



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

TESIS

**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL “CHACCO”
(*Bentonita*) EN CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* Y
Staphylococcus aureus, LIMA - 2016”**

BACHILLER: MARQUEZ SANCHEZ, Gabriela Erika

ASESOR: Mg. DÍAZ URIBE, Julio

LIMA - PERU

2016

DEDICATORIA

A mi mamá María Victoria, fue quien me acompañó durante toda mi carrera universitaria, por fortalecerme con su amor y aliento. También a toda mi familia que estuvo brindándome apoyo moral y ánimos para seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme permitido desarrollarme como profesional y ayudarme en los momentos más difíciles de mi vida. Agradezco también a todas las personas que han hecho posible culminar de mi trabajo.

RESUMEN

La multiresistencia ha adquirido tal importancia que la OMS ha identificado este problema como la 5^{ta} amenaza para la salud humana y sus consecuencias que generan múltiples campañas para intentar controlar la situación. La *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente forma parte de un grupo de microorganismos llamados “PROBLEMA O CONFLICTIVOS” junto al *Staphylococcus aureus*, teniendo en común gravedad de infecciones causadas y las dificultades terapéuticas.¹

El objetivo del presente trabajo de investigación es determinar el efecto antibacteriano del “Chacco” (*Bentonita*) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, El “Chacco” es una sustancia mineral arcillosa existente en la cuenca del Titicaca, y es de bajo costo de extracción.

Para la experimentación se seleccionó 5 colonias de la placa de cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 respectivamente. Luego se preparó una suspensión en 5 mL de caldo cloruro sódico peptona, se incubó a 35 °C. Esta suspensión de 10⁸ UFC/mL aproximadamente; de esta solución se tomó 100 mg y se inocularon en 5 tubos. El Chacco en polvo purificado se añadió en un tubo de ensayo, para luego colocar 200 mg y después se agregó 1800 mL de caldo cloruro peptona y se homogeniza, obteniendo una solución madre con una concentración de 100 mg/ml. Se tomó 1 mL de la solución madre preparada y se colocó en el tubo 1 y de este al siguiente y así sucesivamente, obteniendo concentraciones de 50; 25; 12,5 y 6,25 mg/mL, se observó la turbidez para luego sembrar el contenido los tubos Agar cetrimide y Agar Manitol.

Se concluye que el “Chacco” (*Bentonita*) tienen un significativo efecto antibacteriano; sobre las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; en las concentraciones de 12,5 mg/mL; 25 mg/mL y 50 mg/mL y sobre la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 no presenta actividad inhibitoria ni bactericida.

ABSTRACT

Multidrug resistance has acquired the importance that OMS has identified this problem as the 5th threat to human health and its consequences generate multiple campaigns to try to control the situation. Multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* is part of a group of microorganisms called "PROBLEM OR CONFLICTING" next to *Staphylococcus aureus*, having in common severity of infections and difficulties terapéuticas.¹

The objective of this research is to determine the antibacterial effect of "Chacco" (*Bentonite*) in strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, the "Chacco" is an existing clay mineral substance in the Titicaca basin, and is low extraction cost.

For experimentation five colonies culture plate *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 respectively. A suspension was then prepared in 5 mL of peptone broth sodium chloride, was incubated at 35 ° C. This suspension of 10⁸ CFU/mL, this solution is 100 mg taken and inoculated in 5 tubes. The Chacco in purified powder is added in a test tube, and 200 mg is placed 1800 mL broth peptone chloride is added and homogenized, resulting in a stock solution with a concentration of 100 mg/mL. 1 mL of stock solution prepared is taken and placed in the tube 1 and the next and so on, obtaining concentrations of 50; 25; 12,5 and 6,25 mg/mL, the turbidity is observed and then sow the contents tubes cetrimide agar and Mannitol agar.

It is concluded that the "Chacco" (*Bentonite*) have a significant antibacterial effect; on strains *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; in concentrations of 12,5 mg/mL; 25 mg/mL and 50 mg/mL and on the strain *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 no inhibitory or bactericidal activity.

INDICE

| | |
|---|-------------|
| CARATULA..... | i |
| DEDICATORIA | ii |
| AGRADECIMIENTOS..... | iii |
| RESUMEN | iv |
| ABSTRACT | v |
| ÍNDICE DE TABLAS | x |
| ÍNDICE DE GRÁFICOS | xi |
| INTRODUCCION | xiii |
| CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 15 |
| 1.1. Descripción de la Realidad Problemática..... | 15 |
| 1.2. Formulación del Problema..... | 16 |
| 1.2.1. Formulación del Problema General..... | 16 |
| 1.2.2. Formulación de Problemas Específicos | 16 |
| 1.3. Objetivos de la Investigación..... | 17 |
| 1.3.1. Objetivo General..... | 17 |
| 1.3.2. Objetivos Específicos | 17 |
| 1.4. Hipótesis de la Investigación | 17 |
| 1.4.1. Hipótesis General | 17 |
| 1.4.2. Hipótesis Secundarias..... | 17 |
| 1.5. Justificación e Importancia de la Investigación..... | 18 |
| CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO..... | 19 |
| 2.1. Antecedentes de la Investigación..... | 19 |
| 2.1.1. Antecedentes Nacionales..... | 19 |
| 2.1.2. Antecedentes Internacionales | 20 |
| 2.2. Bases Teóricas..... | 21 |

| | |
|---|----|
| 2.2.1. Arcilla – El "Chacco" | 21 |
| 2.2.1.1. Estructura..... | 22 |
| 2.2.1.2. Propiedades Físicoquímicas de las Arcillas | 22 |
| a) Superficie Específica | 23 |
| b) Capacidad de Intercambio Catiónico..... | 23 |
| c) Capacidad de Absorción..... | 23 |
| d) Hidratación e Hinchamiento | 24 |
| e) Plasticidad | 24 |
| f) Tixotropía | 24 |
| 2.2.1.3. Propiedades Terapéuticas | 24 |
| 2.2.2. Minerales con Acción Antimicrobiana..... | 25 |
| 2.2.2.1. Formas farmacéuticas a base de minerales con acción antibacteriana | 25 |
| 2.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 26 |
| 2.2.3.1. Etimología..... | 27 |
| 2.2.3.2. Características Clínicas | 27 |
| 2.2.3.3. Mecanismo de Acción..... | 29 |
| 2.2.4. <i>Staphylococcus aureus</i> | 29 |
| 2.2.4.1. Diagnóstico | 30 |
| 2.2.4.2. Medios de aislamiento | 30 |
| 2.2.4.3. Epidemiología | 31 |
| 2.2.4.4. Patogenia..... | 31 |
| 2.2.4.5. Enfermedades causadas por <i>S. aureus</i> | 32 |
| 2.3. Definición de Términos Básicos | 36 |
| 2.3.1. Enfermedad | 36 |
| 2.3.2. Enfermedades Bacterianas | 36 |
| 2.3.3. Enfermedades Emergentes..... | 36 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.4. Actividad Antibacteriana | 36 |
| 2.3.5. Resistencia Bacteriana..... | 37 |
| 2.3.6. Multirresistencia..... | 37 |
| 2.3.7. Bacteria Oportunista..... | 37 |
| 2.3.8. Productos Antibacterianos..... | 37 |
| 2.3.9. Concentración Inhibitoria Mínima | 38 |
| 2.3.10. Concentración Bactericida mínima | 38 |
| CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN..... | 39 |
| 3.1. Tipo de Investigación..... | 39 |
| 3.2. Nivel de Investigación..... | 39 |
| 3.3. Método de Investigación..... | 39 |
| 3.4. Diseño de la Investigación..... | 39 |
| 3.5. Población y Muestreo de la Investigación | 40 |
| 3.5.1. Población..... | 40 |
| 3.5.2. Muestra | 40 |
| 3.6. Variables e Indicadores | 41 |
| 3.7. Procedimiento, Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos: | 42 |
| 3.7.1. Procedimiento | 42 |
| A. Purificación del “Chacco” | 42 |
| B. Análisis Físicoquímico..... | 43 |
| a) Determinación de propiedades organolépticas..... | 43 |
| b) Determinación de pH..... | 43 |
| c) Análisis Granulométrico | 44 |
| C. Evaluación “in vitro” del efecto antibacteriano del mineral “Chacco” frente a la cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538..... | 45 |

| | |
|---|-----------|
| a) Determinación “in vitro” de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) frente a las cepas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538..... | 45 |
| b) Determinación “in vitro” del Concentración Bactericida Mínima (CBM) frente a las cepas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538..... | 48 |
| 3.7.2. Técnica..... | 48 |
| 3.7.3. Instrumentos..... | 49 |
| CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS | 50 |
| 4.1. Resultados | 50 |
| DISCUSION | 55 |
| CONCLUSIONES | 57 |
| RECOMENDACIONES..... | 58 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 59 |
| ANEXOS..... | 63 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla N° 01: Variables del proyecto de investigación..... | 41 |
| Tabla N° 02: Valores calculados para la obtención de la solución madre del chacco..... | 47 |
| Tabla N° 03: Valores calculados para hallar el efecto antibacteriano de la solución del chacco..... | 47 |
| Tabla N° 04: Análisis fisicoquímicos del Chacco..... | 50 |
| Tabla N° 05: Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima del chacco frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 51 |
| Tabla N° 06: Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima del chacco frente a las cepas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 | 52 |
| Tabla N° 07: Determinación de la Concentración Bactericida Mínima frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 53 |
| Tabla N° 08: Determinación de la Concentración Bactericida Mínima frente a las cepas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027..... | 54 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Grafico N° 01: Chacco en estado natural | 66 |
| Grafico N° 02: Triturar en un molino de discos | 66 |
| Grafico N° 03: Chacco triturado y remojado en agua purificada | 67 |
| Grafico N° 04: Chacco en proceso de filtrado en tela organza | 67 |
| Grafico N° 05: Desecando el Chacco | 68 |
| Grafico N° 06: Chacco desecado, listo para triturar | 68 |
| Grafico N° 07: Chacco en proceso de trituración | 69 |
| Grafico N° 08: Chacco pulverizado | 69 |
| Grafico N° 09: Medición de pH | 70 |
| Grafico N° 10: Fotografía microscópica del Chacco 40x | 70 |
| Grafico N° 11: Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 71 |
| Grafico N° 12: Concentración Inhibitoria Mínima del chacco frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 71 |
| Grafico N° 13: Efecto de Chacco a 50 mg/mL sobre cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 72 |
| Grafico N° 14: Efecto de Chacco a 25 mg/mL sobre cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 72 |
| Grafico N° 15: Efecto de Chacco a 12,5 mg/mL sobre cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 73 |
| Grafico N° 16: Efecto de Chacco a 6,25 mg/mL sobre cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 73 |

| | |
|--|----|
| Grafico N° 17: Control positivo..... | 74 |
| Grafico N° 18: Control negativo | 74 |
| Grafico N° 19: Cepa de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027..... | 75 |
| Grafico N° 20: Concentración Bactericida Mínima del chacco frente a cepas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 | 75 |
| Grafico N° 21: Resultados de análisis fisicoquímicos | 76 |
| Grafico N° 22: Resultados de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima del chacco frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 77 |
| Grafico N° 23: Resultados de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima del chacco frente a cepas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027..... | 78 |

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el surgimiento de nuevas patologías o enfermedades catalogadas como emergentes tienen una etiología infecciosa que incluyen enfermedades bacterianas. Adicionalmente, la resistencia bacteriana a los antibióticos se ha convertido en un problema de salud grave y global, por lo tanto el aislamiento y caracterización de nuevos compuestos antimicrobianos es de gran interés para reducir y detener estos casos.

El uso del “Chacco” (arcilla que contiene Bentonita) como medio terapéutico es conocido desde hace mucho tiempo y fue usado empíricamente en aplicaciones externas como emplastos por poblaciones campesinas. La composición de estos depósitos minerales puede ser variable según las características geológicas del lugar donde se encuentran, existiendo por lo tanto varios tipos de arcillas (blancas, verdes, rojas, negras, etc.) y por lo tanto varían en su composición (caolinita, illita, montmorillonita, bentonita, etc.) Su componente principal son los silicatos de aluminio hidratados que es un material muy fino, formado por partículas muy pequeñas con un tamaño inferior a 4 micras y que según bibliografía podría ser responsable de la actividad bactericida que presenta el Chacco. En la industria farmacéutica es evidente la evolución por la incorporación al campo de la salud de nuevos medicamentos que tienen como objetivo mejorar el nivel y la calidad de vida de las personas, estimulando de tal forma la industrialización de bentonita y el aprovechamiento al máximo de los recursos minerales.

También se puede observar que la *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* son bacterias que exhibe un potencial patógeno elevado pudiendo causar muchos daños sobre la salud de las personas, por eso se busca nuevos principios activos capaces de inhibir el crecimiento de dichas bacterias, sin provocar efectos adversos y que a su vez estén al alcance de la población. Es por ello que se hace imperativo el estudio del “Chacco” *bentonita* para validar el efecto terapéutico mediante método microbiológico científicos validados.

Por todo lo antes mencionado el presente trabajo tiene como objetivo evaluar en pruebas "in vitro" el efecto antibacteriano del "Chacco" (*Bentonita*), sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la Realidad Problemática

La multiresistencia ha adquirido tal importancia que la OMS ha identificado este problema como la 5^{ta} amenaza para la salud humana y sus consecuencias generan múltiples campañas para intentar controlar la situación. La importancia de la multiresistencia radica en que provoca un claro aumento de la morbi-mortalidad de los pacientes tanto en el ámbito hospitalario como ambulatorio y la repercusión de los costos.¹

Al existir tan alto grado de resistencia se ven limitadas las posibilidades terapéuticas con un déficit claro de antibacterianos efectivos para estos microorganismos.¹

La *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente forma parte de un grupo de microorganismos llamados “PROBLEMA O CONFLICTIVOS” junto al *Staphylococcus aureus*, teniendo en común gravedad de infecciones causadas y las dificultades terapéuticas.¹

La *Pseudomonas aeruginosa* es causante de diferentes cuadros clínicos, infección del tracto respiratorio como la neumonía, infecciones del tracto urinario como complicaciones de cálculos, endoproteosis y hospitalizados con sonda urinaria. También pueden ocasionar infecciones en los huesos y articulaciones, al igual que la piel en situaciones clínicas importantes como la infecciones de tejidos quemados pudiendo llevar a una sepsis por *Pseudomonasaeruginosa*.^{1,2}

El *Staphylococcus aureus*, es uno de los patógenos más importantes a nivel mundial, bacteria oportunista que forma parte de la microflora humana: poco después del nacimiento, los neonatos son colonizados por *Staphylococcus aureus*, es más frecuente la colonización en el hospital, especialmente en pacientes con hemodiálisis, diabéticos tipo 1, pacientes con lesiones cutáneas, sujetos infectados con VIH y adictos a las drogas. Las infecciones causadas por los *Staphylococcus aureus* se da particularmente sobre las heridas quirúrgicas, bacteriemias a partir de catéter y la neumonía en enfermos ventilados.³

Un aspecto importante en años recientes en salud pública son las infecciones por *Staphylococcus aureus* que han reemergido debido a que la bacteria se ha tornado resistente a diversos antibióticos con los que normalmente se les trata.^{3,4}

1.2. Formulación del Problema

1.2.1. Formulación del Problema General

- ¿Presentara efecto antibacteriano el “Chacco” (*Bentonita*) sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*?

1.2.2. Formulación de Problemas Específicos

- ¿Cuál será el efecto antibacteriano del “Chacco” (*Bentonita*) sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* hallado mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración bactericida Mínima?
- ¿Cuál será el efecto antibacteriano “Chacco” (*Bentonita*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración bactericida Mínima?

1.3. Objetivos de la Investigación

1.3.1. Objetivo General

- Determinar el efecto antibacteriano del “Chacco” (*Bentonita*) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, Lima- 2016

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar el efecto antibacteriano mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración bactericida Mínima del “Chacco” (*Bentonita*) sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa*
- Determinar el efecto antibacteriano mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración bactericida Mínima del “Chacco” (*Bentonita*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*

1.4. Hipótesis de la Investigación

1.4.1. Hipótesis General

- El “Chacco” (*Bentonita*) presenta Silicatos de Aluminio y otros minerales como el cromo y plata que tiene un significativo efecto antibacteriano; sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

1.4.2. Hipótesis Secundarias

- El efecto antibacteriano del “Chacco” (*Bentonita*) sobre *Pseudomonas aeruginosa*, se podrá determinar mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima.
- El efecto antibacteriano del “Chacco” (*Bentonita*) sobre *Staphylococcus aureus*, se podrá determinar mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima.

1.5. Justificación e Importancia de la Investigación

La arcilla bentonita más conocida por la mayoría de los pobladores andinos con el nombre “Chacco”, es un mineral arcilloso que se presenta como resultado de la descomposición de cenizas volcánicas; su principal especie mineral es la bentonita, además, contiene silicatos de aluminio hidratados, que es un material granuloso muy fino con propiedades desintoxicantes, remineralizantes y absorbentes, las cuales son aprovechadas en preparaciones tópicas médicas y cosméticas, como cremas, talcos, pastas de dientes, desodorantes, polvos para pies, paquetes faciales y barros terapéuticos como agente gelificante.^{5,6}

El tratamiento de las infecciones producidas por estas bacterias nos puede llevar a gastos exuberantes, que muchas veces no está al alcance de gran parte de la población. También se utiliza el tratamiento a base de medicina tradicional que no siempre es validada y puede ocasionar efectos adversos nocivos en la salud de las personas, de tal manera que se busca con este estudio encontrar nuevos productos antibacterianos y de fácil acceso. También serviría como un aporte científico para validar el uso de la “Chacco” (*bentonita*) en tratamientos de infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* y eventualmente brindar a la comunidad, en especial a las personas que se ven afectadas por estas infecciones una alternativa de tratamiento y por ende contribuir al mejoramiento de su calidad de vida.⁷

Y por los componentes presentes “Chacco” (*bentonita*) (plata, cromo y silicatos de aluminio) que tienen propiedades antibacterianas, justifica el estudio de la bentonita como materia prima para elaborar formas farmacéuticas que actúe sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, y de esta forma validar científicamente su uso como un nuevo antibacteriano.^{7,8}

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

2.1.1. Antecedentes Nacionales

La investigación realizada por Juana Suseth Cámac del Arroyo (2006). **"EFECTO DEL "CHACCO" EN LAS LESIONES QUE PRODUCEN EN PIEL LAS RADIACIONES SOLARES AREQUIPA 2006"**, hace referencia al uso de principios activos (Bloqueadores Solares), naturales y de mayor accesibilidad económica, sin restarle importancia a la efectividad, por lo tanto se propone y se realiza el estudio del "Chacco" (silicato de aluminio) para ser usado como protector solar; se concluye además que el "Chacco"; a una concentración del 15%, que tiene un FPS de 6.11 ± 0.66 medido y clasificado como de eficacia moderada según el método COLIPA; y esta preparación podría usarse como un protector secundario (uso en cosméticos y a diario sin mucha exposición al sol).⁹

La investigación realizada por Hersh Marco Polo Soto Huamani, **"EFECTO ANTIBACTERIANO Y ANTIFÚNGICO COMPARATIVO DE LOS EXTRACTOS ACUOSO DEL *Zea mays L.* (MAÍZ MORADO), *Rubus glaucus* (MORA ANDINA); *Opuntia soherensii* (AYRAMPO) Y DISEÑO DE UN GEL DE LIMPIEZA CUTÁNEA."**Hace referencia al uso cada vez más extendido de las plantas y remedios naturales. Presenta unas reflexiones sobre la seguridad del uso de productos naturales registrados como suplementos nutricionales; llegando a la

conclusión que los extractos secos del *Opuntia soherensii* (ayrampo) y del *Rubus glaucus* (mora) obtenido por extracción alcohólica a una concentración de 100 mg/mL. y 200 mg/mL. Presentaron actividad antibacteriana significativa al generar halos de inhibición en cultivos con *Staphylococcus aureus* ATCC 25933, *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. El extracto seco del *Rubus glaucus* (mora) obtenido por extracción acuosa a una concentración de 200mg/mL presento actividad antibacteriana significativa frente a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.¹⁰

2.1.2. Antecedentes internacionales

En el siguiente artículo realizado por Pamela Wallach, Luis López, Christel Oberpaur, Flavia Vacarezza y Liliana Maier; **ESTUDIO PRELIMINAR DE EFECTOS ANTIMICROBIANOS “IN VITRO” DEL MUSGO *Sphagnum magellanicum*. (2010)**, hace referencia a las tendencias actuales más generalizadas en el estudio y utilización de plantas medicinales, se encuentran los esfuerzos que se realizan en la búsqueda de complejos que proporcionen nuevas sustancias activas con efectividad antimicrobiana; se realizaron evaluaciones de la actividad antimicrobiana del musgo *Sphagnum magellanicum* (Pompón) en 4 estados; fresco, disecado, esterilizado y sin esterilizar.; se emplearon para esta ocasión, como microorganismos de prueba, las siguientes bacterias y hongos: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Malassezia pachydermatis* y *Candida albicans*. La selección de las cepas antes mencionadas se realizó con la intención de tener representantes de los grupos de las bacterias Gram positivas, Gram negativas y hongos levaduriformes. El método utilizado fue la técnica de Kirby-Bauer, que es estándar para la realización de las pruebas de sensibilidad por difusión en agar. Llegando a la

conclusión que hubo una actividad antimicrobiana sólo del musgo en estado fresco y sin esterilizar, a partir del extracto realizado con acetona y hexano. Los microorganismos más sensibles frente al musgo fueron los hongos levaduriformes (los cuales presentaron un mayor diámetro del halo de inhibición), luego bacterias Gram positivas y en último lugar las Gram negativas. Sobre *P. aeruginosa* no se observó ninguna actividad.

11

La investigación realizada por, Silvia Paola Estrada Orozco, “**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DE LOS EXTRACTOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*)**” (2010); hacen referencia a la Fitoterapia y al desarrollo de la química y el descubrimiento de complejos procesos de la síntesis orgánica en la puesta en marcha, por parte de la industria farmacéutica, de una nueva producción de medicamentos, llegando a la conclusión que luego de 48 horas de incubación; se observó que los extractos de ambas plantas presentan actividad antibacteriana destacándose la mezcla de los extractos hexánicos a concentraciones de 10000 y 1000 mg/mL frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*, debido a los compuestos fenólicos como el timol.¹²

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Arcilla – El "Chacco"

Las arcillas son compuestos cristalinos, que pueden ser sedimentos o depósitos minerales, son plásticos cuando se humedecen y consisten de un material granuloso muy fino, formado por partículas muy pequeñas, cuyo tamaño es inferior a 4 micras. Están compuestas principalmente de los elementos

aluminio, plata, cobre, oxígeno, silicio e hidrógeno arreglados en forma de una red cristalina arreglada en forma de capas o láminas. La composición de estos depósitos minerales puede ser variable según las características geológicas del lugar donde se encuentran.¹³

Existe una arcilla, conocida en la actualidad por la mayoría de los pobladores andinos con el nombre "Chacco". Este es un mineral arcilloso que se presenta como resultado de la descomposición de cenizas volcánicas; también es llamada bentonita y su principal especie mineral es la montmorillonita (es una variedad de los silicatos de estructura laminar, que tiene en su estructura aluminio y magnesio). Su constituyente principal son en esencia silicatos de aluminio hidratados, que es un material granuloso muy fino, formado por partículas muy pequeñas cuyo tamaño es inferior a 4 micras; compuesta también por más de un tipo de minerales, como SiO_2 , Al_2O_3 , TiO_2 , Fe_2O_3 , MgO , CaO , K_2O , Na_2O .^{6,13,14}

El "Chacco" es empleado por los pobladores andinos como comestible con papas sancochadas; y tiene propiedades antiulcerosas.¹⁵

2.2.1.1. Estructura

Las arcillas, al igual que el resto de los filosilicatos, presentan una estructura basada en el apilamiento de planos de iones oxígeno e hidroxilos. Los grupos tetraédricos $(\text{SiO})_4^{4-}$ se unen compartiendo tres de sus cuatro oxígenos con otros vecinos formando capas, de extensión infinita, que constituyen la unidad fundamental de los filosilicatos. En ellas, los tetraedros se distribuyen formando hexágonos.¹³

2.2.1.2. Propiedades fisicoquímicas de las arcillas

Las importantes aplicaciones industriales de este grupo de minerales radican en sus propiedades fisico-

químicas. Dichas propiedades derivan, principalmente, de:¹

- Su extremadamente pequeño tamaño de partícula (inferior a 4 μm)
- Su morfología laminar (filosilicatos)
- Las sustituciones isomórficas, que dan lugar a la aparición de carga en las láminas y
- La presencia de cationes débilmente ligados en el espacio interlaminar.¹³

a) Superficie específica

La superficie específica o área superficial de una arcilla se define como el área de la superficie externa más el área de la superficie interna (en el caso de que esta exista).^{5,16}

Las bentonitas poseen una elevada superficie específica (150-800 m^2/g), muy importante para ciertos usos industriales en los que la interacción sólido-fluido depende directamente de esta propiedad.^{13,16}

b) Capacidad de Intercambio catiónico

La existencia de cationes, en el espacio interlaminar, débilmente ligados y con estado variable de hidratación, que pueden ser intercambiados fácilmente mediante la puesta en contacto de la arcilla con una solución saturada de otros cationes, a esta propiedad se la conoce como capacidad de intercambio catiónico y es también la base de multitud de aplicaciones industriales.^{13,16}

c) Capacidad de absorción

Algunas arcillas encuentran su principal campo de aplicación en el sector de los absorbentes ya que pueden absorber agua u otras moléculas en el espacio interlaminar.^{13,16}

La absorción de agua de arcillas absorbentes es mayor del 100% con respecto al peso. ^{13,16}

d) Hidratación e hinchamiento

La hidratación y deshidratación del espacio interlaminar son propiedades cuya importancia es crucial en los diferentes usos industriales. ^{13,16}

La absorción de agua en el espacio interlaminar tiene como consecuencia la separación de las láminas dando lugar al hinchamiento. ^{13,16}

e) Plasticidad

Las arcillas son eminentemente plásticas. Esta propiedad se debe a que el agua forma una envoltura sobre las partículas laminares, produciendo un efecto lubricante que facilita el deslizamiento de unas partículas sobre otras cuando se ejerce un esfuerzo sobre ellas. ^{13,16}

La elevada plasticidad de las arcillas es consecuencia, nuevamente, de su morfología laminar, tamaño de partícula extremadamente pequeño (elevada área superficial) y alta capacidad de hinchamiento. ^{13,16}

f) Tixotropía

La tixotropía se define como el fenómeno consistente en la pérdida de resistencia de un coloide, al amasarlo, y su posterior recuperación con el tiempo. Las arcillas tixotrópicas cuando son amasadas se convierten en un verdadero líquido. Si, a continuación, se las deja en reposo recuperan la cohesión. ^{13,16}

2.2.1.3. Propiedades terapéuticas

Desde hace tiempo las arcillas se vienen usando como excipiente por la industria farmacéutica, Debido a que no son

tóxicas, y a que no pueden ser absorbidas por el cuerpo humano, se utilizan para la elaboración de preparaciones tanto de uso tópico como oral. Se utiliza como adsorbente, estabilizante, espesante, agente suspensor y como modificador de la viscosidad. ¹³

Su principal uso es la preparación de suspensiones tópicas, geles y soluciones. Cuando se usa como parte de una preparación oral, su naturaleza adsorbente puede enmascarar el sabor de otros ingredientes, o puede retardar la liberación de ciertos fármacos catiónicos. ¹³

Como en el resto de los excipientes, las cantidades que se requieren son pequeñas. Generalmente las concentraciones de bentonita como agente de soporte es del 0,5% a 5 % y del 1% a 2 % cuando se usa como adsorbente. ¹³

También se usan en una variedad de preparaciones tópicas médicas y cosméticas, tales como cremas, talcos, pastas de dientes, desodorantes polvos para pies y bebés, paquetes faciales y barros terapéuticos como agente gelificante. Las arcillas se utilizan como bases inorgánicas para polvos de uso tópico al igual que el talco, óxido de zinc, dióxido de titanio, óxido de magnesio, y otros. ¹³

2.2.2. Minerales con acción antimicrobiana

2.2.2.1. Formas farmacéuticas a base de minerales con acción antibacteriana

a) Azufre: Se ha utilizado al azufre en sus diversas presentaciones en una variedad de dermatosis. El azufre es un ingrediente común de preparados antiacné. Se han descrito propiedades antisépticas, antiparasitarias y antiseborreicas. Al 10% se comprobó una reducción de los ácidos grasos libres en la

superficie cutánea. Su uso en terapias oclusivas se mantiene hasta la fecha en preparados combinados y en concentraciones del 1 al 15%, asociado al ácido salicílico y / o resorcina. Muchos autores lo señalan como francamente comedogénico y lo contraindican en el acné. Su uso está en declive por su capacidad irritativa, olor y color desagradable. El azufre se halla en diferentes presentaciones cosméticas como: cremas, pomadas y jabones.¹⁹

- b) Arcilla marrón**, está indicado para el acné, espinillas, sarpullidos, manchas, cutis graso, micosis y prevenir las varices porque activa la circulación sanguínea, para personas con debilidad porque mineraliza y eleva la hemoglobina, etc.²⁰
- c) Talco mineral**, a base de arcillas es un excelente regenerador celular y activador de la circulación de la sangre. Sirve como bactericida, cicatrizante, absorbente, estimulante, analgésico.²⁰
- d) Mascarillas a base de arcillas:** ayuda a regular la secreción sebácea del cutis y proporciona una sensación de frescura y un efecto tonificante, por lo que es de utilidad en las pieles gruesas y con poros dilatados ya que va afinando el tamaño de éstos y mejorando la textura sin agresividad.²⁰

2.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Es un bacilo Gramnegativo ligeramente curvado, aeróbica, con motilidad unipolar, es muy versátil nutritivamente y no fermenta hidratos de carbón pero produce ácido a partir de azúcares como la glucosa, fructuosa y lactosa o sacarosa. ¹

La *P. aeruginosa*, secreta una variedad de pigmentos como pirocianina (azul verdoso), fluoresceína (amarillo verdoso fluorescente) y

piorrubina (rojo pardo); es a menudo identificada, de modo preliminar, por su apariencia perlada y olor a uvas *in vitro*. La identificación clínica definitiva de *P. aeruginosa* frecuentemente incluye, tanto identificar la producción de piocianina y fluoresceína como determinar su habilidad de crecer a 42 °C. *P. aeruginosa* es capaz de crecer en combustibles como queroseno o gasóleo, ya que es un microorganismo capaz de nutrirse a partir de hidrocarburos, causando estragos de corrosión microbiana, y creando una gelatina oscura que a veces se identifica inadecuadamente con un alga.¹

2.2.3.1. Etimología

Etimológicamente, “pseudomona” significa “falsa unidad”, del griego *pseudo*, que significa 'falso', y *monas*, que significa unidad simple. El nombre fue usado inicialmente en la historia de la microbiología como sinónimo de gérmenes *Aeruginosa*, el nombre latino para el cardenillo u "óxido de cobre", describe el pigmento azul verdoso bacteriano visto en los cultivos de laboratorio de *P. aeruginosa*. La biosíntesis de piocianina es regulada por mecanismos homeostáticos, como en una biopelícula asociada con la colonización de *P. aeruginosa* en los pulmones de los pacientes con fibrosis quística. La mayoría de las cepas presentan también un olor característico similar a la uva o a una fruta madura.¹

2.2.3.2. Características clínicas

Es una bacteria muy extendida, y puede encontrarse en el agua, la tierra, animales o plantas, ya que sus necesidades alimenticias son mínimas, aunque las enfermedades producidas por esta bacteria están asociadas a su preferencia por los medios húmedos. En los seres humanos puede encontrarse en las zonas más húmedas del cuerpo, como son las axilas, los oídos y la zona alrededor del ano.¹

Es muy poco frecuente que la *Pseudomonas aeruginosa* produzca trastornos en personas sanas. La enfermedad se origina como resultado de alteraciones en las defensas normales del huésped. Esto puede suponer la pérdida de protección que proporcionan las membranas mucosas o la piel, como ocurre con la "otitis externa". Sus mínimas necesidades de nutrición, adaptabilidad y relativa resistencia a los antibióticos permiten a esta bacteria sobrevivir cerca de su anfitrión.¹

Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* son graves, especialmente cuando existe bacteriemia. Ésta suele presentarse en pacientes con enfermedad grave de base, larga estancia hospitalaria y uso previo de antibióticos. El microorganismo produce diversas enzimas extracelulares como la proteasa alcalina, elastasa, fosfolipasa, citotoxina y exoenzimas A y S. La alteración de los tejidos del huésped por estos productos bacterianos extracelulares crea las condiciones necesarias para la proliferación e invasión bacteriana y la consiguiente destrucción del tejido.¹

La *Pseudomonas aeruginosa* frecuentemente ocasiona infecciones adquiridas en el hospital, prolongando el período de hospitalización, incrementando los costos médicos, particularmente en pacientes inmunocomprometidos o críticamente enfermos. Estas infecciones son difíciles de tratar debido a que las cepas responsables pueden ser resistentes a múltiples antibióticos, incluyendo cefalosporinas de tercera generación. Puede ocurrir resistencia antibiótica durante o después del tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa*.¹

El espectro clínico de las infecciones es muy cambiante y está influenciado por factores dependientes del huésped, el agente y el medio ambiente, por ello es importante revisar periódicamente las características clínicas y microbiológicas de

las infecciones como parte de un sistema de vigilancia epidemiológica y control de las mismas.¹

2.2.3.3. Mecanismo de acción

La *Pseudomonas aeruginosa* presenta un alto nivel de resistencia, por un lado resistencia intrínseca o natural a los antibióticos y por otro lado una extraordinaria capacidad para adquirir mecanismos de resistencia, generalmente mediante mutaciones. La resistencia intrínseca se define como la falta de casi la totalidad de los aislados de una especie bacteriana al efecto de un antimicrobiano, sería la presencia natural en un microorganismo de un mecanismo de resistencia que afecta aun antibiótico de la misma o diferentes familia. ^{1,8}

2.2.4. *Staphylococcus aureus*

Son cocos Grampositivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Ogston, introdujo el nombre de *Staphylococcus*, del griego staphyle que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de inflamación y supuración. Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas. La mayoría de los estafilococos producen 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 negativos.⁵

Por otro lado, la pared celular de los estafilococos tienen unidos los ácidos teicoicos, los cuales no existen en los micrococcos; otra diferencia es la composición del citocromo y menaquinona de la cadena respiratoria presentes en los estafilococos.⁵

2.2.4.1. Diagnóstico

Los datos clínicos y epidemiológicos son fundamentales para orientar el diagnóstico microbiológico, así como la sospecha del agente etiológico causante de la infección, por lo que se requiere del aislamiento y la identificación de *S. aureus* a partir de muestras clínicas. Entre dichas muestras se encuentra en la sangre, tejidos, líquidos normalmente estériles, aspirados de abscesos, las cuales al ser teñidas con la tinción de Gram permiten observar la forma y agrupación, así como una respuesta inflamatoria con la presencia de leucocitos polimorfonucleares.⁵

2.2.4.2. Medios de aislamiento

Las colonias de *S. aureus* se observan lisas, elevadas, brillantes y de bordes enteros, presentan consistencia cremosa y pigmentación que va del amarillo a dorado debido a la producción de carotenoides, la mayoría de las cepas producen β -hemólisis o hemólisis total alrededor de las colonias cuando se cultivan en agar sangre. *S. aureus* se diferencia de las demás especies por producir coagulasa que se manifiesta por su capacidad para coagular el plasma, es resistente al calor, a la desecación y puede crecer en medios con grandes cantidades de NaCl (7.5%).⁵

S. aureus crece bien en medios de cultivos no selectivos, como el agar sangre, agar chocolate, cerebro corazón infusión agar (BHI, por sus siglas en inglés) y medios líquidos para hemocultivo donde se recupera fácilmente. Se debe usar un medio selectivo en muestras clínicas donde hay bacterias Gram negativas junto con *S. aureus*. El medio recomendable y usado por la mayoría de los laboratorios es el agar sal manitol o medio de Chapman por su elevado contenido de sal que inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram negativas.

Este medio permite realizar la identificación presuntiva de *S. aureus* por la pigmentación amarilla característica de *S. aureus*. Debido a que esta bacteria fermenta el manitol se genera un cambio de color en el medio que vira de rojo pálido a amarillo.⁵

2.2.4.3. Epidemiología

S. aureus es uno de los patógenos más importantes a nivel mundial, bacteria oportunista que forma parte de la microflora humana: poco después del nacimiento, los neonatos son colonizados por *S. aureus*, los sitios de colonización incluyen el muñón del cordón umbilical, el área perineal, la piel y, a veces, el tracto gastrointestinal. También puede contaminar la vestimenta y la ropa de cama. La colonización más frecuente por *S. aureus* es la mucosa nasal, el principal reservorio lo constituye el hombre enfermo o el portador. Es más frecuente la colonización en el hospital, especialmente en pacientes con hemodiálisis, diabéticos tipo 1, pacientes con lesiones cutáneas, sujetos infectados con VIH y adictos a las drogas.^{5,18} Un aspecto importante en años recientes en salud pública son las infecciones por *S. aureus* que han reemergido debido a que la bacteria se ha tornado resistente a diversos antibióticos con los que normalmente se les trata. Durante varias décadas se han reportado un gran número brotes epidémicos de *S. aureus* a nivel mundial, sobre todo en los hospitales, centros de atención, clínicas y recientemente ha surgido en la comunidad. Actualmente, estos brotes se dividen como infecciones nosocomiales e infecciones adquiridas en la comunidad.^{5,18}

2.2.4.4. Patogenia

Entre 20 y 50% de la población mundial es portadora de *S. aureus* en fosas nasales y 30% de forma permanente en piel y tracto gastrointestinal. Cuando las barreras mecánicas se rompen, esta bacteria puede alcanzar los tejidos más profundos y producir enfermedad. Los pacientes con

infecciones por *S. aureus* suelen infectarse con la misma cepa que coloniza sus fosas nasales, la colonización también permite la transmisión entre individuos del hospital como en la comunidad. Para una adecuada supervivencia e invasión del huésped todo este sistema de factores de virulencia deben de estar dentro de un sistema de comunicación célula-célula conocido como quorum sensing (QS). Este sistema QS está mediado por pequeñas proteínas producidas por las bacterias que se denominan autoinductoras, y dependiendo de factores ambientales, pueden activar un gran número de genes que contienen los factores de virulencia.^{5,18}

2.2.4.5. Enfermedades causadas por *S. aureus*

Las infecciones causadas por *S. aureus* se producen por lesiones cutáneas, traumáticas o quirúrgicas que favorecen la penetración de la bacteria desde la piel a los tejidos profundos. Las infecciones por *S. aureus* son supurativas y tienden a producir abscesos.^{5,18}

Debido a su amplia versatilidad, esta bacteria es capaz de causar enfermedades de amplio espectro como infecciones menores de la piel e infecciones invasoras serias como: bacteriemia, infecciones del sistema nervioso central, osteomielitis, infecciones del tracto respiratorio, infecciones del tracto urinario y el síndrome de choque tóxico, así como infecciones gastrointestinales. Las infecciones de la piel y tejidos blandos se caracterizan por la formación de vesículas pustulosas, las cuales comienzan en los folículos pilosos propagándose a tejidos vecinos. La foliculitis es una infección piógena superficial. Su extensión al tejido perifolicular da lugar al forúnculo. El ántrax es la infección de varios forúnculos con extensión a la capa más profunda del tejido subcutáneo, que puede producir bacteriemia en un tercio de los casos.^{5,18}

Otras infecciones cutáneas ocasionadas por *S. aureus* son el impétigo (infección superficial que afecta sobre todo a niños en áreas tropicales), mastitis, hidrosadenitis supurada, celulitis fascitis y paroniquia.^{5,18}

S. aureus es uno de los patógenos que se observa con mayor frecuencia en infecciones de heridas quirúrgicas, tanto superficiales como profundas, así como también está implicado en las infecciones de úlceras crónicas como el pie diabético.^{5,18}

S. aureus es causa común de bacteriemia, el foco inicial se desconoce. Las bacteriemias por *S. aureus* que se presentan en los hospitales se relacionan con el uso de catéteres y otros procedimientos invasivos, mientras que las bacteriemias de la comunidad, el foco que las origina suele ser extravascular (infecciones de piel, ocasionalmente el aparato respiratorio y neumonías).^{5,18}

Las infecciones metastásicas y la endocarditis son complicaciones importantes de la bacteriemia. La frecuencia de endocarditis en pacientes con bacteriemia por *S. aureus* oscila en 5 a 20%, según sean los pacientes con bacteriemia hospitalaria o adquirida en la comunidad. *S. aureus* es la causa más frecuente de endocarditis infecciosa aguda, afecta sobre todo a la válvula mitral y aórtica, ya sea nativas o protésicas, entre las complicaciones por endocarditis por este patógeno están la insuficiencia cardiaca por diseminación valvular, embolismo séptico, abscesos hematógenos cerebrales o viscerales, abscesos miocárdicos y pericarditis purulenta.⁵

S. aureus también se encuentra en pericarditis; generalmente es de origen hematógeno, aunque también puede ocurrir tras cirugía en cuyo caso es de pronóstico grave, también puede deberse a un traumatismo penetrante.⁵

En infecciones músculo-esqueléticas, *S. aureus* es una de las bacterias que con mayor frecuencia origina infecciones óseas por diseminación hematógena y por contigüidad. En niños la

osteomielitis hemat6gena suele afectar la met6fisis de los huesos largos, mientras que en los adultos, *S. aureus* afecta el tejido esponjoso vertebral dando lugar a osteomielitis vertebral. La osteomielitis cr6nica por contigüidad es m6s frecuente y se produce como complicaci6n de cirugía ortop6dica y traumatismos. Tambi6n puede ocasionar infecciones de pr6tesis articulares. *S. aureus* es el principal agente etiol6gico causante de artritis s6ptica y de bursitis. Las articulaciones afectadas con mayor frecuencia son las rodillas, tobillos, caderas, hombros y las interfal6ngicas. La piomiositis es una infecci6n poco comün de los m6sculos de fibra estriada que afecta a personas con enfermedad de base. La forma m6s frecuente es el absceso del psoas de origen hemat6geno o como consecuencia de una infecci6n vertebral.⁵

Las neumonías por *S. aureus* son poco frecuentes pero graves, se puede producir por aspiraci6n de secreciones orales o por diseminaci6n hemat6gena. La neumonía por aspiraci6n de adquisici6n comunitaria se produce por complicaci6n de cuadros virales, mientras que la nosocomial es m6s frecuente en pacientes con ventilaci6n mec6nica. La complicaci6n m6s frecuente de la neumonía es el empiema. *S. aureus* puede ser la causa de infecciones del sistema nervioso central. La meningitis pi6gena estafiloc6cica puede ser de origen hemat6geno o como una complicaci6n de un absceso. Los abscesos cerebrales pueden ser de origen hemat6geno a partir de una endocarditis o por contigüidad a partir de una sinusitis, traumatismos o cirugías. *S. aureus* tambi6n se considera como causa frecuente de empiema subdural y absceso epidural medular o intracraneal.⁵

La presencia de *S. aureus* en infecciones de vías urinarias es rara. Su presencia en la orina sugiere origen hemat6geno. Las infecciones ascendentes son debidas a la manipulaci6n instrumental. Asimismo, en infecciones por toxinas

estafilocócicas, principalmente en el síndrome de la piel escaldada. Es una dermatitis exfoliativa ampollar que no afecta mucosas y es más frecuente en neonatos y niños en zonas tropicales.⁵

Suele aparecer como una complicación de pioderma localizado, debido a que *S. aureus* produce una toxina exfoliativa o epidermolítica. La producción de estas toxinas tiene lugar especialmente durante la fase de latencia de crecimiento de la bacteria, lo que favorece su diseminación. *S. aureus* puede producir choque séptico mediante la activación del sistema inmunológico y del sistema de coagulación mediado por el peptidoglicano, los ácidos teicoicos y la toxina-alfa. El síndrome de choque tóxico (SST-1) es un cuadro grave debido a la producción de la toxina TSS-1, inicialmente se describió en niños y posteriormente en mujeres jóvenes que usaban tampones. En la actualidad, la mayor parte de los casos son secundarios a infecciones estafilocócicas diversas.⁵

También puede producir superantígenos, tales como las enterotoxinas que causan toxiinfecciones alimentarias o gastroenteritis estafilocócica y la toxina TSST-1, causante del síndrome del choque tóxico. Estos superantígenos pueden generar cuadros similares al choque séptico por la producción incontrolada de citocinas. La toxiinfección alimentaria se debe a la ingestión de alimentos contaminados con toxinas del microorganismo; es un cuadro auto limitado que cursa con vómitos, dolor abdominal, cólicos y diarrea. Podemos considerar que aún falta mucho por conocer de *S. aureus*, sobre todo a nivel de sus mecanismos de resistencia cambiantes y múltiples factores de virulencia. De este modo, podremos dar un tratamiento más adecuado a los pacientes infectados por esta bacteria.⁵

2.3. Definición de Términos Básicos

2.3.1. Enfermedad

Se denomina enfermedad al proceso y a la fase que atraviesan los seres vivos cuando padecen una afección que atenta contra su bienestar al modificar su condición ontológica de salud. Esta situación puede desencadenarse por múltiples razones, ya sean de carácter intrínseco o extrínseco al organismo con evidencias de enfermedad. Estos desencadenantes se conocen bajo el nombre de noxas (del griego nósos).^{12,13}

2.3.2. Enfermedades Bacterianas

Son aquellas producidas por una bacteria conocida y que desarrolla síntomas conocidos.^{12,13}

2.3.3. Enfermedades Emergentes

Es una clase de enfermedades infecciosas que surgen en lugares y momentos específicos y se convierten, o amenazan con convertirse, en nuevas epidemias. El concepto no se aplica sólo a enfermedades que causan molestia a las poblaciones humanas. El fenómeno está en el origen de buena parte de la legislación que restringe el tráfico de muestras o especímenes biológicos a través de las fronteras.^{12,13}

Las patologías infecciosas más graves suelen ser el reflejo de un encuentro reciente. En algún sentido todas las enfermedades infecciosas se han iniciado en las condiciones que caracterizamos como propias de las emergentes.¹²

2.3.4. Actividad Antibacteriana

La actividad biocida se define como: “La capacidad que posee un fármaco o compuesto natural de inhibir el crecimiento de microorganismos”. Generalmente los compuestos que poseen dicha actividad vienen a tener un gran interés a nivel mundial, ya

que con ellos se puede controlar y hasta eliminar las infecciones provocadas por los microorganismos.¹²

2.3.5. Resistencia Bacteriana

La resistencia bacteriana es la capacidad que tienen las bacterias de soportar los efectos de los antibióticos o biocidas destinados a eliminarlas o controlarlas.¹²

2.3.6. Multirresistencia

El término resistencia múltiple o multirresistencia se utiliza cuando una cepa bacteriana es resistente a varios antimicrobianos o tipos de antimicrobianos distintos.¹⁰

Las bacterias de “resistencia cruzada” son aquellas que han desarrollado métodos de supervivencia eficaces frente a distintos tipos de moléculas antimicrobianas con uno o varios mecanismos de acción similares. Las bacterias pueden transmitir parte de su material genético a otras bacterias. Se habla de “corresistencia” cuando la información genética que codifica varios mecanismos de resistencia no relacionados se transmite en una sola ocasión/un solo proceso y se expresa en los nuevos huéspedes bacterianos.¹⁰

2.3.7. Bacteria Oportunista

Son aquellos, en principio no patógenos, que pueden producir enfermedades cuando las defensas del hospedador se ven debilitadas por unos u otros motivos (otra enfermedad, por ejemplo).¹²

2.3.8. Productos Antibacterianos

Dícese del fármaco capaz de inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo infectado, como los antibióticos.¹²

2.3.9. Concentración Inhibitoria Mínima

Se define como la concentración mínima del agente antimicrobiano que es capaz de inhibir el crecimiento del microorganismo. ²¹

2.3.10. Concentración Bactericida Mínima

Se define como la menor concentración del antimicrobiano estudiado capaz de destruir un inóculo de 10^5 bacterias en 1 mL de medio de cultivo tras 24 horas de incubación. ²¹

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de Investigación

Aplicada puesto que se utilizarán conocimientos y técnicas para solucionar un problema, y tratar de determinar el efecto antibacteriano del “Chacco” (*Bentonita*) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

3.2. Nivel de Investigación

Explicativo: Porque se busca explicar el efecto antibacteriano del Chacco sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

3.3. Método de Investigación

- **Análisis:** El objeto de estudio es la determinación el efecto antibacteriano del Chacco sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.
- **Inductivo:** Se partirá de algo particular para luego poder generalizarlo.
- **Experimental:** Porque se podrán manipular todas las variables y su vez podrán ser controladas.
- **Laboratorio:** Porque se realizara en un laboratorio acreditado.
- **Estudio caso:** Se observara el efecto antibacteriano que producirá el Chacco sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

3.4. Diseño de la Investigación

Experimental porque se pueden manipular las variables y pueden ser controladas.

3.5. Población y Muestreo de la Investigación

3.5.1. Población

La población será de tipo no probabilística, determinada por conveniencia, y estará conformadas por cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Estas fueron sembradas en placas y tubos, para después ser escogidos por conveniencia.

3.5.2. Muestra

El material en estudio: Chacco natural, fue comprado en “La Feria el Altiplano” ubicado en el distrito de Miraflores, en la ciudad de Arequipa. Preguntando al vendedor, nos indicó que el chacco proviene de Ayaviri, en la ciudad de Puno.

Siendo la población finita y teniendo variables cualitativas, la muestra será de tipo no probabilística a criterio de expertos, determinada por conveniencia, y estará conformadas por 5 colonias de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. El cual serán escogidos por conveniencia.

3.6. Variables e Indicadores

Tabla Nº 01: Variables del Proyecto de Investigación

| Variables | Definición de variables | Dimensión/ Indicador |
|--|--|----------------------------------|
| <p>Actividad antibacteriana del “chacco”</p> <p>Variable Independiente (Y)</p> | <p>Las arcillas son compuestos cristalinos, que pueden ser sedimentos o depósitos minerales, formado por partículas muy pequeñas, cuyo tamaño es inferior a 4 micras. Están compuestas principalmente de los elementos aluminio, plata, cobre, oxígeno, silicio e hidrógeno arreglados en forma de una red cristalina arreglada en forma de capas o láminas</p> | <p>mg/mL</p> |
| <p>Inhibición de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Variable Dependiente (X)</p> | <p>Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), es decir la mínima concentración del agente antimicrobiano que impide el crecimiento sobre el medio de cultivo, la falta de crecimiento indica a que concentración se produce el efecto antibacteriano.</p> <p>Concentración Bactericida Mínima (CBM) se lleva los tubos de CIM y se siembra en placas determinando la menor concentración del agente antimicrobiano que impide el crecimiento en medio sólido.</p> | <p>Presencia</p> <p>Ausencia</p> |
| <p>Inhibición de crecimiento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p>Variable Dependiente (X)</p> | <p>La determinación del CIM, es decir la mínima concentración del agente antimicrobiano que impide el crecimiento sobre el medio de cultivo.</p> <p>Para determinar el CBM se lleva los tubos de CIM y se siembra en placas determinando la menor concentración del agente antimicrobiano que impide el crecimiento en medio sólido.</p> | <p>Presencia</p> <p>Ausencia</p> |

Fuente: Elaboración Propia

3.7. Procedimiento, Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos:

3.7.1. Procedimiento

La experimentación se realizó al Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

A. Purificación del “Chacco”

Técnica: Método de reposo en agua y posterior filtración.

Fundamento: Esta técnica de sedimentación se fundamenta en la acción de la gravedad.

Se denomina filtración al proceso unitario de separación de sólidos en suspensión en un líquido mediante un medio poroso, que retiene los sólidos y permite el pasaje del líquido. ²²

Procedimiento:

- En un recipiente de plástico se pesó 500 g. de “Chacco” natural con 500 mL. de agua destilada,
- Después de 30 minutos de reposo se procedió a batir la mezcla por un tiempo de 20 minutos.
- Se procedió a filtrar 3 veces a través de una tela (organza) para separar la arcilla de la arena fina y otras sustancias extrañas.
- Luego se deseco el preparado a 100°C durante 4 a5 horas aproximadamente.
- Se trituro en un molino de discos, y luego se termino de triturar en un mortero para después pasarlo por un tamiz prefabricado de nylon.
- Se esterilizó el polvo obtenido en una estufa a una temperatura de 120 °C por 2 horas.
- Finalmente se obtuvo un polvo de "Chacco" purificado; este se almaceno en un envase cerrado previamente esterilizado

Todo esto debe realizarse en un área estéril para evitar la contaminación del "Chacco" (*bentonita*).⁹

B. Análisis fisicoquímico

a) Determinación de propiedades organolépticas

Técnica: Observación

Fundamento: Las características organolépticas determinan los parámetros de aceptación del producto por el consumidor. De un modo general, se evalúan:

- Aspecto;
- Color;
- Olor;
- Sensación al tacto²³

Procedimiento:

- Se colocó una porción de muestra en una luna reloj, luego se observó
- Aspecto: debe ser homogénea, sin presencia de partículas extrañas, esta apariencia debe conservarse a lo largo de la vida útil del producto.
- Color: debe ser uniforme y homogéneo, ligeramente plomizo. Color propio del "Chacco".
- Olor: característico, sin presencia de olores extraños, ni que den indicio de contaminación del producto.
- Sensación al tacto: que sea de partículas pequeñas y uniforme.
- El aspecto, color, olor y sensación al tacto de la muestra deben ser aceptables.²³

b) Determinación de pH

Técnica: Medición por pH metro

Fundamento: El pH es un valor numérico que expresa la concentración de iones hidrogeno lo que nos indica si una sustancia es alcalina o ácida.²³

El pH típicamente va de 0 a 14 en disolución acuosa, siendo ácidas las disoluciones con pH menores a 7 (el valor del exponente de la concentración es mayor, porque hay más protones en la disolución), y alcalinas las que tienen pH mayores a 7. El pH = 7 indica la neutralidad de la disolución (donde el disolvente es agua).²³

Procedimiento:

- El Ph va de entre 9.5 -10.5,
- Pesar 4 g de “Chacco” y agregar 200 mL de agua.
- Mezclar rigurosamente para facilitar la humectación.
- Prender el pH-metro.
- Lavar con agua purificada el electrodo y secar con papel tissue.
- Luego proceder la calibración del pH metro, una vez calibrado proceder a medir el pH de la mezcla
- Lavar el electrodo con agua purificada y secar con papel tissue y colocar su protector el cual debe contener agua purificada.

c) Análisis Granulométrico

Técnica: Observación en microscopio

Fundamento: Funciona de la siguiente manera: Una fuente luminosa (l) envía rayos de luz a una primera lente (c), llamada condensador, que concentra los rayos de luz sobre el objeto a observar. Estos rayos atraviesan el objeto y una lente denominada objetivo (b) da una imagen aumentada de éste. Una segunda lente, el ocular (o), vuelve a aumentar la imagen dada por el objetivo. Esta última imagen es la que

será recibida por el observador. Pudiendo observar (cristales, cuarso, cristobalita, etc.)¹⁷

Procedimiento:

- Se acondicionó a la muestra preparando una suspensión en agua destilada el día anterior a la observación.
- Se depositó una gota de la suspensión entre un portaobjetos y un cubreobjetos, la muestra así preparada se observó al microscopio con luz polarizada.
- Se observó: el tamaño, la homogeneidad de las partículas y el aspecto general de las partículas según su forma.¹⁷

C. Evaluación “in vitro” del efecto antibacteriano del mineral “Chacco” frente a la cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

a) Determinación “in vitro” de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) frente a las cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Técnica: Método de dilución en caldo

Fundamento: Las técnicas de dilución en caldo, se pueden utilizar para medir cuantitativamente la actividad "in vitro" de un antimicrobiano frente a un cultivo bacteriano. Esta prueba de dilución en medio líquido se basa en un estudio cuantitativo al emplear distintas concentraciones de agente antimicrobiano.²⁴

La CIM es la menor concentración capaz de inhibir completamente el desarrollo bacteriano en el tubo, el punto

final queda definido a simple vista por la falta de turbidez del caldo.^{25,26}

Procedimiento:

- Se seleccionó 5 colonias bien aisladas de igual morfología de la placa de cultivo.
- Prepare una suspensión en 5 mL de un caldo de Cloruro sódico peptona, tocando la parte superior de cada colonia. Incube a 35 °C hasta que este alcance o exceda la turbidez del estandar (2-6 hs).
- Ajuste la turbidez del inóculo con solución salina o caldo hasta el tubo 0,5 de la escala de Mc. Farland (ver Anexo N°02), por comparación visual con el estándar. Para ello, mire los tubos contra un fondo blanco con una línea negra como contraste. Esta suspensión de 10⁸ UFC/mL aproximadamente de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, de esta solución se tomaron 100 mg y se inocularan en cada uno de los tubos.
- En un tubo de ensayo se colocó 200 mg de chacco al cual se le agregó 1800 mg de caldo cloruro peptona y se homogeniza, obteniendo una solución madre con una concentración de 100 mg/mL. Seguidamente se preparara una batería de 5 tubos con 1mL de caldo cloruro peptona cada uno, en el tubo N° 5, se utilizó como control positivo de crecimiento. Se tomara 1 mL de la solución madre preparada y se colocó en el tubo 1 y de este al siguiente y así sucesivamente hasta el tubo 4, desechando el sobrenadante de este último tubo. De esta manera se obtuvo un rango de concentraciones de 50; 25; 12,5 y 6,25 mg/mL.
- Se incubó todos los tubos de 24 a 48 horas.
- Todo esto se realiza igual manera para el *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Tabla N° 02: Valores calculados para la obtención de la solución madre del Chacco

| TUBO | A |
|--------------------------------------|-----------|
| Chacco | 200 mg |
| Caldo cloruro sódico peptona | 1800 mg |
| Volumen final | 2000 mg |
| Concentración final (solución madre) | 100 mg/mL |

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 03: Valores calculados para hallar el efecto antibacteriano de la solución del Chacco

| Tratamiento | T1 | T2 | T3 | T4 | C(+) | C(-) |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|-------------|
| Tubo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Dilución | ½ | 1/4 | 1/8 | 1/16 | C(+) | C(-) |
| Solución (mg) (solución madre 100 mg/mL) | 1000 | 500 | 250 | 125 | ----- | ----- |
| Caldo cloruro sódico peptona (mg) | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |
| Concentración (mg/mL) | 50 | 25 | 12,5 | 6,25 | | ----- |
| Inoculo con la respectiva bacteria (100 mg) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | ----- |

Fuente: Elaboración propia

b) Determinación “in vitro” del Concentración Bactericida Mínima (CBM) frente a las cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Técnica: Método de dilución en caldo

Fundamento: Consiste en exponer a las cepas a estudiar a diferentes concentraciones de antimicrobianos, en diluciones y observar el crecimiento de los microorganismos para luego definir la CBM.^{21,24}

La CBM es la menor concentración capaz de inhibir completamente el crecimiento bacteriano en placa, el punto final queda definido a simple vista por la falta de crecimiento en las placas.^{21,24}

Procedimiento:

- Para determinar el CBM se procedió a sembrar el contenido de todos los tubos que no presentaron turbidez en Agar Cetrímide para la *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y Agar Manitol Salado para el caso de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
- Seguidamente se llevó a estufa a una temperatura de 37 °C por 24 horas, pasado este tiempo se observó el crecimiento en las placas.
- Todo esto se realiza igual manera para el *Staphylococcus aureus*.

3.7.2. Técnica

- Método de reposo en agua y posterior filtración.
- Observación
- Observación en microscopio
- Medición por pH metro
- Método de dilución en caldo

3.7.3. Instrumentos

- Pruebas in vitro

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Resultados

Tabla N° 04: Análisis fisicoquímicos del Chacco

| Pruebas | Resultados |
|---|--|
| Propiedades organolépticas: Aspecto Color | Pulverulento Color gris |
| Determinación de Ph | 7.7 |
| Análisis granulométrico | Morfología heterogéneo superficie irregular |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: De acuerdo a los resultados obtenidos se ha podido observar que las propiedades organolépticas se encuentran conforme al igual que el análisis granulométrico.

En cuanto a la medición del pH esta se encuentra por debajo de lo indicado, según bibliografía por lo que hay que tener en cuenta en los resultados.

En las figuras N° 08, 09, 10 y 21, se Anexan fotografías, correspondiente a cada uno de los análisis.

Tabla N° 05: Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima del chacco frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

| Muestras | Concentraciones | Turbidez |
|-----------------|---------------------------------|-----------------|
| Dilución 1 | 50 mg/mL | Ausencia |
| Dilución 2 | 25 mg/mL | Ausencia |
| Dilución 3 | 12,5 mg/mL | Ausencia |
| Dilución 4 | 6,25 mg/mL | Presencia |
| Control (+) | Inoculo + Caldo cloruro peptona | Presencia |
| Control (-) | Caldo cloruro peptona | Ausencia |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: De acuerdo a los resultados obtenidos se ha podido observar que la muestra de Chacco presenta actividad inhibitoria en las concentraciones de 12,5 mg/mL; 25 mg/mL y 50 mg/mL sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

En las figuras N° 11, 12 y 22, se Anexan fotografías, correspondiente a cada uno de los análisis.

Tabla N° 06: Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima del chacco frente a las cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

| Muestras | Concentraciones | Turbidez |
|-----------------|---------------------------------|-----------------|
| Dilución 1 | 50 mg/mL | Presencia |
| Dilución 2 | 25 mg/mL | Presencia |
| Dilución 3 | 12,5 mg/mL | Presencia |
| Dilución 4 | 6,25 mg/mL | Presencia |
| Control (+) | Inoculo + Caldo cloruro peptona | Presencia |
| Control (-) | Caldo cloruro peptona | Ausencia |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: la muestra de chacco no presenta actividad inhibitoria sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Presentando una turbidez en todas las diluciones antes mencionadas.

En las figuras N° 19 y 23, se Anexan fotografías, correspondiente a cada uno de los análisis.

Tabla N° 07: Determinación de la Concentración Bactericida Mínima frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

| Muestras | Concentraciones | Crecimiento de la bacteria |
|-----------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| Dilución 1 | 50 mg/mL | Ausencia |
| Dilución 2 | 25 mg/mL | Ausencia |
| Dilución 3 | 12,5 mg/mL | Ausencia |
| Dilución 4 | 6,25 mg/mL | Presencia |
| Control (+) | Inoculo + Agar manitol salado | Presencia |
| Control (-) | Agar manitol salado | Ausencia |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: De acuerdo a la tabla se observar que la muestra de Chacco presenta actividad bactericida en las concentraciones de 12,5 mg/mL; 25 mg/mL y 50 mg/mL sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

En las figuras N° 13, 14, 15, 16, 17, 18 y 22, se Anexan fotografías, correspondiente a cada uno de los análisis.

Tabla N° 08: Determinación de la Concentración Bactericida Mínima frente a las cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

| Muestras | Concentraciones | Crecimiento de la bacteria |
|-----------------|--------------------------|-----------------------------------|
| Dilución 1 | 50 mg/mL | Presencia |
| Dilución 2 | 25 mg/mL | Presencia |
| Dilución 3 | 12,5 mg/mL | Presencia |
| Dilución 4 | 6,25 mg/mL | Presencia |
| Control (+) | Inoculo + Agar Cetrimide | Presencia |
| Control (-) | Agar Cetrimide | Ausencia |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: la muestra de chacco no presenta actividad bactericida sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Presentando una turbidez en todas las diluciones antes mencionadas.

En las figuras N° 20 y 23, se Anexan fotografías, correspondiente a cada uno de los análisis.

DISCUSION

El “Chacco” es un mineral arcilloso que se presenta como resultado de la descomposición de cenizas volcánicas; también es llamada bentonita, existente en la cuenca del Titicaca, y es de bajo costo de extracción. Su constituyente principal son en esencia silicatos de aluminio hidratados, así como SiO_2 , Al_2O_3 , TiO_2 , Fe_2O_3 , MgO , CaO , K_2O , Na_2O . En comparación con la investigación realizada por Juana Suseth Cámac del Arroyo (2006). “EFECTO DEL “CHACCO” EN LAS LESIONES QUE PRODUCEN EN PIEL LAS RADIACIONES SOLARES AREQUIPA 2006”, que hace referencia a la presencia de minerales y demás compuestos.^{1,8, 27}

Mucho se ha visto el empleo de plantas medicinales con fines curativos, como se ha podido observar en los diferentes estudios que se han realizado como la investigación realizada por Hersh Marco Polo Soto Huamani, “EFECTO ANTIBACTERIANO Y ANTIFÚNGICO COMPARATIVO DE LOS EXTRACTOS ACUOSO DEL *Zea mays* L. (MAÍZ MORADO), *Rubus glaucus* (MORA ANDINA); *Opuntia soherensii* (AYRAMPO) Y DISEÑO DE UN GEL DE LIMPIEZA CUTÁNEA.”; y en el artículo realizado por Pamela Wallach, Luis López, Christel Oberpaur, Flavia Vacarezza y Liliana Maier; ESTUDIO PRELIMINAR DE EFECTOS ANTIMICROBIANOS “IN VITRO” DEL MUSGO *Sphagnum magellanicum*. (2010) y la investigación realizada por, Silvia Paola Estrada Orozco, “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DE LOS EXTRACTOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*)” (2010); todos estos estudios hacen referencia a la Fitoterapia y al desarrollo de la química que es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Durante mucho tiempo los remedios naturales y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso de que disponían los médicos. De aquí el cuestionamiento acerca de nuevos compuesto antibacterianos que nos ayuden o sean un aporte científico para la salud de toda la población.

Respecto al tema de toxicidad, algunas plantas pueden resultar tóxicas, y lo que se busca son nuevos compuestos con propiedades terapéuticas que posean efectos antibacterianos pero que a su vez sean menos tóxicos y que no causen efectos secundarios o adversos.

No existen estudios previos relacionados al uso de Chacco como un antimicrobiano pero si es mencionado dentro de sus propiedades, ya que tiene enlaces iónicos no satisfechos en la superficie adherente externa y naturalmente busca satisfacer estos enlaces, encontrando uno con carga opuesta. Se conoce que las partículas de arcilla llevan carga eléctrica negativa, mientras que las impurezas y toxinas llevan carga eléctrica positiva. La arcilla interactúa con diversas sustancias, en especial con sustancias polares como el agua y las toxinas, por lo que fue posible investigar sus efectos sobre dos bacterias muy frecuentes que son *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, lo que se ha podido observar es que presenta un efecto bacteriostático e inhibitorio sobre esta última a concentraciones de 12,5 mg/mL; 25 mg/mL y 50 mg/mL; mas no presenta ningún efecto sobre la *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y todo esto por la cantidad de minerales presentes dentro de la composición del Chacco el cual muchos de ellos poseen propiedades antibacterianas.

CONCLUSIONES

- Se concluye que el “Chacco” (Bentonita), presenta un significativo efecto antibacteriano; sobre las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; mas no presenta ningún efecto sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.
- Se logró determinar mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima, que el “Chacco” (*Bentonita*) a concentraciones de 6,25 mg/mL; 12,5 mg/mL; 25 mg/mL y 50 mg/mL. no presenta ningún efecto antibacteriano sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.
- Se concluye que mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima, el “Chacco” (*Bentonita*) presenta un efecto antibacteriano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 en concentraciones 12,5 mg/mL; 25 mg/mL y 50 mg/mL.

RECOMENDACIONES

- Conociendo la actividad antibacteriana del “Chacco” (*Bentonita*) sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, se recomienda realizar un seguimiento con la investigación mediante la elaboración de un producto farmacéutico, teniendo como base este estudio, ya que presenta propiedades microbiológicas que hacen de este, un principio activo potencial.
- Realizar una investigación más profunda del “Chacco” (*Bentonita*), sobre otras bacterias y hongos, ya que puede presentar un efecto antibacteriano o antimicótico debido a la presencia de diversos minerales dentro de su composición.
- Debido a la creciente importancia económica que presentan los productos naturales en el mercado mundial, se sugiere continuar con estudios similares a este, a fin de mejorar el aprovechamiento de las diferentes arcillas presentes en nuestro país.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Montero M. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos. [Tesis para obtener el grado de Doctor]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona; 2012
2. Sociedad argentina de terapia intensiva. Manejo de las infecciones por organismos multiresistentes. Infecciones por *Pseudomonasaeruginosa*. 2009[Internet]
[Citada: 6 de noviembre del 2015]
Disponible en: <http://www.sati.org.ar/files/infectologia/2009-Infecciones-por-P-aeruginosa-en-UTI-%20Revision.pdf>
3. Cervantes García E.; García Gonzales R.; Salazar Schettino P. Características Generales de *Staphylococcus aureus*. RevLatinoam Patol ClinMedLab 2014; 61 : 28 – 40[Internet]
[Citada: 8 de noviembre del 2015]
Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
4. Gil M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. RevChilInfect 2000; 17: 145-152[Internet]
[Citada: 8 de noviembre del 2015]
Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v17n2/art10.pdf>
5. Gutiérrez E; “Química Inorgánica” Capítulo: Las arcillas; España: Reverté; 1994.
6. Remington. Farmacia 20ª Edición. Editorial medico: Panamericana. Pág. 371 – 398
7. Leyden J.; McGinley K.;Cavaliere S.;Webster G.; Mills O., Kligman A.*Propionibacterium acnes* resistance to antibiotics in acne patients . Department of Dermatology, University of Pennsylvania, School of Medicine, and Simon Greenberg Foundation.: Article first published online: Enero 2006.[Internet]
[Citada: 3 de noviembre del 2015]

Disponible en: <http://dx.doi.org>

8. Largo D.; Villamarín M. Caracterización y activación química de acilla tipo bentonita para su evaluación en la efectividad de remoción de fenoles presentes en aguas residuales. Pereira - 2013 [Internet] [Citada: 6 de noviembre del 2015]
Disponible en:
<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/3838/1/55361L322.pdf>
9. Cámac J., Efecto del “Chacco” en las lesiones que producen en piel las Radiaciones Solares Arequipa 2005” [Tesis para optar el grado de Químico farmacéutico]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2005
10. Soto H. “Efecto antibacteriano y antifúngico comparativo de los extractos acuoso del *Zea Mayz L.* (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora andina); *Opuntia soherensii* (ayrampo) y Diseño de un gel de limpieza cutánea.” [Tesis para optar el grado de Químico farmacéutico]. Lima: Universidad Mayor de San Marcos; 2014
11. Wallach P.; López L.; Oberpaur C.; Vacarezza F. y Maier L. Estudio preliminar de efectos Antimicrobianos “in vitro” del musgo *Sphagnum magellanicum*. Chile-2010 [Internet] [Citada: 5 de noviembre del 2015]
Disponible en: <http://mingaonline.uach.cl/scielo.php>
12. Silvia Paola Estrada Orozco, “Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*)”, [Tesis para optar el grado de Químico farmacéutico]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2010
13. Malbran C. “Manual de procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos”. Servicio antimicrobiano INEI – ANLIS. [Internet] [Citada: 5 de noviembre del 2015]

Disponible en:

http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/gss/publications/documents/Argentina-Levell/Manual_procedimientos.pdf

14. García E.; Suarez M. “Las Arcillas: Propiedades y Usos”. Universidad de Castilla España: La Mancha; 2000.
15. Aparacio W; “Determinación de la Capacidad Adsorción del Chacco Aplicado a la Extracción de Cationes Metálicos”. [Tesis para optar el grado de Ingeniero Químico]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2000.
16. Métodos de análisis necesarios para el control de la composición de los productos cosméticos. Edición especial sueca: Capítulo 13 Tomo 25 p. 0013
17. Romero M; “Arcillas: Bentonitas”; Departamento de Cristalografía y Mineralogía; Universidad Complutense; España; 1996.
18. Lalueza Blanco A. “Importancia actual de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus* en un hospital universitario”. Madrid – 2007 [Internet]
[Citada: 6 de noviembre del 2015]
Disponible en: <http://eprints.ucm.es/8208/1/T30459.pdf>
19. Jimenez S., Ortega C., Sehtman A., Allevato M., El azufre y sus aplicaciones en dermatología. Act. Terap. Dermatologia 2007 [Internet]
[Citada: 5 de noviembre del 2015]
Disponible en: <http://www.alfinal.com/monografias/azufre.php>
20. Valera J. Arcilla medicinal. [Internet]
[Citada: 8 de noviembre del 2015]
Disponible en: <http://www.medicinasnaturistas.com>
21. Silvia C.; Garcia J.; Degangles J.; Ponce E. Técnica especialista en laboratorio del servicio gallego de salud. España; Mad 2006
22. Bradanovic T. Arcillas y Bentonitas. Soc. com. Madrid Hermes 2002 [Internet]
[Citada: 6 de noviembre del 2015]
Disponible en: <http://www.bradanovic.cl/fortuna/bentonita.pdf>

23. USP 35 - NF30, Farmacopea de los Estados Unidos de América, Volumen 2, Pág. 1894-1895,61-62.
24. Granados R., Villaverde C.; "Microbiología". España; Paraninfo; 2012.
25. Sweetman S. Martindale, Guía completa de consulta farmacoterapéutica, Pharma Editores 2006
26. Urtiga G., "Medios de cultivo en microbiología". Madrid; Editorial Laborales S.R.L. 5ª edición 2005

ANEXOS

ANEXO Nº 01
MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO DEL PROYECTO DE TESIS: “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL “CHACCO” (*Bentonita*) EN CEPAS DE *Pseudomonas Aeruginosa* y *Staphylococcus Aureus*, LIMA - 2016”
PRESENTADO POR: MARQUEZ SANCHEZ GABRIELA ERIKA

| PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN | OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN | HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN | METODOLOGÍA DE INVESTIGACION | VARIABLES | POBLACION Y MUESTRA |
|---|---|---|---|--|--|
| <p>Problema General</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del “Chacco” (<i>Bentonita</i>) en el crecimiento de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>Problemas Específicos</p> <p>P.E.1: ¿Cuál será el efecto antibacteriano del “Chacco” (<i>Bentonita</i>) en el crecimiento de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración bactericida Mínima?</p> <p>P.E.2: ¿Cuál será el efecto antibacteriano “Chacco” (<i>Bentonita</i>) sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración bactericida Mínima?</p> | <p>OBJETIVO GENERAL</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del “Chacco” (<i>Bentonita</i>) en el crecimiento de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>, Lima- 2016</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>O.E.1: Determinar el efecto antibacteriano del “Chacco” (<i>Bentonita</i>) en el crecimiento de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración bactericida Mínima.</p> <p>O.E.2: Determinar el efecto antibacteriano mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración bactericida Mínima del “Chacco” (<i>Bentonita</i>) sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i></p> | <p>HIPÓTESIS GENERAL</p> <p>El “Chacco” (<i>Bentonita</i>) tiene significativo efecto antibacteriano; en el crecimiento de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>,</p> <p>Hipótesis Especificas</p> <p>H.E.1: El efecto antibacteriano del “Chacco” (<i>Bentonita</i>) sobre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, se podrá determinar mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima.</p> <p>H.E.2: El efecto antibacteriano del “Chacco” (<i>Bentonita</i>) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>, se podrá determinar mediante las técnicas de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima.</p> | <p>Tipo de Investigación: Aplicada</p> <p>Nivel de Investigación: Explicativo</p> <p>Método de Investigación: Análisis: El objeto de estudio es la determinación el efecto antibacteriano del Chacco sobre las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>. Inductivo: Se partirá de algo particular para luego poder generalizarlo. Experimental: Porque se podrán manipular todas las variables y su vez podrán ser controladas. Estadístico: Se realizara los análisis estadísticos para observar el grado de significancia que presenta el Chacco sobre las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>. Laboratorio: Porque se realizara en un laboratorio acreditado. Estudio caso: Se observara el efecto antibacteriano que producirá el Chacco sobre las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>. Diseño de Investigación: Es experimental, porque se pueden manipular las variables y pueden ser controladas.</p> | <p>Variable Independiente (Y)</p> <p>X: Actividad antibacteriana del “chacco”</p> <p>Indicadores Concentración mg/ml</p> <p>Variable Dependientes</p> <p>X: crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Indicadores Presencia Ausencia</p> <p>X: crecimiento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p>Indicadores Presencia Ausencia</p> | <p>Población:</p> <p>Cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Muestra:</p> <p>Se usaran 5 colonias de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y 5 colonias de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> |

Fuente: Elaboración Propia

Anexo N° 02: Preparación de la escala de Mc Farland

Para estandarizar la densidad del inóculo se usa una suspensión de sulfato de bario como estándar de turbidez (0.5 de la escala de Mc Farland). Se proceda de la siguiente manera:

- Prepare dicho estándar agregando 0,5 ml de BaCl_2 0,048M (1,175% P/V $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a 99,5 ml de H_2SO_4 0,18 M (0,36 N) (1% V/V).
- Verifique la densidad correcta del estándar usando un espectrofotómetro. La absorbancia a 625 nm debería ser 0,08 - 0,10 para el estándar 0,5 de Mc Farland.
- Distribuya 4 - 6 ml dentro de tubos similares a los que va a usar para preparar inóculos.
- Mantenga los estándares guardados a temperatura ambiente al abrigo de la luz.
- Agite vigorosamente el estándar antes de su uso para lograr una turbidez homogénea.

Anexo N°03: Purificación del “Chacco” (*Bentonita*)

Grafico N° 01: Chacco en estado natural



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 02: Triturar en un molino de discos



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 03: Chacco triturado y remojado en agua purificada



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 04: Chacco en proceso de filtrado en tela organza



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 05: Deseccando el Chacco



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 06: Chacco desecado, listo para triturar



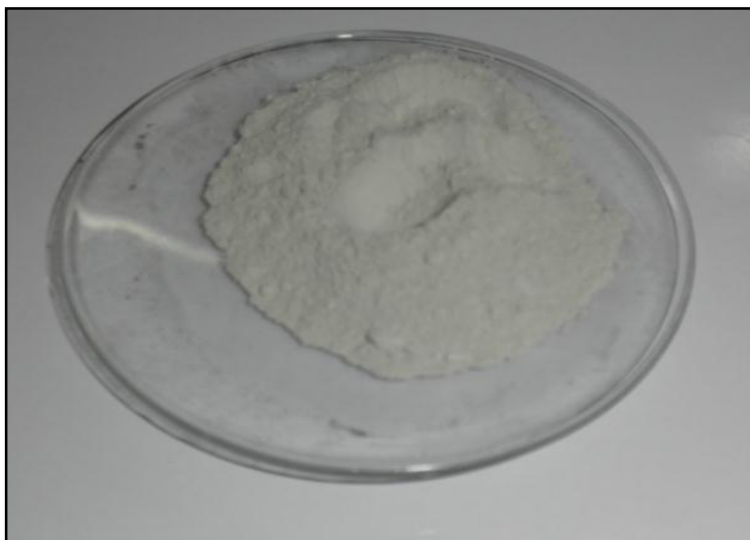
Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 07: Chacco en proceso de trituración



Fuente: Elaboración propia

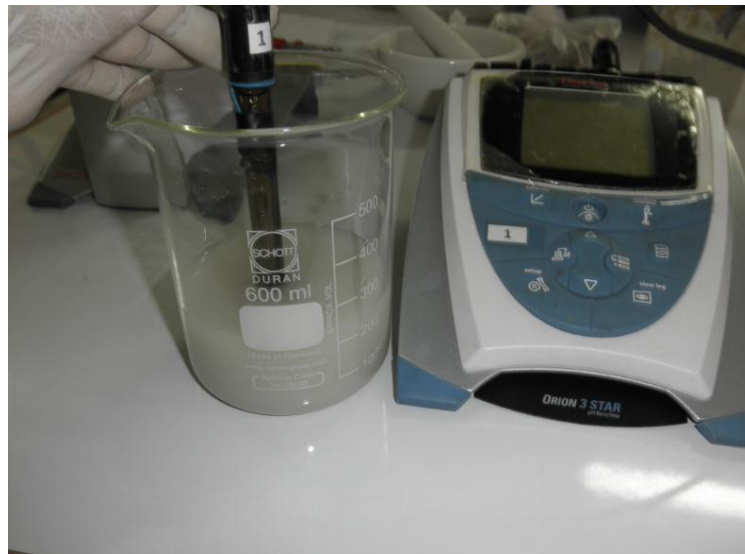
Grafico N° 08: Chacco pulverizado



Fuente: Elaboración propia

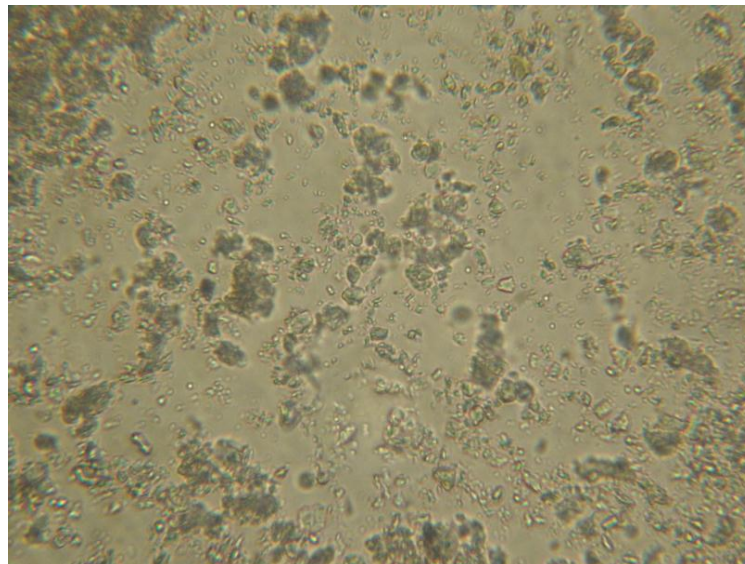
Anexo N° 04: Análisis fisicoquímico

Grafico N° 09: Medición de pH



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 10: Fotografía microscópica del Chacco 40x



Fuente: Elaboración propia

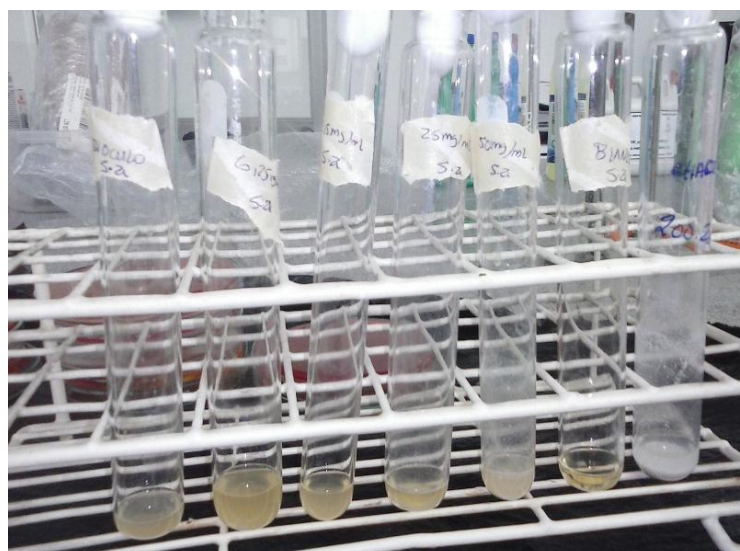
Anexo N° 05: Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima del chacco frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Grafico N° 11: Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 12: Concentración Inhibitoria Mínima del chacco frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 13: Efecto de Chacco a 50 mg/mL sobre cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 14: Efecto de Chacco a 25 mg/mL sobre cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538



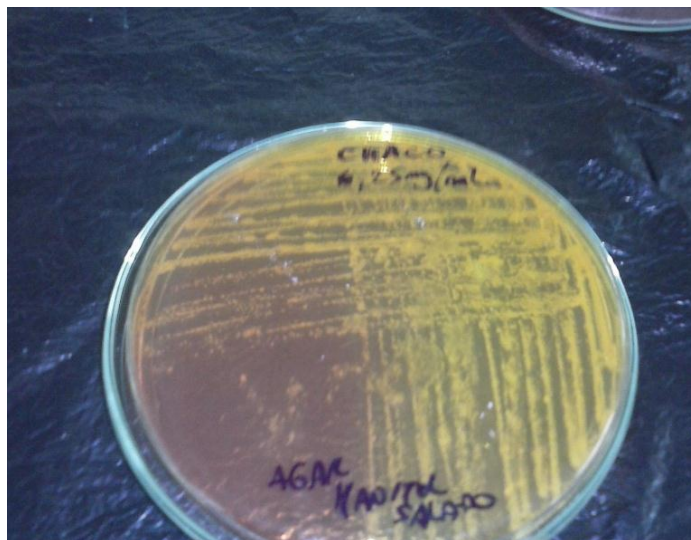
Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 15: Efecto de Chacco a 12,5 mg/mL sobre cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538



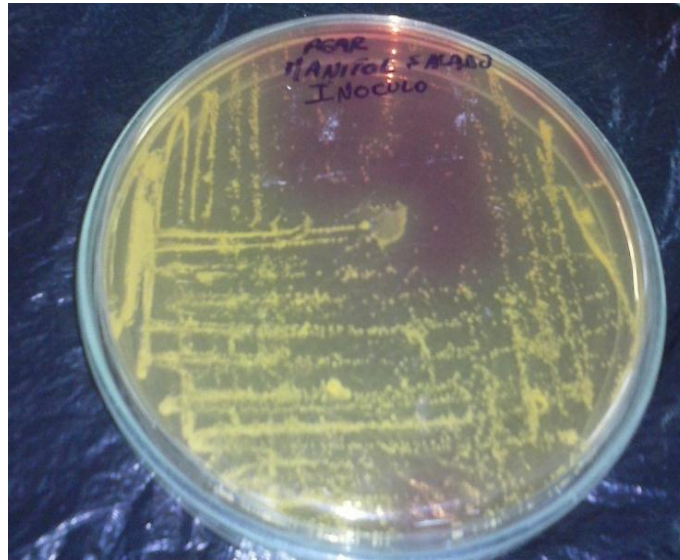
Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 16: Efecto de Chacco a 6,25 mg/mL sobre cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538



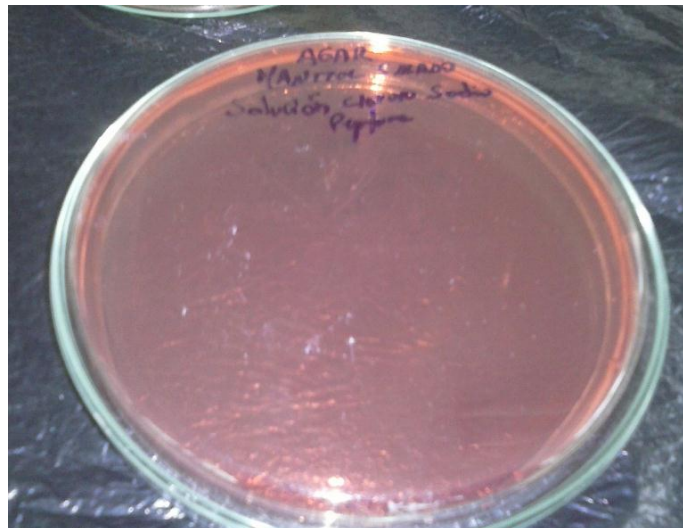
Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 17: Control positivo



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 18: Control negativo



Fuente: Elaboración propia

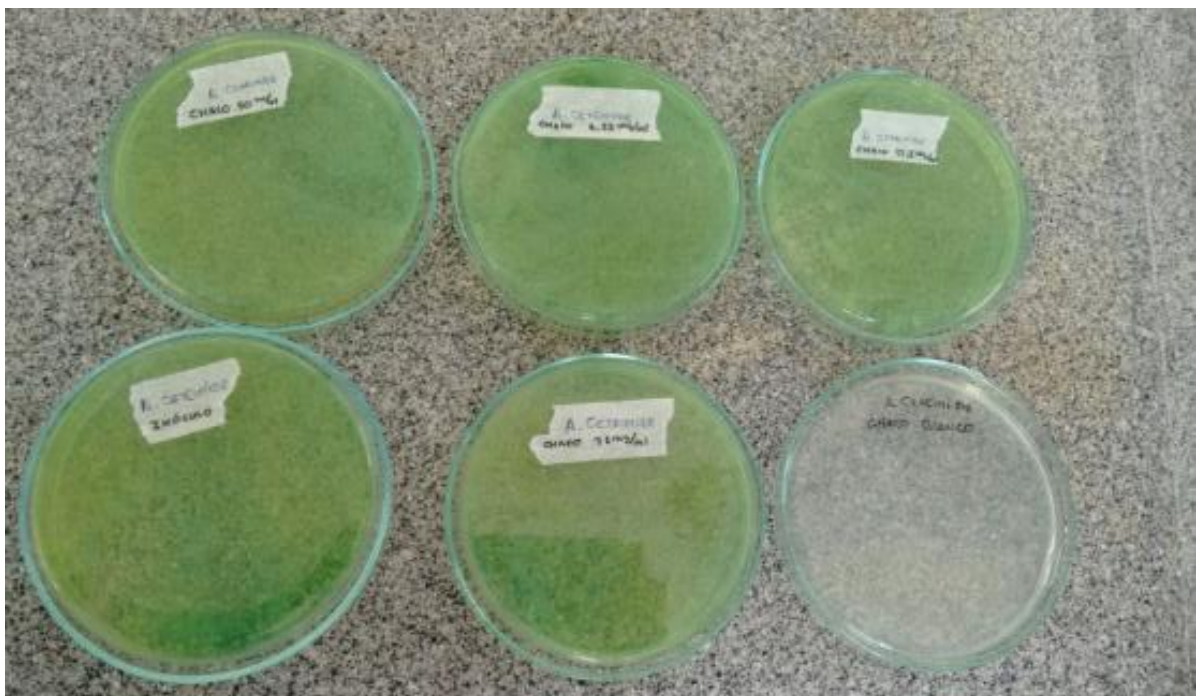
Anexo N° 06: Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima del chacco frente a cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Grafico N° 19: Cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 20: Concentración Bactericida Mínima del chacco frente a cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027



Fuente: Elaboración propia

Anexo N° 07: Resultados de análisis entregados por el centro de control analítico de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

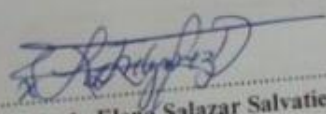
Grafico N° 21: Resultados de análisis fisicoquímicos


UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú. DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO
PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00087-CPF-2016


ORDEN DE ANÁLISIS : 04060-2016
 SOLICITADO POR : GABRIELA MARQUEZ
 MUESTRA : CHACCO
 NÚMERO DE LOTE : S/LOTE
 CANTIDAD : 01 bolsa de plástico x 20g aprox.
 FECHA DE RECEPCIÓN : 20 de Enero del 2016
 FECHA DE FABRICACIÓN : S/F.fabricación
 FECHA DE VENCIMIENTO : S/F. vencimiento

| PRUEBAS | ESPECIFICACIONES | MÉTODOS | RESULTADOS |
|----------------|------------------|-----------------|---|
| pH | 9,5 – 10,5 | POTENCIOMÉTRICO | 7,7 |
| Morfología | _____ | MICROSCOPIA | Morfología heterogéneo, superficie irregular. |
| Aspecto, color | _____ | ORGANOLÉPTICO | Pulverulento, color gris. |

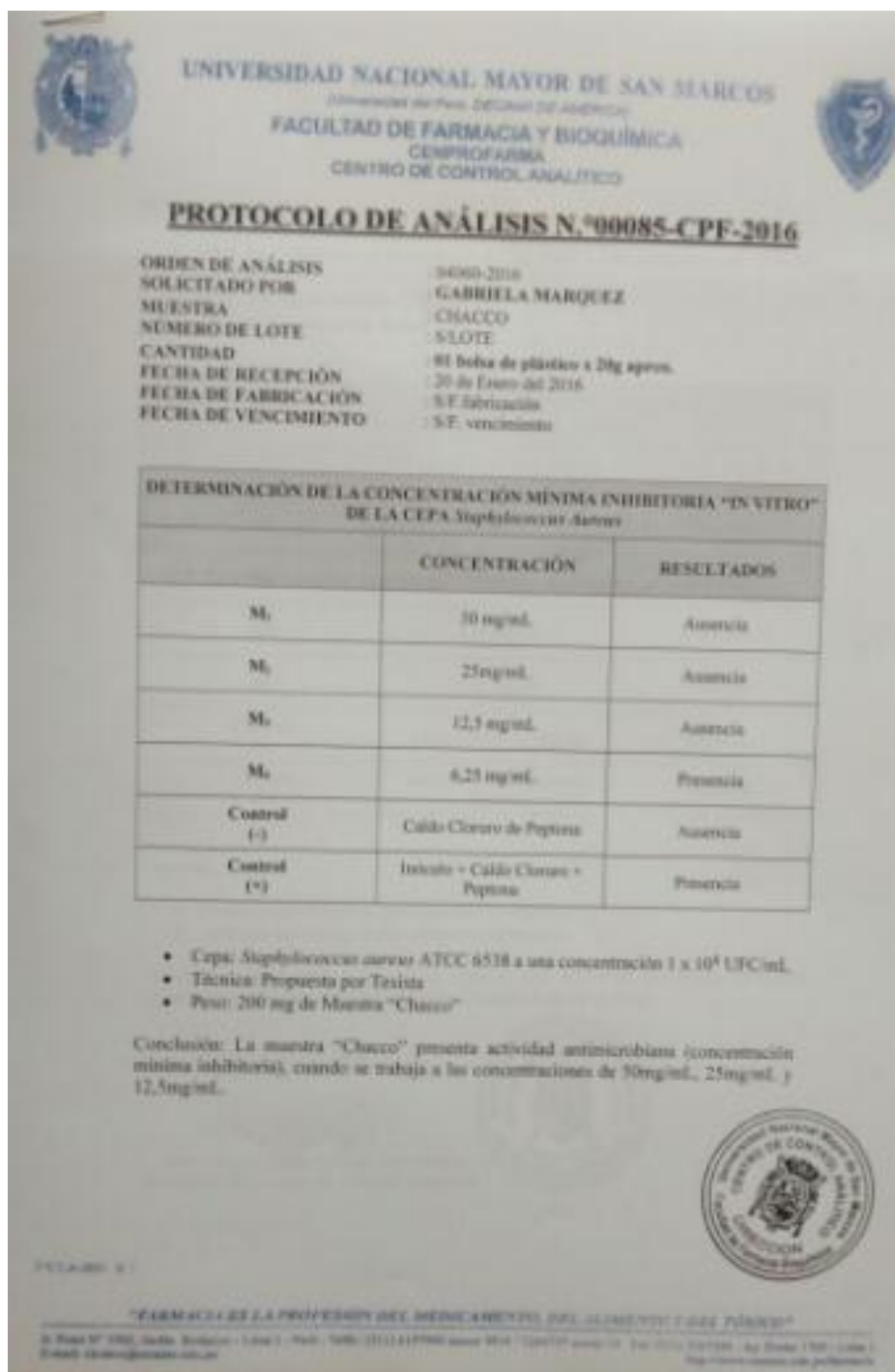
Lima, 16 de Marzo del 2016


 Dra. Maria Elena Salazar Salvatierra
 Directora del Centro de Control Analítico




Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 22: Resultados de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima del chacco frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538



Fuente: Elaboración propia

Grafico N° 23: Resultados de Concentración Inhibitoria Mínima y Concentración Bactericida Mínima del chacco frente a cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027


UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

MICROBIOLOGÍA

- Cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 a una concentración 1×10^8 UFC/ml.
- Peso: 200 mg de muestra "Chacco".
- Técnica: Propuesta por tesisista.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA "IN VITRO" DE LA CEPA *Pseudomonas Aeruginosa*


| | CONCENTRACIÓN | RESULTADOS |
|----------------|-----------------------------------|------------|
| M ₁ | 50 mg/mL | Presencia |
| M ₂ | 25mg/mL | Presencia |
| M ₃ | 12,5 mg/mL | Presencia |
| M ₄ | 6,25 mg/mL | Presencia |
| Control (-) | Caldó Cloruro de Peptona | Ausencia |
| Control (+) | Inóculo + Caldó Cloruro + Peptona | Presencia |


Leyenda:

- ◆ Presencia del Patógeno *Pseudomonas aeruginosa*
- ◇ Ausencia del Patógeno *Pseudomonas aeruginosa*

Conclusión: La muestra "Chacco" no presenta una inhibición inhibitoria (actividad antimicrobiana) frente al microorganismo *Pseudomonas aeruginosa*.

Lima, 24 de Febrero del 2014


Dra. María Elena Salazar Salvatierra
 Directora del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO DEL ALIMENTO Y DEL BIENESTAR"

Av. Piquito 1500, San José, Lima 1. Perú. Telf: (51) 1 4779900 ext: 4014 - 7040777 ext: 11. Fax: (51) 1 707700 - Av. Piquito 1500 - Lima 1. Perú. Telf: (51) 1 4779900 ext: 4014 - 7040777 ext: 11. Fax: (51) 1 707700 - http://www.unmsm.edu.pe

Fuente: Elaboración propia