente causal suele tener una mayor duración que el resto de las quemaduras, porque mientras dura la presencia de restos del producto en contacto con la piel, la acción destructiva continúa, por lo que las quemaduras químicas son más tórpidas que las térmicas. (Bueno, 2010).

Figura 15. Quemadura química



Fuente: Bueno, 2010.

- **Quemaduras eléctricas**

Producidas por el resultado de la generación de calor, que incluso puede alcanzar los 5000 °C. La necrosis progresiva y la formación de escaras suele ser de mayor intensidad, y afecta a estructuras más profundas de lo que indica la lesión inicial. (Bueno, 2010).

Figura 16. Quemadura eléctrica



Fuente: Bueno, 2010.

➤ **La extensión de la zona quemada**

La gravedad de una quemadura depende también de la superficie corporal que haya sido afectada. Como norma general, en los centros médicos se emplea la regla de los 9 (o de PULANSKI-TENNISON); la extensión, además, indica la gravedad de la quemadura, y se expresa como porcentaje de superficie corporal quemada; mientras mayor sea la superficie quemada, es más difícil para el paciente sanar la herida. (Bueno, 2010).

- **Regla de los 9**

Esta consiste en que el 100% de la superficie corporal se fracciona por áreas divididas en 9 o múltiplo de 9 y, aunque no es exacta, se aporta un cálculo aproximado de la extensión. En ocasiones, y según donde esté localizada la quemadura, es difícil aplicar esta regla; no

obstante, es un método rápido, aunque menos preciso que otros. Para los niños y menores de 15 años no es la más indicada, existiendo otra regla de los 9 más precisa y exacta, modificada especialmente para esa edad. (Bueno, 2010).

En Costa Rica no se hace uso de esta regla, debido a que el porcentaje de error es de un 50%, por lo que en el área de unidad de quemados del hospital San Juan de Dios se emplea la siguiente tabla:

Figura 17. Fórmula para el cálculo del área corporal quemada

<u>Área Corporal</u>	<u>Porcentaje (%)</u>
cabeza	7
cuello	2
tronco anterior	13
tronco posterior	13
glúteo derecho	2.5
glúteo izquierdo	2.5
genitales	1
brazo derecho	4
brazo izquierdo	4
antebrazo derecho	3
antebrazo izquierdo	3
mano derecha	2.5
mano izquierda	2.5
muslo derecho	9.5
muslo izquierdo	9.5
pierna derecha	7
pierna izquierda	7
pie derecho	3.5
pie izquierdo	3.5

Fuente: Alfaro, 2003.

- **Fisiopatología de las quemaduras**

Tras una quemadura, se produce en el organismo una serie de mecanismos fisiológicos, condicionada por su gasto metabólico elevado; una temperatura de 50 grados centígrados produce desnaturalización de las proteínas; si es de 60 grados centígrados produce coagulación de las proteínas; ambas significan muerte celular. (Alfaro, 2003).

Piriz (2014) menciona que, en relación directa con la superficie quemada, el agente causal de la quemadura y el tiempo de exposición, existen procesos que ocurren en el organismo, y entre los más importantes son:

- Aumento de la permeabilidad capilar: se origina el paso de plasma, electrolitos y agua del espacio intravascular al espacio intersticial, lo que provoca un desequilibrio electrolítico y, por lo tanto, condiciona el edema.
 - Destrucción tisular: acá se produce una pérdida de la barrera cutánea, lo que provoca aumento de las pérdidas de agua por evaporación, que junto con el edema desencadenan el shock hipovolémico característico de los pacientes con quemaduras, lo cual conduce a hipoxia celular y acumulación de ácido láctico, hemoconcentración al inicio y, posteriormente, anemia, debido a la destrucción de hematíes; además hay una disminución y lentificación del volumen circulante, con disminución del volumen minuto y, por tanto, disminución del gasto cardíaco.
 - Infección: esta ocurre, ya que la pérdida de piel constituye una vía de entrada de gérmenes en el organismo.
 - Alteraciones en la función pulmonar: sobre todo en pacientes quemados que hayan podido inhalar humos.
- **Contaminación en las heridas por quemaduras**

Alfaro menciona que hay evidencia definitiva de que la infección se debe, en su mayoría, a bacterias endógenas; es decir, que están en el paciente y que ocurre por dos mecanismos: las bacterias en el borde de la herida o infección presente en otras partes del cuerpo.

En las primeras 48 horas proliferan las bacterias a un nivel de 10 millones de organismos por gramo de tejido, sobre todo Gram positivos (estafilococos). A los cinco días aparecen los Gram negativos, sobre todo pseudomonas, aunque en

algunas unidades reportan más enterococos. Cuando el número de bacterias es de 10⁹ por gramo de tejido, estas rodean y ocluyen los vasos agravando el problema, pues hay más necrosis y se profundiza la lesión. (Alfaro, 2003).

Rangel (2005) indica que las evoluciones de las infecciones en las quemaduras se dividen en tres estadios, y que los mismos tienen sus subdivisiones, las cuales son:

- Estadio I: Colonización, que se divide en tres fases:
 - i. Superficial: pocas bacterias en la superficie quemada.
 - ii. Penetración: bacterias en el espesor de la escara.
 - iii. Proliferación: colonización en la interfase del tejido viable y no viable.
- Estadio II: Invasión, que de igual forma se divide en tres fases:
 - i. Microinvasión: bacterias en el tejido viable.
 - ii. Generalizada: amplia difusión bacteriana en tejidos viables.
 - iii. Difusión microvascular: a través de vasos sanguíneos, linfáticos y por “metástasis bacteriana”.
- Estadio III: Sepsis: son manifestaciones sistémicas de infección, que pueden conducir a falla orgánica múltiple.

• **Tratamiento de las quemaduras**

El tratamiento de las heridas va a variar según el grado de profundidad y el agente causante. Lo primero que se realiza, cuando llega el paciente, es hacer lavados con agua fría para calmar el dolor, y secar sin frotar; posteriormente, hidratación de la zona, por lo que es útil aplicar cremas hidratantes que contengan urea, ácido láctico y aloe vera, además de usar cremas, como la sulfadiazina de plata, que es un antiinfeccioso, no llevar ropas que compriman ni rocen, porque la piel podría desprenderse fácilmente. (Crespo, 2010).

Formas farmacéuticas de uso tópico

Las formas farmacéuticas semisólidas de uso tópico son un conjunto de preparaciones farmacéuticas muy diferentes entre sí; se caracterizan por presentar una mayor viscosidad en

comparación con el agua y, además, tener una consistencia semisólida. Estas formas farmacéuticas están destinadas a tener una aplicación a nivel de la piel o algunas mucosas, para lograr hacer su acción local o poder permitir que los fármacos penetren. Estas formas farmacéuticas están formadas por una base (simple o compuesta), también llamada vehículo o excipiente, en la que se disuelven o dispersan uno o varios principios activos. Esta base puede ser terapéutica y debe modificar la cesión del principio activo.

- **Cremas**

Las cremas, también conocidas como emulsiones, son una unión de tipo mezcla entre agua y sustancias de origen graso; o sea, que son miscibles entre ellas; es la mezcla de estas dos partes gracias a una acción de los emulgentes para lograr obtener una mezcla estable. (García, Ortonobes & García, 2015).

- **Cremas hidrófobas o lipófilas**

Las cremas lipófilas o emulsiones de agua que están dispersas en grasas, también son conocidas como W/O. Son excelentes para formular medicamentos que son liposolubles. Cuando se administran en la piel, y por razones del efecto de una variación en la temperatura, se da una evaporación del agua que fue incorporada, causando una sensación refrescante y, al mismo tiempo, se da una absorción de la grasa. No se da una mezcla de la piel y el sudor; sin embargo, sí se da una absorción parcial. Tienen un efecto que provoca oclusión moderada, pero sin ser congestivo, como lo es el caso de la pomada y los ungüentos. A las personas que presentan una piel seca o tienen la patología de dermatosis crónica, se les recomienda la crema de carácter hidrófobo. Son una buena elección de recomendación para principios activos que ocupan ser liberados en la piel. Debido a la cantidad abundante que poseen de grasa, no es posible removerlos solo con agua. (García *et al.*, 2015).

- **Cremas hidrófilas**

Así como la crema hidrofóbica es importante a tomar en cuenta para ser utilizada como una forma farmacéutica para pacientes con afecciones en la piel, también lo es la crema de características hidrofílicas, a la cual, García *et al.* (2015), la definen como:

Cremas hidrófilas o emulsiones de grasa en agua o crema *oil in water* (O/W). Son las más adecuadas para formular fármacos hidrosolubles. Tienen efecto evanescente: después de su aplicación, pierden el agua rápidamente sin dejar ningún residuo apreciable. Por la pequeña cantidad de grasa, tienen poco efecto oclusivo, y esta grasa se absorbe rápidamente en la piel. Se mezcla bien con exudados cutáneos. Son ideales para proteger la piel de la suciedad, pues se mezclan muy bien con las secreciones de la superficie cutánea. Debido a su pequeña proporción de grasa, no manchan y se lavan rápidamente con agua. Las “leches” son de este tipo de cremas, pero con una gran cantidad de agua.

- **Geles**

Estas formas farmacéuticas son sustancias de carácter semisólido, que se forman al mezclar líquidos con gelificantes. Cuando el gel entra en la temperatura de la piel humana, disminuye su viscosidad, lo que lo hace útil para zonas pilosas y, además, el gel pierde el agua muy rápido; este efecto es llamado evanescente. Los geles no contienen lípidos; por estas razones los geles son recomendados en pacientes con pieles grasas. (García *et al.*, 2015).

Según Palacios (2012), dice que:

Son emulsiones semisólidas de polímeros orgánicos (metilcelulosa, agar, gelatina, propilenglicol, galato de propilo, edetato disódico, carboxipolímero) en un líquido (agua). Se suele añadir hidróxido sódico o ácido clorhídrico para ajustar el pH. Son, pues, base sin color, claras, no grasas, miscibles con agua. Se pueden considerar como un sistema coloidal donde la fase continua es sólida y la dispersa es líquida. En esta fase líquida pueden incorporar principios activos en solución. A temperatura ambiente son sólidos o semisólidos fluidificándose al ser calentadas. Por su aspecto cosmético se suelen utilizar en zonas pilosas o estrechas (conducto auditivo externo, fosas nasales). Tras su aplicación desaparecen rápida y completamente. Los geles son formas farmacéuticas de consistencia semirrígida, generalmente no tienen aceites grasos, destinados a aplicarse sobre las membranas mucosas, no tienen poder de penetración, por eso se utilizan para ejercer acción tópica (de superficie).

Hay una clasificación de los geles, la cual depende de su comportamiento frente al agua; la primera se denomina como geles hidrofílicos, conocidos como hidrogeles, los cuales están conformados por agua, glicerina, propilenglicol y entre líquidos que son de carácter hidrofílicos; gelificados por sustancias que son de estilo poliméricas, gomas tragacanto, almidón, hasta los que provienen de la celulosa, polímeros carboxílicos, silicatos de aluminio y magnesio. Por último, los geles hidrofóbicos, llamados también lipogeles u oleogeles los cuales están conformados por varias sustancias, como la parafina líquida adicionada de polietileno, por aceites grasos gelificados, por anhídrido silícico coloidal o por jabones de aluminio y zinc. (Palacios, 2012).

- **Pomadas**

La denominación de la pomada se usa para lograr conceptualizar un grupo de formas farmacéuticas, el cual presenta características heterogéneas, que a su vez tienen una descripción semisólida. Estas formas farmacéuticas son utilizadas sobre la piel o incluso sobre algunas mucosas, siempre con el fin de ejercer una acción de origen local, o también que sean utilizadas para dar lugar a una penetración de la piel, para que los fármacos que las contienen logren hacer su efecto. Este tipo de forma farmacéutica, utilizado como de uso externo, posee un aspecto estilo mantecoso, un poco espeso, pegajoso, y además tiene la capacidad de adherirse a los tejidos de la piel.

Estos preparados farmacéuticos poseen un excipiente, ya sea sencillo o complejo; estos principios activos se disuelven o se dispensan en la pomada. Los sistemas que son semisólidos complacen las imposiciones de las preparaciones que son de acción en la piel, ya que estas generalmente tienen una excelente adherencia a la piel, y esto hace que permanezcan unidas a la superficie en la cual se aplicaron, y el tiempo que estas se mantienen adheridas es considerable y razonable. Las propiedades de la pomada son gracias al comportamiento reológico que presenta, debido a que este es de tipo plástico, según el cual los semisólidos mantienen su forma y se adhieren como una película, pero cuando se aplica una fuerza externa sobre ellas se deforman con facilidad y fluyen. (Palacios, 2012).

- **Pastas**

Estas formas farmacéuticas son preparaciones con una consistencia semisólida polifásica, la cual tiene una consistencia de carácter blando, que posee una porción grande de sustancias pulverizadas, que son alrededor de un 30-40%; absorbentes; se encuentran dispersadas en vehículos; de características lipofílicas; conocidas como pastas grasas o de carácter hidrofílico, que se identifican como pastas acuosas. Las pastas se utilizan de forma local, debido a que tienen, en su contenido, una concentración de polvos absorbentes, que fueron dispersos por vaselina, ya sea la común o la hidrofílica.

Las pastas presentan una rigidez cuando se secan, y son razonablemente absorbentes, por lo que su base es de vaselina. Estas se adhieren bastante bien a la piel y no producen una buena oclusión; por este motivo se prestan para ser aplicadas sobre lesiones húmedas y su alrededor. Una vez aplicadas sobre la piel, se pueden eliminar con suma facilidad mediante la aplicación de vaselina líquida o aceite vegetal. Esto rige en particular cuando es fácil que la piel subyacente o circulante se traumatice. (Palacios, 2012).

- **Ungüentos**

Según García *et al.* (2015), los ungüentos se realizan con excipientes grasos hidrófobos, como la vaselina y la parafina. Son los que poseen una capacidad más oclusiva, ya que forman una capa impermeable sobre la piel, que dificulta la evaporación del agua. Por esta capacidad para retener el agua interna y el sudor, suavizan e hidratan la piel. No absorben exudados acuosos. Debido a estas propiedades, los ungüentos están indicados en dermatosis muy secas, en áreas donde la piel es gruesa como las palmas, las plantas, codos y rodillas. Son la base ideal para lesiones muy secas, como, por ejemplo, la psoriasis. También son excelentes para ablandar y retirar las costras o descamaciones. Por lo contrario, están contraindicados en zonas infectadas y lesiones exudativas, ya que su efecto oclusivo empeoraría la infección.

Nanotecnología

- **Definición**

La nanotecnología ha representado y ha desarrollado, en los últimos tiempos, un papel fundamental a nivel mundial, a nivel de la investigación y de desarrollo científico, y hasta a nivel industrial. Esta tecnología se refiere a una multidisciplinaria, que acoge la física, la química, la biología y hasta la ingeniería. El tesoro científico en esta área inicia en que cuando la materia se presenta y es tratada a escala nanométrica, tiene propiedades y fenómenos totalmente nuevos, que no está de acuerdo significativamente con los que se presentan a escala macroscópica. (Sánchez, 2017).

La nanotecnología se conceptualiza como la elaboración y aplicación de estructuras, dispositivos y hasta sistemas por medio del control de la forma y del tamaño de materiales, pero a una escala nanométrica. Esta escala abarca, a nivel atómico, aproximadamente de 0,2nm hasta 100nm. La aplicación de esta tecnología continúa ampliándose en muchas áreas como la informática, imágenes, impresiones, cosméticos, síntesis de materiales, artículos textiles para lo que es deporte y recubrimiento de vidrios. La nanotecnología, que puede ser conocida como la ingeniería a escala atómica, no debe ser fundamentada solo como un trabajo en dimensiones más pequeñas, sino que permite formular materiales que logran adquirir características especiales y únicas. (Cardoso, 2016).

La nanotecnología es una palabra utilizada muchas veces para lograr conceptualizar las ciencias y técnicas que se aplican al nivel de la escala; esto es, medidas muy exageradamente pequeñas, “nanos” que admite trabajar y manejar las escalas moleculares y también sus átomos. En resumen, conllevará a la posibilidad de fabricar materiales, y también máquinas por medio del reordenamiento de átomos y moléculas. (Díaz, 2012).

Otra definición de la nanotecnología es, según Díaz (2012):

La mejor definición de nanotecnología es esta: La nanotecnología es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nanoescala, y la explotación

de fenómenos y propiedades de la materia a nanoescala. Cuando se manipula la materia a la escala tan minúscula de átomos y moléculas, demuestra fenómenos y propiedades totalmente nuevas. Por lo tanto, científicos utilizan la nanotecnología para crear materiales, aparatos y sistemas novedosos y poco costosos con propiedades únicas.

La evolución de esta disciplina se da por medio de las propuestas de Richard Feynman, considerado como el padre de la nanociencia; él fue premio Nobel de Física; este físico recibió en el año de 1959 propuso la fabricación de productos con base en un reordenamiento de átomos y moléculas. Feynman redactó un artículo científico donde analizó cómo las computadoras, si trabajan con átomos individuales, podrían lograr consumir muy poca energía y lograr velocidades muy asombrosas.

Según Díaz (2012), dice que: “La mejor definición de nanotecnología es esta: La nanotecnología es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nanoescala, y la explotación de fenómenos y propiedades de la materia a nanoescala. Cuando se manipula la materia a la escala tan minúscula de átomos y moléculas, demuestra fenómenos y propiedades totalmente nuevas. Por lo tanto, científicos utilizan la nanotecnología para crear materiales, aparatos y sistemas novedosos y poco costosos con propiedades únicas”.

- **Clasificación de la nanotecnología**

- **Basados en carbono**

Los nanomateriales basados en carbono están conformados en gran parte por carbono, y suelen acoger formas como esferas huecas, elipsoides o tubos. Estos nanomateriales, que poseen una forma elipsoidal, son llamados también como fullerenos; en el caso de los que poseen una forma cilíndrica, van a ser denominados como nanotubos. Las partículas que poseen estos materiales poseen la capacidad de presentar muchas aplicaciones posibles, incluido el desarrollo de recubrimientos y películas que son mejoradas, materiales que son más ligeros y muchas aplicaciones de campo de la electrónica. (Díaz, 2012).

➤ **Basados en metales**

Los nanomateriales que están basados en metales abarcan los puntos cuánticos, lo que son las nanopartículas de oro, plata, y también los óxidos metálicos, como por ejemplo el titanio. (Díaz, 2012).

➤ **Dendrímeros**

Los mencionados nanomateriales son definidos como polímeros que poseen un tamaño nanométrico, contruidos a partir de unidades ramificadas. La superficie de estos materiales posee gran cantidad de extremos de cadenas, los cuales se pueden apropiar para que desempeñen funciones químicas específicas. Esta propiedad se podría utilizar para lograr una catálisis. Además, por razones de que los dendrímeros tridimensionales contienen cavidades interiores en las cuales se puede lograr la introducción de otras moléculas, estas pueden ser ventajosas para la administración de medicamentos. (Díaz, 2012).

➤ **Compuestos**

Estos compuestos realizan una mezcla entre las nanopartículas con otras nanopartículas o con materiales que poseen un mayor tamaño. Las nanopartículas, como lo son arcillas a nanoescala, ya se están añadiendo a un gran número de productos, desde partes de automóviles a materiales que son de empaquetado, para generar una mejoría en las propiedades mecánicas, térmicas, protectoras, entre otras. (Díaz, 2012).

• **Métodos generales para la obtención de elementos nanométricos**

Son conocidos también como arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba respectivamente. Estos métodos están establecidos de forma teórica, así como también de forma experimental, desde el surgimiento de la nanotecnología como tal. Las concepciones de la nanotecnología “top-down” y “bottom-up” coexisten. Es decir, que ninguno de los dos es absoluto, sino que dependen el uno del otro. De manera muy generalizada, se puede decir que derivan del mundo de la física y la química, respectivamente. (Salguero, 2016).

➤ **Top down**

El método de top-down inicia con una pieza grande de material; consiste básicamente en disminuir el tamaño de agregación del mismo a través del grabado o molienda, hasta alcanzar una nanoestructura. Con esta aproximación, es posible obtener dispositivos muy complejos con alta precisión, como microprocesadores, chips, entre otros; a pesar de ello, también tiene limitaciones intrínsecas, como la generación excesiva de desperdicios y la necesidad de mucha energía. Otra manera, muy simple, para comprender de mejor manera a la nanotecnología top-down es con el enfoque del escultor, el cual radica en tomar un elemento de gran tamaño e ir quitando, poco a poco y con cuidado, ciertas partes, hasta alcanzar el objeto nanométrico requerido. (Salguero, 2016).

➤ **Bottom up**

Por su parte, el método bottom-up consiste en la construcción de objetos más grandes partiendo de sus componentes atómicos y moleculares. Es decir, la obtención de un estado de agregación en proporción nanométrica a partir de una dispersión molecular o, en su defecto, la construcción de estructuras átomo por átomo, como, por ejemplo, la molécula de ADN. Este método produce pocos desperdicios, emplea poca energía, permite controlar la forma y tamaño de la partícula. Al igual que en el caso anterior, para una mejor comprensión, se puede hacer referencia al enfoque denominado como la aproximación del albañil, el cual radica en la construcción de un objeto nanométrico a partir de bloques simples. (Salguero,2016).

- **Aplicaciones de nanotecnología**

Según Díaz (2012), habla sobre las diversas aplicaciones que se le pueden asignar a la nanotecnología, con el fin de resaltar la importancia de este tema:

- 1.- Amplio campo de acción. - Debido a su naturaleza, la nanotecnología aplica en diferentes áreas con una gran versatilidad de aplicaciones. Lo

anterior facilita encontrar una rama que pueda satisfacer a diferentes gustos e intereses de un emprendedor o inversionista.

2.- Incremento de la calidad de vida. - Gran cantidad de avances en nanotecnología basan sus estudios en el incremento de la calidad de vida y en cómo favorecer al medio ambiente. La manipulación de la materia a este nivel permite crear soluciones para los principales problemas ambientales, de salud, de construcción, energía, etc., colocando a la nanotecnología como la industria con mayor proyección en impacto social y económico.

3.- Inversión a futuro. - Las oportunidades que se abren a diario hablan de una constante innovación y evolución; por ello, las inversiones realizadas en la actualidad, son consideradas inversiones a futuro. La nanotecnología es una industria que día con día descubre nuevas formas de ser aplicada y por tanto de creación de nuevos productos.

4.- Productos innovadores y múltiples beneficios. - Gracias a la naturaleza de la nanotecnología, las recientes aplicaciones y productos creados a partir de ella suelen tener soluciones innovadoras a problemas no resueltos anteriormente, o bien, ofrecer mejores resultados con un nivel de precisión o duración mayor. Hablar de un producto a base de nanotecnología, es hablar de soluciones “inteligentes”.

Expertos en economía y negocios ya lo han declarado en fechas anteriores: las cifras alrededor del mundo en inversión por esta industria, los nuevos centros de investigación, planes de estudio, institutos y otros, son solo una muestra del impulso que día a día crece. En la actualidad, ya son diversos los “nano-productos” tanto en tiendas especializadas como en canales más accesibles y la misma publicidad cotidiana.

- **Diversos productos en nanotecnología**

Al pasar el tiempo se dio el surgimiento de una diversificada serie de investigaciones muy diferentes entre ellas y en áreas de estudio diferentes. Esto generó una posibilidad en el

desarrollo de muchos nanomateriales, nanopartículas y diversidad de hipótesis, que son futuristas, que cada día que transcurre ya dejan de ser hipótesis. Todos estos productos obtenidos forman parte de una gran ayuda, colaboración, porque le generan beneficios a la sociedad, tanto al medio ambiente como a la salud e industria.

➤ **Fago T4**

El diseño de este producto está visualizado gracias a los virus, dando existencia a una máquina que posee la capacidad de colocar sus patas sobre la superficie de las bacterias y, de esta forma, lograr aplicarles ADN por medio de una inyección del mismo. (Quintili, 2012).

➤ **Nanoalambre**

Este material está definido como una nanoestructura que posee forma de filamento, el cual está recubierto de receptores de origen biológico específicos a determinado tipo de microorganismo y/o sustancias que, al hallarse sumergido en un medio celular, puede generar una variación en la conductividad eléctrica, al reconocer el agente de acuerdo con el tipo de receptores en su superficie. (Quintili, 2012).

➤ **Nanobiosensores fotónicos**

Estos materiales son nanobiosensores que están basados en las nanopartículas de oro o magnéticas, que generan una interacción con los Quantum Dots; estos son conocidos como los puntos cuánticos de energía de la radiación electromagnética, conocidos como los fotones. (Quintili, 2012).

➤ **Nanobombas**

Son un cúmulo de nanotubos a base de carbono, que están recubiertos de anticuerpos a escala nanométrica, los cuales, cuando son expuestos a la luz y al ser sometidos a calor, no son capaces de disipar la energía concentrada, y se da la producción de una especie de explosión. (Quintili, 2012).

➤ **Nanosensores**

Estos materiales están hechos nanométricamente encargados de lograr una detección de una determinada acción externa, temperatura, presión, compuesto químico, entre otras cosas. (Quintili, 2012).

➤ **Nanomotores**

Los nanomotores ilustran un ejemplo de engranaje atómico realizado por ordenador. Estos son de nanotecnología Bottom-Up. (Quintili, 2012).

➤ **Nanotransportadores**

Este material es de gran eficacia en el momento de transportar fármacos, y también el ADN. Esto lo que hace es facilitar la capacidad de dirigir con precisión un medicamento a la localización que es deseada en el organismo, tal como en un órgano en particular o células en específico.

➤ **Nanoshells**

Son nanopartículas que se conforman de una delgada capa metálica generalmente de oro, de unos 8 a 10 nanómetros, que recubre una estructura esférica de silicio de un diámetro aproximado de unos 100 nanómetros. (Quintili, 2012).

- **Aplicaciones de nanopartículas y nanomateriales**

➤ **Salud**

Una de las aplicaciones de la nanotecnología en la medicina es en las gasas que son utilizadas para quemaduras de índole crónico, las cuales son fabricadas por una compañía canadiense llamada Weistmer. Esta gasa posee nanopartículas de plata. Una segunda aplicación es la de los adhesivos dentales de 3M, llamados “Adper Single Bond Plus Adhesive”, los cuales tienen nanopartículas de silicio para lograr una unión más fuerte con el esmalte (Guitierrez, 2005).

➤ **Deporte**

La nanotecnología también tiene sus aplicaciones en el área del deporte, las cuales son la fabricación de unas pelotas de golf hechas por la empresa llamada Nano Dynamics; estas pelotas de golf lo que realizan es una modificación de las vibraciones, canalizando la energía que se recibe del palo de golf, esto las hace mejores que las pelotas convencionales. También se dio la elaboración de una pelota de tenis, que está recubierta de nanopartículas para alargar la duración de uso; la marca de esta pelota es la reconocida marca Wilson. (Guitierrez, 2005).

➤ **Higiene**

En la higiene, el campo de la nanotecnología también tiene su espacio, el cual fue la creación de unos desinfectantes de grado militar, para ser utilizados en los aviones, para lograr combatir el síndrome respiratorio agudo severo, o también conocido como SARS; este desinfectante es hecho a base de nanoemulsiones. (Guitierrez, 2005).

➤ **Uso doméstico**

La creación de unos recubrimientos de carácter superhidrofóbicos, que son repelentes de la mugre, es una de las aplicaciones a nivel de uso doméstico de la nanotecnología; estos recubrimientos se utilizan para paredes de concreto, ladrillo y yeso que ocupan ser recubiertas. Este es un adhesivo que está hecho a base de nanopartículas, utilizando para reforzar el efecto hidrofóbico en materiales de construcción, disminuyendo la adhesión del agua y de las partículas de tierra. (Guitierrez, 2005).

➤ **Cuidados personales**

La nanotecnología también tiene su importancia a nivel de cuidados personales; un ejemplo de esto es la creación de un textil con nanopartículas de plata, que se utiliza para la creación de calcetines y otros productos para vestir; estos calcetines son distribuidos en Corea del Sur. (Guitierrez, 2005).

➤ **Electrónica**

La utilización de la nanotecnología en esta área se trata del desarrollo de nanopartículas metálicas, para la fabricación de memorias para las computadoras y nanotransmisores. (Guitierrez, 2005).

Plata como cicatrizante

• **Generalidades de la plata**

La plata es un metal que se encuentra en la naturaleza desde la Antigüedad, la cual es explotada no solo a nivel metalúrgico y joyero, sino a nivel médico; es de color blanquecino lustroso, que se encuentra en todo el mundo, pero la mayor parte se extrae de minas de México, el oeste de Estados Unidos, Bolivia, Perú, Canadá y Australia. (Nordberg, 2002).

Las propiedades fisicoquímicas de dicho elemento se pueden observar en el siguiente cuadro:

Cuadro 1. Propiedades físico químicas de la plata

Valor	
Peso molecular	107,688
Color	Blanco
Estado físico	Solido metálico
Estado de valencia	+1,+2
Punto de fusión	961,983
Densidad a los 20 grados	10,50g/cm ³
Punto de ebullición	2212 a 760mmHg
Olor	No hay datos
Solubilidad	Insoluble al agua
Presión de vapor	100mmHg
Límites flamables	Polvos moderadamente inflamables

Fuente: Coutiño, 2007.

Los principales minerales de plata son la argentita, la cerargirita o cuerno de plata y varios minerales, en los cuales el sulfuro de plata está combinado con los sulfuros de otros metales. Aproximadamente tres cuartas partes de la plata producida son un subproducto de la extracción de otros minerales, sobre todo de cobre y de plomo.

En la mayor parte de sus aplicaciones, la plata se alea con uno o más metales. La plata, que posee las más altas conductividades térmica y eléctrica de todos los metales, se utiliza en puntos de contacto eléctricos y electrónicos. También se emplea mucho en joyería y piezas diversas.

Los fotógrafos utilizan compuestos de plata para hacer fotografías; los materiales fotográficos constituyen la mayor fuente de plata que es liberada al medio ambiente; la erosión natural de las rocas que contienen plata y del suelo por la acción del viento y la lluvia también libera grandes cantidades de plata al medio ambiente. (Jiménez, 1990).

A partir de la plata se pueden elaborar otros compuestos, como los formaldehídos, acetaldehído, aldehídos fuertes, así como el nitrato de plata, el cual se emplea en fotografía; para realizar vidrios y en la industria química tiene un gran uso como reactivo; otros de los productos que se pueden elaborar con la plata son el óxido de plata y el picrato de plata, los cuales se emplean como catalizadores. (Nordberg, 2002).

Figura 18. Usos comerciales de la plata

Compuestos	Usos más comunes
Plata metálica	Manufactura de instrumental científico. Revestimientos de aire comprimido. Almacenaje de baterías. Roscas y boquillas de instrumentos de pasteurización. Procesos de Galvanización. Biocida. Manufactura de espejos. Aleaciones. Monedas. Joyería. Cubiertos y trastes de cocina. Amalgamas dentales. Cubierta de hilos de nylon usados en electroretinogramas. Telas de plata usadas en cirugía plástica, heridas traumáticas, úlceras de piernas, injertos de piel, abrasiones y cortadas menores. Sistemas caseros de purificación de agua. Aleación con plásticos para protección antimicrobiana de receptores telefónicos, calculadoras, asientos de los excusados y en juguetes de los niños. Detergentes de lavandería. Telas con plata para ropa y artículos de campismo. Barras colectoras y devanados de plantas eléctricas. Soldadores. Pinturas cerámicas. Plateado de cuentas. Baterías de gran capacidad. Fabricación de formaldehído, acetaldehído y aldehídos superiores. En filtros de cerámica para la potabilización del agua. Tintes para el cabello. Cubiertas de dulces y medicinas.
Sales de plata (Fosfato de plata, Bromuro de plata, Fluoruro de plata, Nitrato de plata, Cianuro de plata, Sulfadiazina de plata)	Placas fotográficas. Bactericidas. Antisépticos. Astringentes. Tratamiento para desórdenes nerviosos. Tratamiento de quemaduras. Desodorizantes. Espumas. Películas. Químicos fotográficos. Tratamiento de infecciones oculares. Prevención de infecciones en quemaduras. Agentes de tinción histológica. Controlador de crecimiento bacteriano en aplicaciones dentales y catéteres. Tratamiento ocular a recién nacidos. Conservador de cosméticos y productos de tocador. Tintas reveladoras. Spray nasal. Grabado de marfil. Reactivos en química analítica. Inhibidores de la estática en alfombras. Conservadores de madera. Agentes de tinción molecular
Óxidos de Plata	Antimicrobiano. Purificación del agua potable. Pulido y coloreado de cristal amarillo en la industria de vidrio. Catalizador químico. Pomadas o soluciones de uso veterinario como germicida y parasiticida general.
Picrato de Plata	Antiséptico vaginal. Pomadas contra la vaginitis granular del ganado.
Plata coloidal	Antiséptico. Suplemento alimenticio. Complemento dietético para el tratamiento de enfermedades como diabetes, SIDA, cáncer y diversas infecciones. Inmunoestimuladores. Tratamiento para la meningitis, parasitosis, fatiga crónica y acné. Desinfectante de agua y verduras.

Fuente: Coutiño, 2007.

Debido a que es un elemento, no se descompone, pero puede cambiar de forma al combinarse con otras sustancias; con el tiempo puede cambiar de la forma original en que fue liberada a plata metálica, y luego volver a ser parte de los mismos o de otros compuestos; la forma en que se encuentra la plata depende de las condiciones ambientales. (Jiménez, 1990, p. 1).

- **Propiedades medicinales de la plata**

La plata, además de ser muy útil en la industria comercial, para realizar joyería entre otros objetos, también es muy empleada en el área de la Salud, ya que tiene actividad potente como antibacteriana, cicatrizante y fúngica.

La plata tiene aplicaciones útiles; por ejemplo, durante muchos años se administraron gotas oftálmicas del nitrato de plata a los recién nacidos, para prevenir la ceguera causada por la gonorrea, y también se usa en ungüentos para tratar a víctimas de quemaduras. (Jiménez, 1990).

Actualmente, la plata es uno de los agentes antisépticos tópicos más populares; el uso de la plata como un profiláctico y un tratamiento para las infecciones y otras enfermedades se emplea desde el 1000 a. de C, cuando los antiguos, los griegos y los romanos la utilizaban como desinfectante, colocando monedas de plata en jarros con agua y otros líquidos para esterilizar. (Russel, 1994).

Es usada como agente microbicida; cuando contiene moléculas de plata entre 1 a 100 nm de tamaño en agua desionizada es la plata coloidal; las concentraciones del ion de plata muestran propiedades antibacterianas aproximadamente con 0.1 $\mu\text{g/L}$; la concentración para la actividad fungicida es de 1.9 $\mu\text{g/L}$. (Coutiño, 2007).

Coutiño (2015) menciona que existen reportes que consideran a las AgNPs y a la plata coloidal como inmunomoduladores o como un segundo mecanismo de defensa inmune, atribuyéndoles una amplia actividad terapéutica precisamente por sus efectos inmunes, entre ellos los antiinflamatorios.

Uno de los usos de los coloides de plata es el combate contra las bacterias; se introdujeron al mercado hace más de tres décadas para sustituir las sales de plata, que tenían fines terapéuticos y múltiples propiedades farmacológicas. (Coutiño, 2015).

- **Mecanismo de acción de la plata**

La plata tiene uno o varios blancos de ataque; se cree que su alta reactividad con compuestos de azufre la hace reaccionar con enzimas, ya que se encuentra en el mismo localizado en la membrana; debido a que ella es la responsable de la respiración y del control de intercambio de materiales con el medio ambiente, esto conlleva a que pierda

permeabilidad; entonces la bacteria no es capaz de efectuar procesos de respiración y eventualmente muere. (Coutiño y Pérez, 2007).

Morones (2010) dice que cuando se aplica plata ocurre un proceso de unión con grupos sulfhidrilos o tioles de las proteínas. Los grupos tioles, que derivan de los residuos de cisteína, son vitales para la actividad de algunas enzimas; la reacción con la oxidación de estos grupos esenciales produce inhibición celular o inactivación celular.

Además, las sales metálicas de plata tienen como sitios de acción los constituyentes citoplasmáticos y la interacción con grupos específicos, tanto sulfhidrilos como aminos, mediante mecanismos de coagulación general, ataque a los ácidos nucleicos y a los ribosomas. (Coutiño y Pérez, 2007).

Vermeulen & colaboradores (2008) mencionan que los iones Ag^+ , que existen en los productos elaborados con plata, tienen un fuerte efecto antimicrobiano, ya que se unen a las paredes bacterianas, provocando la ruptura de la pared y la muerte de las bacterias. Los iones Ag^+ también se unen a las enzimas bacterianas e impiden, de ese modo, que estas realicen su función, así como al ADN de células bacterianas, para interferir así con la división y replicación celular.

Otro de los mecanismos bactericidas de la plata es la inducción de la liberación de iones de potasio (K^+) de los microorganismos, tanto del plasma microbiano como de la membrana citoplasmática, lo cual es asociado al funcionamiento adecuado de algunas enzimas. (Coutiño, 2015).

- **Efectos de la plata en la salud**

La humanidad puede estar expuesta laboralmente a la plata, ya que en muchas industrias se trabaja con dicho metal; sin embargo, aunque laboralmente no exista riesgo de exposición al metal, existen otras vías de exposición al elemento como, por ejemplo, ingiriendo agua, ya que naturalmente la plata está presente en el agua en concentraciones muy bajas de 1-1 mg/L o aun menores. (Coutiño y Pérez, 2007).

Una sola exposición a un compuesto de plata también puede hacer que se deposite la plata en la piel y en otras partes del cuerpo; sin embargo, no se considera que esto sea dañino.

Coutiño & colaboradores (2007) mencionan que los efectos tóxicos de los metales se ejercen, salvo pocas excepciones, por interacción entre el ion metálico libre y la diana, por mecanismos específicos, entre los que se destacan los siguientes:

- Interacción con metales esenciales por similitud electrónica.
- Formación de complejos metal-proteína con inactivación de su función.
- Inhibición enzimática de proteínas con grupos sulfhidrilos.
- Afectación de orgánulos celulares, mitocondrias, lisosomas, microtúbulos.

La exposición al polvo con niveles relativamente altos de compuestos de plata, como el nitrato de plata o el óxido de plata, puede causar problemas respiratorios, irritación en los pulmones y la garganta, así como dolor de estómago; el contacto cutáneo con los compuestos de plata parece causar reacciones alérgicas leves en algunas personas, como salpullido, hinchazón e inflamación. (Jiménez, 1990).

Figura 19. Vías de exposición de la plata y sus efectos en la salud humana

Exposición inhalatoria	
Muerte	No se encontraron reportes de muertes consecuentes a la inhalación de plata
Efectos respiratorios	Incremento del pulso cardiaco. Disminución en la oxigenación capilar. Silbidos al respirar. Irritación. Estomudos recurrentes. Falta de aire. Flujo nasal y dolor de garganta. Presión en el pecho.
Efectos gastrointestinales	Dolor abdominal
Efectos hematológicos	Incremento esporádico de los niveles de hemoglobina. Disminución en el número de células rojas
Efectos renales	Incremento en la excreción de N-acetil-β-D-glucosaminidasa. Disminución de la creatinina
Efectos dérmicos y oculares	Depósitos granulares en la conjuntiva y en la córnea. Argyriosis conjuntiva y de córnea. Disminución de la visión nocturna.
Efectos hepáticos, efectos inmunológicos, efectos neurológicos, efectos en el desarrollo, efectos reproductivos, efectos genotóxicos, cáncer	No se han reportado
Exposición oral	
Muerte	No se encontraron reportes de muertes consecuentes a la ingestión de plata
Efectos sistémicos, efectos inmunológicos, efectos en el desarrollo, efectos reproductivos, efectos genotóxicos, cáncer	No se han reportado
Efectos dérmicos y oculares	Argyria
Efectos neurológicos	Acumulación de gránulos de plata en el SNC y en el cerebro.
Exposición dérmica	
Efectos sistémicos, efectos neurológicos, efectos en el desarrollo, efectos reproductivos, efectos genotóxicos, cáncer, muertes	No se han reportado
Efectos inmunológicos	Alergias desarrolladas a pomadas que contienen plata; a amalgamas, soluciones para revelado de radiografías etc.

Fuente: Jiménez, 1990.

Nanopartículas de plata

- **Definición de nanopartículas**

Según Quintili (2012), dice que la definición de nanopartículas:

Es una pieza pequeña de materia, compuesta de un elemento particular o un compuesto de elementos. Lo típico es que midan menos de 100 nanómetros de diámetro. El término puede referirse a un amplio rango de materiales, incluida la materia particulada que expulsa el tubo de escape de un automóvil. En los últimos veinte años, las partículas diseñadas con ingeniería nanológica se fabrican con fines comerciales, con el propósito de sacarle ventaja a sus efectos cuánticos. Actualmente se está utilizando fármacos, lubricantes, tintas, herramientas, tejidos entre varios otros.

- **Mecanismo de acción de las nanopartículas de plata**

El mecanismo exacto que emplean las nanopartículas de plata para causar un efecto antimicrobiano no se conoce claramente y es un tema debatido. Sin embargo, existen varias teorías sobre la acción de las nanopartículas de plata sobre los microbios, para causar el efecto microbicida. (Prabhu & Poulouse, 2012).

Las nanopartículas de plata tienen la capacidad de anclarse a la pared celular bacteriana y, posteriormente, penetrarla, causando cambios estructurales en la membrana celular, como la permeabilidad de la membrana celular y la muerte de la célula. Hay formación de "picaduras" en la superficie celular, y hay acumulación de las nanopartículas en la superficie celular. La formación de radicales libres por las nanopartículas de plata puede considerarse como otro mecanismo por el cual las células mueren. Se han realizado estudios de espectroscopia de resonancia de espín de electrones, que sugieren que las nanopartículas de plata forman radicales libres cuando entran en contacto con las bacterias, y estos radicales libres tienen la capacidad de dañar la membrana celular y hacerla porosa, lo que finalmente puede conducir a la célula a la muerte. (Prabhu & Poulouse, 2012).

También se ha propuesto que puede haber liberación de iones de plata por las nanopartículas, y estos iones pueden interactuar con los grupos tiol de muchas enzimas vitales e inactivarlos. Las células bacterianas en contacto con la plata toman iones de plata, que inhiben varias funciones en la célula y dañan las células. Luego, está la generación de

especies reactivas de oxígeno, que se producen posiblemente a través de la inhibición de una enzima respiratoria por los iones de plata y atacan a la propia célula. La plata es un ácido suave, y hay una tendencia natural de que un ácido reaccione con una base; en este caso, un ácido suave que reaccione con una base suave. Las células se componen principalmente de azufre y fósforo, que son bases blandas. La acción de estas nanopartículas en la célula puede hacer que la reacción tenga lugar y, posteriormente, conducir a la muerte celular. Otro hecho es que el ADN tiene azufre y fósforo como sus componentes principales; las nanopartículas pueden actuar sobre estas bases blandas y destruir el ADN, lo que definitivamente llevaría a la muerte celular. La interacción de las nanopartículas de plata con el azufre y el fósforo del ADN puede llevar a problemas en la replicación del ADN de las bacterias y, por lo tanto, terminar con los microbios. (Prabhu & Poulouse, 2012).

También se ha encontrado que las nanopartículas pueden modular la transducción de señales en bacterias. Es un hecho bien establecido que la fosforilación de sustratos de proteínas en bacterias influye en la transducción de señales bacterianas. La desfosforilación se observa solo en los residuos de tirosina de las bacterias gram negativas. El perfil de fosfotirosina de los péptidos bacterianos se ve alterado por las nanopartículas. Se encontró que las nanopartículas desfosforilan los sustratos peptídicos en los residuos de tirosina, lo que conduce a la inhibición de la transducción de señales y, por lo tanto, a la detención del crecimiento. Sin embargo, es necesario comprender que se requiere más investigación sobre el tema para establecer a fondo las reclamaciones. (Prabhu & Poulouse, 2012).

- **Qué es una nanopartícula metálica**

Las nanopartículas de plata son nanopartículas de plata que tienen un tamaño de 1 y 100 nm. Las nanopartículas de plata tienen propiedades únicas que ayudan en el diagnóstico molecular, en terapias, así como en dispositivos que se utilizan en varios procedimientos médicos. (Prabhu & Poulouse, 2012).

- **Métodos de síntesis de las nanopartículas de plata**

La preparación de nanopartículas metálicas tiene gran interés debido a sus propiedades ópticas, eléctricas, catalíticas, bactericidas y otras. Estas propiedades dependen del tamaño, la forma y la dispersión de las nanopartículas, que pueden ser controladas a partir del método de síntesis. Dentro de los parámetros que influyen en la morfología de las

nanopartículas se encuentran la elección del agente reductor, las cantidades relativas y las concentraciones de reactivos, la temperatura y la duración de la reacción. (Camacho & Deschamps, 2013).

➤ **Lee-Meisel**

Este método se basa en utilizar el nitrato de plata (AgNO_3) como precursor metálico y citrato de sodio como agente reductor. Las nanopartículas que son obtenidas por medio de este método presentan una gran distribución de tamaño; es decir, son polidispersas. (Salguero, 2016).

➤ **Método Turkevich**

Este método se basa en utilizar el nitrato de plata (AgNO_3) como precursor metálico, en el cual se usa como reductor utilizando al ácido tetracloroáurico (HAuCl_4). (Salguero, 2016).

➤ **Método Creighton**

En este método se da la utilidad del borohidruro de sodio (NaBH_4) como reductor, conservando así al nitrato de plata como precursor; este método es de los más utilizados, debido a que las nanopartículas de plata que genera son de forma esférica con tamaño uniforme, aproximadamente de unos 10 nm. (Salguero, 2016).

➤ **Sol-Gel**

Mosquera, Rosa, Debut & Guerrero (2015) dicen que:

El método de sol-gel involucra una suspensión coloidal de partículas donde el precursor puede ser un metal alcóxido como un aluminato, titanato, borato, silicato, tiosulfato, entre los más utilizados. El método sol-gel es una técnica que conduce a la formación de óxidos mediante reacciones inorgánicas poliméricas. Tiene 4 etapas características: hidrólisis, policondensación, secado y descomposición térmica.

Una de las aplicaciones más importantes de este método de síntesis es la producción de películas delgadas de alta calidad, debido a que todo el proceso sucede a condiciones ambientales, se tiene mayor homogeneidad, baja temperatura de sinterización, facilidad en obtener materiales con varios componentes, y se puede manejar el tamaño de la partícula, así como su forma y distribución.

Cabe indicar que el método de sol-gel típicamente implica el uso de metales inorgánicos (tetraisopropóxido, tetracloruro de titanio, entre otros) como precursores. Estos precursores pueden ser costosos y son insolubles, debido a la rápida hidrólisis que se produce al entrar en contacto con el agua y el aire. Al utilizar una sal inorgánica como el TiOSO_4 en calidad de precursor, se tiene un método más simple y económico, en comparación con los otros antes mencionados.

➤ **Métodos biológicos**

Según Salguero (2016), dice que:

Dentro de los métodos biológicos, existen tres componentes principales que intervienen en la preparación de nanopartículas, estos son: el precursor metálico, el agente reductor amigable con el medio ambiente y un agente estabilizante no tóxico. Entre las principales fuentes de agentes reductores biológicos tenemos: bacterias, hongos y extractos de plantas. Las enzimas microbianas y principios activos con propiedades antioxidantes o reductoras actúan sobre el compuesto precursor para formar las nanopartículas deseadas. El empleo de extractos de plantas como agentes reductores es una vía más rápida para la preparación de nanopartículas, además del aprovechamiento de sus propiedades medicinales acopladas a las mismas. Por estos motivos, el presente trabajo se enfoca únicamente en los extractos de plantas como agentes reductores.

El problema con la mayoría de los métodos químicos y físicos de la producción de la nanoplata es que son extremadamente costosos, y también involucran el uso de químicos tóxicos y peligrosos, que pueden presentar riesgos ambientales y biológicos potenciales. Es un hecho inevitable que las nanopartículas de plata sintetizadas tienen que ser manejadas por humanos, y deben estar disponibles a tasas más baratas para su utilización efectiva; por lo tanto, existe la necesidad de una forma ambiental y económicamente viable de sintetizar estas nanopartículas. La búsqueda de tal método ha llevado a la necesidad de la producción biomimética de nanopartículas de plata, por lo que se utilizan métodos biológicos para sintetizar las nanopartículas de plata. La creciente necesidad de desarrollar tecnologías amigables con el medio ambiente, y económicamente viables para la síntesis de materiales,

llevó a la búsqueda de métodos de síntesis biomiméticos. En la mayoría de los casos, los métodos de síntesis química conducen a la absorción de algunas sustancias químicamente tóxicas en la superficie, y pueden dificultar su uso en aplicaciones médicas. Hay tres fuentes principales de síntesis de nanopartículas de plata: bacterias, hongos y extractos de plantas. La biosíntesis de las nanopartículas de plata es un enfoque de abajo hacia arriba, que implica principalmente reacciones de reducción/oxidación. Son principalmente las enzimas microbianas o los fitoquímicos de las plantas con propiedades antioxidantes o reductoras que actúan sobre los compuestos respectivos, y dan las nanopartículas deseadas. Los tres componentes principales involucrados en la preparación de nanopartículas utilizando métodos biológicos son: el medio solvente para la síntesis, el agente reductor respetuoso con el medio ambiente y un agente estabilizador no tóxico. (Prabhu & Poulouse, 2012).

La principal ventaja de usar extractos de plantas para la síntesis de nanopartículas de plata es que son fáciles de obtener, seguros y no tóxicos en la mayoría de los casos; tienen una amplia variedad de metabolitos que pueden ayudar a reducir los iones de plata y son más rápidos que los microbios en la síntesis. (Prabhu & Poulouse, 2012).

El principal mecanismo considerado para el proceso es la reducción asistida por plantas, debido a los fitoquímicos. Los principales fitoquímicos implicados son terpenoides, flavonas, cetonas, aldehídos, amidas y ácidos carboxílicos. Las flavonas, los ácidos orgánicos y las quinonas son fitoquímicos solubles en agua, que son responsables de la reducción inmediata de los iones. Los estudios han revelado que los xerófitos contienen emodina, una antraquinona que sufre tautomerización, lo que lleva a la formación de las nanopartículas de plata. En el caso de los mesófitos, se encontró que contienen tres tipos de benzoquinonas: cyperoquinone, dietchequinone y remirin. Se sugirió que los fitoquímicos participan directamente en la reducción de los iones y en la formación de nanopartículas de plata. Aunque el mecanismo exacto involucrado en cada planta varía a medida que varía el fitoquímico involucrado, el principal mecanismo involucrado es la reducción de los iones. (Prabhu & Poulouse, 2012).

- **Uso del funcionalizante en la síntesis de nanopartículas de plata**

La funcionalización de nanopartículas hace referencia al recubrimiento o modificación de las mismas con la finalidad de darles una aplicación específica, ya sea

proporcionando nuevas funciones o potenciándolas. La funcionalización se puede dar por adsorción electrostática o mediante enlaces covalente. (Salguero, 2016).

- **Toxicología de las nanopartículas de plata**

- **Vía oral**

Todo lo que es administrado por la vía oral está en contacto muy cercano con el sistema gastrointestinal, que posee un área superficial total de 200m², y esto es para lograr el intercambio de los nutrientes. Aparte las nanopartículas de plata, que están distribuidas a partir del sistema respiratorio, pueden finalizar en el sistema gastrointestinal. (Ávalos, Haza, Mateo & Morales, 2013).

El consumo de las nanopartículas de plata que se encuentran en suspensión está relacionado con una serie de resultados que pueden resultar dañinos, los cuales pueden producir las úlceras de origen intestinal y argiria, brote que a causa del consumo de la plata es posible que se convierta en su forma iónica, por el pH ácido que presenta el estómago. Debido a que la mayoría del área superficial es de las nanopartículas, esto podría darse de igual forma con las nanopartículas de plata. Los mecanismos cinéticos de translocación de las nanopartículas de plata tampoco están claros; sin embargo, se ha comprobado que el tejido linfoide que se encuentra en el intestino. Por otra parte, la preparación también puede tener un lugar transcelularmente a través de los enterocitos, o a través de vías paracelulares. Varias investigaciones sugieren que, tras la exposición oral de las nanopartículas de plata, es probable que las nanopartículas de plata o los iones de plata se trasladen desde el intestino al torrente sanguíneo; por lo tanto, pasen a la vía sistémica, y a partir de ahí causen síntomas, como la argiria, y consecuencias perjudiciales, como el daño en el hígado. Todos los trabajos coinciden en que el órgano diana de las nanopartículas de plata es el hígado; dentro del hígado, se sugiere que los macrófagos, contenidos dentro del sistema retículo endotelial, son los principales responsables de eliminar las nanopartículas de plata de la circulación. Además, también se han observado depósitos de nanopartículas de plata en los riñones, cerebro, pulmones y testículos. A pesar de estas investigaciones, se requieren más estudios para esclarecer la toxicocinética de estas nanopartículas de plata. (Ávalos *et al.*, 2013).

➤ **Vía respiratoria**

Según Ávalos, Haza, Mateo & Morales (2013), dicen que:

El sistema respiratorio es la principal vía de entrada para las partículas ambientales. La inhalación de partículas ultrafinas (equivalentes a las nanopartículas en tamaño), está asociada con efectos pulmonares y cardiovasculares adversos.

Tras la inhalación de nanopartículas de plata se han observado depósitos en la cavidad nasal, en la región alveolar de los pulmones y ganglios linfáticos pulmonares. Estas nanopartículas depositadas provocan una respuesta inflamatoria, ya que la fagocitosis de las nanopartículas de plata puede conducir a la activación de macrófagos alveolares y la liberación de quimiocinas, citoquinas, especies reactivas de oxígeno (EROs) y otros mediadores, que originan -como consecuencia- una continua inflamación. Las partículas, acumuladas en la región alveolar, se pueden eliminar a través de tres rutas importantes. La primera, a través del sistema mucociliar a lo largo del tracto traqueobronquial, la segunda ruta a través del sistema linfático y, por último, la tercera, a partir de la disolución de las nanopartículas, que tiene como consecuencia la incorporación de estas nanopartículas al torrente sanguíneo. Esta última puede ser, entre otras, la causa de la presencia de nanopartículas en sangre después de una exposición por inhalación de nanopartículas de plata, sugiriendo que la eliminación de estas pueda ser también a través de otro órgano o vía de excreción. Los órganos secundarios, donde se han encontrado depósitos de nanopartículas de plata, son principalmente el hígado, y en menor medida los riñones, el páncreas, corazón, bulbo olfatorio y cerebro. Es importante la presencia de plata dentro del bulbo olfatorio y del cerebro, ya que esto sugiere que las nanopartículas de plata, además de distribuirse a través de la sangre, también se pueden distribuir a través del sistema nervioso.

➤ **Vía dérmica**

Según Ávalos, Haza, Mateo & Morales (2013), dicen que:

Una de las funciones de la piel es proteger a los órganos subyacentes. El estrato de la capa córnea de la epidermis es una fuerte barrera que permite una penetración muy limitada de partículas. La explotación de las nanopartículas de plata

dentro de productos textiles y apósitos para heridas permite que las nanopartículas de plata entren en contacto directo con la piel, cuya estructura y/o función puede verse comprometida antes de la exposición, como ocurre con los apósitos para heridas y quemaduras.

La penetración transdérmica de finas partículas a través de piel intacta ha sido documentada; sin embargo, existen muy pocos datos sobre las nanopartículas de plata. En estudios con piel dañada se han observado, tras la exposición de nanopartículas de plata, depósitos de plata dentro de la piel, lo que se conoce como argiria. Las nanopartículas pueden ser fagocitadas por los queratinocitos epidérmicos, desencadenando una respuesta inflamatoria. Además, también se ha observado un aumento de enzimas hepáticas, que sugiere que el hígado ha sido dañado como consecuencia del tratamiento con nanopartículas de plata. Este hecho pone en evidencia la disponibilidad de las nanopartículas de plata en la vía sistémica después del contacto dérmico. Por tanto, es probable que la exposición de las nanopartículas de plata en la piel dañada permita el acceso a las nanopartículas a través de los capilares dermales a la circulación sanguínea, y así ejercer su toxicidad en sitios distales, ya que la estructura y la función del estrato córneo está comprometida. Además, también se reconoce que la permeabilidad de las nanopartículas dentro de la piel normal puede ser influida por su habilidad a acceder a capas más profundas de la piel, a través de folículos pilosos o conductos de sudor, donde la función barrera de la piel está alterada y es más débil, aunque todavía no hay nada evidenciado.

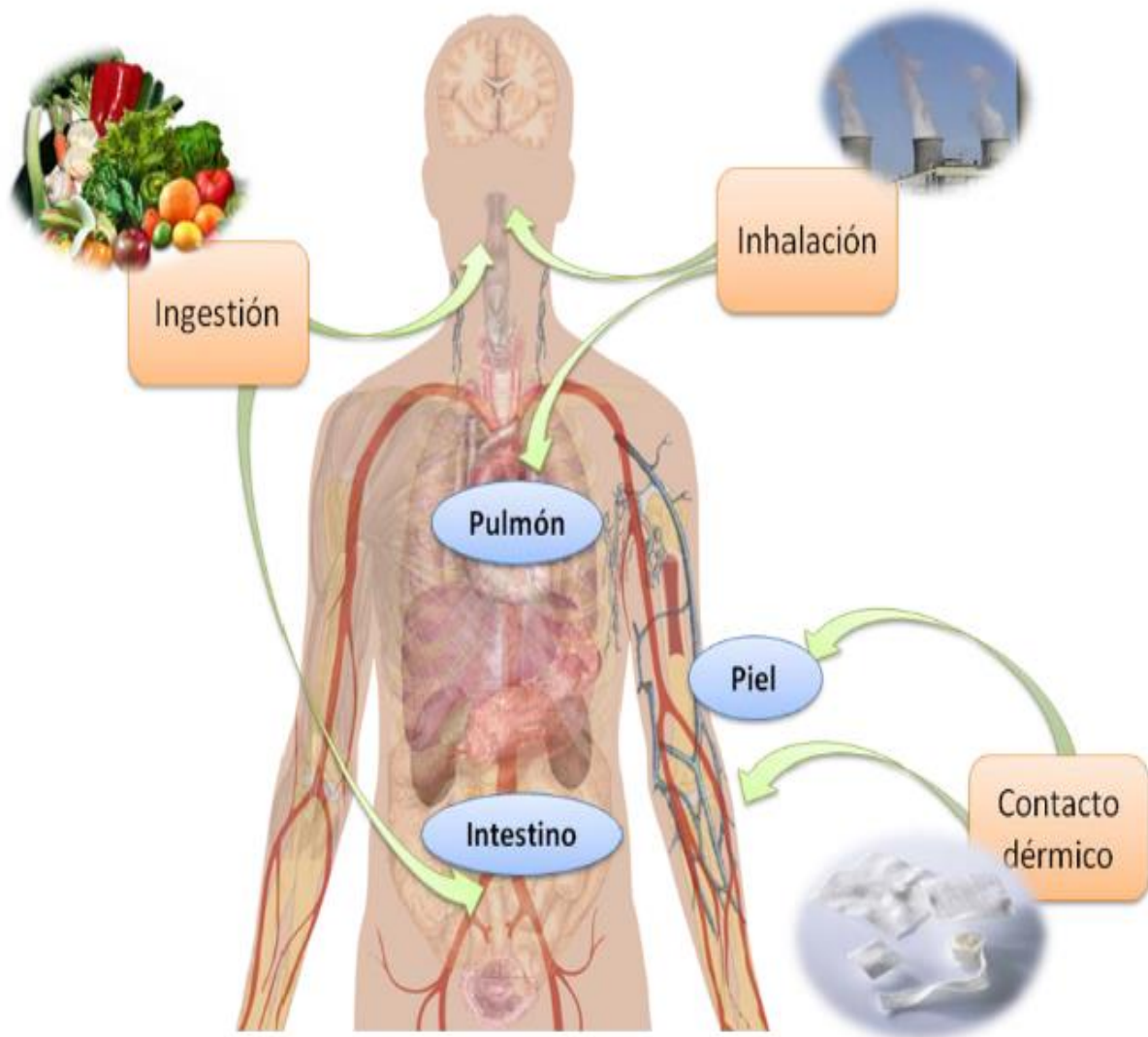
➤ **Otras**

La exposición humana también puede ocurrir a través de inyecciones intravenosas de nanopartículas de plata como, por ejemplo, en la liberación y/o direccionamiento de fármacos. Las células endoteliales, localizadas en la superficie luminal de los vasos sanguíneos, son esenciales para la generación de nuevos vasos a partir de los ya existentes, o por una nueva angiogénesis.

Se estudiaron los efectos selectivos y específicos de las nanopartículas de plata inducidos en las células endoteliales coronarias y el tono vascular regular en los anillos de la aorta. Se observó que las nanopartículas de plata interaccionaron con las células endoteliales de dos maneras: a bajas concentraciones, las nanopartículas de plata actuaron como factores

antiproliferativos/vasoconstrictores, que perjudicaron la producción de óxido nítrico. Sin embargo, a altas concentraciones, las nanopartículas de plata estimularon la proliferación/vasorrelajación mediada por no; por este estudio se indica que los niveles de exposición de las nanopartículas de plata juegan un papel significativo en la toxicidad, y pueden tener otro impacto fisicoquímico.

Figura 20. Principales vías de exposición de las nanopartículas de plata



Fuente: Ávalos *et al.*, 2013.

- **Factores que afectan a la toxicidad de las nanopartículas de plata**

- **Tamaño**

El tamaño de las nanopartículas es un factor que presenta una propiedad muy importante de estas. Muchos estudios han comprobado que la toxicidad de las nanopartículas de plata depende del tamaño. Por otra parte, el tamaño de las nanopartículas de plata también influye en la distribución tisular, en la penetración dérmica e intestinal y en la captación celular. Comúnmente, se ha observado mayores efectos tóxicos con las nanopartículas de plata que presentan tamaños muy pequeños. (Ávalos *et al.*, 2013).

- **Solubilidad**

Según Ávalos, Haza & colaboradores (2013), dicen que:

La solubilidad en fluidos biológicos (diferentes pH, o presencia de sales) es otro parámetro importante. Cuando las nanopartículas se disuelven pierden su estructura de nanopartículas y las propiedades toxicológicas específicas de estas, siguiendo entonces consideraciones toxicológicas similares a las de otro contaminante con efectos sistémicos. La liberación de Ag^+ a partir de las nanopartículas de plata requiere más investigaciones, ya que todavía es difícil de interpretar si la toxicidad observada de las nanopartículas de plata se debe a las propias nanopartículas o es debido a la liberación de iones Ag^+ . Se sugirió que tras la ingestión de plata (no específicamente nanopartículas) es probable que se convierta en la forma iónica debido al bajo pH del estómago.

- **Carga superficial**

Según Ávalos & colaboradores (2013), dicen que:

Existen estudios donde se ha observado una correlación directa entre la carga superficial y la toxicidad de las nanopartículas de plata. Se observó que las nanopartículas de plata estabilizadas con citrato con cargas superficiales negativas fueron menos citotóxicas que las nanopartículas de plata con cargas superficiales positivas, estabilizadas con polietilenimina ramificada.

Como se puede observar, incluso con la misma composición química, las nanopartículas presentan diferentes propiedades físico-químicas, y estas diferencias son un factor importante para la influencia celular. Por tanto, es importantísimo realizar una caracterización detallada de cada una de las nanopartículas antes de realizar cualquier otro ensayo de toxicidad, con el fin de entender las influencias celulares exactas de cada una de ellas, además de comprender y controlar la síntesis y las aplicaciones de las nanopartículas. La caracterización de las nanopartículas se puede llevar a cabo utilizando una variedad de técnicas como, por ejemplo, el microscopio electrónico de transmisión (TEM) (determina el tamaño del núcleo metálico), el microscopio de fuerza atómica (AFM) (mide el tamaño de la nanopartícula y su distribución), el microscopio electrónico de barrido (SEM), y por último, a través de la dispersión de luz dinámica (DLS) (determina el radio hidrodinámico; esto es, el tamaño de la nanopartícula, núcleo más corona más capa de disolvente). La composición de las nanopartículas se puede determinar utilizando la espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) (mide el estado de oxidación del elemento metálico), por resonancia magnética nuclear (RMN) (determina la corona orgánica de las nanopartículas), por espectrometría de emisión atómica con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP) y, por último, por espectrometría de absorción atómica (FAAS), (ambas determinan la concentración de metal). Otras técnicas que también se podrían emplear para la caracterización de las nanopartículas son la espectrometría de infrarrojo (IR) y la espectrometría de ultravioleta (UV), entre otras.

➤ **Forma**

También la forma de la nanopartícula de plata está involucrada en la toxicidad. Se ha demostrado que las formas triangulares son más tóxicas que las que presentan una forma esférica y alargada, debido a que posee más caras y, por lo tanto, son más reactivas. De esta forma se concluye que las esféricas son las menos tóxicas. (Ávalos *et al.*, 2013).

- **Diferentes aplicaciones de las nanopartículas de plata**

- **VIH-1**

Las nanopartículas de plata han probado ser un agente antiviral contra el VIH-1, pero su mecanismo de acción contra la infección del VIH-1 no había sido comprobado. Los resultados demuestran, por primera vez, que las NPP actúan en la etapa temprana de replicación viral del VIH-1 como un agente virucida o inhibidor de entrada en un rango de concentración no tóxico. (Lara, 2010).

Al finalizar este estudio, se propone que la actividad antiviral de las NPP resulta de la inhibición de la interacción entre la GP120 y receptores de los blancos de la membrana celular CD4. De acuerdo con los resultados anteriormente expuestos, este mecanismo de acción antiviral permite que las nanopartículas de plata inhiban la infección del VIH-1, sin importar su tropismo viral o el perfil de resistencia del virus a los antirretrovirales, uniéndose las nanopartículas a la GP120, de forma que prevengan su unión a las CD4, evitando la fusión, infectividad y, además, bloqueando tanto los virus VIH-1 libres de células como los que están asociados a células y, por lo tanto, actuando como virucidas. En conclusión, las nanopartículas de plata son virucidas efectivas, ya que inactivan partículas de VIH en un periodo de tiempo muy corto, siendo su mecanismo de acción en una etapa temprana de la replicación viral (entrada o fusión), y además, en etapas posteriores a la entrada. La información presentada aquí contribuye a un área nueva que permanece ampliamente aun sin explorar: el uso de nanomateriales contra blancos específicos de partículas virales. Son necesarias pruebas in vivo sobre toxicidad, farmacocinética y farmacodinamia de las nanopartículas de plata, pues se desconoce sobre la toxicología de las nanopartículas de plata en estudios animales. (Lara, 2010).

- **Odontología**

Quintanilla (2006) dice que:

En este trabajo se logró exitosamente la obtención de un nanocompósito basado en nanopartículas de plata, reducidas y estabilizadas en una matriz del biopolímero carboximetilcelulosa. Mediante la metodología seguida para su síntesis

fue posible obtener una distribución de tamaño aceptable, así como también un material bastante estable en suspensión acuosa.

En este trabajo de investigación también fue posible recubrir mini-implantes dentales, lo cual posiciona a este material como candidato idóneo para su aplicación en terapias, con las que se busca aminorar las reacciones inmunes y microbianas resultantes de las prácticas odontológicas en las que estos son indispensables.

El rol de la carboximetilcelulosa no fue solo de agente reductor, sino también de agente estabilizador del nanocompósito, teniendo una distribución más o menos homogénea, con un diámetro aproximado de $21 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$.

La reproducción y la distribución del tamaño, junto con una estabilidad demostrada de las nanopartículas a través del tiempo, fueron obtenidas de manera satisfactoria.

Se logró la reducción completa del nitrato de plata a plata elemental, utilizando a la carboximetilcelulosa como agente reductor y estabilizador.

Productos Naturales

- **Aspectos generales.**

Desde tiempos prehistóricos, la naturaleza ha sido la principal fuente de remedios que el hombre ha usado para atender sus necesidades terapéuticas y el mantenimiento de la salud; es por ello que la medicina ha avanzado en elaborar productos, donde los naturales sean el componente principal.

En los últimos 150 años, los químicos y los farmacólogos se han dedicado a aislar y determinar las acciones de los componentes activos de las plantas, en un intento por producir nuevos fármacos. Los ejemplos incluyen fármacos como digoxina, reserpina y morfina, entre otros, obtenidos a partir de *Digitalis purpurea*, *Rauvolfia serpentina* y *Papaver somniferum*, respectivamente. Han sido de gran utilidad en la farmacología terapéutica y en el desarrollo de nuevos fármacos derivados. (Burton Goldberg Group, 1994).

Los preparados a base de drogas vegetales son preparados homogéneos, que se obtienen mediante el uso de drogas vegetales con tratamientos de extracción, destilación, prensado, fraccionamiento, purificación, concentración o fermentación. Quedan incluidos, por ejemplo, drogas vegetales trituradas o pulverizadas, tinturas y otros tipos de extractos, aceites esenciales, jugos obtenidos por expresión, así como exudados tratados. (Cañiguera, 2013).

Gutiérrez y Estévez (2009) dicen: “los productos naturales, tienen metabolitos secundarios, los cuales pueden ser considerados como productos para la adaptación de un organismo a sobrevivir en un ecosistema particular”.

Los metabolitos secundarios son sustancias que presentan actividad farmacológica; no son comunes a todas las plantas, pero son característicos de cada especie, y a veces se les considera como medios de defensa. Como ejemplo de estos metabolitos se tienen alcaloides, flavonoides, esteroides, curnarinas, taninos, aceites esenciales y muchos más. (Ávila *et al.*, 2009).

La medicina natural tiene mucho que ofrecer, sobre todo cuando se usa para inducir la curación de problemas crónicos continuos. A través de su utilización adecuada, se puede lograr una profunda transformación de la salud, con un menor peligro derivado de los efectos colaterales inherentes a los medicamentos farmacológicos. Sin embargo, la creencia generalizada de que este tipo de producto actúa lenta y levemente no es del todo cierto. Pueden presentarse efectos adversos si se eligen dosis inadecuadas, o si se le receta al paciente una planta medicinal equivocada. (Ávila *et al.*, 2009).

La industria farmacéutica actual se ha basado, con frecuencia, en conocimientos tradicionales a la hora de elaborar y sintetizar parte de los fármacos que se producen con plantas medicinales. Este proceso continúa vigente en el momento actual, con nuevos aportes y aplicaciones de utilidad en el tratamiento de patologías nuevas o preexistentes. (Ávila *et al.*, 2009).

- **Elaboración de compuestos farmacológicos naturales**

La obtención de las drogas vegetales se realiza a partir de las plantas medicinales, proceso que consiste en una serie de pasos que se adaptan de acuerdo con las necesidades y características de la droga por elaborar. Entre ellas se encuentran:

➤ **Obtención y preparación de la muestra vegetal**

Las muestras de materia vegetal se recolectan en la época elegida; se obtiene una muestra completa, de hojas, flores y tallos, y raíces en caso de que interese estudiar algún principio activo contenido en ellas. (Bisset, 1994).

Por lo general, se dejan secar al aire hasta que haya ausencia de líquidos, y se separan hojas, tallos y flores, para pesar cada una de las fracciones vegetales que se necesiten. En caso de ser necesario, las plantas se pueden triturar con un molinillo, lo cual se puede realizar con una molienda pequeña, (Bisset, 1994).

Menta (*Mentha piperita*, Lamiaceae)

- **Aspectos generales**

El siguiente apartado se basó en la publicación de Tianfu (2016).

Según la mitología griega, la ninfa Mintha fue transformada en planta por Proserpina, que celosa de ella la transformó en flor. El nombre de la especie, piperita, proviene del latín moderno *ritus*, que significa "picante".

Diferentes tipos de menta eran utilizados en los componentes de los remedios medicinales chinos antiguos; los japoneses utilizaban ya el mentol como remedio, 2000 años antes.

Cerca de Andel-Quamah se han encontrado restos de menta en las tumbas del antiguo Egipto, que datan de 1200 a 600 años a. de C., y que dejaban como tributo funerario acompañando al difunto.

Dioscórides describía la menta como una planta "benigna para el estómago", y su contemporáneo, Plinio, la recomendaba contra los dolores abdominales y los males biliares y escribió: "extraordinariamente eficaz contra el dolor de barriga y los trastornos biliares, Calma el dolor de estómago y expulsa a las lombrices". Su historia está documentada desde 1696. A partir de 1721, los médicos introdujeron la menta en Europa Central desde Inglaterra, que junto con la manzanilla fueron las hierbas medicinales más utilizadas.

La Menta es una planta herbácea, vivaz, de tallos erectos cuadrangulares, muy ramificados, que pueden alcanzar los 80 cm de altura. Las hojas son pecioladas, lanceoladas o agudas, con bordes aserrados de color verde oscuro en la cara superior y más clara en el inferior, opuestas, formando nudos, de los que surgen ramificaciones del tallo y las inflorescencias. (Muñoz, 1987).

Las flores se hallan agrupadas en tirsos densos, al extremo de los tallos y sus ramificaciones, de color púrpura. Los estolones, de sección cuadrangular, crecen bajo y sobre la superficie del suelo, en todas las direcciones. (Plantas medicinales, 2005, p. 3). Las hojas contienen del 10% al 12% de elementos minerales como los Flavonoides, especialmente los heterósidos derivados de la luteolina y apigenina, ácidos fenólicos, cafeico, clorogénico, ursólico, taninos y un principio amargo, hasta el 3% de aceite esencial. (Terán, 2009).

Figura 21. Mentha piperita



Fuente: Terán, 2009.

- **Uso medicinal**

La Agencia Europea del Medicamento (2010) aprueba las siguientes indicaciones terapéuticas:

a) Hoja: uso tradicional (basado en su utilización prolongada) en el tratamiento de los trastornos digestivos, como dispepsia y flatulencia.

b) Aceite esencial:

Uso bien establecido: por vía oral, para el tratamiento sintomático de trastornos digestivos, tales como espasmos leves, dispepsia, flatulencia y dolor abdominal,

especialmente en pacientes con síndrome del intestino irritable, por vía externa, para el alivio sintomático de la cefalea tensional leve.

Uso tradicional: alivio de la tos y resfriado, dolor reumático y muscular, prurito, en aplicación tópica.

La infusión de hojas secas y la esencia tienen propiedades antiespasmódicas, coleréticas, estomáquicas, carminativas, eupépticas, antifúngicas, antivirales, en los trastornos estomacales, espasmos digestivos y abdominales, así como contra insuficiencia biliar y el meteorismo. (Plantas medicinales, 2005).

Targuá (*Croton draco*, Euphorbiaceae)

- **Aspectos generales**

La familia Euphorbiaceae está formada de 320 géneros y 8100 especies, dentro de las cuales se encuentran árboles, hierbas y lianas, distribuidos en mayor cantidad en los trópicos y en las zonas templadas. El género *Croton* es el segundo más grande dentro de la familia, ya que contiene alrededor de 1,300 especies, las cuales se encuentran distribuidas en América, Asia y África. (Feliza, 2009).

Es un árbol de copa amplia, que alcanza los 10 a 20 m de altura; tiene una raíz en forma cilíndrica cónica, axomorfa, con la raíz principal más desarrollada que las secundarias, peridermis constituido por suber o corcho. (Ramírez, 2003).

Croton draco es una especie arbórea perteneciente a la familia de las Euphorbiaceae, con amplia distribución en el continente americano. Como características sobresalientes están la presencia de látex rojo en la corteza (evidente cuando esta es dañada), así como un fuerte olor a aceites esenciales. (Feliza, 2009).

En Costa Rica, esta especie es utilizada industrialmente para la obtención de taninos condensados, lo que representa, junto con el interés farmacéutico, un recurso con gran potencial para el resto de países donde naturalmente se le encuentra. (Castro, 1999).

Figura 22. Crotón draco

Fuente: Castro, 1999.

- **Uso medicinal**

Sus hojas se usan como agente cicatrizante; además, posee propiedades antiinflamatorias, antisépticas y hemostáticas, así como antidiarreico; también se ha utilizado bastante en el tratamiento de úlceras gastrointestinales, cólicos uterinos, retención de orina y como anticancerígeno; algunas poblaciones indígenas lo han usado en el tratamiento de fiebres atribuidas a infecciones de origen digestivo, y para tratar diferentes afecciones de la piel. (Coy *et al.*, 2016).

En la actualidad se utilizan dosis a partir de decocciones obtenidas del crotón, a partir de ocho gotas, que son aplicadas sobre la piel o administradas por vía oral; también en el tratamiento de úlceras gastrointestinales, cólicos uterinos, retención de orina y como anticancerígeno. (Aguilar *et al.*, 2003).

Evaluación de la actividad antimicrobiana

- **Concepto**

La potencia de una sustancia que es antimicrobiana se conceptualiza como la habilidad específica o la capacidad de un producto de poder lograr el efecto planeado. Se fundamenta en la medición de alguna propiedad beneficiosa; por ejemplo, su efecto, su capacidad frente a un determinado microorganismo, el cual es llamado halo de inhibición; se determina por medio de un método analítico más adecuado, más comúnmente los métodos de análisis microbiológicos. (Pedrada & Castellano, 2009).

La potencia debe ser una propiedad o un atributo, que es definible y medible para un producto de origen biológico o semisintético; además, debe estar presente en los estudios de estabilidad, con las ansias de verificar la conformidad del producto en lo que respecta a la calidad. (Pedrada & Castellano, 2009).

La potencia o la actividad de un antibiótico puede ser demostrada por medio del efecto inhibitorio de la sustancia en cuestión, cuando se da la evaluación frente a un microorganismo. En los análisis de actividad se da una comparación de forma cuantitativa; el efecto de una muestra sobre un sistema biológico con el efecto producido por una preparación estándar en las mismas condiciones, y para la cual ya se ha determinado exactamente su actividad, obteniendo, así, un valor de actividad relativa al del estándar de referencia. Si se prueban las muestras en diferentes concentraciones, se puede determinar una concentración inhibitoria mínima del antibiótico hacia ese mismo microorganismo. (Pedrada & Castellano, 2009).

La CMI, como la concentración mínima de antibiótico que, en un período de tiempo predeterminado, es capaz de inhibir el crecimiento in vitro de un inóculo bacteriano previamente estandarizado (concentración conocida de gérmenes); por otra parte, la CMB es la concentración mínima de un antibiótico que, en un período de tiempo predeterminado, es

capaz de inducir la muerte *in vitro* del 99.9% de una población bacteriana previamente estandarizada. (Taroco *et al.*, 2006).

Se sabe que la interpretación que se le debe dar al halo de inhibición es a tres niveles distintos: sensible (S), intermedio (I) y resistente (R). Para realizar este ensayo, se recomienda el uso del medio de cultivo Mueller-Hinton para pruebas de sensibilidad o antibiograma. El halo de inhibición que se genera tiende a ser circular alrededor del disco impregnado con la sustancia, el cual posee una simetría que es fácilmente medible. (Rojas, 2017).

- **Pruebas de sensibilidad antimicrobiana**

Según Picazo & García (2015), hablan sobre la sensibilidad antimicrobiana:

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos es una de las funciones más importantes de los laboratorios de microbiología clínica. Su realización se desarrolla mediante las pruebas de sensibilidad o antibiograma, cuyo principal objetivo es evaluar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, traduciendo, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica. El antibiograma define la actividad *in vitro* de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. Su resultado, la farmacología del antimicrobiano, en particular en el lugar de la infección, y los aspectos clínicos del paciente y de su infección, sustentan la elección de los antimicrobianos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Asimismo, ofrece, en su conjunto, elementos objetivos de actuación en los tratamientos empíricos.

Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana son técnicas fundamentales en la investigación, y los resultados pueden cambiar, dependiendo de una variedad de factores que se encuentran involucrados en el desarrollo de las mismas. Desde la selección de las plantas, el tipo de extracción, la elección de bioensayos apropiados hasta detalles como la cantidad

de inóculo y técnica utilizada para la determinación de actividad antimicrobiana, pueden influir en los resultados de una manera contundente. Los métodos antimicrobianos y antifúngicos están clasificados en tres grupos principales: difusión, dilución y métodos bioautográficos. (Rivas *et al.*, 2016).

Estas pruebas de sensibilidad deben estar estandarizadas y sujetas a procesos de control que aseguren su reproducibilidad. Aunque no existe una reglamentación o estandarización de la metodología para la evaluación de la capacidad inhibitoria de los extractos de plantas, como está establecido para los antibióticos, la mayoría de los métodos están basados en los utilizados para evaluar la resistencia o susceptibilidad a antibióticos. (Rivas *et al.*, 2016).

La metodología recomendada para este tipo de prueba es el método de difusión, debido a que es un método cualitativo, que se caracteriza por ser de fácil estandarización, y está indicado para microorganismos no exigentes y de crecimiento rápido. Este método está apoyado por datos clínicos y de laboratorio y, además, presenta la ventaja de ser reproducible; el método se desarrolla con base en los fundamentos descritos por Bauer & colaboradores (1966), en el método de Kirby-Bauer. Esta técnica se puede realizar en pozo o disco, ya que actualmente ambos se encuentran estandarizados y son recomendados por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad del Comité Nacional de Normas de Laboratorios Clínicos (NCCLS), de los Estados Unidos. (Rivas *et al.*, 2016).

- **Método Kirby-Bauer**

Es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o quimioterápico. Este método comprende lo que se denomina un antibiograma o prueba de susceptibilidad bacteriana frente a drogas específicas. (Stella & Marín, 2009).

Sobre la superficie de una placa de agar Müller-Hinton (medio de cultivo rico, diseñado especialmente para hacer ensayos de sensibilidad) se inocula una cantidad estandarizada de bacterias, sembrándolas de forma uniforme, para obtener después de la inoculación un "césped" bacteriano. A continuación se colocan discos de papel de

filtro impregnados con concentraciones conocidas de los diferentes antibióticos. La elección de los antibióticos a probar depende del germen y del foco de infección. El antibiótico difundirá desde el papel filtro al agar de forma radial. Se incuba la placa durante 18-24 horas a 37 °C (respetar este parámetro, porque temperaturas menores pueden disminuir la velocidad del crecimiento del germen y la difusión del antibiótico, dando halos irregulares difíciles de medir), y luego se miden los halos de inhibición de desarrollo, interpretándose de acuerdo con tablas confeccionadas previamente. Los resultados se expresan como: Sensible (S), Intermedio o Moderadamente sensible (I) y Resistente (R). (Stella & Marín, 2009).

Figura 23. Halos de Inhibición en un Medio de Cultivo por Técnica de Difusión de Disco



Fuente: Stella *et al.*, 2009,

Este tipo de técnica posee ventajas como:

- Fácil de efectuar y de gran reproducibilidad.
- Bajo precio.
- No requiere equipo especial.
- Sus resultados son fácilmente interpretados por los clínicos.
- Es muy flexible a la hora de escoger los antibióticos a probar.

No obstante, también posee desventajas, como que es una técnica que solamente brinda información cualitativa; además, otra desventaja importante es que existen microorganismos de crecimiento lento, por lo cual deberían modificarse los parámetros de crecimiento y cultivo para poder obtener resultados satisfactorios. Por otro lado, se dice que los medios más recomendados son infusión cerebro y corazón (ICC), agar soya tripticasa (TSA), agar Mueller-Hinton (MH) o agar nutritivo. (Rivas *et al.*, 2016).

Las temperaturas de incubación varían dependiendo del microorganismo en cuestión, siendo la temperatura de 35 ± 2 °C para la mayoría de las bacterias, y el tiempo de incubación puede variar de 24-48 horas. (Rivas *et al.*, 2016).

La técnica de Bauer y Kirby categoriza la eficacia del antibacteriano con respecto a los halos de inhibición producidos; en este caso clasifica como resistente a los microorganismos con halos menores o iguales a 6 mm, intermedios de 7 a 9 mm y sensible mayores a 9 mm, (Morales, 2012).

CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

En el siguiente capítulo se pretende demostrar cómo se llevarán a cabo los objetivos y problemas propuestos en esta investigación. Se demuestra cómo se realiza el diseño experimental para lograr el objetivo propuesto, además de la instrumentación necesaria y análisis de datos para esta investigación.

Enfoque y diseño

Esta investigación, de acuerdo con sus objetivos y justificación, se plantea como un estudio con enfoque cuali-cuantitativo, con diseño transversal experimental, con alcance descriptivo. Según Sampieri & colaboradores (2012), mencionan que:

El enfoque cualitativo busca principalmente “dispersión o expansión” de los datos e información, mientras que el enfoque cuantitativo pretende intencionalmente “acotar” la información (medir con precisión las variables del estudio, tener “foco”). En las investigaciones cualitativas la reflexión es el puente que vincula al investigador y a los participantes (Mertens, 2005). Así como un estudio cuantitativo se basa en otros previos, el estudio cualitativo se fundamenta en sí mismo. El primero se utiliza para consolidar las creencias (formuladas de manera lógica en una teoría o un esquema teórico) y establecer con exactitud patrones de comportamiento en una población; y el segundo, para construir creencias propias sobre el fenómeno estudiado como lo sería un grupo de personas únicas.

Tanto el enfoque cuantitativo como cualitativo presentan una perspectiva muy valiosa, debido a que estos han contribuido al desarrollo de una serie de conocimientos. Pero esto no quiere decir que uno sea superior al otro; de hecho, pueden ser complementarios en una investigación, solo sirven para fenómenos de estudio diferentes a los que se requiere. Tanto así que la posición asumida en esta investigación es una combinación de los tipos de enfoque.

El diseño de esta investigación es de carácter transversal, debido a que este proyecto será realizado en un tiempo determinado, lo cual comprende los primeros dos cuatrimestres

del 2019. Hernández, Fernández & Baptista (2010) definen un diseño trasversal de la siguiente manera:

“Los diseños de investigación transeccional o transversal recolectan datos en un solo momento, en un tiempo único. Su propósito es describir variables y analizar su incidencia e interrelación en un momento dado. Es como tomar una fotografía de algo que sucede”.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, destaca la importancia que tiene un estudio transversal para esta investigación, debido a los diversos análisis que se van a realizar en un tiempo específico. De la misma manera, la aclaración de la definición de un diseño experimental es crucial. Hernández & colaboradores (2010) dan una definición:

El término experimento tiene al menos dos acepciones, una general y otra particular. La general se refiere a “elegir o realizar una acción” y después observar las consecuencias. Este uso del término es bastante coloquial; así, hablamos de “experimentar” cuando mezclamos sustancias químicas y vemos la reacción provocada, o cuando nos cambiamos de peinado y observamos el efecto que suscita en nuestras amistades dicha transformación. La esencia de esta concepción de experimento es que requiere la manipulación intencional de una acción para analizar sus posibles resultados. Una acepción particular de experimento, más armónica con un sentido científico del término, se refiere a un estudio en el que se manipulan intencionalmente una o más variables independientes (supuestas causas-antecedentes), para analizar las consecuencias que la manipulación tiene sobre una o más variables dependientes (supuestos efectos-consecuentes), dentro de una situación de control para el investigador.

De acuerdo con las descripciones de esta investigación, tiene como objetivo ser una indagación científica que se preste para la continua investigación y desarrollo para futuros estudios experimentales, que deseen realizar especialistas en el campo que se encuentren interesados en la mejora de este proyecto. Así, Hernández & colaboradores (2014) también hacen una mención de estudios descriptivos, lo cual se define como:

Con los diseños descriptivos se busca especificar las propiedades, las características y los perfiles de personas, grupos, comunidades, procesos, objetos o cualquier otro fenómeno que se someta a un análisis. Es decir, únicamente pretenden medir o recoger información de manera independiente o conjunta sobre los conceptos o las variables a las que se refieren, esto es, su objetivo no es indicar cómo se relacionan éstas.

Cuadro 2. Cuadro de operacionalización

Objetivos	Variable	Definición conceptual	Indicador	Instrumento
Sintetizar nanopartículas de plata usando como precursor el nitrato de plata, como reductores extractos de menta (<i>Mentha piperita</i> , Lamiaceae) y como funcionalizante Targuá (<i>Croton draco</i> , Euphorbiaceae).	Nanopartículas de plata.	Las nanopartículas de metales, de óxidos metálicos o de compuestos basados en metales (como pueden ser las AgNPs) muestran interesantes propiedades biológicas, ópticas, magnéticas, electrónicas y catalíticas que, en general, se relacionan con su tamaño, forma, composición, cristalinidad y estructura de la partícula, pudiendo ser interesantes desde el punto de vista de su aplicación práctica. (Salguero, 2016).	Síntesis	Trabajo en laboratorio.
Desarrollar una forma farmacéutica de uso tópico, empleando las nanopartículas de	Formas farmacéuticas de uso tópico.	Las formas farmacéuticas semisólidas de uso tópico son un conjunto de preparaciones	Formulación	Trabajo en laboratorio.

plata a diferentes porcentajes.		farmacéuticas muy diferentes entre sí; se caracterizan por presentar una mayor viscosidad, en comparación con el agua, y además, tener una consistencia semisólida. Estas formas farmacéuticas están destinadas a tener una aplicación a nivel de la piel o algunas mucosas, para lograr hacer su acción local o poder permitir que los fármacos penetren. Estas formas farmacéuticas están formadas por una base (simple o compuesta), también llamada vehículo o excipiente, en la que se disuelven o dispersan uno o varios principios activos. Esta base puede ser terapéutica y modificar la acción del principio activo. (García, Ortonobes & García, 2015).		
Examinar la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata sobre bacterias que comúnmente	Actividad antimicrobiana.	Examinar la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata sobre bacterias que comúnmente causan	Inhibición	Trabajo en laboratorio Microbiológico Microlabs.

causan infecciones durante el proceso de cicatrización en quemaduras superficiales de la epidermis.		infecciones durante el proceso de cicatrización en quemaduras superficiales de la epidermis. (Pedraza & Castellano, 2009).		
---	--	--	--	--

Fuente: Elaboración propia.

Procedimiento

- **Fase I: Obtención y funcionalización de las nanopartículas de plata**

- **Fase I-a: Obtención del extracto de menta**

El extracto se obtuvo a partir de hojas de menta (*Mentha piperita*), recolectadas en el Cantón de Ciudad Colón, Distrito Mora, San José, Costa Rica, en junio del 2019.

Se utilizaron 6 gramos de hojas frescas; se procedió a lavarlas con agua destilada, para eliminar impurezas. Posteriormente, se colocaron en un Erlenmeyer de 500mL y luego se le agregaron 400mL de agua destilada; se hirvieron por 10 minutos y se mantuvo con una agitación constantemente a 300 rpm. (Salguero, 2016).

Seguidamente, se filtró por medio de un embudo en espiga, para dejarlo reposar hasta estar a temperatura ambiente. Por último, se midió el volumen de extracto remanente y se procedió a realizar una dilución 1:3 con agua destilada. (Salguero, 2016).

- **Fase I-b: Preparación de la sangre de Targuá (*Croton Draco*)**

La sangre o látex de Targuá (*Croton draco*) fue recolectada en el distrito Mora, cantón de Ciudad Colón, San José, Costa Rica, en junio del 2019. Con ayuda de un bisturí, se realizaron cortes transversales al tronco del árbol, y al cabo de 6 horas comenzó a caer el látex de Targuá, el cual fue almacenado en un vaso estéril.

Este látex se colocó en un horno (Digisistem Labs DN-500) a 25 °C, hasta que se secó y se pudo observar un polvo color vino brillante; se pesaron 24 gramos del látex previamente

secado y se disolvieron en 480 mL de etanol al 50%. (Hasan, *et al.*, 2014). Se utilizó una plancha de calentamiento para homogenizar la muestra, a una temperatura de 25 °C, y con agitación a 300rpm por 10 minutos. Una vez obtenida la solución homogénea, se procedió a filtrar en un embudo de espiga y se almacenó en refrigeración.

➤ **Fase I-c: Síntesis de nanopartículas de plata con el extracto de menta**

Para la síntesis de las nanopartículas de plata se realizó la preparación de una solución de nitrato de plata a una concentración de 10mM, para ser utilizado como precursor. Como agente reductor se utilizó el extracto de menta preparado en la fase I-a. (Salguero, 2016).

Se tomaron 400mL de nitrato de plata 10mM, y se colocó en un Erlenmeyer de 500 mL, protegiéndolo de la luz. Luego se le agregaron 24 mL del extracto de menta gota a gota empleando una bureta de 25mL. Esta reacción se dio a una temperatura de 45 °C y a 300 rpm. La observación de un cambio de color a naranja-marrón indica la formación de las nanopartículas de plata. (Salguero, 2016). Esta solución se transvasó a un frasco color ámbar de vidrio, y se almacenó en refrigeración a una temperatura de 4 °C. (Cardeño & Londroño, 2014). OJO: está bien °C.

➤ **Fase I-d: Funcionalización de las nanopartículas de plata**

Para la funcionalización de nanopartículas de plata se tomaron 400mL de la solución obtenida en la fase I-c y se mezclaron con 400mL de la solución de látex de Targuá (fase I-b); esta mezcla se realizó a 25 °C y con agitación de 300rpm. (Salguero, 2016). Para asegurar una mezcla homogénea, se dejó agitar durante 10 minutos en el agitador magnético, y luego durante 10 minutos en el sonicador (Azzota BHF-50). (Salguero, 2016).

Por último, se procedió a secar las nanopartículas de plata funcionalizadas en un horno (Digisistem Labs DN-500) a 25 °C, hasta que se obtuvo un polvo fino color gris.

• **Fase II. Caracterización de las nanopartículas de plata**

➤ **Fase II-a: Espectroscopia UV-vis**

La caracterización con UV-vis se realizó a las nanopartículas de plata sin funcionalizar, nanopartículas de plata funcionalizadas, extracto de menta y la solución de Targuá. Estas dos últimas se realizaron con el fin de demostrar que no interfieren con el análisis de las nanopartículas formadas. Para todos estos análisis se utilizó un

espectrofotómetro UV-Vis (Spectro UV-2505); este instrumento de laboratorio mide la cantidad de luz que va a absorber un compuesto en función de la longitud de onda de la luz.

- **Fase II-a-a: Caracterización de las nanopartículas de plata sin funcionalizar**

Para la caracterización de estas nanopartículas se realizó un barrido de longitudes de onda. Las nanopartículas de plata se leen a partir de 400nm; un pico a partir de esta longitud de onda puede dar una predicción del tamaño de las nanopartículas (Morales; *et al.*, 2009); por eso se procedió a medir a diferentes longitudes de onda una misma muestra, partiendo desde 300nm hasta los 500nm, partiendo en múltiplos de 20, utilizando agua destilada como blanco.

Si la longitud de onda del pico de absorción tiene una absorción que es menor a los 400nm, indica que presenta un tamaño de aproximadamente 10-14nm; un pico de absorción en la longitud de onda de 430nm indica un tamaño de 35-50nm y, por último, el pico a la longitud de onda de 438nm dice que el tamaño es de 60-80nm. (Salguero, 2016).

- **Fase II-a-b: Caracterización de las nanopartículas de plata funcionalizadas**

Para la caracterización de las nanopartículas de plata funcionalizadas, se realizó un barrido de longitudes de onda. Las nanopartículas de plata se leen a partir de 400nm; un pico a partir de esta longitud de onda puede dar una predicción del tamaño de las nanopartículas (Morales, *et al.*, 2009); por eso se procedió a medir a diferentes longitudes de onda una misma muestra, partiendo desde 300nm hasta los 500nm, partiendo en múltiplos de 20, utilizando agua destilada como blanco. De estas nanopartículas funcionalizadas, al poseer peso molecular muy alto aportado por el látex, el análisis se realizó en una dilución de 1:6 con agua destilada, para que así pudiera cumplir la ley de Beer.

- **Fase II-a-c: Análisis de interferencia del extracto de menta y del Targuá**

Para el extracto de menta (obtenido en fase I-a), se le realizó el mismo procedimiento descrito en la fase II-a-a; de este extracto no se realizaron diluciones.

Para el látex de Targuá disuelto en etanol (obtenido en fase I-b), se le realizó el mismo barrido pero se debieron realizar diluciones 1:60 con agua destilada, para que cumpliera con la ley de Beer.

➤ **Fase II-b: Análisis de espectroscopia de Infrarrojo**

El principal uso que presenta el IR en el análisis de nanopartículas se centra en la detección de especies químicas que se encuentran enlazadas a la superficie. La región que abarca el IR va de 12800 y los 10cm^{-1}

- **Fase II-b-a: Análisis de IR para nanopartículas de plata con extracto acuoso de menta**

Para este análisis se tomó una muestra en estado líquido con un gotero, y se procedió a realizar la lectura de picos presentes. Se utilizó un espectrofotómetro FT-IR (Agilent Technologies Modelo Cary 630).

- **Fase II-b-b: Análisis de IR para nanopartículas de plata Funcionalizadas**

Se repitió el mismo procediendo que en la fase II-b-a, pero se utilizaron las nanopartículas funcionalizadas ya secas como resultado de la fase I-d.

- **Fase II-b-c: Análisis de IR para extracto de menta y Targuá con etanol**

Se repitió el mismo procedimiento que en la fase II-b-a.

- **Fase III. Elaboración de las cremas a diferentes concentraciones de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá (0.5%, 1%)**

- **Fase III-a: Elaboración de la crema del control positivo: Sulfadiazina de plata al 1%**

Fase oleosa: se pesaron 11,8 gramos de cera blanca con 76,5 gramos de vaselina; ambos se fundieron a una temperatura de $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en baño maría; se mantuvo una agitación vigorosa con la ayuda de un agitador de vidrio.

Fase acuosa: se calentaron y mezclaron 5 gramos de agua destilada, 4,8 gramos de propilenglicol, 1 gramos de Sulfadiazina de plata y 0,80 gramos de bórax (Borato de sodio); todo esto en baño maría, a una temperatura de $80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Luego, en un beaker aparte, se pesaron 0,05 gramos de propilparabeno y 0,15 gramos de metilparabeno, y se añadieron a la fase oleosa.

Por último, se añadió la fase acuosa a la fase oleosa con agitación constante, vigorosa y manual, para ser envasada en un frasco que no fuera transparente.

➤ **Fase III-b: Elaboración de la crema de control negativo: sin principio activo**

Fase oleosa: se pesaron 12 gramos de cera blanca con 76,8 gramos de vaselina; ambos se fundieron a una temperatura de 80 °C en baño maría; se mantuvo una agitación vigorosa con la ayuda de un agitador de vidrio.

Fase acuosa: se calentaron y mezclaron 5 gramos de agua destilada, 4,8 gramos de propilenglicol y 0,80 gramos de bórax (Borato de sodio); todo esto en baño maría, a una temperatura de 80 °C.

Luego, en un beaker aparte, se pesaron 0,05 gramos de propilparabeno y 0,15 gramos de metilparabeno, y se añadieron a la fase oleosa.

Por último, se añadió la fase acuosa a la fase oleosa con agitación constante, vigorosa y manual, para ser envasada en un frasco que no fuera transparente.

Fase oleosa: se pesaron 11 gramos de cera blanca con 76 gramos de vaselina; ambos se fundieron a una temperatura de 80 °C en baño maría; se mantuvo una agitación vigorosa con la ayuda de un agitador de vidrio.

➤ **Fase III-c: Elaboración de la crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 0,5%**

Fase oleosa: se pesaron 11,8 gramos de cera blanca con 76 gramos de vaselina; ambos se fundieron a una temperatura de 80 °C en baño maría; se mantuvo una agitación vigorosa con la ayuda de un agitador de vidrio.

Fase acuosa: se calentaron y mezclaron 5 gramos de agua destilada, 4,5 de propilenglicol, 0,5 gramos de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá y 0,80 gramos de bórax (Borato de sodio); todo esto en baño maría, a una temperatura de 80 °C.

Luego, en un beaker aparte, se pesaron 0,05 gramos de propilparabeno y 0,15 gramos de metilparabeno, y se añadieron a la fase oleosa.

Por último, se añadió la fase acuosa a la fase oleosa con agitación constante, vigorosa y manual, para ser envasada en un frasco que no fuera transparente.

- **Fase III- d: Elaboración de la crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 1% Fase oleosa: se pesaron 11,8 gramos de cera blanca con 76,5 gramos de vaselina; ambos se fundieron a una temperatura de 80 °C en baño maría; se mantuvo una agitación vigorosa con la ayuda de un agitador de vidrio.**

Fase acuosa: se calentaron y mezclaron 5 gramos de agua destilada, 4,8 gramos de propilenglicol, 1 gramo de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá y 0,80 gramos de bórax (Borato de sodio); todo esto en baño maría, a una temperatura de 80 °C.

Luego, en un beaker aparte, se pesaron 0,05 gramos de propilparabeno y 0,15 gramos de metilparabeno, y se añadieron a la fase oleosa.

Por último, se añadió la fase acuosa a la fase oleosa con agitación constante, vigorosa y manual, para ser envasada en un frasco que no fuera transparente.

- **Fase IV: Medición de la actividad antimicrobiana**

En este segmento se describirá todo el proceso del cultivo de las bacterias, así como la adición de las cremas a diferentes porcentajes de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá, incluyendo una crema de control positivo de sulfadiazina de plata y un control negativo que no posee ningún principio activo, con la finalidad de poder cumplir con el tercer objetivo.

- **Fase IV- a: Preparación de las placas petri para el cultivo de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli***

En una placa petri estéril y con ayuda de una capilla de flujo laminar, se añadió una fina capa de aproximadamente 0,5 cm de un agar nutritivo, el cual se encontraba a una temperatura de 55 °C. Posteriormente, se dejó solidificar el agar sobre la placa por

aproximadamente 10 min. Con una pipeta plástica y estéril se realizaron los pocillos, donde se iban a colocar las cremas.

➤ **Fase IV- b: Cultivo de las bacterias e inoculación de las cremas de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá, crema de control positivo de sulfadiazina de plata y el control negativo**

Para cultivar las bacterias se utilizó un aplicador estéril, el cual fue sumergido y humedecido en un medio con tioglicolato, que contenía la cepa de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia Coli*; después se procedió a rayar la placa con el aplicador y con cuidado de no romper el agar, en cuatro direcciones distintas; seguido a esto se realizaron cuatro pocillos y se rotularon donde se iban a aplicar la crema de control negativo, crema de control positivo de sulfadiazina de plata al 1%, crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 0,5% y crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 1%.

Posteriormente, con una pipeta se introdujo la crema en cada uno de los pocillos correspondientes. Concluido este proceso, se taparon las placas petri y se incubaron a 35 °C ± 2 °C por 24 horas.

➤ **Fase IV-c: Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)**

Los resultados obtenidos serán expresados con la ayuda de gráficos, y así se explicará la actividad antibacteriana de cada crema obtenida; el procedimiento será expuesto mediante la utilización de fotografías del proceso.

CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En este capítulo se reportan los datos obtenidos durante la elaboración del proyecto, mediante tablas y figuras que representen, de una forma más sencilla y versátil, la interpretación de los resultados; así mismo, se ordena de una manera secuencial con respecto a cómo se fue realizando cada uno de los pasos según la metodología. Este segmento tiene como finalidad analizar primero las nanopartículas, luego la elaboración de la crema y, por último, la actividad antibacteriana de las cremas a base de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

Fase I: Análisis de la obtención y funcionalización de las nanopartículas de plata

- **Análisis de la obtención del extracto acuoso de menta**

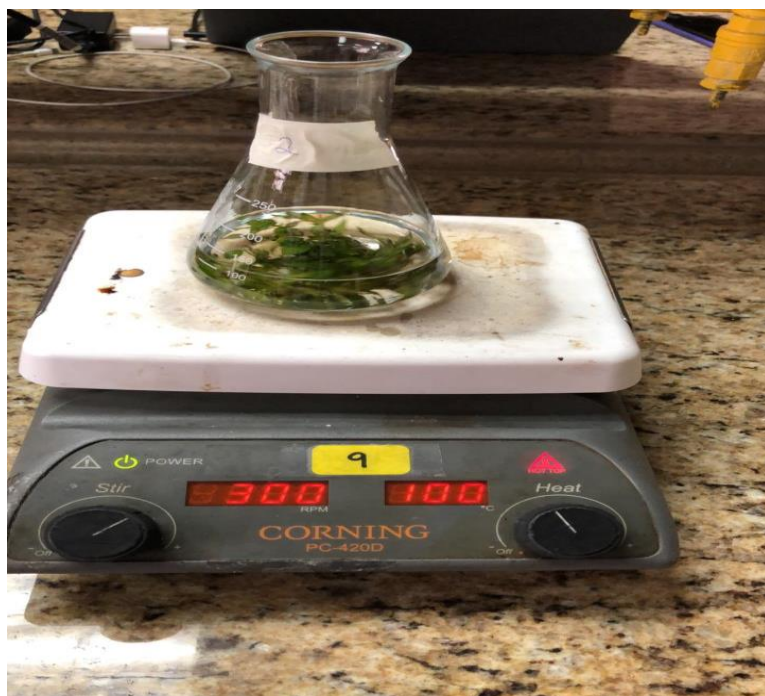
La primera etapa de la investigación consistió en la obtención de extractos acuosos de la menta, hirviendo las hojas de esta en agua destilada y, posteriormente, realizando una dilución con agua destilada. Las hojas de menta fueron lavadas con agua destilada, para eliminar las impurezas. Se recolectaron para toda la investigación aproximadamente 50 gramos de hojas.

Figura 24. Recolección de la plata *Mentha piperita* en la zona de Ciudad Colón



Fuente: Elaboración propia.

Figura 25. Obtención del extracto acuoso de *Mentha piperita*



Fuente: Elaboración propia.

- **Análisis de la preparación de la sangre de Targuá (*Croton draco*)**

La preparación de la sangre de Targuá pasó por un proceso de secado a una temperatura de 25 °C en un horno hasta obtener un polvo fino color vino; este proceso de secado duró más de 30 horas (véase Figura 26). La temperatura a la que se dio el proceso se debe a que la sangre de Targuá presenta poca estabilidad a temperaturas elevadas; por esa razón se manejó a temperatura ambiente. Luego se realizó una dilución de estos cristales finos (véase figura 27) en etanol al 50%; esta dilución presentó color entre vino-negro, debido a que el Targuá presenta una coloración similar.

Figura 26. Secado de la sangre de Targuá



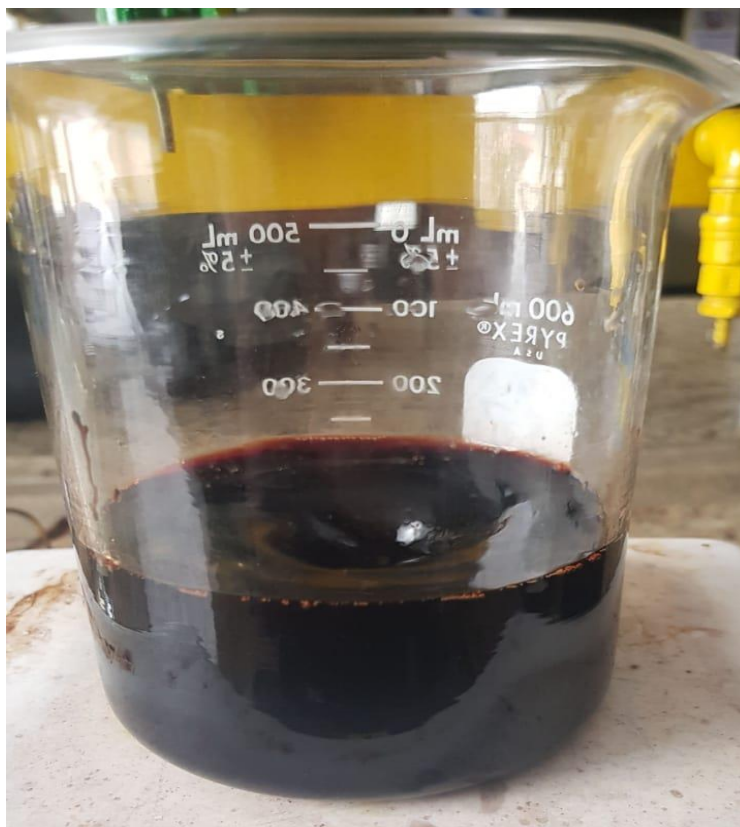
Fuente: Elaboración propia.

Figura 27. Obtención del polvo fino de la sangre de Targuá



Fuente: Elaboración propia.

Figura 28. Dilución del polvo fino de la sangre de Targuá en etanol al 50%



Fuente: Elaboración propia.

- **Análisis de la síntesis de nanopartículas de plata con el extracto acuoso de menta**

Para la obtención de las nanopartículas de plata se trabajó con una dilución de nitrato de plata al 10 mM y con el extracto acuoso de la menta agregado gota a gota, como se muestra en la figura 29. Durante la agregación del extracto de menta se fue observando el cambio de color de incoloro a naranja-marrón, como se puede observar en la figura 30, lo cual, según Salguero (2016), indica la formación de nanopartículas de plata; al pasar los días se observó que el color se iba intensificando por motivo del fenómeno de plasmón, que indica la presencia de electrones libres en la banda de conducción de la superficie de las nanopartículas metálicas que recibe un haz de luz incidente, induce una excitación colectiva de electrones libres, como consecuencia de la fuerte interacción con la luz incidente.

Figura 29. Síntesis de nanopartículas de plata



Fuente: Elaboración propia.

Figura 30. Formación de las nanopartículas de plata

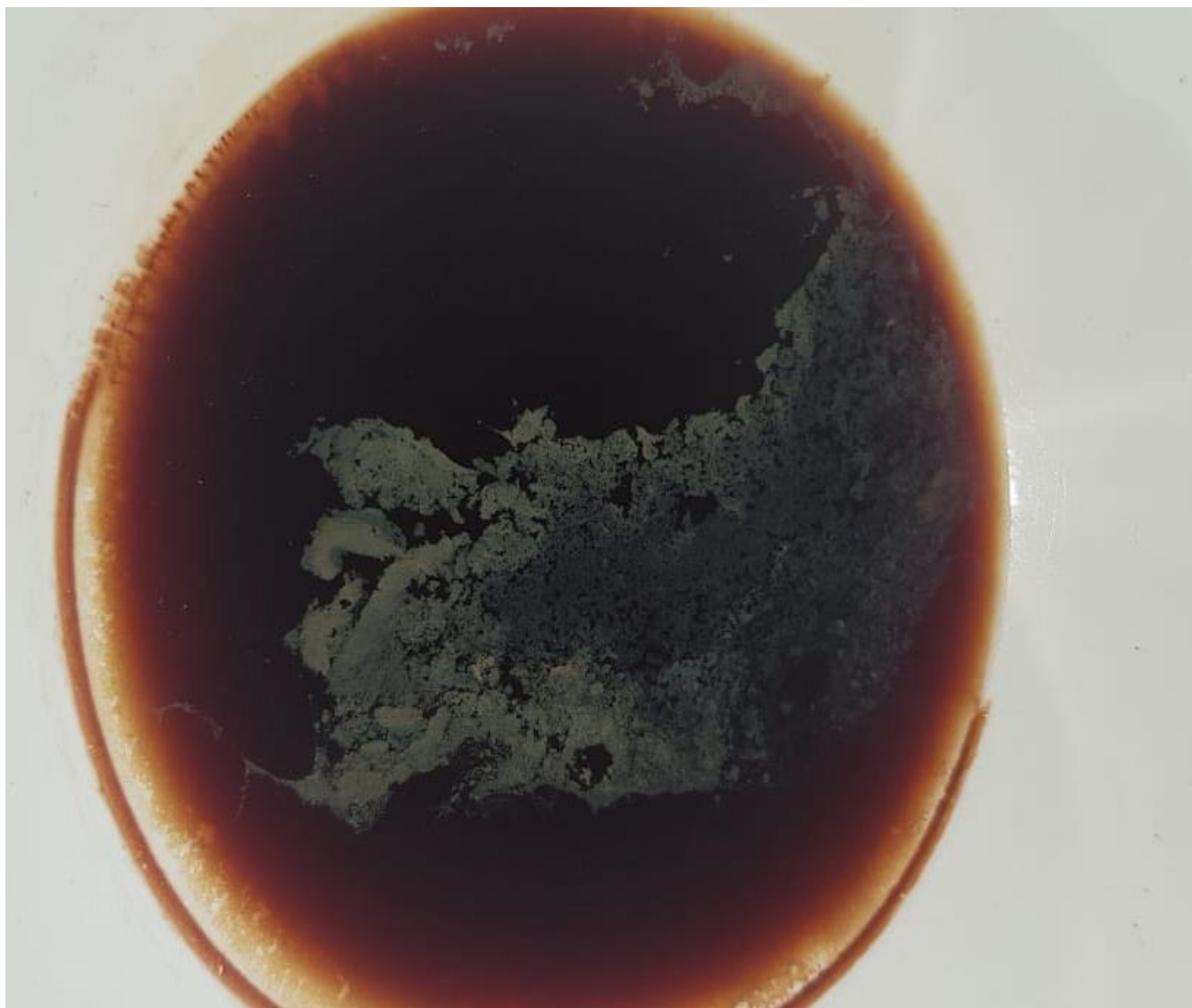


Fuente: Elaboración propia.

- **Análisis de la funcionalización de las nanopartículas de plata**

En este punto se realizó una mezcla de las nanopartículas de plata con la preparación de sangre del Targuá; para este proceso no fue viable determinar algún cambio visual, debido a la coloración vino intensa de la sangre de Targuá. Sin embargo, se observó en la mezcla un precipitado color plata brillante (véase figura 31), siendo característico de las nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá.

Figura 31. Funcionalización de las nanopartículas de plata con Targuá



Fuente: Elaboración propia.

Fase II. Caracterización

- **Análisis de la caracterización mediante espectroscopia UV-vis de las nanopartículas de plata sin funcionalizar**

Para identificar las nanopartículas de plata se empleó la técnica de UV-Vis, donde la presencia de un pico en la absorbancia en aproximadamente los 400nm es un indicador de la formación de las nanopartículas de plata. Se ha demostrado que cuanto mayor sea el tamaño de las nanopartículas de plata presentan menos toxicidad, y a mayor sea la longitud de onda a la que se encuentra el pico máximo de absorción mayor es la nanopartícula de plata. (Véase el cuadro 3).

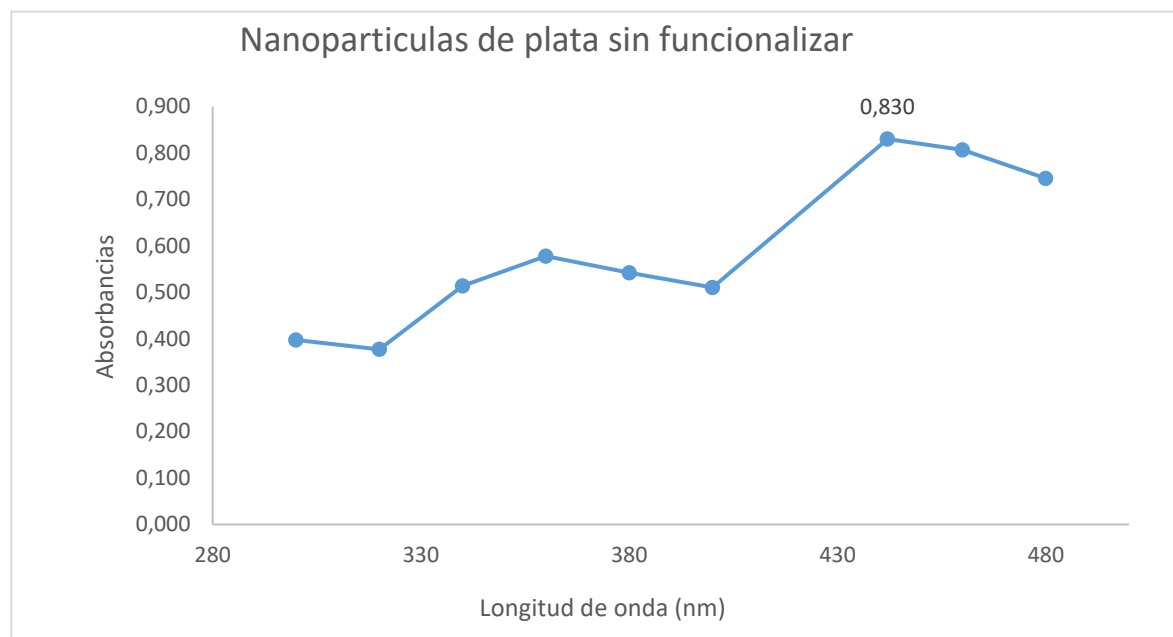
Cuadro 3. Tamaño de las nanopartículas de plata según la posición de los picos de absorción en el espectro UV-Vis

Tamaño de nanopartícula de plata (nm)	Posición del pico en la longitud de onda (nm)
10-14	Menor o igual a 400
35-50	430
60-80	438

Fuente: (Salguero, 2016).

A partir de los valores obtenidos en la posición en la longitud de onda en el pico máximo de absorción se realizó una relación de los espectros UV-vis obtenidos en las síntesis realizadas (Véase cuadro 3)

Figura 32. Absorbancias de las nanopartículas de plata sin funcionalizar según la longitud de onda para determinación del pico de absorción máxima

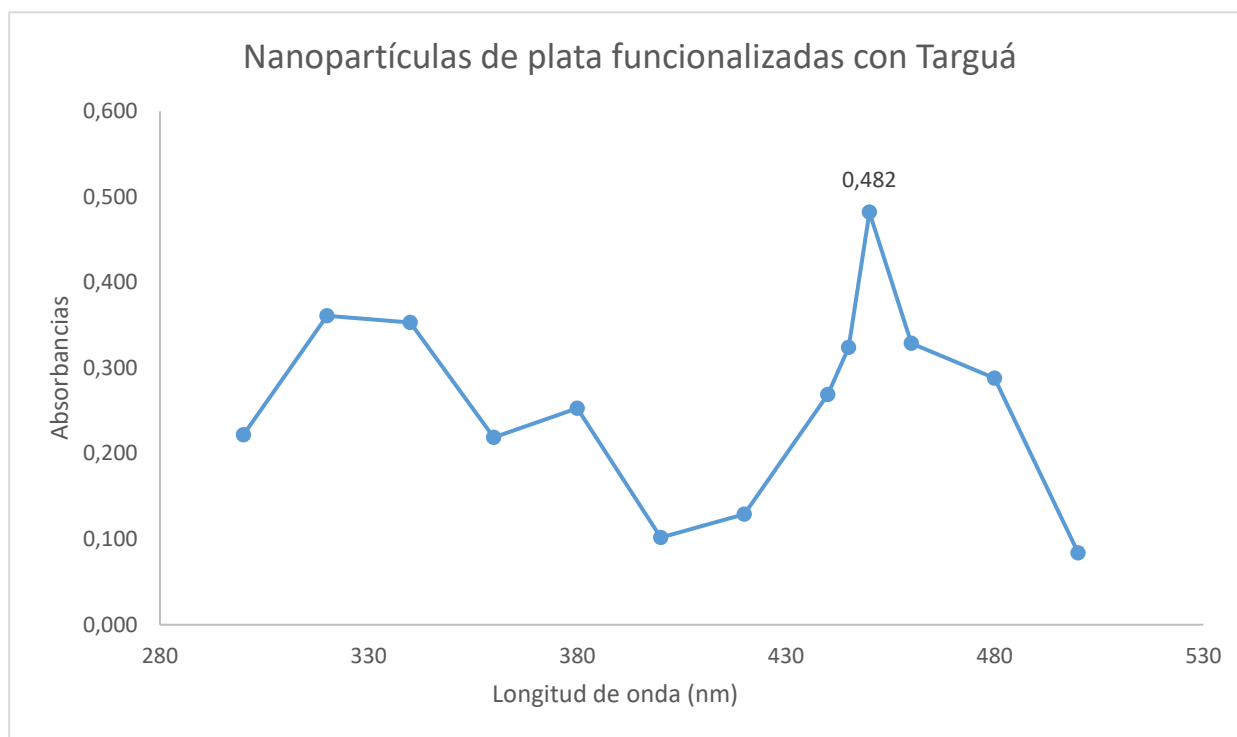


Fuente: Elaboración propia.

Para las nanopartículas de plata sin funcionalizar se pudo observar que hubo absorción desde los 400 a 450 nm cuando se realizó la lectura en UV-Vis (véase la figura 31). Según Morales & colaboradores (2009), la aparición de bandas de absorción en el espectro alrededor de longitudes de onda de 400 a 450nm indica la presencia de nanopartículas de plata. En la longitud de onda de 500nm, la absorbancia fue de -0,215, lo cual muestra que no hubo absorción a esta longitud de onda, ya que está por fuera de los rangos de la ley de Beer. El pico de absorción máxima para las nanopartículas de plata sin funcionalizar fue en una longitud de onda de 442nm; esto indica que el tamaño de las nanopartículas de plata sintetizadas es de aproximadamente 80-90 nanómetros. Es importante tomar en cuenta parámetros relevantes como la concentración del extracto, debido a que una concentración muy elevada genera un aumento de la fuerza iónica y trae consigo un aumento de la agregación de las nanopartículas de plata; la velocidad y tiempo que dura la agitación también causa influencias sobre el tamaño de la nanopartícula, ya que causa un aumento en la agregación.

- **Análisis de la caracterización mediante espectroscopia UV-vis de las nanopartículas de plata Funcionalizadas con Targuá**

Figura 33. Absorbancias de las nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá según la longitud de onda para determinación del pico de absorción máxima

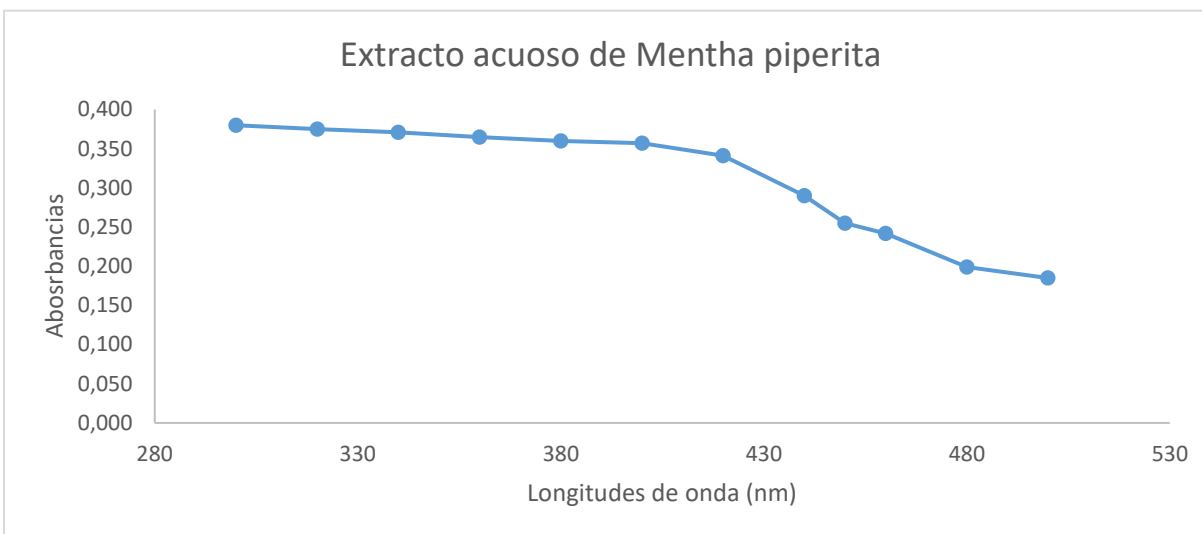


Fuente: Elaboración propia.

En la caracterización de las nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá se realizó lecturas de longitudes de onda, partiendo desde los 300nm hasta los 500nm. Se puede observar (véase la figura 33) que el pico de absorción máximo fue a los 450nm; además, se puede apreciar un desplazamiento hacia una longitud de onda mayor; esto se debe a que las nanopartículas de plata se encuentran funcionalizadas. La razón del aumento del tamaño de la nanopartícula de plata funcionalizada es debido al recubrimiento que aporta el Targuá. (Salguero,2016) dice que su tamaño aproximado con el recubrimiento del látex es mayor a los 90nm; esto trae beneficios, ya que cuanto mayor sea el tamaño de las nanopartículas de plata, hay menos toxicidad. (Avalos *et al.*, 2013).

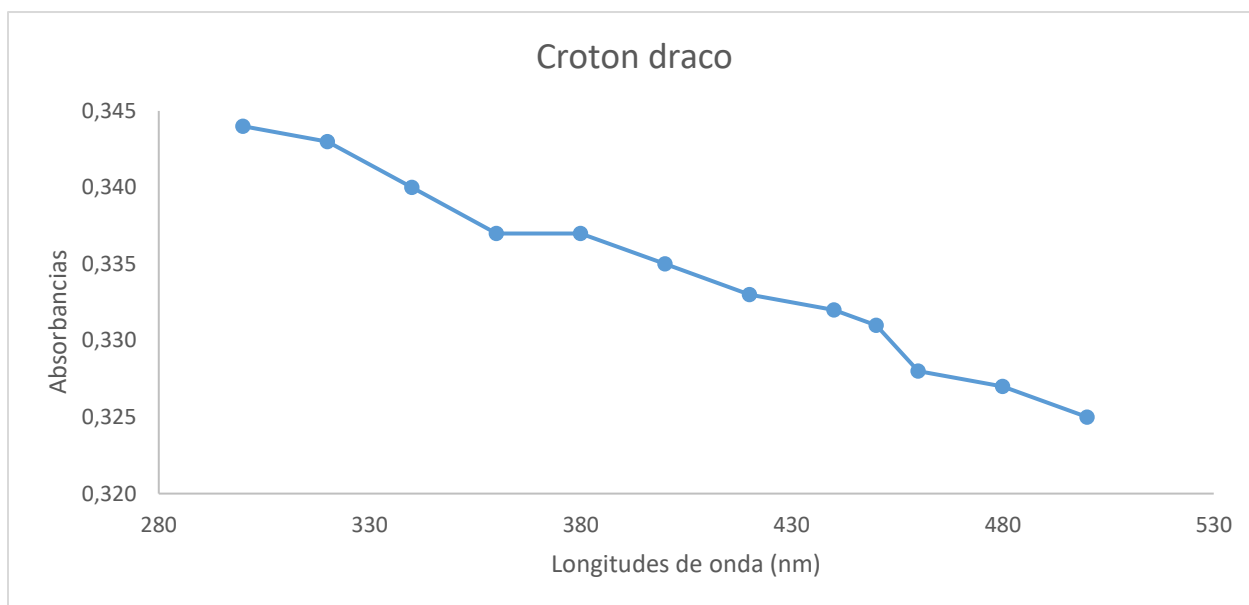
- **Análisis de interferencia mediante espectroscopia UV-vis del extracto acuoso de menta y del Targuá**

Figura 34. Absorbancias del extracto acuoso de *Mentha piperita* según la longitud de onda para determinación de interferencia en la síntesis de nanopartículas de plata



Fuente: Elaboración propia.

Figura 35. Absorbancias del *Croton draco* según la longitud de onda para determinación de interferencia en la síntesis de nanopartículas de plata

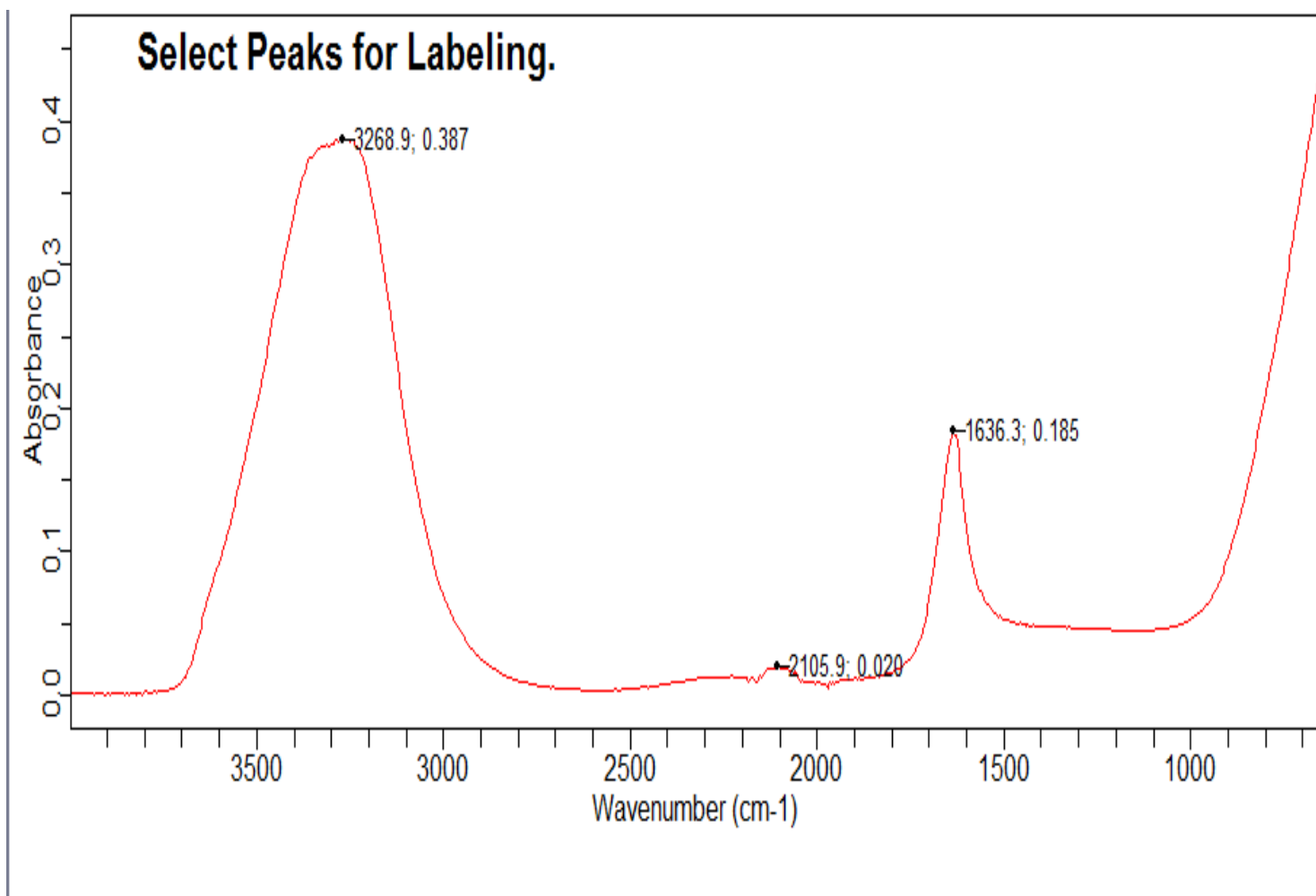


Fuente: Elaboración propia.

Los gráficos de los espectros UV-Vis, del extracto de *Mentha piperita* y *Croton draco* respectivamente, carecen de picos de absorción máximo entre los rangos de longitud de onda de 400nm a 450nm (véanse las figuras 34 y 35), pues se observa que la absorbancia va disminuyendo conforme aumentan las longitudes de onda. Esto permite demostrar que, tanto el extracto acuoso de la menta como el Targuá, no presentan interferencia en el análisis de las nanopartículas.

- **Análisis mediante espectroscopia de infrarrojo de nanopartículas de plata sin funcionalizar**

Figura 36. Análisis de IR de nanopartículas de plata sin funcionalizar

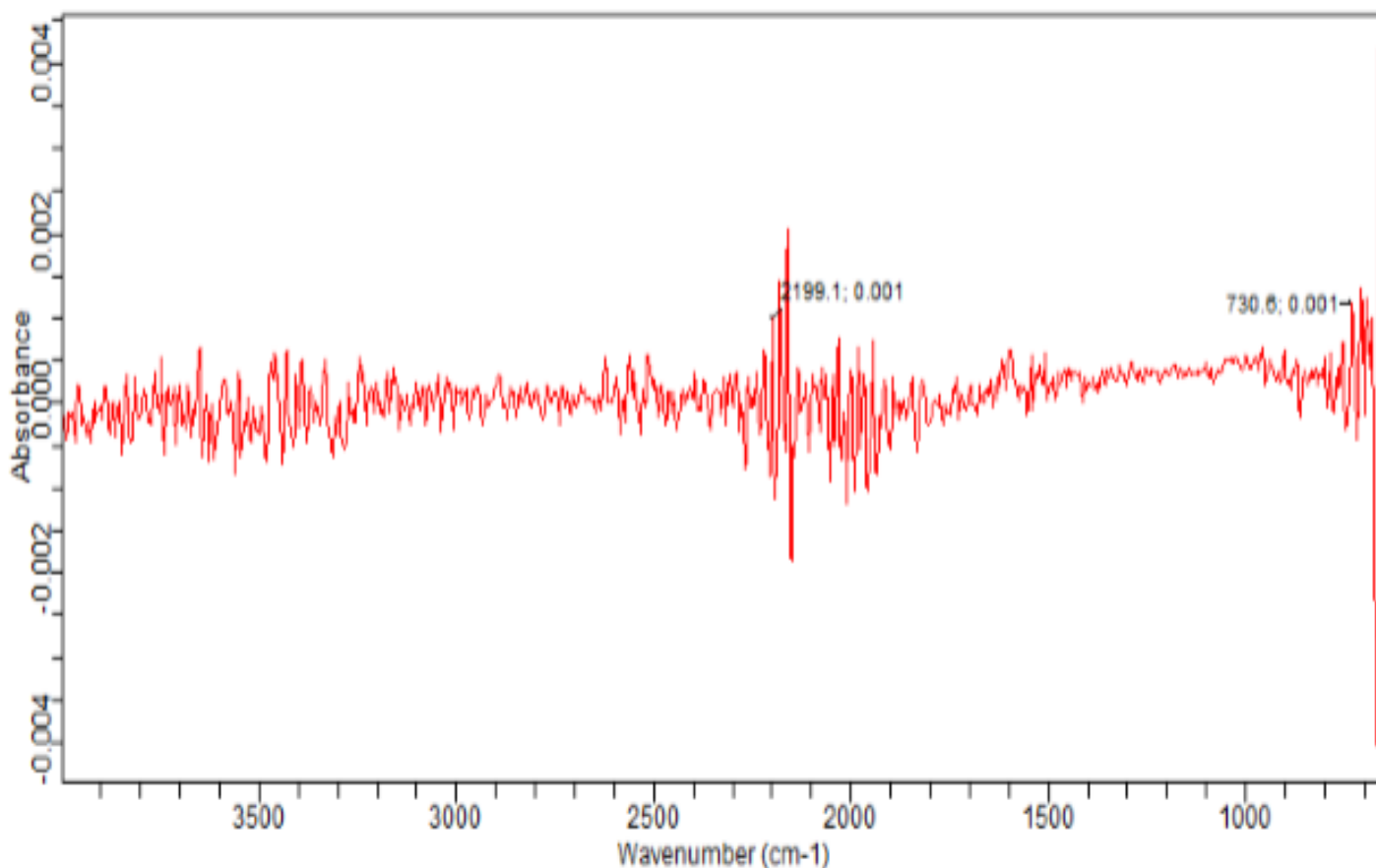


Fuente: Elaboración propia,

Se pueden observar (véase la figura 36) a los 3268 cm^{-1} una banda ancha, que presenta deformaciones que corresponden al grupo funcional de alcohol (-OH) ,y luego una banda ubicada a los 2105 cm^{-1} , perteneciente al grupo carbonilo y, por último, se observa una banda a los 1636 cm^{-1} , que representa a las aminas. (Shashi, *et al.*,2010). Estos resultados indican que grupos funcionales están presentes en las nanopartículas de plata sin funcionalizar en estado líquido.

- **Análisis mediante espectroscopia de infrarrojo de nanopartículas de plata funcionalizadas**

Figura 37. Análisis del IR de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá



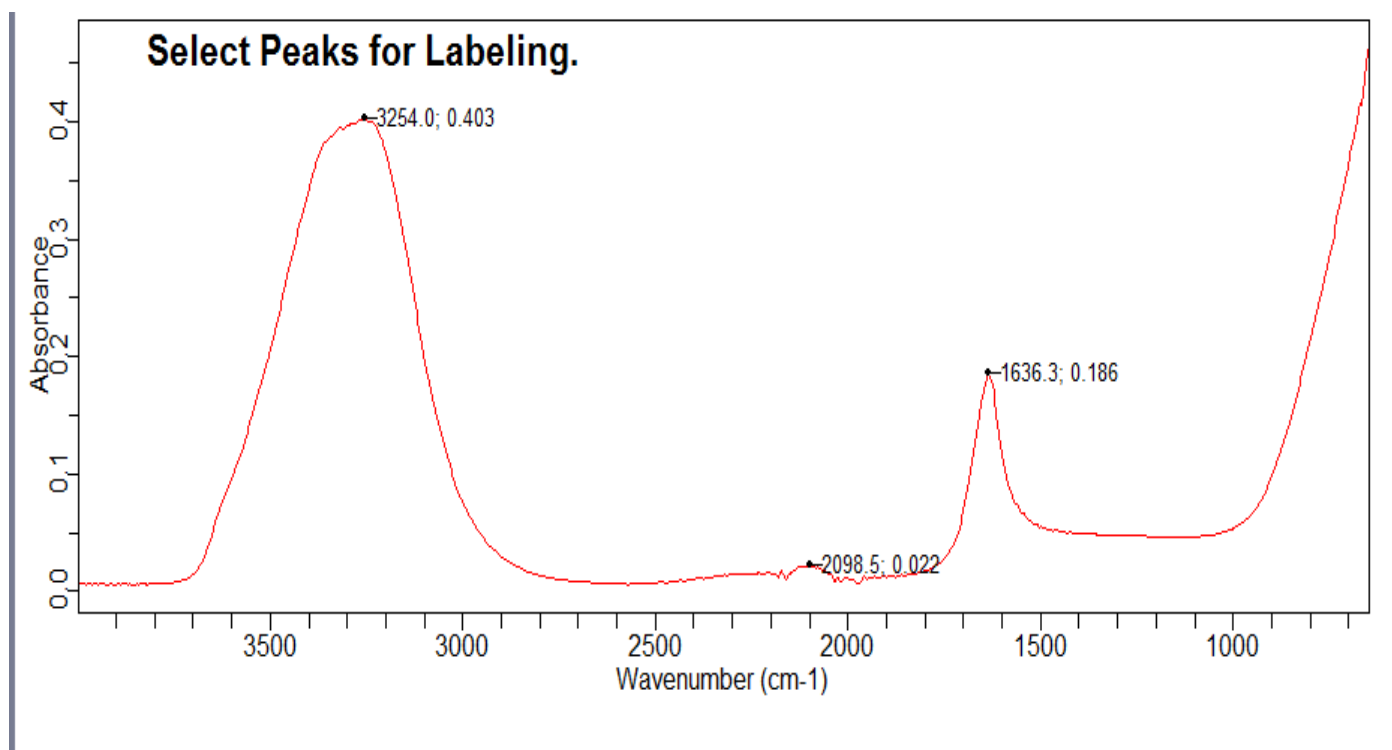
Fuente: Elaboración propia.

Como se observa (véase la figura 37), el IR demostrado por las nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá, presenta dos picos máximos en su espectro, el primero a

los 2199cm^{-1} , el cual permite observar la presencia de grupos carbonilos ($\text{C}=\text{O}$), el segundo pico se da a los 730cm^{-1} por los enlaces de carbono. También existen solapamientos entre picos; esto sucede por la interacción entre las nanopartículas de plata formadas y los diferentes grupos funcionales presentes en la sangre de drago. Shashi & colaboradores (2010) realizaron una investigación, donde analizaron los IR de las nanopartículas funcionalizadas con un látex, similar al Targuá, que se utilizó en esta tesis.

- **Análisis mediante espectroscopia de infrarrojo para el extracto acuoso de menta y Targuá**

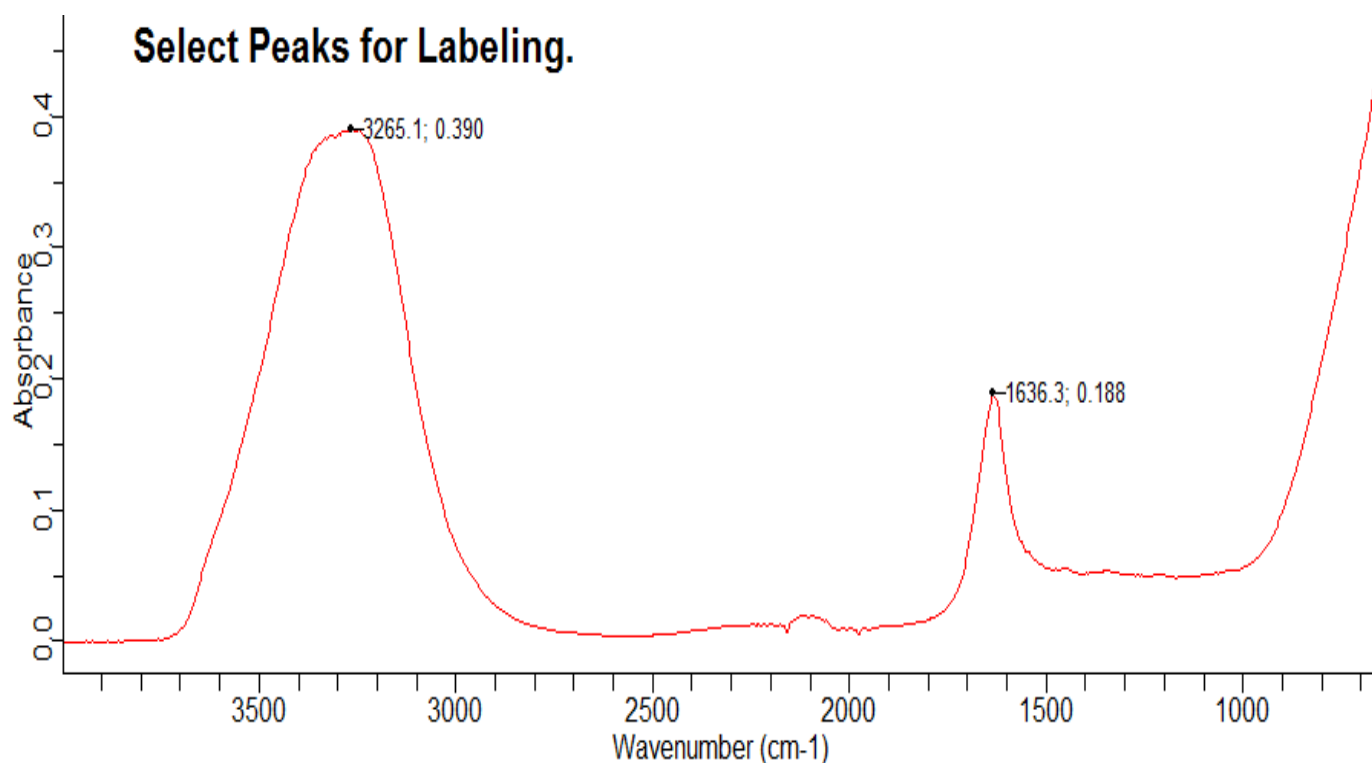
Figura 38. Análisis de IR del extracto acuoso de *Mentha piperita*



Fuente: Elaboración propia.

Se pueden observar tres anchos de banda uno de alta absorbancia a los 3254cm^{-1} , (véase la figura 38) la cual corresponde al estiramiento del grupo alcohol ($-\text{OH}$), aportado por el metanol que posee la *Mentha piperita*. El segundo punto importante, que se puede observar a pesar de su baja absorbancia, se ubica a los 2098cm^{-1} , representando al grupo carbonilo ($\text{C}=\text{N}$), que de igual forma es aportado por la menta. Por último, la banda a los 1636cm^{-1} , que representa a una amina ($\text{N}-\text{H}$), pertenece a la tensión que ejerce el grupo carbonilo. (Shashi, *et al.*, 2010).

Figura 39. Análisis de IR del extracto acuoso de *Croton draco*



Fuente: Elaboración propia.

Se observan dos bandas: la primera es de 3265cm-1, la cual corresponde a la tensión del grupo funcional del alcohol (-OH), y la segunda banda se encuentra a los 1636cm-1, debido a la presencia del grupo amina (véase la figura 39). Hay puntos que posiblemente no se encuentran resaltados con su respectivo número de ancho de banda, pero si se encuentra a la vista les son: alrededor de los 1300cm-1 es correspondiente a ácidos carboxílicos, y de los 1033cm-1 es también correspondiente a una amina. (Shashi, *et al.*,2010).

Fase III. Análisis de resultados de la elaboración de las cremas

La elaboración de estas cremas (véanse las figuras 40, 41 y 42) fueron diseñadas para ser de uso tópico, con características hidrofóbicas y oclusivas en las heridas que se desean tratar, ya que está pensada en evitar la entrada de agua en las quemaduras, debido a que el

ingreso de agua a este tipo de heridas genera un caldo de cultivo para las bacterias; por este motivo posee mayor cantidad de excipientes grasos, como la cera de abeja y la vaselina, que da el efecto pastoso y oclusivo que se deseaba obtener. También estas cremas poseen excipientes de tipo conservante, los cuales son el metilparabeno y el propilparabeno, con el fin de lograr una extensión del tiempo de uso de la crema. Al ser una crema en proceso de investigación, se decidió no agregar ningún tipo de colorantes ni aromatizante, para que así no interfiriera con la estabilidad del producto. En las cremas con nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá, su coloración se da por el Látex de *Croton draco*.

Figura 40. Elaboración de las cremas



Fuente: Elaboración propia.

Figura 41. Baño María de los excipientes de las cremas



Fuente: Elaboración propia.

Figura 42. Elaboración de las cremas



Fuente: Elaboración propia.

- **Análisis de la elaboración de la crema del control positivo: Sulfadiazina de plata al 1%**

Figura 43. Principio activo de Sulfadiazina de plata



Fuente: Elaboración propia.

Figura 44. Crema de sulfadiazina de plata al 1% (control positivo)



Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 4. Características de la crema Sulfadiazina de plata (control positivo)

Características de la crema Sulfadiazina de Plata al 1% (control positivo)	Percepción
Tipo	Hidrofóbica
Olor	No característico
Color	Crema claro
Consistencia	Pastosa

Fuente: Elaboración propia.

La crema de sulfadiazina de plata fue realizada con el fin de tener un control positivo, para lograr un análisis comparativo antimicrobiano con las nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá, debido a que se conoce que la sulfadiazina de plata tiene un mecanismo de acción exitoso en el control de las bacterias en una herida de quemadura. Por este motivo, para realizar la comparación, se necesitaba que ambas cremas fueran elaboradas con los mismos excipientes, con el propósito de comprobar que la crema comercial de sulfadiazina no aportara ningún beneficio extra a la inhibición bacteriana; para ello se necesitó principio activo de sulfadiazina de plata (véase la figura 42), el cual fue donado por Laboratorios Compañía Farmacéutica LC, S.A. (LACOFA).

Se puede observar que esta crema (véase la figura 44), entre sus características organolépticas, presenta una coloración crema claro, sin ningún tipo de olor característico y con una consistencia pastosa y oclusiva aportada por sus excipientes.

- **Análisis de la elaboración de la crema de control negativo: sin principio activo**

Figura 45. Crema sin principio activo (control negativo)



Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 5. Características de la crema Control negativo

Características de la crema control negativo		Percepción
Tipo		Hidrofóbica
Olor		Inodora
Color		Blanca
Consistencia		Pastosa

Fuente: Elaboración propia.

Se observa la crema de control negativo (véase la figura 45), la cual no poseen ningún tipo de principio activo entre sus componentes, ya que su finalidad es asegurar que ninguna variable de confusión haya afectado los resultados, o de eliminar posibles fuentes de errores. Como se observa en el cuadro 5, sus propiedades organolépticas son muy similares a la crema de sulfadiazina de plata, con un ligero cambio en su tonalidad, ya que esta es totalmente blanca (véase el cuadro 5).

- **Análisis de la elaboración de la crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 0,5%**

Figura 46. Crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 0,5%



Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 6. Características de la crema de Nanopartículas de plata al 0,5%

Características de la crema de Nanopartículas de plata al 0,5%	Percepción
Tipo	Hidrofóbica
Olor	Látex de Targuá
Color	Caramelo
Consistencia	Pastosa

Fuente: Elaboración propia.

Se muestra la crema a base de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 0,5% (véase la figura 46), la cual presenta características organolépticas (véase el cuadro 6),

un color caramelo otorgado por el látex de Targuá, el cual es un líquido lechoso extraído de un árbol que se encuentra distribuido en la mayor parte del país, muy conocido en las zonas indígenas para cicatrizar heridas, como las que produce la enfermedad parasitaria Leishmaniasis, conocida como “papalomoyo”. Para elaborar un tipo de crema compatible con el látex de Targuá se necesitaba la presencia de un emulsificante; por esta razón se realizaron pruebas de disolución entre dos emulsificantes, los cuales fueron polisorbato y propilenglicol; según la USP (2013), para determinar en cuál de los dos se disolvía mejor el principio activo, dando un resultado más favorable al propilenglicol; este excipiente es un alcohol de tipo orgánico utilizado ampliamente, ya que puede cambiar su viscosidad ante un esfuerzo inducido; por esta razón, debido a sus bondades físicas y químicas, se emplea como humectante y emulsificantes de muchos productos en industria farmacéutica; además de esto, retarda la evaporación de producto. Cabe recalcar que el propilenglicol no es tóxico para uso humano.

- **Análisis de la elaboración de la crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 1%**

Figura 47. Crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 1%

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 7. Características de la crema de Nanopartículas de plata al 1%

Características de la crema de nanopartículas de plata al 1%		Percepción
Tipo		Hidrofóbica
Olor		Látex de Targuá
Color		Café
Consistencia		Pastosa

Fuente: Elaboración propia.

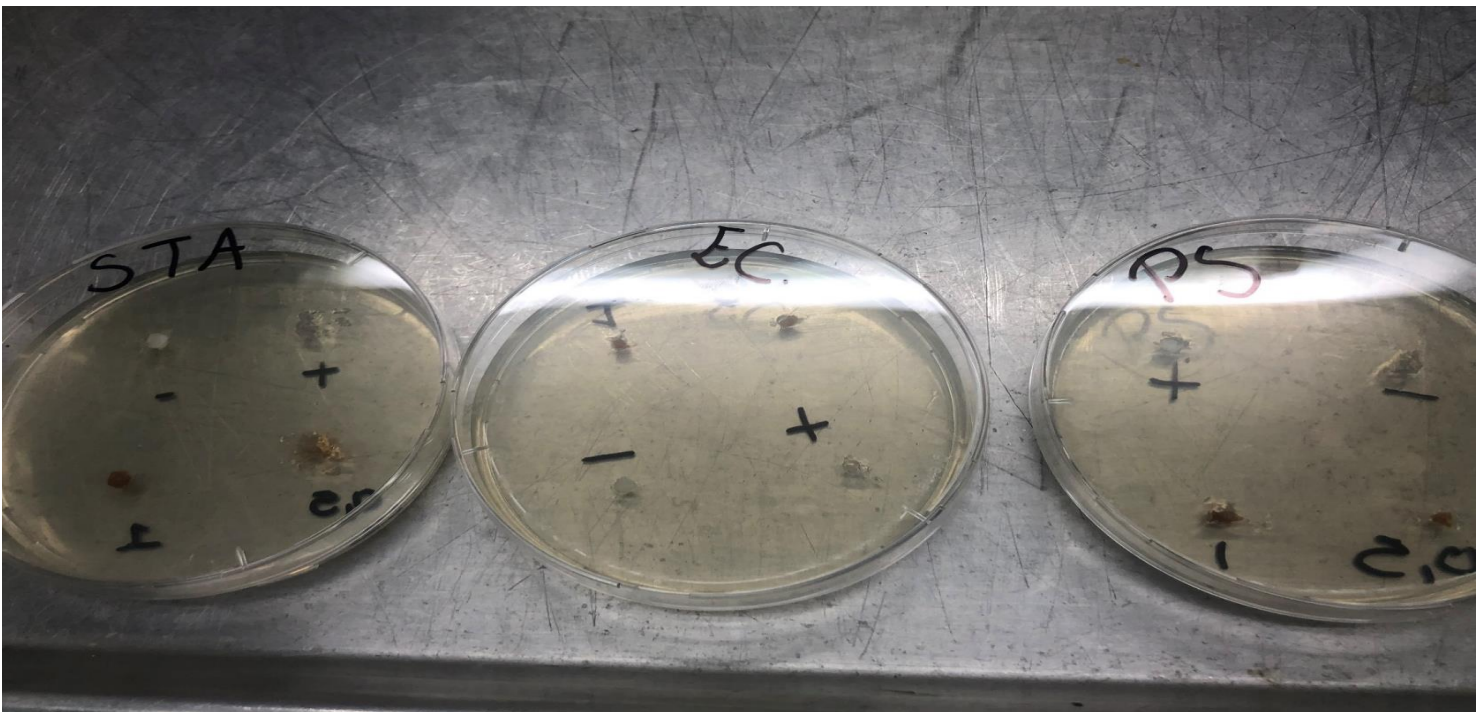
Las propiedades organolépticas de esta crema son muy similares a las de nanopartículas de plata funcionalizadas al 0,5%, con un ligero cambio en la coloración del producto finalizado (véanse la figura 47 y el cuadro 6). Esto se debe a que la crema al 1% contiene mayor cantidad de nanopartículas funcionalizadas con Targuá. Como se mencionó anteriormente, el Targuá es el que brinda la coloración café. Al tener más cantidad de

principio activo, esta crema presenta un color más intenso que la de menor concentración. El empaque primario de ambas cremas, fue necesario para protegerlas de la luz, ya que no hay estudios de estabilidad que demuestren que no son fotosensibles (véase 46 y 47).

Fase IV. Análisis del efecto antibacterial de las cremas frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*

Las placas para los medios de cultivo se separaron por bacterias utilizadas, y en cada placa se aplicó una muestra de cada tipo de crema realizadas en la metodología (control negativo, control positivo y nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 0,5 y 1%); es por ello que se utilizaron tres placas en total, una para *S. aureus*, una para *P. aeruginosa* y por último una para *E. coli*. Las placas fueron debidamente rotuladas; se procedió a realizar los pocillos dentro del agar, con ayuda de una pipeta plástica, agregando una muestra de cada crema en esos pocillos; seguidamente, el rayado de la placa fue en cuatro direcciones, para tener un crecimiento uniforme de bacterias y, con ello, eliminar cualquier tipo de fluctuación al momento de observar los crecimientos bacterianos. (Véase la figura 48).

Figura 48. Preparación de las placas petri para el cultivo de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*



Fuente: Elaboración propi

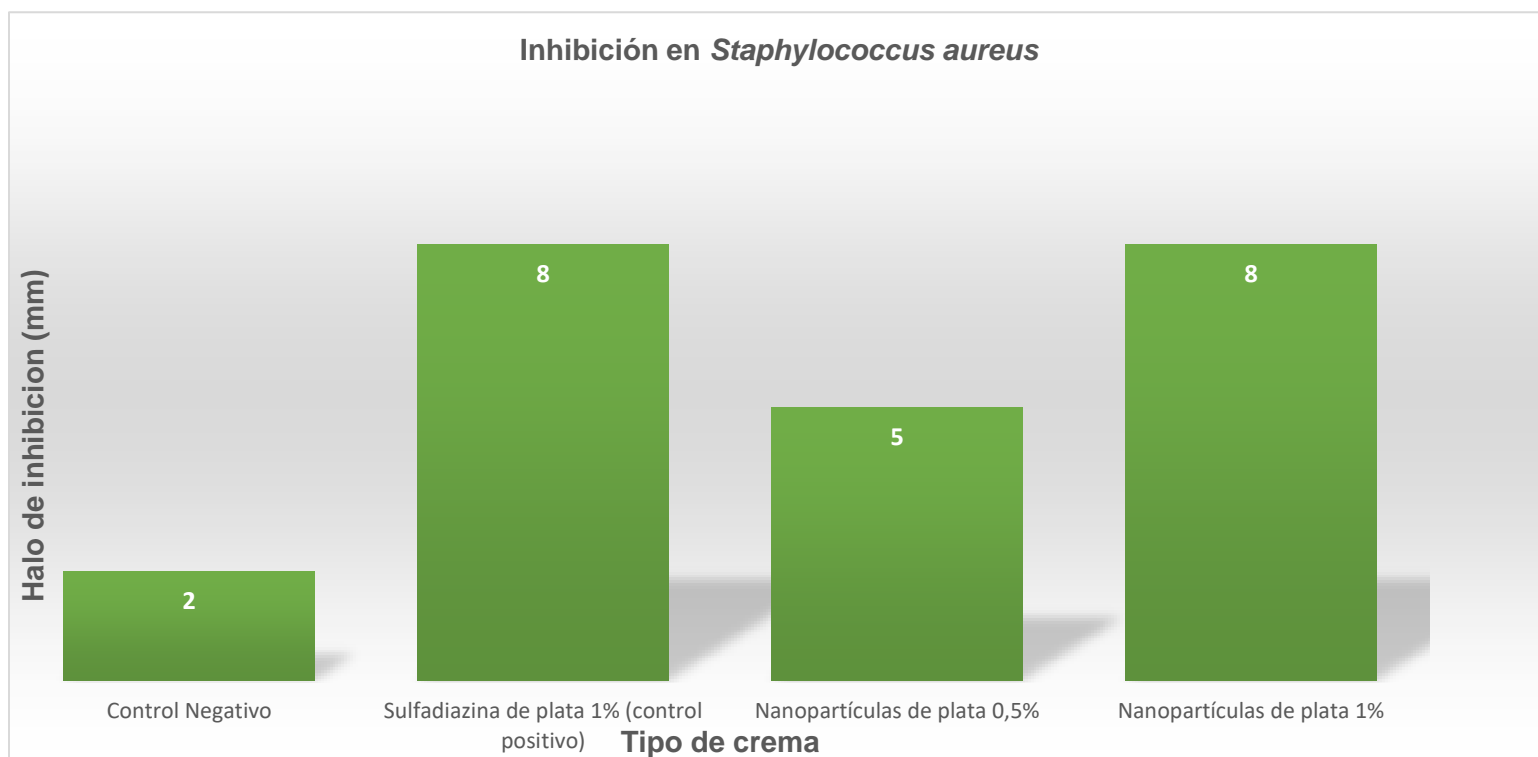
- **Análisis de la concentración mínima inhibitoria de *Staphylococcus aureus***

Figura 49. Placa de *Staphylococcus aureus* con las muestras de crema a probar



Fuente: Elaboración propia.

Figura 50. Gráfico del tipo de crema vs. halo de inhibición en *Staphylococcus aureus*



Fuente: Elaboración propia.

Cabe destacar que, para cada adición de la muestra de la crema a la placa, se utilizó una punta pipeta estéril sin combinar o reutilizar para las demás cremas; esto no solo varió por crema, sino también por placa de bacterias, debido a que se podía dar una contaminación cruzada. Concluido dicho proceso, se dejaron difundir una pequeña muestra de cada crema a través de la placa y, seguidamente, se colocó en la incubadora a $37,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

Se muestran los halos de inhibición (véase la figura 49) en la placa que se encuentra inoculada con *Staphylococcus aureus*; estos halos se midieron con la ayuda de una regla. Se muestran los resultados (véanse la figura 50) obtenidos en milímetros de cada muestra, dando como resultado una inhibición de 8mm para la crema de sulfadiazina de plata al 1% (control positivo), y de la misma manera para la crema de nanopartículas de plata al 1%; esta similitud puede ser debido a que, por la consistencia de las cremas al ser tan grasosas y oclusivas, dificulta la expulsión del principio activo en el agar inoculado con la bacterias y, además, al no existir un método estandarizado para aplicar la muestra correctamente sobre las placas, hay posibilidades de que se agregue mayor cantidad de crema en un pocillo que en otro diferente, y al no saber

cuánto se libera y cuánta cantidad de crema cae en cada pocillo, no hay un control en los halos de inhibición.

La crema a base de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 0,5% presenta un buen resultado, en comparación con la del 1%, a pesar de poseer menos cantidad de principio activo.

- **Análisis de la concentración mínima inhibitoria de *Pseudomonas aeruginosas***

Figura 51. Placa de *Pseudomonas aeruginosas* con las muestras de crema a probar

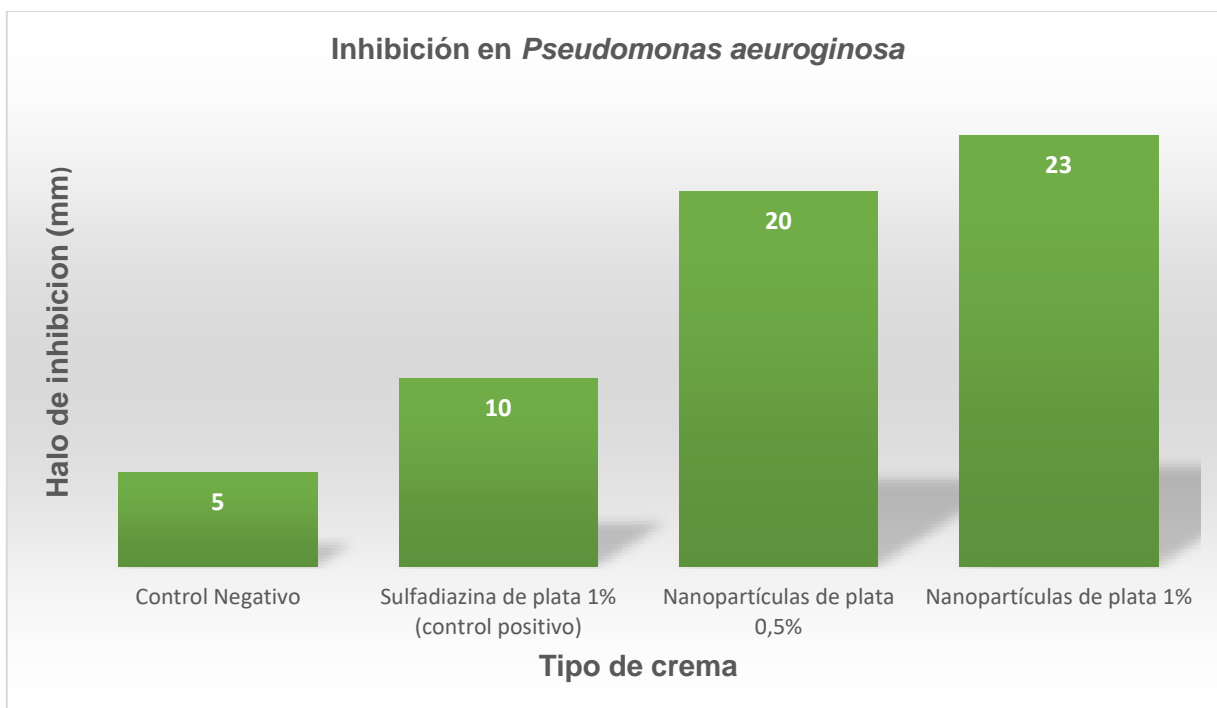


Fuente: Elaboración propia.

Figura 52. Placa de *Pseudomonas aeruginosas* con las muestras de crema a probar en ultravioleta



Fuente: Elaboración propia.

Figura 53. Gráfico del tipo de crema vs. halo de inhibición en *Pseudomonas aeruginosa*

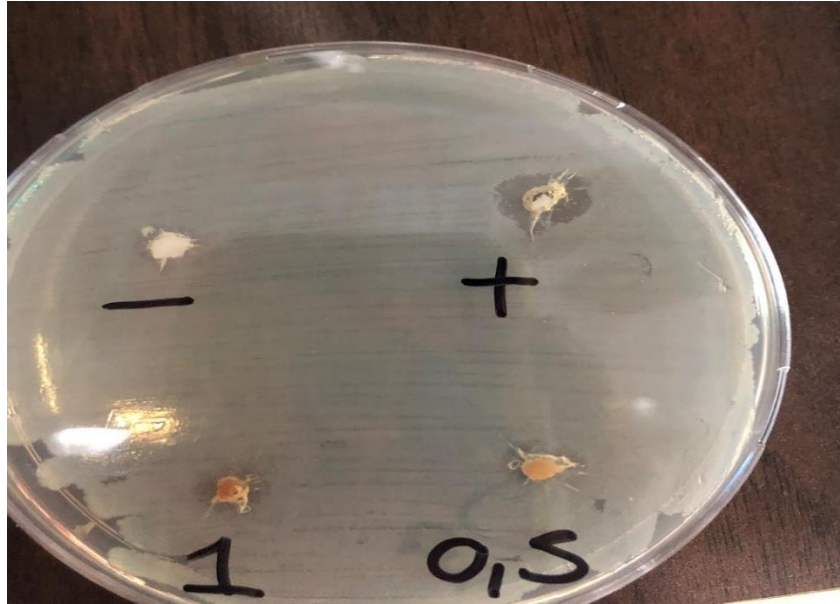
Fuente: Elaboración propia.

La crema de control negativo, la cual no contenía principio activo, presentó un halo de inhibición de 5mm (véanse la figura 53). Esto se podría deber a la presencia de conservantes antimicrobianos, como el metilparabeno y el propilparabeno, según lo indican Mollier & colaboradores (2007). La sulfadiazina de plata al 1%, la cual se empleó como control positivo en las pruebas, presentó un halo de inhibición de 10mm; como se sabe, la sulfadiazina de plata posee un mecanismo de acción que inhibe la síntesis de ácido fólico y coenzimas del mismo, requeridas para la síntesis de precursores de ARN y ADN, causando una disminución bacteriana por interferencia con la pared celular. Según Sáenz & colaborador (2015), esto indica la inhibición presentada por la misma. De las nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá, la mejor inhibición se vio mostrada en la crema que se encontraba al 1%, ya que su halo de inhibición fue de 23mm en comparación con la crema de 5%, que presentó un halo de 20mm; la razón de que las nanopartículas de plata presenten una concentración mínima inhibitoria(CMI) mayor, se debe a su mecanismo de acción, pues tiene la capacidad de anclarse a la pared celular de la bacteria y posteriormente penetrarla,

causando, así, cambios estructurales en la membrana celular, como lo sería, la permeabilidad de la membrana celular y la muerte de la célula, según Prabhu & colaboradores (2012).

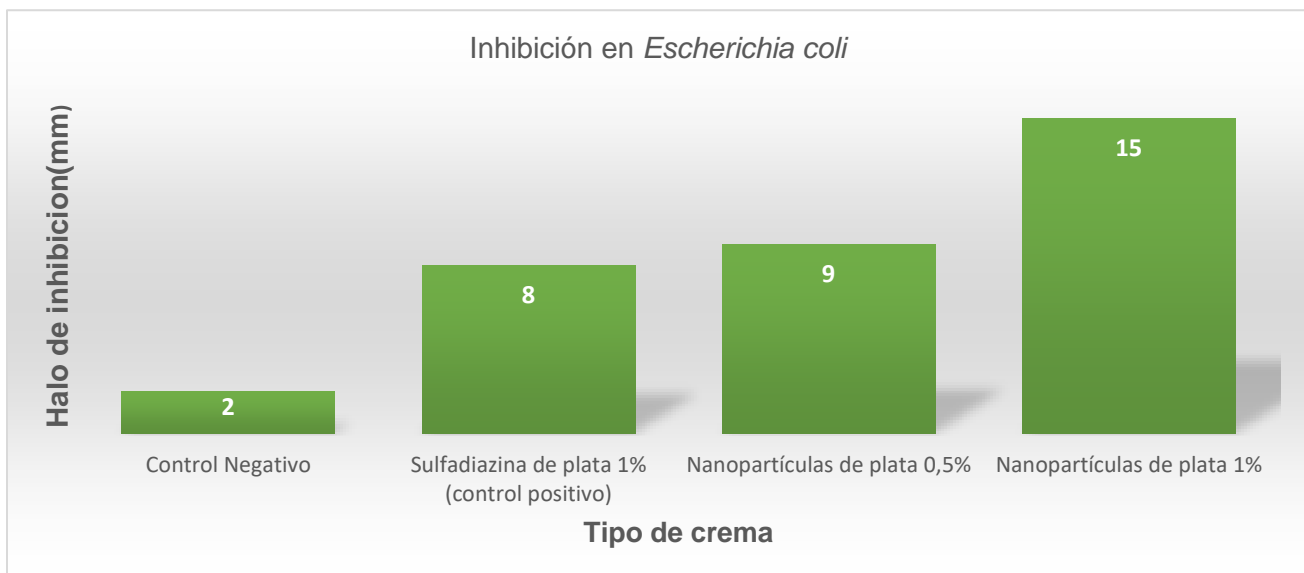
- Análisis de la concentración mínima inhibitoria de *Escherichia coli*

Figura 54. Placa de *Escherichia coli* con las muestras de crema a probar



Fuente: Elaboración propia.

Figura 55. Gráfico del tipo de crema vs. halo de inhibición en *Escherichia coli*



Fuente: Elaboración propia.

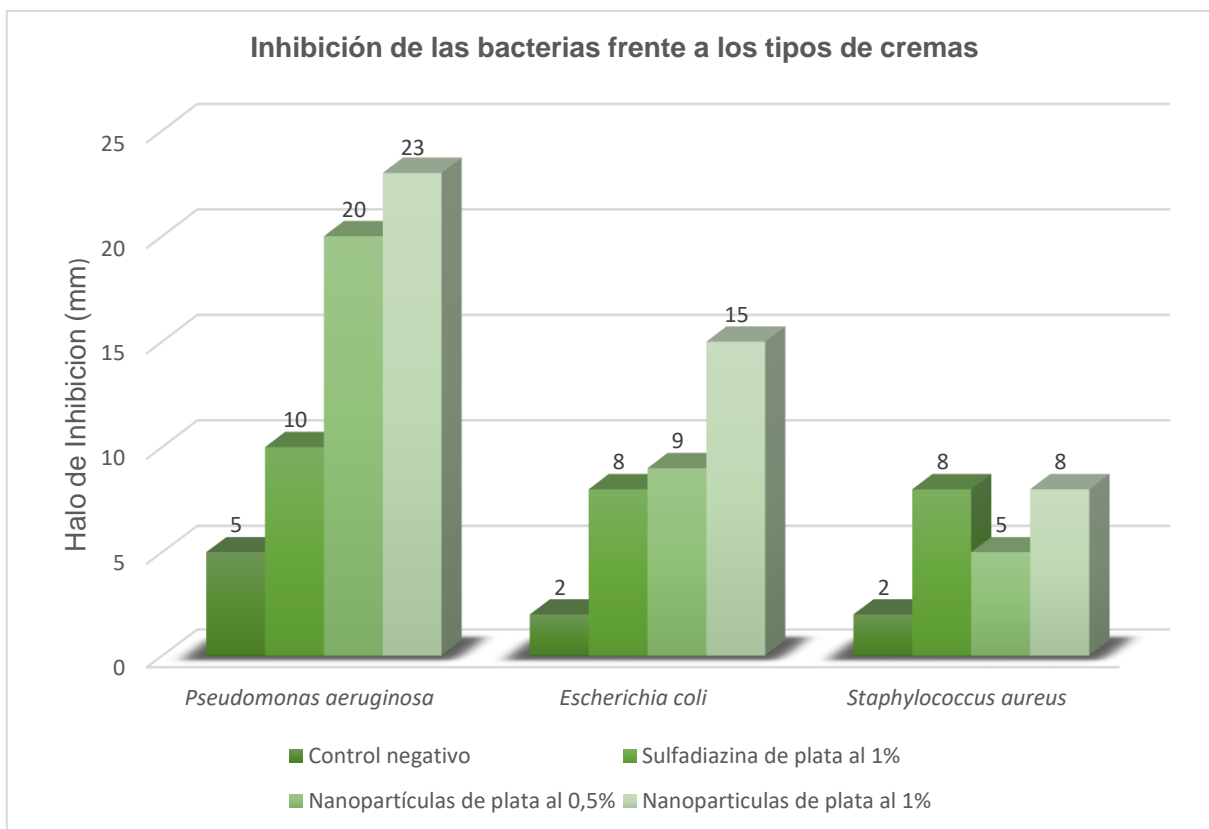
Se puede observar un gráfico (véase la figura 55) que presenta los milímetros que inhibió cada muestra de crema en un agar inoculado con *Escherichia coli*; la crema a base de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 1% tuvo un mayor halo de inhibición presentando 15mm, seguida por la crema al 0,5% con un halo de 9mm, demostrando, así, que las cremas con el principio activo de nanopartículas de plata funcionalizadas presentan un efecto antibacteriano mejor, en comparación con la sulfadiazina de plata al 1%, que presentó 8mm en el halo de inhibición y, por último, el control negativo con un halo de 2mm (véanse la figura 4), pero esta crema no poseía ningún efecto terapéutico pero, como se mencionó anteriormente, debido a los conservantes, se dio un resultado mínimo ante la bacteria.

Cuadro 8. Comparación del halo de inhibición de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* frente a los diferentes tipos de cremas estudiados.

Tipo de crema	Tipos de Bacterias y su halo de inhibición		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Control negativo	5mm	2mm	2mm
Sulfadiazina de plata al 1%	10mm	8mm	8mm
Nanopartículas de plata al 0,5%	20mm	9mm	5mm
Nanopartículas de plata al 1%	23mm	15mm	8mm

Fuente: Elaboración propia.

Figura 56. Gráfico comparativo de la inhibición de las bacterias frente a los tipos de cremas



Fuente: Elaboración propia.

Comparar el tamaño de los halos de inhibición por cada tipo de crema y cada cepa bacteriana utilizada; se puede observar que las nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 1% presentaron mayor eficacia en cuanto a la inhibición bacteriana. En la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* con valores de 23mm, seguida de la *Escherichia coli* con 15 mm y, por último, con *Staphylococcus aureus* con 8mm (véase la figura 55). Luego, la crema de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá al 0,5% presentó una mejor inhibición en las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* con 20mm, y la *Escherichia coli* con 9mm, mientras que con *Staphylococcus aureus* fue superior la sulfadiazina de plata al 1%, con un valor de 3mm de más. La crema de sulfadiazina al 1% presentó el mismo resultado de inhibición de 8mm en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, y un resultado más favorable para la *Pseudomonas aeruginosa* 10mm. (Véase el cuadro 8).

Se puede observar que los resultados más elevados en los halos de inhibición por cada muestra de los diferentes tipos de crema fueron en *Pseudomonas aeruginosas*, incluyendo al control negativo, que dio más alto en esta cepa que en las demás; se puede decir que la razón de estos valores es debido a que la cepa de *Pseudomonas aeruginosas* es más sensible que las otras. La cepa que presentó mayor resistencia a la inhibición fue la *Staphylococcus aureus*.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En este capítulo se plantean las conclusiones obtenidas con respecto a los resultados de la investigación, tomando en cuenta los objetivos de la misma. Además, se plantean recomendaciones observadas durante el desarrollo del proyecto y con base en deficiencias percibido.

Conclusiones

La síntesis de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá se logró eficazmente, según los resultados en la espectroscopia UV-Vis e infrarrojo.

Se consiguió un recubrimiento efectivo de las nanopartículas de plata sintetizadas, empleando en látex de sangre de draco con funcionalizante.

El tamaño de las nanopartículas sin funcionalizar fue de 80 a 90 nm, y funcionalizadas con Targuá fue superior a los 90nm.

La formulación de las cremas a base de nanopartículas de plata funcionalizadas con Targuá presentó una consistencia adecuada.

Los mejores resultados de inhibición antibacteriana se obtuvieron con la crema a base de nanopartículas de plata funcionalizadas al 1%.

La cepa que presentó mayor sensibilidad frente a los cuatro tipos de crema fue la *Pseudomonas aeruginosas*.

La bacteria *Staphylococcus aureus* presentó los valores más bajos de inhibición en presencia de los diferentes tipos de crema.

Recomendaciones

A los estudiantes de Farmacia que desean tomar esta investigación como una guía para su tesis, probar en las placas Petri inoculadas con las bacterias las nanopartículas de plata funcionalizadas cuando se encuentran en solución, ósea antes de ser secadas o formuladas como crema.

A los estudiantes de Farmacia que deseen continuar con la investigación realizada en esta tesis, probarlas cremas en animales de experimentación para probar la cicatrización en quemaduras de primer grado.

A los estudiantes de Farmacia en general, informarse sobre nuevas líneas de tratamiento, nuevas tecnologías, innovar en sus investigaciones, para que sirvan de motivación e inspiración a otros.

A los futuros interesados en realizar una investigación en nanopartículas de plata, realizar una síntesis verde con otros tipos de reductores y funcionalizantes, de origen vegetal y nacional.

A los estudiantes de Farmacia, seguir realizando investigaciones de nanomateriales que tengan importancia en el campo de la salud.

A la Universidad Internacional de las Américas, seguir ofreciendo charlas sobre temas y tecnología actual, lo cual permita despertar el interés del estudiante en el campo investigativo.

A la Universidad Internacional de las Américas, para capacitar de manera adecuada a los estudiantes sobre el uso y manipulación correcta del espectro UV-Vis e infrarrojo.

Se le recomienda, a la Caja del Seguro Social, realizar investigaciones sobre nuevos tratamientos con nanoplata, que puedan ser usados en los pacientes que se encuentran en la unidad de quemados.

A los laboratorios de microbiología, tener un proceso estandarizado para la prueba de cremas en placas de agar inoculadas con cepas de bacterias.

CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA

Abril *et al.* (2008). Espectrofotometría Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.

Agencia Europea de Medicamento. (2010). Indicaciones terapéuticas de la menta.

Aguilar *et al.* (2003). Actividad antibacteriana de la Sangre de Grado (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*. Laboratorio Inmunología, Departamento Microbiología, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Perú. p. 4.

Aguilar, J. (2016). Quemaduras. Málaga, España. Disponible en: <http://www.emergencias.es.org>

Aguilera, L. (2005). Conceptos básicos de farmacocinética y farmacodinamia en TIVA. Hospital Basurto, Universidad del País Vasco.

Aláez, S. (2015). Uso tópico del cobre y la plata en el tratamiento de heridas: revisión bibliográfica. Universidad de Valladolid. España.

Alfaro, M. (2003). Quemaduras. Hospital San Juan de Dios. San José, Costa Rica.

Arenas, & López, (2004). Espectrofotometría de absorción. Universidad Nacional Autónoma de México.

Armijo, J. (2014), Absorción, distribución y eliminación de fármacos. Capítulo 4. Barcelona, España.

Ávalos, A., Haza, A.I., Mateo, D. & Morales, P. (2013). Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 2013 7(2):1-23. Doi: http://dx.doi.org/10.5209/rev_RCCV.2013.v7.n2.43408

Ávila *et al.* (2009). Reacciones adversas reportadas por consumo de productos naturales en Cuba durante 2003 y 2007. Centro para el Desarrollo de la Farmacoepidemiología. Cuba

Balls, M. (1994). Replacement of animal procedures: alternatives in research, education and testing. *Lab Anim.* pp. 193-211. Doi: 10.1258/002367794780681714

Bisset, N.G. (1994). Herbal drug and phytopharmaceuticals. A handbook for practice on a scientist basis. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, U. K. p. 130.

Brenda, J., Alonso, G., Arnulfo., L., Carolina, M., Yazmin, R. & David L. (2015). Párr 6. La nanotecnología a los 40 años de su aparición: Logros y tendencias. CIIDIT, FIME-UANL.

Briceño, D., Correa, A., Valencia, C. *et al.* (2010). Actualización de la resistencia a antimicrobianos de bacilos Gram negativos aislados en hospitales de nivel III de Colombia: años 2006, 2007 y 2008. *Biomédica*, Vol. 30. Colombia. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84316250010>

Brooks, G., Carroll, K., Butel, J., Morse, S. & Mietzner, T. (2014). *Microbiología Médica*. McGraw- Hill. México. Vigésima sexta edición.

Buendía, A., Mazuecos, J. & Camacho, F. (2018). *Anatomía y fisiología de la piel. Manual de Dermatología*. Segunda edición. Universidad de Granada. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla, España.

Bueno, C. (2010). Atención al paciente con quemaduras. Servicio de Urgencias del Hospital Clínico Universitario de Málaga. España.

Bueno, E., Buesa, M. *et al.* (2006). *Nanociencia y nanotecnología I*. I (34). España.

Burn Injury Model System en su artículo (2011). Cuidado y manejo de la cicatriz después de una lesión por quemadura. Model Systems Knowledge Translation Center (MSKTC). Universidad de Washington. Estados Unidos de América.

Camacho, J. & Deschamps, L. (2013). Síntesis de nanopartículas de plata y modificación con pulpa de papel para aplicación antimicrobial. Universidad de Cartagena. Colombia.

Cañiguera, S. (2013). Medicamentos a base de plantas: el reto de la calidad y la Farmacopea como herramienta para alcanzarla. Facultad de Farmacia. Barcelona. p. 105.

Cardeño, L. & Londoño, M. (2014). Síntesis verde de nanopartículas de plata mediante el uso del ajo (*Allium sativum*). Revista Soluciones de Postgrado EIA, Número 12. Antioquia, Colombia. Doi: <http://dx.doi.org/10.14508/sdp.2014.6.12.126-137>

Cardoso, P. (2016). Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. Revista Hospital de Niños de Buenos Aires. Unidad de Toxicología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez. Buenos Aires, Argentina.

Carrillo, R., Peña, C., De la Torre, T., De los Monteros Estrada, I., Rosales, A. & Nava, J. (2014). pp. 32-33. Estado actual sobre el abordaje y manejo del enfermo quemado. Revista de la Asociación Mexicana de Medicina. Vol. XXVIII, (1). México.

Castellano, H. & Pedraza, P. (2009). Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos *in vitro*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Castro, O. (1999). Neutralización del efecto hemorrágico inducido por veneno de *Bothrops asper* por extractos de plantas tropicales. Rev. Biol.

Colegio Oficial de Enfermas de Barcelona. (2012). Tejidos. membranas. piel. derivados de la piel. Revista La Enfermera Virtual. Barcelona, España.

Coutiño, E. & Pérez, R. (2007). Los compuestos de plata y la salud. Volumen 3. Salud de la comunidad, España.

Coutiño, R. (2015). Plata coloidal: xenobiótico, antígeno y disruptor hormonal. Universidad Veracruzana. México.

Coy *et al.* (2016). Importancia medicinal del género *Croton* (Euphorbiaceae). Revista cubana de plantas medicinales. Cuba. p. 238.

Davidson, M.K., Lindsey, J.R. & Davis, J.K. (1987). Requirements and selection of an animal model. *Isr J Med sci.* pp. 551-555.

Díaz, F. (2012). Introducción a los nanomateriales. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán, Departamento de Ingeniería. Cuautitlán, México.

Feliza, M. (2009). Variaciones en la anatomía de la corteza y en la producción de metabolitos secundarios, de dos poblaciones de *Croton draco* schltl. & cham, en el estado de Veracruz. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. México.

Fentener van Vlissingen, J.M., Borrens M., Girod, A., Lelovas, P., Morrison, F. & Torres, Y.S. (2015). The reporting of clinical signs in laboratory animals: FELASA Working Group Report. *Lab Anim.* pp. 267-83. Doi: 10.1177/0023677215584249

Fernández, T. (2017). Estudio de las aplicaciones biomédicas de las nanopartículas de plata. Universidad de Sevilla. Departamento de Química Inorgánica. Sevilla, España.

Flores, M. (2016). Efecto bactericida de nanopartículas de plata y desinfectantes sobre bacterias multirresistentes. Maestría y doctorado en ciencias agropecuarias y recursos naturales. Universidad Autónoma del Estado de México.

Fragozo, L. & Villalobos, A. (2016). *Pseudomona aeruginosa*: Estado del arte. (Monografía para optar por el título de especialidad de Medicina Interna). Universidad Libre. Barranquilla.

García, A. *et al.* (2016). Síntesis y aplicación de nuevas nanopartículas de plata biocompatibles para el control del crecimiento de bacterias lácticas y acéticas en vinos. La Rioja, España.

García, R., Travesedo, E. & Sánchez, OJO: falta inicial del nombre (2004). Formas farmacéuticas a base de nanopartículas de plata, con efecto cicatrizante en la epidermis. Estudio in vivo. *Medicina Cutánea*. España.

Garrido, S. Goienetxe, E. & Lizaso, M. (2004). Reacción adversa a medicamentos. Servicio Navarro de Salud. *Dermatología y alergia*.

González, F. & Bravo, L. (2017). Historia y actualidad de productos para la piel, cosméticos y fragancias. Especialmente los derivados de las plantas. Artículo de Revista *Ars*

Pharmaceutica.58 (1). Biología Vegetal y Ecología. Facultad de Farmacia Universidad de Sevilla. Farmacología. Facultad de Farmacia Universidad de Sevilla. España.

Granados, J. (2017). Guía para el manejo de animales de laboratorio. Dirección de Investigación y Desarrollo Tecnológico, Ministerio de Ciencia, Tecnología y Telecomunicaciones.

Guardarrama, S. (2013). Efecto Antibacteriano de las Nanopartículas de plata versus clorhexidina sobre Streptococcus Mutans y Lactobacillus Casei. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.

Gutiérrez, & Esteves. (2009). Relevancia de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en el s. XXI. España.

Guzmán, A. (2016). Identificación de *Pseudomonas aeruginosas* en el equipo de anestesia inhalatoria en 20 clínicas y hospitales veterinarios de la ciudad de Quito mediante estudios microbiológicos. (Trabajo de graduación para optar por el título de médico veterinario y zootecnista). Universidad de las Américas. Ecuador.

Hasan, M. *et al.* (2014). Mechanistic Study of Silver Nanoparticle's Synthesis by Dragon's Blood Resin Ethanol Extract and Antiradiation Activity. Journal of Nanoscience and Nanotechnology. Vol. 14 (20). China. Doi:10.1166/jnn.2014.9090

Hernández. R, Fernández, P. & Baptista.(2006). Metodología de la investigación. Cuarta edición. Editorial: McGraw-Hill. ISBN: 970-10-5753-8.

Jiménez, A. (1990). Resumen de salud pública. Plata. División de toxicología ambiental. p. 3.

Jiménez, R. (1998). Metodología de la investigación, elementos básicos para la investigación clínica. Editorial: de las Ciencias Médicas del Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas, ciudad de La Habana, Cuba.

Lara, H. (2010). Interacción de VIH-1 con nanopartículas de plata npp. ¿NPP mayúscula? Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. México. p. 1.

López, C. (2002). Sepsis por *Escherichia coli* y lesiones cutáneas ampollosas. Unidad de Cuidados Intensivos. España.

Merck Sharp & Dohme Corp. (MSD). (2017). Infecciones bacterianas de la piel: Impétigo y ectima. Recuperado de <https://www.msmanuals.com/es-cr/professional/trastornoscut%C3%A1neos/infecciones-bacterianas-de-la-piel/imp%C3%A9tigo-y-ectima>

Merck Sharp & Dohme Corp. (MSD). (2017). Infecciones por estafilococos. Recuperado de <https://www.msmanuals.com/es-cr/professional/enfermedades-infecciosas/cocosgrampositivos/infecciones-por-estafilococos>

Merino, J. & Noriega, M. (2016). Fisiología general de la piel. Universidad de Cantabria. Cantabria, España.

Molier, L. & Hernández. (2007). Evaluación de la actividad antimicrobiana de preservas industriales. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 38, No. 1. Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Cuba.

Morales, H. (2012). Análisis in-vitro del efecto antibacteriano del aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) sobre una de las principales cepas bacterianas causales de faringoamigdalitis (*Streptococcus pyogenes*), realizado durante los meses de mayo y agosto del 2012. (Tesis de graduación para optar por el grado de licenciatura en Farmacia). Universidad Internacional de las Américas. Costa Rica.

Morales, J., Moran, J., Quintana, M. & Estrada, W. (2009). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta sol-gel a partir de nitrato de plata. Revista de la Sociedad Química del Perú. ISSN: 1810-634X. Perú.

Morales, J., Quintana, M., Morán J. & Estrada, W. (2009). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta sol-gel a partir de nitrato de plata. Revista de la Sociedad del Química de Perú, Vol. 75. (2).

Mosquera, E., Rosas, N., Debut, A. & Guerrero, V. (2015). Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Dióxido de Titanio Obtenidas por el Método de Sol-Gel. Vol. 36 (3). Revista Politécnica. Quito, Ecuador.

Muñoz, F. (1987). *Plantas Medicinales y Aromáticas: Estudio cultivo y procesado*. Madrid. p. 236.

Murray, P; Rosenthal, K. & Pfaller, M. (2008). *Microbiología médica*. Elsevier. España. Quinta edición.

Navarrete, G. (2003). *Histología de la piel*. Universidad Autónoma de México. *Revista Fec Med UNAM*. 46 (4). México.

Nordberg, G. (2002). Metales; propiedades químicas y toxicidad. En *Enciclopedia de salud y seguridad del trabajo*. pp. 37-38.

Orkin, M, Maibach, H.I. & Dalh, M.V. (1991). *Farmacología dermatológica*. Capítulo 56.

Palacios, M. (2012). *Preparados semisólidos*. Universidad Los Ángeles de Chimbote, Farmacia y Bioquímica. Perú.

Palomino, M. (2001). *Fisiología de la piel*. *Revista Peruana de Dermatología*. Vol. 11 (2). Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú.

Peñalba, A. & Marañón, R. (2015). *Tratamiento de las quemaduras en urgencias*. Sección de Urgencias Pediátricas. Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid, España.

Piriz, R. (2014). *Quemaduras*. *Enfermería médico-quirúrgica*. Madrid, España.

Plantas medicinales. (2005). *Rendimiento en la extracción de aceites esenciales*. Madrid. p. 3.

Prabhu, S. & Poulouse, E. (2012). *Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects*. *International Nano Letter a Springer Open Journal*. India.

Quintanilla, L. (2006). *Desarrollo de método de adhesión de nanopartículas de plata a mini implantes de ortodoncia*. Universidad Autónoma de Nuevo León. México.

Quintili, M. (2012). p. 126. *Nanociencia y Nanotecnología...un mundo pequeño*. Centro de Estudios en Diseño y Comunicación. 125-155 ISSN 1668-5229.

Rangel, H. (2005). p. 7. Infecciones por Quemaduras. División de Estudios Superiores de la UNAM. Director del Capítulo de Quemaduras de la Federación Ibero-latinoamericana de Cirugía Plástica (FILACP). Vol. 15 (2). México.

Rivas, C., Oranday, M. & Verde, M. (2016). Investigación en plantas de importancia médica. *OmniaScience*, 3-84. Doi: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.313>

Rodríguez G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. México.

Rojas, R. (2017). Estudio de las propiedades antisépticas y antibacteriales in vitro del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (zacate limón) en *Staphylococcus aureus*. (Tesis de graduación para optar por el grado de licenciatura en Farmacia). Universidad Internacional de las Américas. Costa Rica.

Rojas, R. (2017). Estudio de las propiedades antisépticas y antibacteriales in vitro del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (zacate limón) en *Staphylococcus aureus*. (Tesis de graduación para optar por el grado de licenciatura en Farmacia). Universidad Internacional de las Américas. Costa Rica.

Romero, Fernández *et al.* (2016). El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. Artículo de revisión. Volumen 33.

Rosanova, M., Stamboulianb, D. & Ledesma, R. (2012). ¿Cuál es el agente tópico más eficaz en la prevención de infecciones en el paciente quemado? pp. 298, 301, 303. Argentina.

Russell, W.M.S. & Bursh, R.L. (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*. London Methuen, London.

Sáenz, E. & Sánchez. (2015). Antibióticos tópicos. *Revista de Servicios de Dermatología*. Hospital Militar Central. Vol. 15(1). Lima Perú.

Salguero, M. (2016). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata usando como reductores extractos de menta (*Origanum vulgare*) y cilantro (*Coriandrum sativum*), y como funcionalizante el látex de sangre de drago (*Croton lechleri*). pp. 1,78. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Facultad De Ciencias Exactas y Naturales Escuela de Ciencias Químicas. Quito, Ecuador.

Sánchez, M. (2017). Nanopartículas de plata: preparación, caracterización y propiedades con aplicación de inocuidad de los alimentos. Universidad Nacional de Educación a Distancia. España. p. 12.

Santorum, N. (2017). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata empleando el extracto de las hojas de Matico (*Piper aduncum*) como un agente reductor. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Facultad De Ciencias Exactas y Naturales Escuela de Ciencias Químicas. Quito, Ecuador. p. 12.

SENA. (2009). Métodos de extracción, para aceites esenciales. Cuba. p. 15.

Shashi, D., Manu, L. & Mika, S. (2010). Green Synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract *Rosa rugose*. Finland.

Taroco, R., Seija, V. & Vignoli, R. (2006). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Temas de Bacteriología y Virología Médica. Segunda edición, 663-671. Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>

Terán, J. (2009). Respuesta del cultivo de menta (*Menta acuática*) a la aplicación edáfica de tres fertilizaciones órgano-minerales, a tres dosis. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. p. 98.

The Burton Goldberg Group. (1994). Medicina alternativa. La guía definitiva. 2da. ed Future Medicine Publishing Inc. Paginas. 253-271

Tianfu. (2016). Conozca las plantas medicinales. Menta (*Mentha piperita*), pp. 2-3.

Tortora, G., Funke, B. & Case, C. (2007). Introducción a la microbiología. Novena edición. Editorial Panamericana.

Triana, J. (2014). Determinación del perfil farmacocinético de la plata después de la administración de nanopartículas de plata en dos modelos animales. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina. México.

Unique Selling Proposition (USP). (2013). Dow propilenglicol USP/EP. The Dow Chemical Company. Estados Unidos.

Universidad Autónoma de México (UNAM). (2016). Solución de Nanopartículas de plata facilita cicatrización en pie diabético. Párr. 1, 2, 3. Centro Nanociencias y Nanotecnología de la UNAM en Ensenada, Baja California. México.

Veiga De Cabo, J. & De la Fuente, E. (2008). Modelos de estudio en investigación aplicada: conceptos y criterios para el diseño. Revista Med Segur Trab, 54 (210). Escuela Nacional de Medicina del Trabajo. Madrid, España.

Vergara, A. & Toledo, E. (2017). Acción Bactericida de Nanopartículas de Plata Utilizando extractos de Aloe Vera, para una posterior Aplicación en vendajes y parches. p. 54. Revista de Simulación y Laboratorio. Vol. 5 (11). Universidad Tecnológica Fidel Velázquez, Calle Emiliano Zapata S/N Col. El Tráfico Nicolás Romero Edo. México.

Vermeulen, H., van Hattem, J.M., Storm-Versloot, M.N. & Ubbink, D.T. (2008). Plata tópica para el tratamiento de las heridas infectadas. Reproducción de una revisión Cochrane, traducida y publicada en La Biblioteca Cochrane Plus, 2008, Número 2.

Vilda, J. (2008). Formas farmacéuticas, Tecnología Farmacéutica. Vol. II. Editorial: Síntesis. Madrid, España.

Zendejas, G., Avalos, H. & Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Revista Biomédica, 25 (3), 129-143. Recuperado de <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb142534.pdf>