



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

TEMA:

**EFFECTO ANTIBIÓTICO DEL ACEITE DE *Cannabidiol* FRENTE A *Propionibacterium
acnes* Y NIVEL DE TOXICIDAD FRENTE *Artemia salina***

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTORES: GRACE GISSELLA PILA ROSERO y DANNY ALEXANDER SEGARRA
JIMENEZ**

TUTOR: MARCO FERNANDO CERNA CEVALLOS

Quito-Ecuador

2022

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, Grace Gissella Pila Rosero con documento de identificación N° 1718802224 y Danny Alexander Segarra Jiménez con documento de identificación N° 1723794416; manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Quito, 2 de marzo del 2022

Atentamente,



Grace Gissella Pila Rosero

1718802224



Danny Alexander Segarra Jiménez

1723794416

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Grace Gissella Pila Rosero con documento de identificación No. 1718802224 y Danny Alexander Segarra Jiménez con documento de identificación No. 1723794416, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo experimental: “Efecto antibiótico del aceite de *Cannabidiol* frente a *Propionibacterium acnes* y nivel de toxicidad frente a *Artemia salina*”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero en Biotecnología, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 2 de marzo del 2022

Atentamente,



Grace Gissella Pila Rosero

1718802224

Danny Alexander Segarra Jiménez

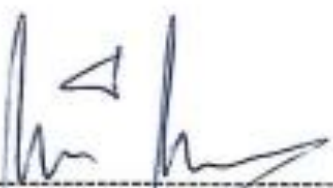
1723794416

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Marco Fernando Cerna Cevallos con documento de identificación N° 0501872071, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: "Efecto antibiótico del aceite de *Cannabidiol* frente a *Propionibacterium acnes* frente *Artemia salina*", realizado por Grace Gissella Pila Rosero con documento de identificación N° 1718802224 y por Danny Alexander Segarra Jiménez con documento de identificación N° 1723794416, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 2 marzo del 2022

Atentamente,



Marco Fernando Cerna Cevallos Ph.D.

DOCENTE CARRERA BIOTECNOLOGÍA UPS

C.I. 0501872071

Dedicatoria

A mis padres por haberme brindado el fruto de su esfuerzo y sacrificio para que yo cumpla mis sueños; a mis abuelos Antonia y Olivary por ser fuente de inspiración y motivarme siempre a cumplir mis objetivos, por sus consejos y amor incondicional y para mi familia, por estar siempre dispuesta a ayudarme y darme palabras de aliento para seguir continuando.

A Danny, sin ti esto no hubiera sido posible.

Con todo el cariño para todas las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr este sueño, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino terminaba.

Grace

Para mis padres Marcelo y Mayra, quienes me brindan su amor y su apoyo incondicional; a mi hermana Estefanía, que con su sabiduría y guía ha servido de inspiración.

Danny

Agradecimientos

A nuestro tutor Marco Cerna PhD, por su apoyo y conocimientos brindados, por guiarnos en el camino para hacer posible este trabajo de investigación.

A la ingeniera Erika Paredes, quien nos brindó su apoyo, paciencia y conocimientos en el área de microbiología para desarrollar este proyecto y formarnos como profesionales.

A Danny, quien me apoyó cada día para ser mejor; tanto en el estudio como en la vida formamos un equipo increíble, porque esta tesis no hubiera sido posible sin su motivación, apoyo y comprensión.

En especial, agradecer a mis padres, Ximena y Marcelo, gracias por enseñarme a ser mejor cada día e insistir en que debo ser lo que quiero ser sin importar los obstáculos, a Niky y a mi familia que siempre estuvo apoyándonos para culminar este paso de la vida, por los consejos, los ánimos y las largas charlas que terminan en juego y risas.

A mi familia por estar junto a mí en toda esta etapa y ser mis guías en cada momento, y que de una u otra manera fueron parte de esta aventura. Mis sinceros agradecimientos a mi compañera de tesis Grace, que con su dedicación y tiempo hoy culminamos nuestros estudios.

En el ámbito personal, nos gustaría recordar a nuestros amigos que la Biotecnología a unido, gracias por esos momentos relajantes en donde se estalló de risas, los viajes y las tardes de estar juntos celebrando pequeñas victorias de todos nosotros. Gracias, Edy, Daysi y Martín por ser mi soporte. A Daniel e Iván que gracias a ellos he aprendido el valor de la amistad.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Resumen	
Abstract	
Introducción	1
Marco de referencia.....	4
Estado del arte.....	4
I. Fundamentos teóricos	6
1.1 Actividad antimicrobiana.....	6
1.2 Resistencia antimicrobiana	6
1.3 Antibiograma	6
1.4 Método Kirby-Bauer.....	7
1.5 Bioensayos de toxicidad	7
1.6 Acné	7
1.6.1 Clasificación	8
1.6.2 Factores patogénicos.....	8
1.6.3 Tratamientos	9
a. Tratamientos tópicos	9
b. Tratamientos orales	10
1.7 Microorganismos del acné: <i>Propionibacterium acnés</i>	10
1.7.1 Taxonomía	10
1.7.2 Mecanismo de acción.....	11
1.7.3 Resistencia antibiótica	11
1.8 Microorganismo de control: <i>Staphylococcus aureus</i>	12
1.8.1 Taxonomía	12
1.8.2 Resistencia antibiótica	13
1.9 Microorganismo de control: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	13
1.9.1 Taxonomía	13
1.9.2 Resistencia antibiótica	14
1.10 <i>Cannabis sativa L.</i>	14
1.10.1 Recorrido histórico.....	14
1.10.2 Descripción botánica.....	14
1.10.3 Taxonomía	15
1.10.4 Distribución.....	15

1.10.5 Cultivo.....	15
1.10.6 Componentes bioquímicos.....	16
1.10.7 Cannabinoides.....	16
a. Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC).....	16
b. Cannabidiol (CBD).....	16
1.10.8 Alcaloides.....	17
1.10.9 Terpenos.....	17
1.10.10 Flavonoides.....	17
1.11 Pruebas de toxicidad con <i>Artemia salina</i>	18
1.11.1 Características de <i>Artemia salina</i>	18
1.11.2 Taxonomía.....	18
1.11.3 DL ₅₀ (dosis letal).....	19
II. Materiales y métodos.....	20
2.1 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	20
2.2 Técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	20
2.3 Obtención de materia prima.....	20
2.4 Activación de la cepa <i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827.....	20
2.5 Preparación de cepas control.....	21
2.6 Preparación de diluciones a base del aceite de Cannabidiol.....	22
2.7 Determinación de la actividad antibiótica del aceite de <i>Cannabidiol</i> mediante el método de difusión en agar o Kirby-Bauer.....	22
2.7.1 Preparación del inóculo bacteriano.....	23
2.7.2 Inoculación en placas Petri.....	24
2.7.3 Lectura de las placas e interpretación de resultados.....	25
2.7.4 Análisis estadístico.....	26
2.8 Ensayo de toxicidad con <i>Artemia salina</i>	26
2.8.1 Eclosión de <i>Artemia salina</i>	26
2.8.2 Obtención de <i>Artemia salina</i>	26
2.8.3 Descapsulación.....	26
2.8.4 Incubación de huevos.....	26
2.8.5 Emulsión del aceite de <i>Cannabidiol</i>	27
2.8.6 Conteo de nauplios muertos.....	28
2.8.7 Dosis letal 50 (DL50).....	28

2.8.8 Análisis estadísticos	28
III. Resultados y discusiones	29
3.1 Determinación de la actividad antibiótica del aceite de Cannabidiol frente a <i>Propionibacterium acnes</i>	29
3.1.2 Análisis estadístico de <i>Propionibacterium. acnes</i>	30
Curva de porcentaje de inhibición frente a <i>Propionibacterium acnes</i>	30
3.1.3 Análisis de varianza ANOVA.....	30
3.1.4 Test de Tukey.....	31
3.2 Determinación de actividad antibiótica del aceite de Cannabidiol frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	31
3.2.1 Análisis estadístico de cepa control 1: <i>Staphylococcus aureus</i>	32
3.2.2 Análisis de varianza ANOVA.....	32
3.2.3 Test de Tukey.....	33
3.3 Determinación de la actividad antibiótica del aceite de Cannabidiol frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i>	34
3.3.1 Análisis estadístico para la cepa control 2: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	35
3.3.2 Análisis de varianza ANOVA.....	35
3.3.3 Análisis de Tukey	36
3.4 Ensayo de toxicidad	36
3.4.1 Ensayo de control positivo y negativo	36
3.4.2 Ensayo de toxicidad primera dilución.....	37
3.4.3 Análisis estadístico.....	38
3.4.4 Dosis letal 50.....	38
3.4.5 Ensayo de toxicidad segunda dilución	39
3.4.6 Análisis estadístico – segunda dilución	40
3.4.8 Dosis letal 50.....	40
3.4.9 Ensayo de toxicidad – tercera dilución	41
Conclusiones	42
Bibliografía.....	43
Anexos.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Propionibacterium acnes</i>	10
Tabla 2. Taxonomía de <i>Staphylococcus aureus</i>	12
Tabla 3. Taxonomía de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	13
Tabla 4. Taxonomía de <i>Cannabis sativa</i>	15
Tabla 5. Taxonomía de <i>Artemia salina</i>	18
Tabla 6. Promedio de halo y porcentaje de inhibición del aceite de frente a <i>Propionibacterium acnes</i>	29
Tabla 7. Análisis ANOVA - Statistix	30
Tabla 8. Test de Tukey - Statistix.....	31
Tabla 9. Promedio de halo y porcentaje de inhibición del aceite de <i>Cannabidiol</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Tabla 10. Análisis ANOVA - Statistix	32
Tabla 11. Test de Tukey – Statistix.....	33
Tabla 12. Promedio de halo y porcentaje de inhibición del aceite de <i>Cannabidiol</i> frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i>	34
Tabla 13. Análisis ANOVA – Statistix	35
Tabla 14. Test de Tukey – Statistix.....	36
Tabla 15. Ensayo negativo de toxicidad – Control con agua salina.....	36
Tabla 16. Ensayo de toxicidad - Control con Alcohol al 96 %	37
Tabla 17. Ensayo de toxicidad con aceite de <i>Cannabidiol</i> - Primera dilución	37
Tabla 18. Regresión lineal - ensayo de toxicidad con aceite de <i>Cannabidiol</i> - Statistix	38
Tabla 19. Ensayo de toxicidad con aceite de <i>Cannabidiol</i> - Segunda dilución	39
Tabla 20. Regresión lineal - Statistix	40
Tabla 21. Ensayo de toxicidad con aceite de <i>Cannabidiol</i> - Tercera dilución.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Elementos iniciales del acné.....	9
Figura 2. Aceite de <i>Cannabidiol</i> de la empresa ecuatoriana.....	20
Figura 3. A: Tubo con perlas de <i>Propionibacterium acnes</i> ; B: caja Petri con estriado; C: incubación; D: crecimiento de <i>Propionibacterium acnes</i>	21

Figura 4. Cajas Petri con colonias de bacterias A: <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213); <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 14990).....	21
Figura 5. Diluciones del aceite de <i>Cannabidiol</i> de izquierda a derecha con valores de: 0,1 %; 0,3 %; 0,4 %; 0,6 %; 0,8 % y el disolvente DMSO	22
Figura 6. A: <i>Propionibacterium acnes</i> en TSB; B: Centrifugación; C: Suero fisiológico; D: Lectura en espectrofotómetro.....	23
Figura 7. A. <i>Staphylococcus aureus</i> en TSB; B: Centrifugación; C: Suero fisiológico; D: Lectura en espectrofotómetro.....	24
Figura 8. A: <i>Staphylococcus epidermidis</i> en TSB; B: Centrifugación; C: Suero fisiológico; D: lectura en espectrofotómetro	24
Figura 9. Modelo en papel del diseño del antibiograma para un volumen final de 20uL de aceite a diferentes concentraciones	25
Figura 10. Modelo de incubación para los huevos de <i>Artemia salina</i> . (A) botella de plástico de 3 L (B) calentador de pecera (C) manguera y burbujeador	27
Figura 11. Porcentaje de inhibición vs concentración del aceite de <i>Cannabidiol</i> frente a <i>Propionibacterium acnes</i> - Statistix.....	30
Figura 12. Porcentaje de inhibición vs concentración del aceite de <i>Cannabidiol</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> - Statistix.....	32
Figura 13. Porcentaje de inhibición vs concentración de aceite de <i>Cannabidiol</i> frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> - Statistix	35
Figura 17. Concentración vs N° de muertes, relación directamente proporcional - Statistix .	40

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. (A) reverso de la hoja de especificación (B) anverso de la hoja de especificación .	50
Anexo 2. (A) control positivo - Amoxicilina (B) aceite de CBD 0,1 % (C) 0,3 % (D) control negativo - DMSO (E) aceite de CBD al 0,4 % (F) aceite de CBD al 0,6 % (G) aceite de CBD al 0,8%	50

Resumen

El acné es una de las patologías de la piel más comunes, uno de los causantes es *Propionibacterium acnes*, un microorganismo anaerobio y gram-positivo que habita en los folículos pilosos de la piel, en la actualidad presenta resistencia a los tratamientos a base de antibióticos; este tema de investigación tiene el fin de evaluar la actividad antibiótica del aceite de *Cannabidiol* frente a *Propionibacterium acnes* y el nivel de toxicidad frente a *Artemia salina*.

Para la metodología se utilizó antibiogramas por el método Kirby-Bauer, donde se evaluó las concentraciones: 0,8 %; 0,6 %; 0,4 %; 0,3 % y 0,1 %; Amoxicilina para control positivo y Dimetilsulfóxido (DMSO) para control negativo; se calculó el porcentaje de inhibición frente a *Propionibacterium acnes* y dos bacterias control: *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. Una vez testado el porcentaje de inhibición se ensayó un estudio de toxicidad frente *Artemia salina* para determinar su DL50.

El aceite de *Cannabidiol* obtenido de una empresa ecuatoriana fue usado como agente antibiótico a evaluar, se evidenció que en una concentración de 0,8 % presenta un porcentaje de inhibición de 91,2 %, 98,7 % y 93,6 % frente a *Propionibacterium acnés*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* respectivamente, datos que no presentan una diferencia significativa frente a Amoxicilina; para el ensayo de *Artemia salina* se obtuvo un DL50 de 4,8 %; tomando en cuenta que el aceite comercial tiene una presentación de 500 mg/30mL equivalente a 1,6 %; resulta ser un producto relativamente inocuo. Concluyendo así que el aceite de *Cannabidiol* es una gente antibiótico muy prometedor por los porcentajes de inhibición presentados y baja toxicidad.

Palabras clave: CBD, antibiogramas, bioensayo, DL50.

Abstract

Acne is one of the most common skin pathologies, one of the causes is *Propionibacterium acnes*, an anaerobic and gram-positive microorganism that lives in the hair follicles of the skin, currently presents resistance to antibiotic-based treatments; this research topic has the purpose of evaluating the antibiotic activity of *Cannabidiol* oil against *Propionibacterium acnes* and the level of toxicity against *Artemia salina*.

For the methodology, antibiograms were used by the Kirby-Bauer method, where the concentrations were evaluated: 0,8 %; 0,6 %; 0,4 %; 0,3 % and 0,1 %; Amoxicillin for positive control and Dimethyl sulfoxide (DMSO) for negative control; the percentage of inhibition against *Propionibacterium acnes* and two control bacteria were calculated: *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Once the percentage of inhibition was tested, a toxicity study was carried out against *Artemia salina* to determine its LD50.

The *Cannabidiol* oil obtained from the Ecuadorian company was used as the antibiotic agent to be evaluated, and it was found that at a concentration of 0.8% it presented a percentage of inhibition of 91,2 %, 98,7 % and 93,6 % against *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, respectively, data that do not present a significant difference against amoxicillin; for the *Artemia salina* test, a LD50 of 4,8 % was obtained; taking into account that the commercial oil has a presentation of 1,6 % (500 mg/30 mL), it results in a relatively innocuous product. Thus concluding that *Cannabidiol* oil is a very promising antibiotic due to the inhibition percentages presented and low toxicity.

Key words: CBD, antibiograms, bioassay, LD50.

Introducción

Como dijo el poeta Neruda, (2014): “*según supe por lo que hablaban el problema era como sigue: nunca murió tanto microbio, toneladas de ellos caían, pero los pocos que quedaron se manifestaban perversos*”.

Discutir sobre el uso y abuso de antibióticos no solo en Ecuador sino alrededor del mundo, es un tema de moda y de mucha controversia, debido a los esfuerzos realizados por profesionales, esta es una práctica que continúa dejando a su paso varias consecuencias graves e irreversibles y una de ellas es la resistencia bacteriana o multi-resistencia adquirida por microorganismos a los antibióticos, la resistencia se debe a la capacidad de las bacterias u otros microorganismos para contrarrestar el efecto de algún antibiótico (De la Fuente et al., 2015).

En dermatología es muy común el uso de los antibióticos como tratamiento farmacológico principal para una variedad de patologías como el acné; este se define como la enfermedad inflamatoria más común de la unidad pilosebácea (Argote et al., 2014), (Dréno, 2017), que afecta aproximadamente a un 85 % de personas entre 12 y 25 años de edad (Zaenglein, 2018); aunque puede persistir en edades adultas (Valdés et al., 2020), (Orozco et al., 2011). Uno de los componentes patogénicos es la colonización bacteriana por *Propionibacterium acnés* (Gilaberte, 2009), (Kircik, 2019); esta bacteria comensal humana reside en los conductos pilosebáceos de la piel y ha sido tratada con antibióticos (Baquero, 2013); sin embargo, la prevalencia de la bacteria resistente a los antibióticos es mundial y va en aumento (Moon et al., 2012).

En los últimos años el uso desmedido de antimicrobianos para el tratamiento de acné, tanto tópicos, sistémicos y preparados de venta libre han fomentado la aparición de cepas resistentes

(Dessinioti & Katsambas, 2016); esta resistencia se debe a la producción de la biopelícula (Dréno et al., 2018; Süer & Güvenir, 2019), este es un polímero (Glucocálix) que favorece la supervivencia y la capacidad inmunogénica que ha dado como resultado la resistencia a los antibióticos, lo que puede limitar la efectividad del tratamiento (Argote et al., 2014). Se ha reportado a lo largo de los años diversas resistencias de *Propionibacterium acnés* como es el caso de Clindamycina y Erythromicina, las cuales fueron reportadas en el año 1979 (Dessinioti & Katsambas, 2016; Moon et al., 2012), posteriormente en el año 1983 se reporta la primera resistencia a tetraciclinas.

Se ha reportado en pacientes con un acné severo, el 70 % de ellos presenta una elevada formación de biofilm y de la multi-resistencia de *Propionibacterium acnés* a diversos antibióticos (Dréno et al., 2018; Farha et al., 2020; Moon et al., 2012). Por esta razón el uso de nuevas alternativas contra *Propionibacterium acnés* es interesante, se ha informado en estudios como los realizados por Blaskovich et al., (2021) y Feldman et al., (2021) que el uso de *Cannabidiol*, funciona excelente con biofilms de microorganismos gram-positivos; por lo que, estudiar el efecto de *Cannabidiol* contra *Propionibacterium acnés* es prometedor.

En Ecuador ha crecido la demanda de plantas con potencial medicinal; así es como las propiedades del *Cannabis* se ha ido popularizado; Grotenhermen & Müller-Vahl (2012), describen algunas de propiedades: antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias, efectos contra el dolor crónico y contra enfermedades psiquiátricas; Baral et al., (2020) sostiene que las propiedades antibacterianas proviene principalmente del *Tetrahydrocannabinol* THC y del *Cannabidiol* CBD; este último es uno de los principales componentes de la Marihuana y representa casi el 40 % de los extractos que se pueden obtener de ella, este compuesto no es psicoactivo y tiene un alcance más amplio en aplicaciones terapéuticas (Hinojosa y Marín, 2017).

En base a esto se propone evaluar la actividad antibiótica del aceite de *Cannabidiol* frente a *Propionibacterium acnes* y toxicidad frente *Artemia salina*, con el fin de crear la línea base para la producción de fitoproductos; mediante la evaluación del efecto antibiótico (Antibiograma) y toxicidad (DL50 en *Artemia salina*) del aceite de *Cannabidiol* disponible en el mercado ecuatoriano.

Con este propósito se plantea las siguientes hipótesis alternativas: el aceite de *Cannabidiol* tiene efecto antibiótico frente a *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; estas dos últimas como cepas de control ya que se ha demostrado anteriormente su efecto antibiótico en el estudio presentado por Blaskovich, et al., (2021) y Wassmann et al., (2020); este grupo de bacterias son gram-positivas y se encuentran normalmente en la piel humana.

Para comparar el efecto del aceite de *Cannabidiol* se utilizó como vigilancia positiva a la Amoxicilina, un antibiótico betalactámico con amplio espectro de actividad bactericida, utilizado para la inhibición de bacterias gram-positivas y gram-negativas (Flores et al., 2016),

Por otro lado, para elaborar un fito producto se debe demostrar su nivel de toxicidad que asegure la inocuidad del producto elaborado, por lo cual plantemos un bioensayo utilizando *Artemia salina*, cuyas características hacen posible determinar la dosis en la que el principio activo es tóxico.

Marco de referencia

Estado del arte

El *Cannabidiol* (CBD), un compuesto no psicoactivo de la planta de *Cannabis* que ha acaparado gran atención en los últimos años por su potencial terapéutico anecdótico para diversas patologías, entre ellas los trastornos cutáneos y cosméticos (Baswan et al., 2020) además tiene acciones antiespasmódicas, analgésicas, neuroprotectoras, antiinflamatorias, y son eficaces contra ciertas enfermedades psiquiátricas, sin embargo, en la actualidad sólo está aprobado el uso de un extracto de *Cannabis* que contiene *tetrahidrocannabinol* y *Cannabidiol* en una proporción de 1:1 (Grotenhermen & Müller-Vahl, 2012a).

Respecto al potencial del *Cannabidiol* para la salud de la piel, el tratamiento con cannabinoides tópicos puede ser eficaz para ciertos trastornos de la piel; las investigaciones sobre el potencial terapéutico de las aplicaciones tópicas son limitadas; pero existen pruebas que pueden corroborar la información de que el compuesto denominado *Cannabidiol* puede ser una alternativa para algunas afecciones de la piel.

En un estudio hecho por Kosgodage et al., (2019), estudiaron los efectos antibacterianos conocidos del *Cannabidiol*, un fitocannabinoide de *Cannabis sativa*, podrían atribuirse en parte a los efectos sobre el perfil bacteriano de las vesículas de membrana y su liberación, el *Cannabidiol* es un fuerte inhibidor de la liberación de vesículas de membrana de las bacterias gram-negativas como *Escherichia coli*; el *Cannabidiol* aumenta significativamente la acción bactericida de varios antibióticos seleccionados en las bacterias gram-negativas, como con la Kanamicina.

Castro, Niño, Pineda, & Torres, (2019), determinaron la actividad microbiana del aceite esencial de *Cannabis sativa* sobre *Fusobacterium nucleatum* sus resultados en una actividad antimicrobiana con efecto similar presentado por clorhexidina.

Feldman, Sionov, Mechoulam, & Steinberg, (2021), examinaron la actividad antibiofilm del *Cannabidiol* contra *Candida albicans* que es un patógeno fúngico para el ser humano que forma una biopelícula que es un factor importante de virulencia de las infecciones por este patógeno; sus hallazgos demostraron que el *Cannabidiol* ejerce efectos inhibitorios dependientes del tiempo sobre la formación de biofilm y reduce el grosor de la biopelícula fúngica.

Sangiovanni et al., (2019) estudiaron el efecto potencial del extracto etanólico de *Cannabis sativa L.* estandarizando el *Cannabidiol* como agente antiinflamatorio de la piel, mostrando diferentes efectos sobre la liberación de interleucina-8 y el factor de crecimiento endotelial vascular; estos hallazgos proporcionan nuevos conocimientos sobre el efecto potencial de los extractos de *Cannabis* contra las enfermedades de la piel provocadas por la inflamación.

Farha et al., (2020) mostraron que los *cannabinoides* exhiben actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA), inhiben su capacidad para formar biopelículas, erradican las preformadas y células de fase estacionaria persistentes a los antibióticos.

I. Fundamentos teóricos

Se realiza una revisión bibliográfica sobre los conceptos en los que se basa esta investigación.

1.1 Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana es la capacidad que presenta un compuesto para inhibir el aumento de una población bacteriana o para eliminarla, y que se puede expresar cuantitativamente con pruebas *in vitro* (Sánchez et al., 2016a).

1.2 Resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana es la capacidad que tienen los microorganismos para resistir y sobrevivir a los antibióticos, o en donde la bacteria puede disminuir o inactivar la acción de los agentes antimicrobianos (Alós, 2015); esta resistencia sobreviene cuando la bacteria sufre algún cambio que reduce o elimina la efectividad de antibiótico, compuestos químicos o cualquier otro agente destinado para curar o prevenir alguna infección (De la Fuente et al., 2015).

1.3 Antibiograma

Las metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de extractos de plantas son muy variadas, sin embargo, siempre aportan información muy valiosa para la búsqueda preliminar de compuestos con propiedades antimicrobianas (Sánchez et al., 2016b).

Un antibiograma es un test de susceptibilidad en donde un microorganismo es ensayado *in vitro*, con diversos antibióticos en diversas concentraciones (Ibarra y Paredes, 2013); (Tascini et al., 2016). Este método fue estandarizado en 1966 por Bauer, la técnica consiste en la aplicación de una cantidad determinada de antimicrobiano en un disco de papel (Ibarra y Paredes, 2013); (Süer & Güvenir, 2019).

1.4 Método Kirby-Bauer

Según Taroco et al., (2015), el antibiograma por disco difusión es uno de los métodos que el NCCLS recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos.

El antibiograma disco-placa consiste en depositar en la superficie de agar de una caja Petri previamente inoculada con el microorganismo, los discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos tienen un filtro que absorbe agua y el antibiótico se difunde en el agar radialmente a través del espesor del agar; transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición donde la concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica (Picazo, 2000).

1.5 Bioensayos de toxicidad

El uso de bioensayos para controlar la bioactividad de extractos, fracciones y compuestos aislados de plantas se ha incorporado con frecuencia a la investigación fitoquímica; entre estos ensayos biológicos se encuentra la prueba de toxicidad con *Artemia salina* (Cansian et al., 2017). El ensayo de letalidad de *Artemia salina* se basa en la posibilidad de causar la muerte de larvas de este crustáceo cultivadas en el laboratorio (Fernández et al., 2009).

Este método, en el cual se determina el valor de la concentración letal media (CL50) de compuestos y extractos en medio salino, ha sido utilizado para predecir citotoxicidad de compuestos puros (Fernández et al., 2009).

1.6 Acné

El acné vulgar es una de las enfermedades inflamatorias más comunes del anexo pilosebáceo (Ogé et al., 2019), alrededor del 85% de los jóvenes entre los 12 y 25 años

la padecen y pueden continuar en la edad adulta o presentarse a cualquier edad (Argote et al., 2014). Se produce de forma más destacada en las zonas de la piel con una alta densidad de glándulas sebáceas, como la cara, la espalda y el pecho (Picardo et al., 2017).

1.6.1 Clasificación

Tradicionalmente se ha dividido al acné por la predominancia de sus lesiones elementales en: Grado I: Acné comedónico donde hay más comedones y muy pocas pápulas y pústulas.

Grado II: Acné pápulo-pustuloso con muchas de estas lesiones inflamatorias y comedones abiertos y cerrados.

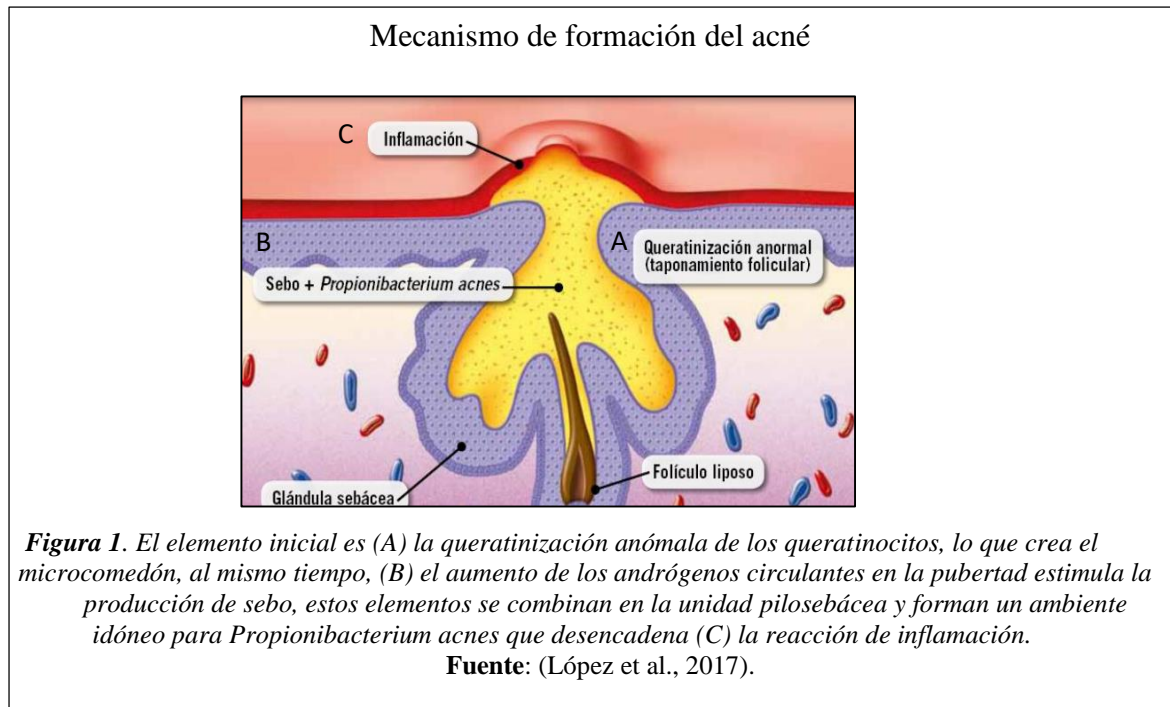
Grados III y IV: se pueden determinar abscesos y quistes que dejan cicatrices muy notorias, comedones abiertos y cerrados que tienen poros dobles o triples y con una topografía más diseminada o extensa (López et al., 2017).

1.6.2 Factores patogénicos

Tan et al., (2018), menciona que los factores patogénicos que estimulan la aparición del acné son los siguientes:

- Aumento de la secreción sebácea: causada por los cambios hormonales específicamente en los andrógenos, que provocan la obstrucción de los folículos sebáceos, lo que resulta en la aparición del microcomedón.
- Hiperqueratosis o hiperqueratinización del infra infundíbulo: ocurre a nivel de la capa granulosa y la capa cornea, resultando en la obstrucción de los poros donde se acumula suciedad, desechos, bacterias y células inflamatorias, provocando la aparición de comedones.

- Colonización por *Propionibacterium acnés*: es un miembro de la flora normal de la piel y a su vez promueve la inflamación de lesiones del acné mediante la producción de mediadores inflamatorios, ácidos grasos libres y porfirinas.
- Inflamación secundaria.



1.6.3 Tratamientos

Para el tratamiento de acné se incluye principalmente varios tratamientos tópicos con retinoides o antibióticos y sistémicos con antibióticos orales, sin embargo, estos tratamientos presentan algunos efectos secundarios, como irritación cutánea, irritación gastrointestinal y nefrotoxicidad, fotosensibilidad, y a su vez provocar una resistencia microbiana (Picardo et al., 2017).

a. Tratamientos tópicos

Retinoides: Corrigen la hiperqueratinización folicular anormal e inhiben la formación de nuevos brotes (Mahto, 2017).

Peróxido de benzoilo: es un agente bactericida con capacidad para reducir las poblaciones de *Propionibacterium acnes* en los folículos sebáceos (Mahto, 2017).

Ácido azelaico: puede utilizarse como opción de segunda línea para el acné si otros tratamientos no son adecuados o no se toleran. Hay menos datos científicos sobre este agente, y los resultados son contradictorios (Mahto, 2017).

b. Tratamientos orales

Antibióticos: Tienen actividad contra *Propionibacterium acnes*, sin embargo, existe el riesgo de desarrollar resistencia bacteriana (Fernández y Pérez, 2020).

Isotretinoína: retinoide sistémico (Picardo et al., 2017)

1.7 Microorganismos del acné: *Propionibacterium acnés*

1.7.1 Taxonomía

Tabla 1.

Taxonomía de Propionibacterium acnes

Reino	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Actinobacteria</i>
Orden	<i>Actinomycetales</i>
Familia	<i>Propionibacteriaceae</i>
Género	<i>Cutibacterium</i>
Especie	<i>acnes</i>

Fuente: (Ibarra et al., 2019)

Entre los diversos microorganismos comensales presentes en la flora sana de la dermis, *Propionibacterium acnes* es una bacteria anaerobia gram-positiva, especialmente en el folículo pilosebáceo (Süer & Güvenir, 2019), correspondiente al filo *Actinobacteria*, que se encuentra predominantemente en la profundidad del folículo sebáceo en contacto con los queratinocitos (Dréno, 2017). *Propionibacterium acnés* es considerado un patógeno oportunista, que afecta a una gran variedad de infecciones y afecciones inflamatorias (Díaz et al., 2019). Se ha observado que los pacientes que padecen acné tienen un mayor número de esta bacteria, y la reducción en su población se relaciona con mejoría clínica (Argote et al., 2014).

1.7.2 Mecanismo de acción

Esta bacteria prolifera en el interior del comedón, hidroliza el sebo mediante lipasas lipólisis, convirtiendo los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos y además libera un primer factor quimiotáctico para los PMN, que, al difundirse a través de la pared del comedón, atrae a los PMN. Estos PMN entran en la luz folicular, fagocitan, además produce proteasas hidrolíticas, especialmente metaloproteinasas, que causan la rotura de la pared del folículo pilosebáceo (Picardo et al., 2017).

1.7.3 Resistencia antibiótica

Los agentes antimicrobianos y antibióticos han sido un pilar en el tratamiento del acné, sin embargo, se observa más resistencia a los antibióticos por parte de *Ppropionibacterium acnés* debido a una producción de una biopelícula (Kuehnast et al., 2018)

Los factores implicados en el aumento de la resistencia en las biopelículas que son un glicocálix que se combina con el sebo aumentando la adhesividad de los queratinocitos y favoreciendo así la formación del comedón (Gilaberte, 2009) incluyen la penetración restringida de los antimicrobianos, la disminución de la tasa de crecimiento, la expresión de genes de resistencia y la presencia de células "persister" resistentes (Dessinioti & Katsambas, 2016).

La presencia de dicha biopelícula bacteriana juega un gran papel de resistencia a los antimicrobianos (Omer et al., 2017). Una biopelícula se define por tres componentes esenciales: las células microbianas, una superficie donde estas células se adhieren y una matriz polimérica extracelular en la que las células están incrustadas y forman comunidades más grandes (Dessinioti & Katsambas, 2016). Este glucocálix protector

complejo es producido por bacterias y las protege de las defensas del huésped como son los neutrófilos y macrófagos (Argote et al., 2014).

Condiciones de crecimiento: Tryptic soy agar, Sheep Blood Agar, Standard Methods Agar o Nutrient agar a 35-37 °C en una atmósfera aeróbica (Microbiologics, 2011).

1.8 Microorganismo de control: *Staphylococcus aureus*

1.8.1 Taxonomía

Tabla 2.
Taxonomía de Staphylococcus aureus

Reino	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Firmicutes</i>
Clase	<i>Bacilli</i>
Orden	<i>Bacillales</i>
Familia	<i>Staphylococcaceae</i>
Género	<i>Staphylococcus</i>
Especie	<i>Aureus</i>

Fuente: (Moreno, 2017)

El género *Staphylococcus* está formado por cocos gram-positivos, con un diámetro de 0,5 a 1,5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas (Pasachova et al., 2019). En los últimos años se ha observado un considerable aumento de la resistencia a múltiples antibióticos, siendo el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina favorecido principalmente por el uso indiscriminado de antibióticos (Catro et al., 2018). Se describe que este microorganismo hace parte de la flora normal y transitoria de los seres humanos (Casado et al., 2012), encontrándose principalmente en la piel, en la zona nasofaríngea, pliegues inguinales y axilas (Pasachova et al., 2019).

La acción patógena deriva de su propia característica estructural (cápsula o capa mucosa, proteína A) que le permite la producción de una isoenzima y toxina específica (catalasa, emolisina, coagulasa, estafilocinasa, ialuronidasa, lipasa, etc.) y le da la

capacidad de multiplicarse en todos los sitios del cuerpo causando daño celular localizado en el sitio de la infección (López et al., 2021).

1.8.2 Resistencia antibiótica

Se han descrito, al menos, tres mecanismos de resistencia de *Staphylococcus aureus* a los β -lactámicos, en muchas ocasiones relacionados entre sí: producción de β -lactamasas, fenómenos de tolerancia y resistencia por proteínas fijadoras de penicilina (PBP) modificadas o supernumerarias, conocida como resistencia intrínseca a meticilina (Camarena y Sánchez, 2010).

Condiciones de crecimiento: Tryptic soy agar, Sheep Blood Agar, Standard Methods agar o Nutrient Agar en 37 °C en una atmosfera aeróbica (Microbiologics, 2011).

1.9 Microorganismo de control: *Staphylococcus epidermidis*

1.9.1 Taxonomía

Tabla 3.
Taxonomía de Staphylococcus epidermidis

Reino	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Firmicutes</i>
Clase	<i>Cocci</i>
Orden	<i>Bacillales</i>
Familia	<i>Staphylococcaceae</i>
Género	<i>Staphylococcus</i>
Especie	<i>Epidermidis</i>

Fuente: (Gopequi, 2015)

Staphylococcus epidermidis es el microorganismo más frecuentemente aislado (Patiño y Morales, 2013) que coloniza la piel (Cervantes et al., 2014). *Staphylococcus epidermidis*, es un coco gram-positivo, coagulasa negativo (Catro et al., 2018) Se reconoce como característica la formación de un 'biofilm' fabricado en base al ácido teicoico, el cual normalmente forma parte de la pared del estafilococo (Ortega, 2018).

1.9.2 Resistencia antibiótica

Staphylococcus epidermidis cuenta con un amplio repertorio de mecanismos que han evolucionado para evadir la respuesta inmune. Estos elementos incluyen la modificación de su superficie bacteriana para evitar su reconocimiento, hasta la liberación de toxinas que inducen la muerte de células del sistema inmune (Ortega, 2018).

Condiciones de crecimiento: Tryptic soy agar, Sheep Blood Agar, Standard Methods Agar o Nutrient agar a 35-37 °C en una atmósfera aeróbica (Microbiologics, 2011).

1.10 *Cannabis sativa* L.

1.10.1 Recorrido histórico

Cannabis sativa es originaria de Asia (Manzanilla y Limones, 2019b) y su uso para producir fibras y confeccionar diversos productos textiles, data del 4000 a.C., mientras que su registro de uso en la medicina tradicional data de 2700 a.C. y según reportes, es utilizado para producir más de 25.000 productos y subproductos, entre los que se encuentran por ejemplo: papel, textiles, cosméticos, pinturas, ropa, alimentos, materiales aislantes, etc (Vázquez, 2021). De acuerdo al conocimiento popular, se le han atribuido propiedades analgésicas, relajantes musculares, antidepresivas, hipnóticas, inmunosupresoras, antiinflamatorias, ansiolíticas, broncodilatadoras, entre otras (Rodríguez y Fontaine, 2020).

1.10.2 Descripción botánica

Cannabis sativa L. es una planta anual que pertenece a la familia *Cannabaceae*, fue clasificada botánicamente por primera vez en 1753 por Carl Linnaeus (Baral et al., 2020). Actualmente, (Missouri Botanical Garden, 2013) reconoce trece especies. Es una planta herbácea anual de hasta 4 m de alto, dioica, de tallo erecto y hojas palmadas

estipuladas, las inferiores opuestas y las superiores alternas. Las hojas se encuentran sobre pecíolos de hasta 7 cm de largo. Cada hoja se compone de entre 3 a 9 folíolos angostos, de ápice agudo, con márgenes serrados y tricomas glandulares recostados sobre el haz y el envés de un color más claro (Covarrubias, 2019).

1.10.3 Taxonomía

Tabla 4.
Taxonomía de *Cannabis sativa*

Clasificación científica	
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Urticales</i>
Familia:	<i>Cannabaceae</i>
Género:	<i>Cannabis</i>
Especie:	<i>C. sativa</i> <i>Carlos Linneo</i>

Fuente: (Pediapress, 2013)

1.10.4 Distribución

Actualmente se encuentra ampliamente distribuida en regiones templadas y subtropicales del mundo (Conabio, 2012). En China se proponen como los posibles sitios de domesticación temprana; esta fue dirigida hacia la producción de fibra y de semillas alimenticias (Vázquez, 2021).

1.10.5 Cultivo

El ciclo natural de *Cannabis sativa* comienza en la primavera con la germinación de las semillas. La etapa de crecimiento vegetativo se lleva a cabo en mediados del verano, hasta que las plantas comienzan a florecer. El desarrollo floral se mantiene durante dos o tres meses y, para la mayoría de las variedades, la cosecha óptima se da a principios del otoño (Gallego, 2011).

Al término de la floración, se procede a la cosecha de las plantas, para ello se cortan las ramas principales y se apartan los cogollos, tratándolos con mucho cuidado para evitar

la pérdida de resina; también se apartan las hojas grandes. Finalmente, se lleva a cabo el proceso de secado,

que debe realizarse a la sombra, en un lugar con buena ventilación y humedad regulada.

Las fallas en este proceso pueden provocar que las hojas y cogollos se contaminen con hongos y que la concentración de tetrahidrocannabinol disminuya (Ángeles et al., 2014).

1.10.6 Componentes bioquímicos

Existen muchos componentes bioquímicos en el *Cannabis* con valor medicinal, dentro de estos los de mayor interés son los fitocannabinoides, un grupo de 100 compuestos terpenofenólicos, que se encuentran en la planta *Cannabis sativa* (Santiseban y Betancurt, 2020). Las plantas silvestres de *Cannabis* no contienen cannabinoides, los compuestos bioactivos, los principales cannabinoides son el *Cannabidiol* (CDB) y el $\Delta 9$ -*tetrahydrocannabinol* (THC), que se utilizan con propósitos medicinales y enervantes, respectivamente (Manzanilla y Limones, 2019a).

1.10.7 Cannabinoides

a. $\Delta 9$ -tetrahidrocannabinol (THC)

El $\Delta 9$ -tetrahidrocannabinol es el fitocannabinoides farmacológicamente más activo del *Cannabis* y con efecto psicotrópico generador de adicción, tanto en su forma herbal (Marihuana o *Cannabis* en bruto) como en la modalidad de resina (hashish) (Plancarte et al., 2019).

b. Cannabidiol (CBD)

Es conocido como un ingrediente antipsicoactivo ya que modera el efecto que tiene el *tetrahydrocannabinol* (Fassio et al., 2013). El *Cannabidiol* es un componente de la marihuana que no activa los receptores cannabinoides (Millán y Isais, 2019), es un fitocannabinoides no psicoactivo producido por la planta *Cannabis sativa* que ha demostrado ser bien tolerado en humanos; el *Cannabidiol*, a diferencia del

tetrahydrocannabinol, es menos potente y puede requerir dosis mucho más altas para obtener sus beneficios complementarios sobre el dolor, la inflamación y la disminución de la ansiedad y la taquicardia asociadas al *tetrahydrocannabinol* (Maccallum & Russo, 2018).

Entre otros 66 compuestos conocidos son *Cannabinol* (CBN), *Cannabichromene* (CBC), *Cannabigerol* (CBG) y al menos 60 otros cannabinoides (Plancarte et al., 2019).

1.10.8 Alcaloides

Otros componentes químicos también presentes en la planta son los alcaloides, aunque se encuentran en menor proporción. Estos son compuestos nitrogenados que usualmente presentan una actividad biológica a dosis bajas y que pueden derivar de aminoácidos. Se han aislado e identificado por lo menos 10 de estos compuestos en las raíces, tallos, hojas, polen y/o semillas (Flores & Verpoorte, 2008). Debido a la baja concentración de los alcaloides presentes en esta especie, su evaluación farmacológica ha sido difícil (Ángeles et al., 2014).

1.10.9 Terpenos

Se han identificado alrededor de 120 terpenos en esta especie vegetal; estos metabolitos son responsables del sabor de las diferentes variedades y determinan la preferencia de los usuarios de las mismas. El óxido de cariofileno, es el principal compuesto aromático y volátil que identifican los perros utilizados para la detección de narcóticos. Estos compuestos se extraen fácilmente a través de una destilación por arrastre de vapor, para obtener el aceite esencial (ElSohly & Slade, 2005).

1.10.10 Flavonoides

Son compuestos aromáticos y se pueden encontrar en forma libre o conjugada con un glucósido, se producen más de 20 de estos metabolitos (Flores & Verpoorte, 2008) que se encuentran principalmente en las hojas. La canflavina A y canflavina B, son dos

flavonoides que han mostrado actividad farmacológica, inhibiendo la producción de prostaglandina E, mientras que otros estudios sugieren que modulan la acción de los cannabinoides (Grotenhermen & Müller-Vahl, 2012b).

Finalmente, también contiene estilbenoides, lignanamidas y amidas fenólicas. Los estilbenoides, son compuestos fenólicos cuya función principal en las plantas es participar activamente en los mecanismos de defensa (Flores & Verpoorte, 2008).

1.11 Pruebas de toxicidad con *Artemia salina*

El crustáceo filtrador *Artemia* es uno de los organismos modelo más utilizados para estudiar el impacto de tóxicos (Bhuvaneshwari et al., 2017). El uso de bioensayos para controlar la bioactividad de extractos, fracciones y compuestos aislados de plantas se ha incorporado con frecuencia a la investigación fitoquímica; entre estos ensayos biológicos se encuentra la prueba de toxicidad con *Artemia salina* que fue desarrollado para detectar compuestos bioactivos en extractos de plantas (Asadi et al., 2019). Esta prueba es un método sencillo en la investigación de productos naturales o químicos, que tiene una buena correlación con las pruebas de toxicidad *in vivo* (Jin et al., 2019).

1.11.1 Características de *Artemia salina*

Artemia spp. son camarones minúsculos de cuerpo blando, de color carmelita y transparentes a la luz (Pino y Lazo, 2010).

1.11.2 Taxonomía

Tabla 5.
Taxonomía de *Artemia salina*

Familia	<i>Arthropoda</i>
Clase	<i>Crustaceae</i>
Subclase	<i>Branchiopoda</i>
Especie	<i>Artemia salina</i>

Fuente: (Pino y Lazo, 2010)

Artemia es hasta la fecha el único género animal en todo el mundo cuyo estado criptobiótico (quistes) está disponible comercialmente de manera continua, como fuente de alimentos para peces y crustáceos en acuicultura. Este es un ensayo general de amplio uso que determina el efecto letal de los materiales en larvas de *Artemia spp* (Pino y Lazo, 2010); (Nunes et al., 2006). La disponibilidad permanente de huevos (quistes) a partir de los cuales pueden ser obtenidas las larvas ofrece las siguientes ventajas: no hay necesidad de mantener una colonia viva permanentemente, las pruebas pueden realizarse dónde y cuándo sea necesario, se dispone siempre de un número suficiente de individuos de la misma edad y condición fisiológica, es más rápido (24 horas), barato y sencillo (no se requieren técnicas asépticas), se pueden utilizar fácilmente un gran número de organismos para la validación estadística, no necesita equipamiento especial y se emplean pequeñas cantidades de muestras (2-20mg o menos) (Pino y Lazo, 2010).

1.11.3 DL₅₀ (dosis letal)

DL₅₀ es la dosis letal que produce una mortalidad del 50 % en una población animal; a mayor DL₅₀, menor toxicidad aguda (Silbergeld, 2010). Es un valor virtual obtenido estadísticamente, que representa la mejor estimación de la dosis requerida para producir la muerte en la mitad de animales y por lo tanto, siempre va acompañado de algunos tipos de estimación del error del valor hallado y su intervalo de confianza (Roldán, 2016).

II. Materiales y métodos

2.1 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizó fichas y computadora, además de un cuaderno de laboratorio donde se registró cada visita y avance de la parte experimental cuyas evidencias se presentan en forma de tablas, gráficos y fotografías.

2.2 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Se utilizaron tablas y gráficos procesados con el software estadístico especializado, Statistix.

2.3 Obtención de materia prima

El aceite de *Cannabidiol* se obtuvo de una empresa ecuatoriana, en una presentación de 500mg/30mL.

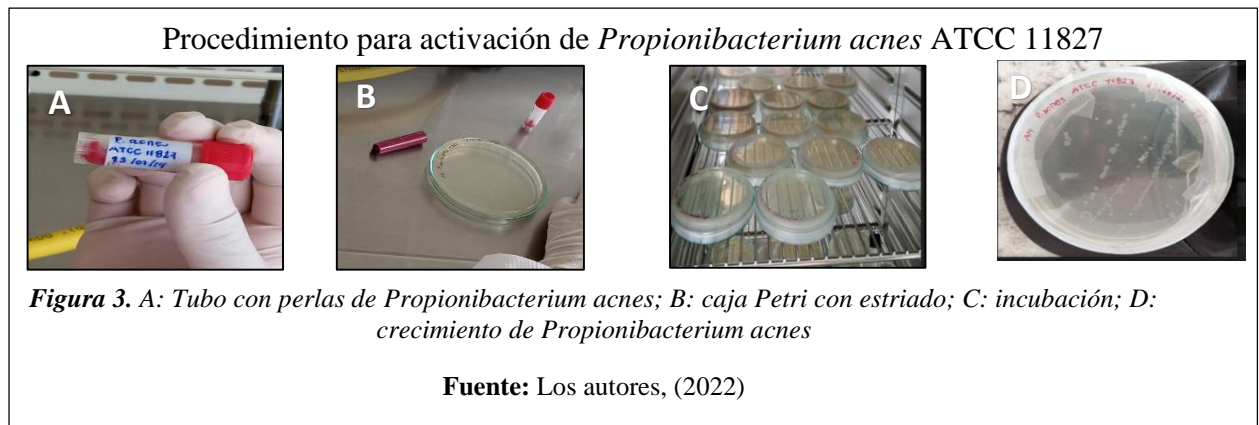


2.4 Activación de la cepa *Propionibacterium acnes* ATCC 11827

La cepa bacteriana de *Propionibacterium acnes* ATCC 11827, se obtuvo del Criobank de los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana.

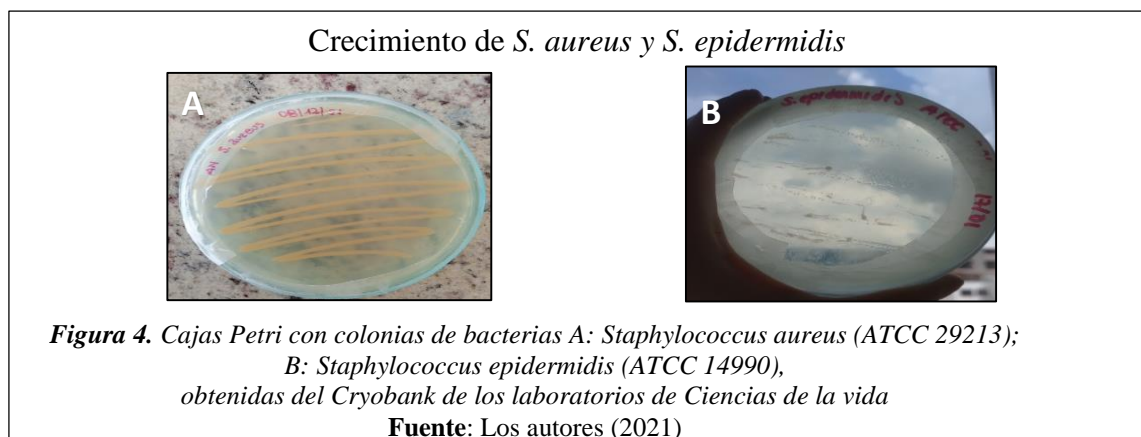
Se tomó como referencia el manual descrito por Ramirez et al., (2018) y se descongeló el tubo que contenía las perlas de *Propionibacterium acnes*, con un punzón se seleccionó una perla para realizar el estriado por toda la caja Petri por triplicado, se etiqueta con el

nombre de la bacteria y fecha, se lleva a la cámara de CO₂ al 5 % con una temperatura de 35 °C y dentro de 3 días se empezó a ver crecimiento.



2.5 Preparación de cepas control

En la microbiota normal de la piel se encuentran varias bacterias dentro de las cuales se puede encontrar *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* estas cepas se utilizaron como control; puesto que, en estudios anteriores se obtuvo resultados positivos a la exposición de *Cannabidiol* ya que este posee una gran actividad contra la formación de los biofilms de la familia *Staphylococcus* (Blaskovich, et al., 2021); (Wassmann et al., 2020).

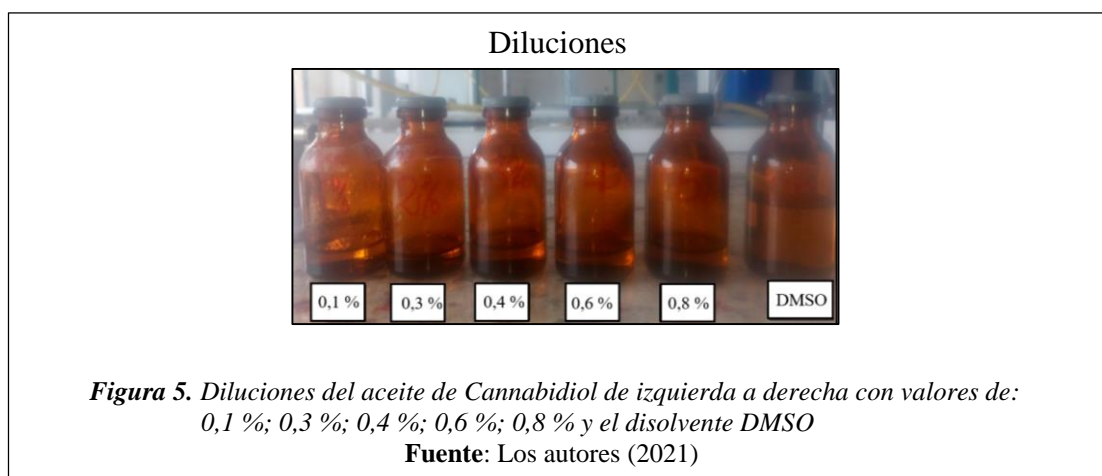


Se procedió a descongelar el tubo que contenía las perlas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, con un punzón se selecciona una perla para realizar el estriado por toda

la caja Petri por triplicado, se etiqueta con el nombre de la bacteria y fecha, se siguió el mismo procedimiento para la activación de *Staphylococcus epidermidis*.

2.6 Preparación de diluciones a base del aceite de *Cannabidiol*

Se siguieron las recomendaciones de Bermúdez et al., (2019) para preparar diluciones con aceites y dimetilsulfóxido. Se prepararon 5 diluciones a base del aceite en concentraciones de 0,1 %; 0,3 %; 0,4 %; 0,6 % y 0,8 % cuyo disolvente fue DMSO; el volumen final para cada dilución fue de 5 mL en cada frasco ámbar.

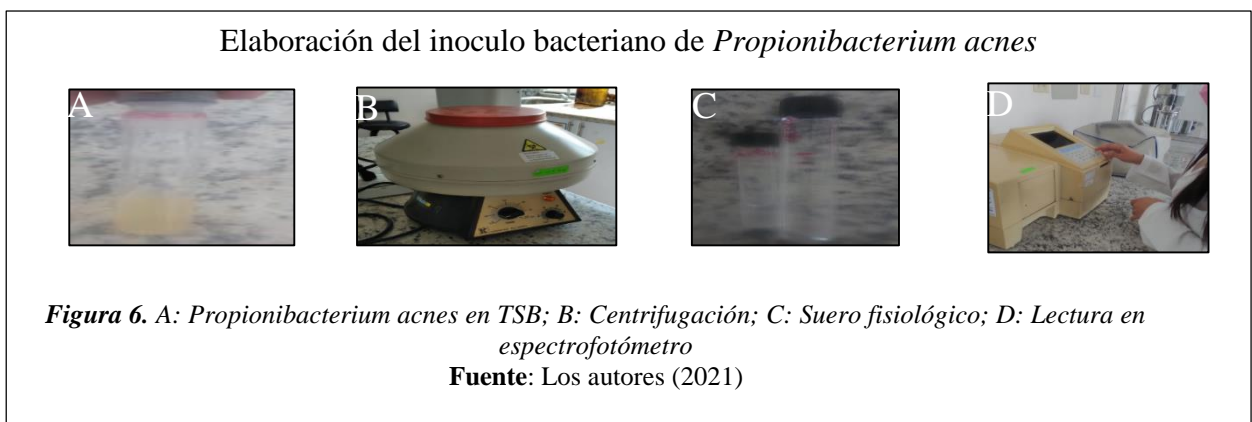


2.7 Determinación de la actividad antibiótica del aceite de *Cannabidiol* mediante el método de difusión en agar o Kirby-Bauer

Este método consiste en someter a las bacterias a las diferentes concentraciones preparadas (Sanz, 2011), se tomó como control positivo a un antibiótico comercial (Amoxicilina) que es un antibiótico betalactámico utilizado para bacterias tanto gram-positivas y gram-negativas, esto se debe a su amplio espectro de actividad bactericida (Flores et al., 2016). Este antibiótico es utilizado para pruebas antibióticas en las familias *Staphylococcus* y *Propionibacterium*, debido a su sensibilidad a sus compuestos (Catro et al., 2018); (Dréno et al., 2018).

2.7.1 Preparación del inóculo bacteriano

Siguiendo la metodología de Carrillo y Díaz, (2020), de la caja Petri anteriormente preparada de *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 se tomó una línea de colonias y se inocularon en un tubo de ensayo que contenía 8 mL de caldo TSB estéril, en condiciones de anaerobiosis a 35 °C por 16 horas; transcurrido el tiempo establecido se centrifugó a 350 rpm por 20 minutos, en un área completamente limpia se desechó el sobrenadante en un vaso de precipitación con alcohol, se conservó el fondo de la biomasa de bacterias, al tubo se le agregó 17 mL de suero fisiológico estéril y se llevó al vórtex durante 2 minutos hasta llegar a la escala de 0,5 McFarland y se leyó en el espectrofotómetro JASCO V-730 con el software Spectra Manager™ hasta llegar a una absorbancia de 0,200 a 655 nm obteniendo un inóculo de 10^6 UFC/ mL. Este proceso se realizó por triplicado.



Se siguió el mismo protocolo descrito para el inóculo bacteriano de *Propionibacterium acnes* para las cepas *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*. Para *Staphylococcus aureus* se colocó 13 mL de suero fisiológico estéril y se lo llevó al espectrofotómetro JASCO V-730 con el software Spectra Manager™ hasta llegar a una absorbancia de 0,200 a 655 nm. Obteniendo un inóculo de 10^6 UFC/mL. El proceso se lo realizó por triplicado.

Preparación de inóculo de *Staphylococcus aureus*



Figura 7. A: *Staphylococcus aureus* en TSB; B: Centrifugación; C: Suero fisiológico; D: Lectura en espectrofotómetro

Fuente: Los autores (2021)

Para el inóculo bacteriano de *Staphylococcus epidermidis* se colocó 15 mL de suero fisiológico estéril y se lo llevo al espectrofotómetro JASCO V-730 con el software Spectra Manager™ hasta llegar a una absorbancia de 0,200 a 655 nm. Obteniendo un inóculo de 10^6 UFC/mL. Se lo realizó por triplicado.

Preparación de inóculo bacteriano de *Staphylococcus epidermidis*

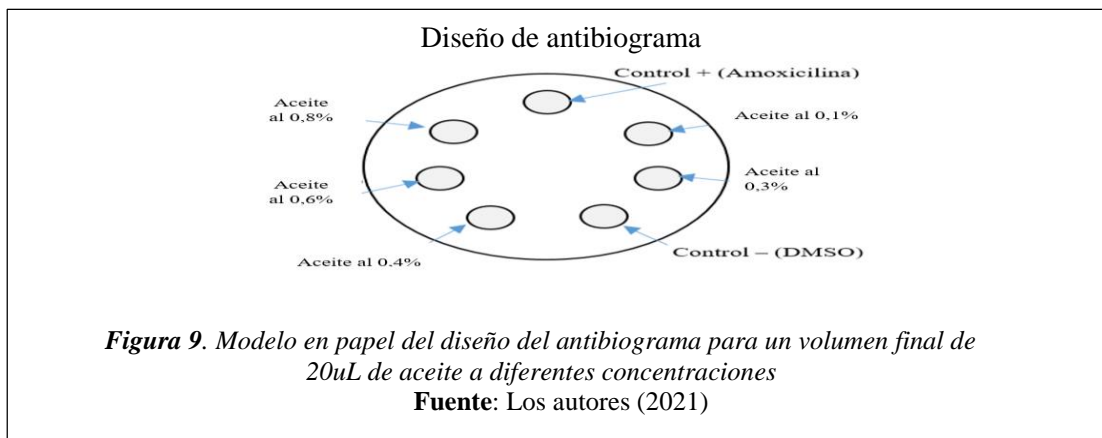


Figura 8. A: *Staphylococcus epidermidis* en TSB; B: Centrifugación; C: Suero fisiológico; D: lectura en espectrofotómetro

Fuente: Los autores (2021)

2.7.2 Inoculación en placas Petri

Con la guía del trabajo de Ibarra y Paredes, (2013), se ajustó la turbidez y se tomó 500 μ L de inóculo bacteriano, se dejó caer en el centro de la caja Petri con agar Muller-Hinton y con un asa de drigalsky se esparció por toda la caja. Luego se dejó secar por 5 minutos para poner los discos de antibiograma. Se colocó 1 disco de antibiótico Amoxicilina como control positivo, un disco en blanco con DMSO como control negativo y 5 discos en blanco con las respectivas diluciones a partir del aceite de *Cannabidiol*, las cuales serían a concentraciones de 0,1 %; 0,3 %; 0,4 %; 0,6 % y 0,8 % en un volumen de 20 μ L.



Transcurridos 25 minutos luego de la aplicación de los discos con las diferentes concentraciones, las cajas Petri con *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* fueron colocadas en la incubadora a 37 °C durante 24 horas. Para las cajas con *Propionibacterium acnes* se incubaron en anaerobiosis a 35 °C.

2.7.3 Lectura de las placas e interpretación de resultados

Cuando ya se ha cumplido el tiempo de 24 horas en la incubadora para *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Propionibacterium acnes*, se procedió a revisar cada caja Petri para medir los halos de inhibición generados por cada concentración con una regla pie de rey y se anota los resultados en tablas.

El método para corroborar con precisión la efectividad de la actividad antibiótica del aceite de *Cannabidiol* frente a *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, se calculó el porcentaje de inhibición de cada bacteria con respecto a cada concentración, para esto se utilizó la siguiente fórmula de referencia de (Corzo, 2012):

$$\% \text{ de efecto inhibitorio} = \frac{\text{diámetro del halo de inhibición del extracto}}{\text{diámetro del halo de control positivo}} \times 100$$

2.7.4 Análisis estadístico

En el programa Statistix se realizó el análisis de varianza ANOVA donde se trabajó con un nivel de significancia de α : 0,05. Y se efectuó un test a posteriori de Tukey con el que se discriminó los grupos de datos que fueron diferentes entre sí.

2.8 Ensayo de toxicidad con *Artemia salina*

2.8.1 Eclosión de *Artemia salina*

La evaluación de la toxicidad del aceite de *Cannabidiol* en *Artemia salina* se realizó tomando como referencias a los métodos propuestos por (Saetama et al., 2018) y (Quinchuela y Vaca, 2020).

2.8.2 Obtención de *Artemia salina*

Se utilizaron huevos de *Artemia salina* comercial.

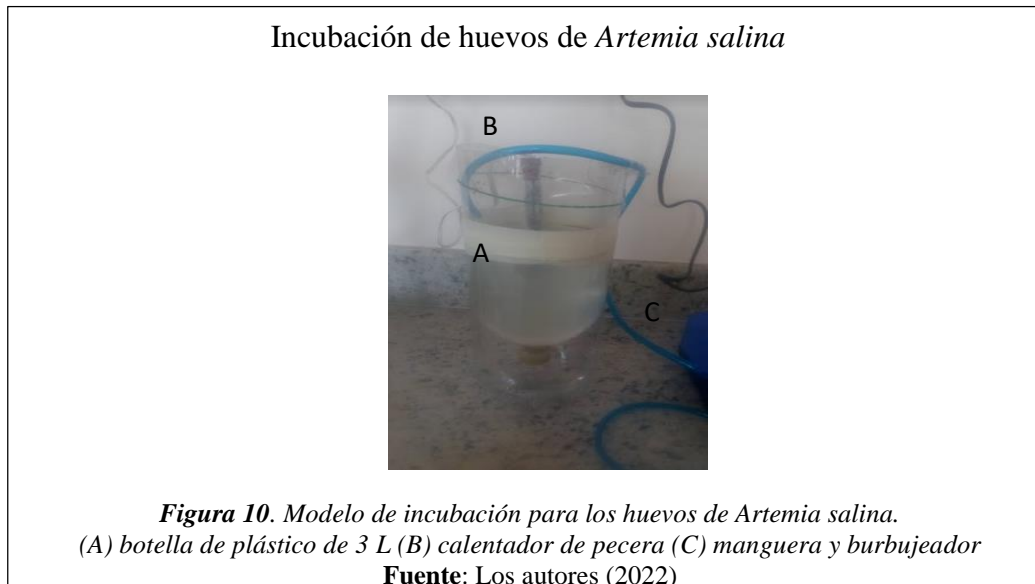
2.8.3 Descapsulación

Para este proceso se tomó las recomendaciones de Quinchuela y Vaca, (2020); Armas, (2012). Se pesaron 2 g de huevos, luego se los hidrataron por 30 minutos en un matraz de vidrio con 1 L de agua; pasado el tiempo se agregaron 25 mL de hipoclorito de sodio al 5 % y con la ayuda de un aireador AP-9803 se homogenizó durante 3 minutos; seguido se repitió 4 veces más este paso hasta lograr alcanzar un total de 250 mL de hipoclorito de sodio. Se filtró la solución para recuperar los huevos y se enjuagó con agua destilada.

2.8.4 Incubación de huevos

Continuando con la metodología sugerida por Armas, (2012); a una botella de plástico de 3 L se cortó su base y en la parte superior de la botella se la adecúa como embudo, se coloca 1500 mL de agua salina al 2 % con ph 8, con temperatura de 24 °C,

burbujeador AP-9803 y calentador de peceras, luego se agregó los 2 g de huevos de *Artemia salina* al recipiente con 1500 mL de agua salina y se incubó durante 48 horas.



2.8.5 Emulsión del aceite de *Cannabidiol*

Para realizar las emulsiones con el aceite de *Cannabidiol* (CBD) se utilizó una proporción de 1:1 de aceite y tween 80, un co-emulsionante utilizado en el área cosmética y alimenticia por su bajo nivel de toxicidad y de acuerdo a los trabajos realizados por Hernández et al., (2019) se lo considera inocuo con *Artemia*. Se utilizó el aceite de *Cannabidiol* para conseguir emulsiones al 3,2 %; 1,6 %; 0,8 %; 0,4 % y 0,2 % con las cuales se trabajó en tubos de ensayo con *Artemia salina* para determinar el DL50.

Se tomó como guía la metodología usada por Fernández et al., (2009), luego de que los huevos hayan eclosionado, se tomó 10 nauplios con una pipeta Pasteur y se los colocó en tubos de ensayo con 10 mL de agua salina al 2 % y pH 8. Se depositaron 500 μ L del aceite de *Cannabidiol* a diferentes concentraciones, este proceso se hizo por triplicado, obteniendo 15 tubos en total. Luego se llevaron a incubación en cámara de clima

constante a 24 °C y luz constante por 24 horas. Para el control positivo se utilizó alcohol al 96 % (Cruz y Gutiérrez, 2015), y para control negativo agua salina.

2.8.6 Conteo de nauplios muertos

Luego del paso de las 24 horas de incubación, se contabilizaron los nauplios muertos mediante un estereoscopio NIKON SMZ745, donde se tomaron por muertos aquellos que no presenten ningún tipo de movimiento pasados algunos segundos (Fernández et al., 2009).

2.8.7 Dosis letal 50 (DL50)

El DL50 se calculó mediante análisis estadístico en Statistix; también se utilizó la escala descrita por Sinti y Torres (2017) citado por (Quinchuela & Vaca, 2020)

2.8.8 Análisis estadísticos

En el programa Statistix se realizó el análisis de regresiones lineales.

III. Resultados y discusiones

3.1 Determinación de la actividad antibiótica del aceite de *Cannabidiol* frente a *Propionibacterium acnes*

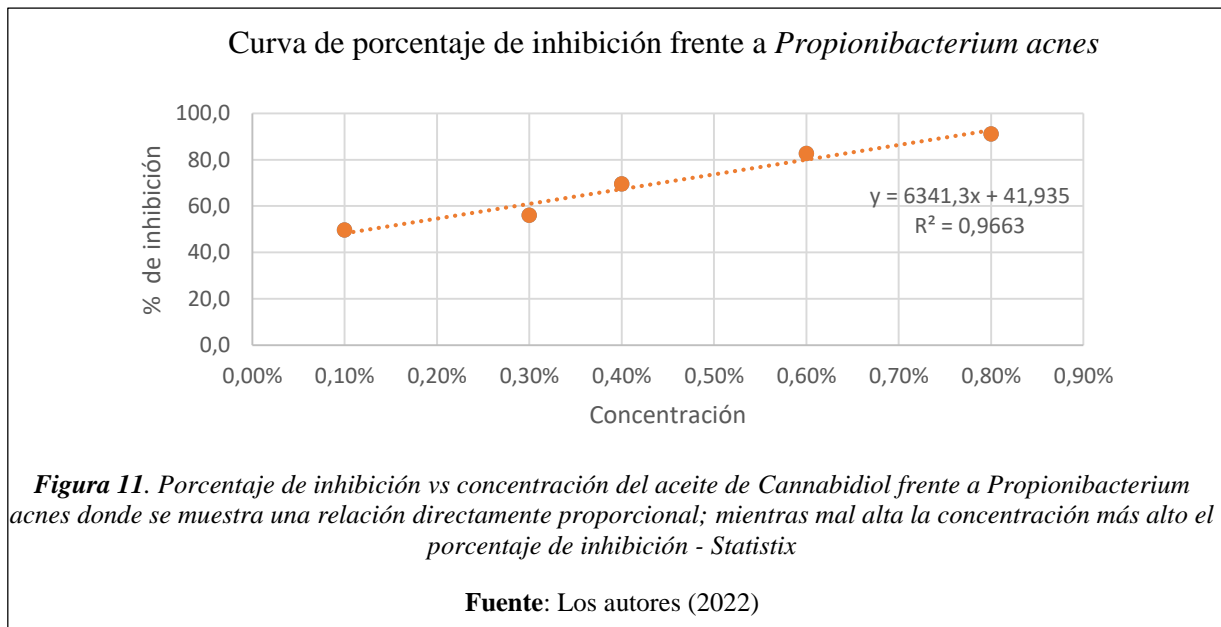
Tabla 6.
Promedio de halo y porcentaje de inhibición del aceite de *Cannabidiol* frente a *Propionibacterium acnes*

Bacteria	Concentración	1° repetición			2° repetición			3° repetición			\bar{X}	% de inhibición
		X1	X2	X3	X1	X2	X3	X1	X2	X3		
<i>Propionibacterium acnes</i>	Control -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,1	1,0	1,0	0,9	0,8	0,7	1,0	1,1	0,9	1,0	0,9	49,7
	0,3	1,2	1,0	1,0	1,0	0,9	1,1	1,3	1,3	1,1	1,1	56,1
	0,4	1,3	1,4	1,4	1,3	1,2	1,5	1,3	1,5	1,3	1,4	69,6
	0,6	1,5	1,6	1,7	1,6	1,7	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	82,7
	0,8	1,7	1,8	1,8	1,9	1,7	1,9	1,7	1,8	1,8	1,8	91,2
	Control +	1,8	2,0	2,0	1,9	2,1	1,9	1,9	1,5	2,0	2,0	100

Fuente: Loa autores (2022)

Según la tabla 6 el porcentaje de inhibición para *Propionibacterium acnes* es de 91,2 % a una concentración de 0,8 % del aceite de *Cannabidiol* lo que arroja un alto porcentaje de inhibición comparado con un antibiótico comercial, Amoxicilina; apoyando la hipótesis alternativa mostrando que el aceite de *Cannabidiol* inhibe a *Propionibacterium acnes*. Conforme a los estudios de Kircik, (2019) donde menciona que el *Cannabidiol* tiene una actividad antimicrobiana potencial contra bacterias gram-positivas, como *Propionibacterium acnes* con lo que, utilizarlo podría resultar beneficioso para el tratamiento del acné vulgar. De igual manera Palmieri et al., (2021) sugiere que el *Cannabidiol* tiene un papel potencial como agente antimicrobiano, en los trabajos realizados por Baswan et al., (2020) y Oláh et al., (2016), se demostró mediante estudios clínicos, que el aceite de *Cannabidiol*, actúa sobre los sebocitos teniendo así, una función antiacné, controlando la producción de sebo, mitigando el proceso inflamatorio y funcionando como agente bactericida al reducir la proliferación bacteriana.

3.1.2 Análisis estadístico de *Propionibacterium. acnes*



3.1.3 Análisis de varianza ANOVA

Se utilizó el programa Statistix para realizar el análisis de varianza ANOVA, el nivel de significancia fue de $\alpha: 0,05$

Tabla 7.
Análisis ANOVA - Statistix

Fuente	DF	SS	MS	F	P
Concentración	6	7,61	1,26	275,81	0,00001
Error	14	0,06	0,004		
Total	20	7,68			

Fuente: Los autores (2022)

La variable concentración presentó un P menor (0,0001) al nivel de significancia $\alpha: 0,005$ por lo que se rechaza la hipótesis nula: no existe ni un grado de concentración que inhibe a *Propionibacterium acnes*, se acepta la hipótesis alternativa 1: Existe al menos un grado de concentración del aceite de *Cannabidiol* que inhibe a *Propionibacterium acnes*.

3.1.4 Test de Tukey

Tabla 8.
Test de Tukey - Statistix

Halo	Media	Grupos homogéneos			
Control +	1,90	A			
CDB 5	1,78	AB			
CDB 4	1,61	B			
CDB 3	1,35		C		
CDB 2	1,10			D	
CDB 1	0,93			D	
Control -	0,00				E
Alfa: 0,05		Error estándar para comparaciones: 0,05			
Valor Q crítico: 4,8					

Fuente: Los autores (2022)

En la tabla 8 se puede evidenciar que existe un grupo importante de datos, en los cuales sus promedios no son significativamente diferentes; el grupo está conformado por el control positivo (antibiótico comercial), CBD5 (aceite de *Cannabidiol* al 0,8 %). Dando como resultado, que el aceite de *Cannabidiol* al 0,8 % tiene un nivel de inhibición semejante al antibiótico Amoxicilina apoyando la hipótesis de que existe al menos un grado de concentración que inhibe a *Propionibacterium acnes*.

3.2 Determinación de actividad antibiótica del aceite de *Cannabidiol* frente a *Staphylococcus aureus*

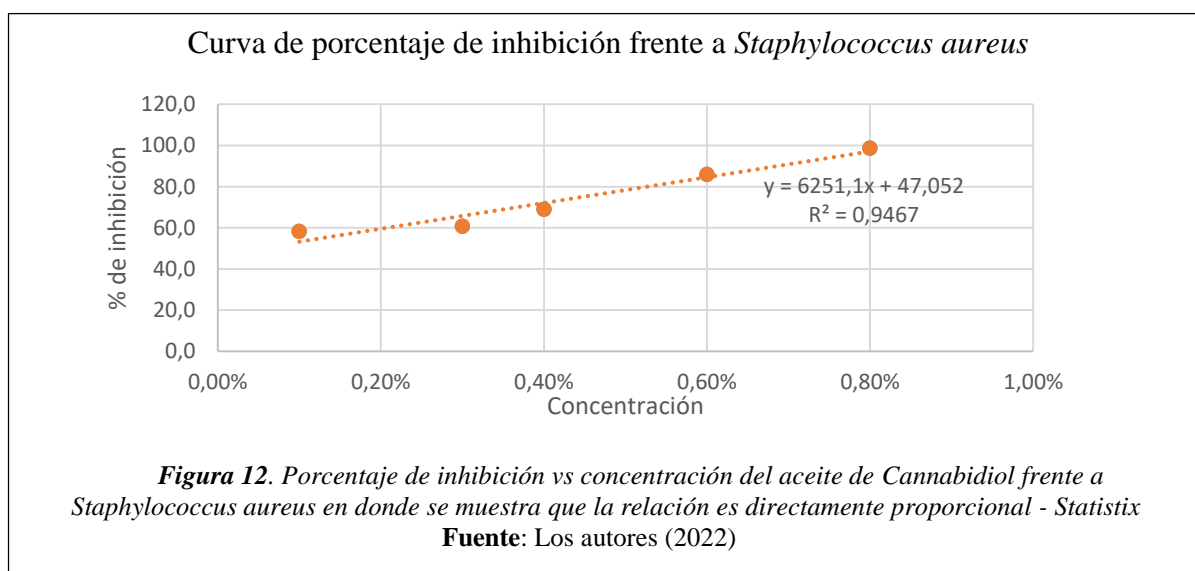
Tabla 9.
Promedio de halo y porcentaje de inhibición del aceite de Cannabidiol frente a Staphylococcus aureus

Bacteria	Concentración %	1° repetición			2° repetición			3° repetición			\bar{X}	% de inhibición
		X1	X2	X3	X1	X2	X3	X1	X2	X3		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Control -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,1	1,0	0,8	1,0	0,8	1,0	0,9	1,2	1,1	1,0	0,9	58,2
	0,3	1,0	1,0	0,8	1,0	0,9	1,0	1,2	1,3	1,1	1,1	60,8
	0,4	1,2	1,1	1,3	1,3	1,2	1,2	1,1	1,2	1,3	1,2	69
	0,6	1,5	1,4	1,5	1,5	1,5	1,3	1,6	1,6	1,6	1,5	86,1
	0,8	1,7	1,8	1,6	1,7	1,7	1,6	1,7	1,9	1,8	1,7	98,7
	Control +	1,9	1,7	1,7	1,8	1,7	1,8	1,7	1,7	1,6	1,8	100

Fuente: Los autores (2022)

En la tabla 9 se aprecia que la concentración del aceite de *Cannabidiol* al 0,8 % tiene un porcentaje de inhibición del 98,7 %, valor muy próximo al control positivo que fue el antibiótico comercial, Amoxicilina; afirmando la hipótesis alternativa: el aceite de *Cannabidiol* inhibe a *Propionibacterium acnes*; los resultados obtenidos por Appendino et al., (2008) se pueden comparar con los de este trabajo ya que el *Cannabidiol*, uno de los principales cannabinoides de la planta mostró una potente actividad contra la cepa *Staphylococcus aureus*.

3.2.1 Análisis estadístico de cepa control 1: *Staphylococcus aureus*



3.2.2 Análisis de varianza ANOVA

Se utilizó el programa Statistix para realizar el análisis de varianza ANOVA, el nivel de significancia fue de α : 0,05.

Tabla 10.
Análisis ANOVA - Statistix

Fuente	DF	SS	MS	F	P
Concentración	6	6,53	1,08	80,40	0,00001
Error	14	0,18	0,01		
Total	20	6,72			

Fuente: Los autores (2022)

La variable concentración presente un P menor (0,0001) al nivel de significancia α : 0,005 por lo que se rechaza la hipótesis nula 2: No existe ni una concentración del aceite de *Cannabidiol* que inhibe a *Staphylococcus aureus* y se acepta la hipótesis alternativa 2: Existe al menos un grado de concentración del aceite de *Cannabidiol* que inhibe a la cepa control *Staphylococcus aureus*.

3.2.3 Test de Tukey

Tabla 11.
Test de Tukey – Statistix

Concentración	Media	Grupos homogéneos		
Control +	1,75	A		
CBD 5	1,73	A		
CBD 4	1,51	AB		
CBD 3	1,21		BC	
CBD 2	1,06		C	
CBD 1	1,02		C	
Control -	0,0			D
Alfa: 0,05		Error estándar por comparación: 0,09		
Valor crítico Q: 4,83		Valor crítico por comparación: 0,32		

Fuente: Los autores (2022)

En la tabla 11 se puede apreciar que existe un grupo de interés en donde sus promedios no son significativamente diferentes, el grupo está conformado por el control + (antibiótico Amoxicilina) y CBD5 (aceite de *Cannabidiol* al 0,8 %). Como resultado obtendríamos que el aceite de *Cannabidiol* al 0,8 % tiene un efecto antibiótico similar al antibiótico Amoxicilina asegurándonos su efecto sobre la inhibición de *Staphylococcus aureus* con lo que se pudo validar la hipótesis alternativa sobre inhibición del aceite de *Cannabidiol* frente a la bacteria

3.3 Determinación de la actividad antibiótica del aceite de *Cannabidiol* frente a *Staphylococcus epidermidis*

Tabla 12.

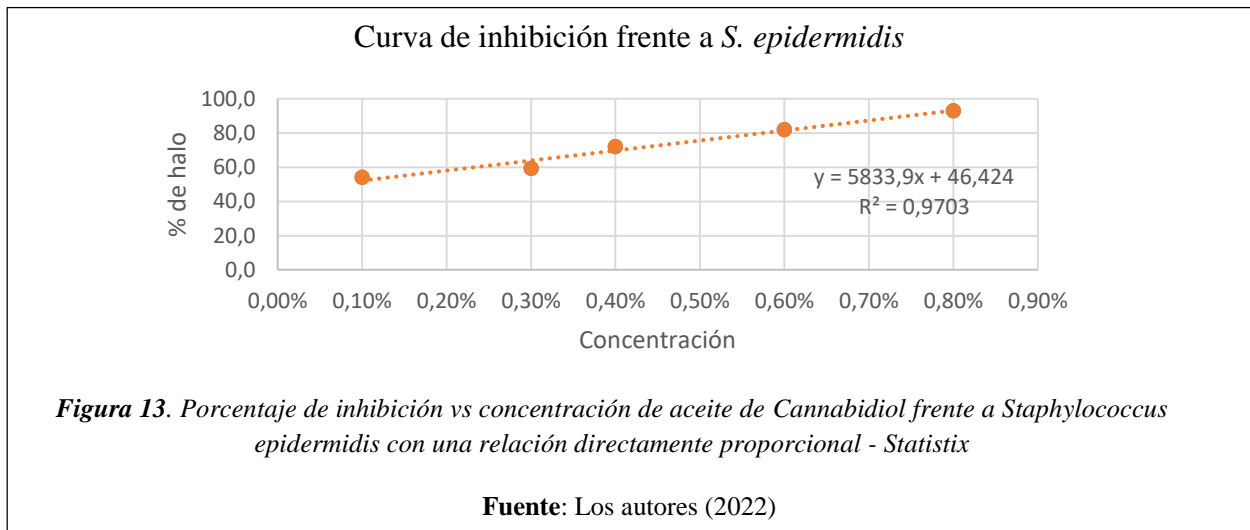
Promedio de halo y porcentaje de inhibición del aceite de *Cannabidiol* frente a *Staphylococcus epidermidis*

Bacteria	Concentración %	Primera repetición			Segunda repetición			Tercera repetición			\bar{X}	% de inhibición
		X1	X2	X3	X1	X2	X3	X1	X2	X3		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Control -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,1	1,5	1,0	1,0	1,0	0,9	0,8	1,2	1,1	1,1	1,0	54,4
	0,3	1,0	1,2	1,3	1,1	1,0	0,9	1,1	1,3	1,0	1,1	59,6
	0,4	1,5	1,5	1,4	1,3	1,4	1,3	1,4	1,2	1,4	1,4	72,5
	0,6	1,8	1,7	1,5	1,6	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6	82,5
	0,8	1,8	1,7	1,8	1,8	1,9	1,7	1,7	1,8	1,8	1,8	93,6
	Control +	2,5	1,7	1,6	2,2	1,8	2,0	1,8	1,7	1,9	1,9	100

Fuente: Los autores (2022)

En los resultados se aprecia que el porcentaje de inhibición para *Staphylococcus epidermidis* con un aceite al 0,8 % fue de 93,6 %, afirmando la hipótesis alternativa sobre la inhibición del aceite de *Cannabidiol* frente a *Staphylococcus epidermidis*; datos que se pueden comparar al estudio realizado por Kosgodage et al., (2019), donde se evaluó el mecanismo de acción del *Cannabidiol* al provocar muerte a las bacterias gram-positivas, debido a la capacidad de este compuesto de inhibir la liberación de vesículas de la membrana bacteriana; estas vesículas son sumamente importante para la comunicación celular y la interacción patógeno-huésped.

3.3.1 Análisis estadístico para la cepa control 2: *Staphylococcus epidermidis*



3.3.2 Análisis de varianza ANOVA

Se utilizó el programa Statistix para realizar el análisis de varianza ANOVA, el nivel de significancia fue de α : 0,05.

Tabla 13.
Análisis ANOVA – Statistix

Fuente	DF	SS	MS	F	P
Concentración	6	7,36	1,22	151,63	0,00001
Error	14	0,11	0,01		
Total	20	7,47			

Fuente: Los autores (2022)

En la tabla 13, se aprecia que la variable P es menor (0,0001) al nivel de significancia α : 0,005 por lo que se rechaza la hipótesis nula: No existe ni una concentración del aceite de *Cannabidiol* que inhibe a *Staphylococcus epidermidis* y se acepta la hipótesis alternativa 3: Existe al menos una concentración del aceite de *Cannabidiol* que inhibe a la cepa control *Staphylococcus epidermidis*.

3.3.3 Análisis de Tukey

Tabla 14.
Test de Tukey – Statistix

Concentración	Media	Grupos homogéneos		
Control +	1,95	A		
CBD 5	1,77	AB		
CBD 4	1,56	BC		
CBD 3	1,37		CD	
CBD 2	1,13		DE	
CBD 1	1,03			E
Control -	0,0			F
Alfa: 0,05		Error estándar por comparación: 0,07		
Valor crítico Q: 4,83		Valor crítico por comparación: 0,25		

Fuente: Los autores (2022)

En la tabla 14, se observa que existe un grupo importante en donde se agrupa el control positivo (Amoxicilina), CBD5 (aceite de *Cannabidiol* al 0,8 %). Como resultado obtendríamos que el aceite de *Cannabidiol* al 0,8% se asemeja en inhibición al control positivo (Amoxicilina) apoyando a la hipótesis alterativa que existe al menos una concentración que inhibe a *Staphylococcus epidermidis*.

3.4 Ensayo de toxicidad

Se realizaron 5 experimentos cada uno por triplicado que consistieron en 5 concentraciones del aceite de *Cannabidiol* al 3,2 %; 1,6 %; 0,8 %; 0,4 %; 0,2 % en un volumen final de 500 µl en cada tubo; además de controles positivos se tomó como referencia el etanol al 96 % y como control negativo se utilizó agua salina al 2 %.

3.4.1 Ensayo de control positivo y negativo

Tabla 15.
Ensayo negativo de toxicidad – Control con agua salina

Concentración	N° de nauplios	N° de nauplios vivos			Total	% de mortalidad
		X1	X2	X3		
0	10	10	10	10	30	0

Fuente: Los autores (2022)

En el control negativo en donde se utilizó agua salina no existió ningún individuo muerto de tal manera que se valida el ensayo al no existir factores naturales que puedan matar a los individuos de estudio; tal como indica Saetama et al., (2018) y Fernández et al., (2009), el porcentaje de mortalidad en los controles negativos no excedió el 10 %.

Tabla 16.

Ensayo de toxicidad - Control con Alcohol al 96 %

Concentración	N° de nauplios	N° de nauplios vivos			Total	% de mortalidad
		X1	X2	X3		
Alcohol 96 %	10	0	0	0	0	100

Fuente: Los autores (2022)

En el control positivo en donde se utilizó alcohol al 96 % se confirma como control positivo adecuado ya que se confirmó la muerte de los individuos del estudio como lo indica el estudio de Quinchuela & Vaca, (2020).

3.4.2 Ensayo de toxicidad primera dilución

Tabla 17.

Ensayo de toxicidad con aceite de *Cannabidiol* - Primera dilución

Concentración %	N° de nauplios	N° de nauplios vivos			Total	% de mortalidad	Grado de toxicidad	Observaciones
		X1	X2	X3				
3,2	10	7	7	8	22	26,7	Relativamente inocuo	3 individuos con problemas de nado
1,6	10	8	9	8	25	16,7	Relativamente inocuo	1 individuo con problemas de nado
0,8	10	9	9	10	28	6,7	No toxico	
0,4	10	10	10	10	30	0	No tóxico	
0,2	10	10	10	10	30	0	No tóxico	

Fuente: Los autores (2022)

Como se puede observar en la tabla 17, el aceite de *Cannabidiol* en concentración de 3,2 % no presenta ningún grado de toxicidad, se lo puede considerar relativamente inocuo; mientras que las otras concentraciones no son tóxicas.

3.4.3 Análisis estadístico

Tabla 18.

Regresión lineal - ensayo de toxicidad con aceite de Cannabidiol - Statistix

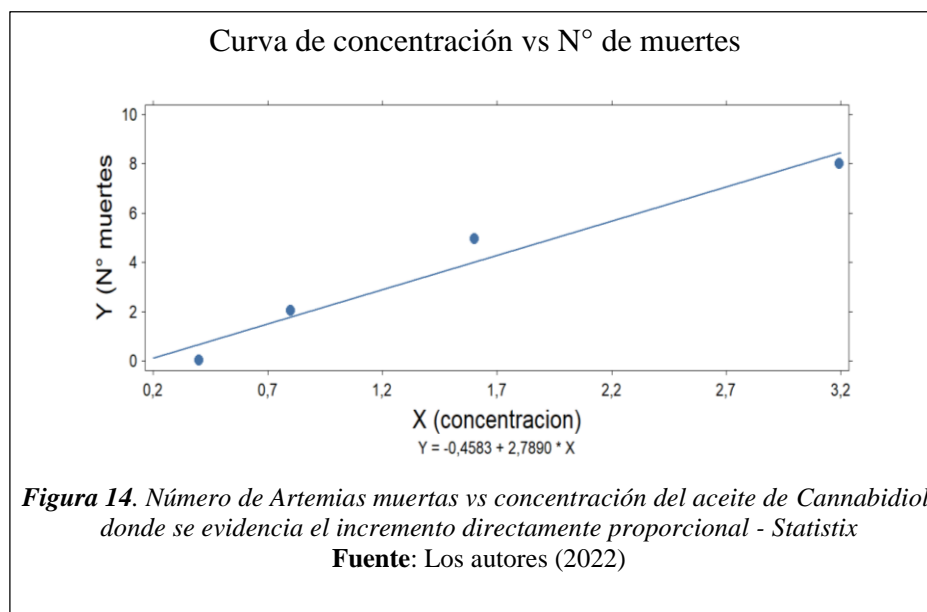
Variabes de predicción	Coefficiente	Error estándar	T	P	
Constante	-1,58	1,66	-0,95	0,41	
X	9,40	1,00	9,32	0,0026	
R ²	0,96				
Ajuste R ²	0,95				
AICc	36,45				
Pulso	124,84				
Fuente	DF	SS	MS	F	P
Regresión	1	526,58	526,58	86,96	0,002
Residual	3	18,16	6,05		
Total	4	544,74			
Casos incluidos:	5	Casos perdidos:	0		

Fuente: Los autores (2022)

En la tabla 18 se puede apreciar que P (0,0026) es menor que el nivel de significancia α : 0,05 por lo tanto se puede decir que se acepta la hipótesis alternativa: la concentración del aceite de *Cannabidiol* es directamente proporcional al porcentaje de mortalidad de los individuos de estudio.

3.4.4 Dosis letal 50

Se determina la dosis letal 50 (DL50) por medio de mínimos cuadrados



Se obtuvo una dosis letal 50 para el aceite de *Cannabidiol* es una concentración de 5,5%, dato similar a los obtenidos en el estudio realizado por Rabbani & Rabbani, (2020), donde evaluaron la supervivencia y el desarrollo de *Artemia* llegando paulatinamente de las concentraciones de *Cannabidiol* máximas de 5,48 %, valor muy próximo a las estimaciones de este trabajo de investigación sobre DL50.

3.4.5 Ensayo de toxicidad segunda dilución

Se realiza una segunda dilución con el intervalo más alto de muertes de nauplios, con el fin de precisar el resultado de DL50 para el aceite de *Cannabidiol*.

Tabla 19.
Ensayo de toxicidad con aceite de Cannabidiol - Segunda dilución

Concentración	N° de nauplios	N° de nauplios vivos			Total	% de mortalidad	Grado de toxicidad	Observaciones
		X1	X2	X3				
3,2	10	7	7	8	22	26,6	Relativamente inocuo	3 individuos con problemas de nado
2,8	10	9	8	9	26	13,3	Relativamente inocuo	
2,4	10	10	8	9	27	10,0	Relativamente inocuo	
2,0	10	10	8	10	28	6,6	Relativamente inocuo	1 individuo con problemas de nado

Fuente: Los autores (2022)

3.4.6 Análisis estadístico – segunda dilución

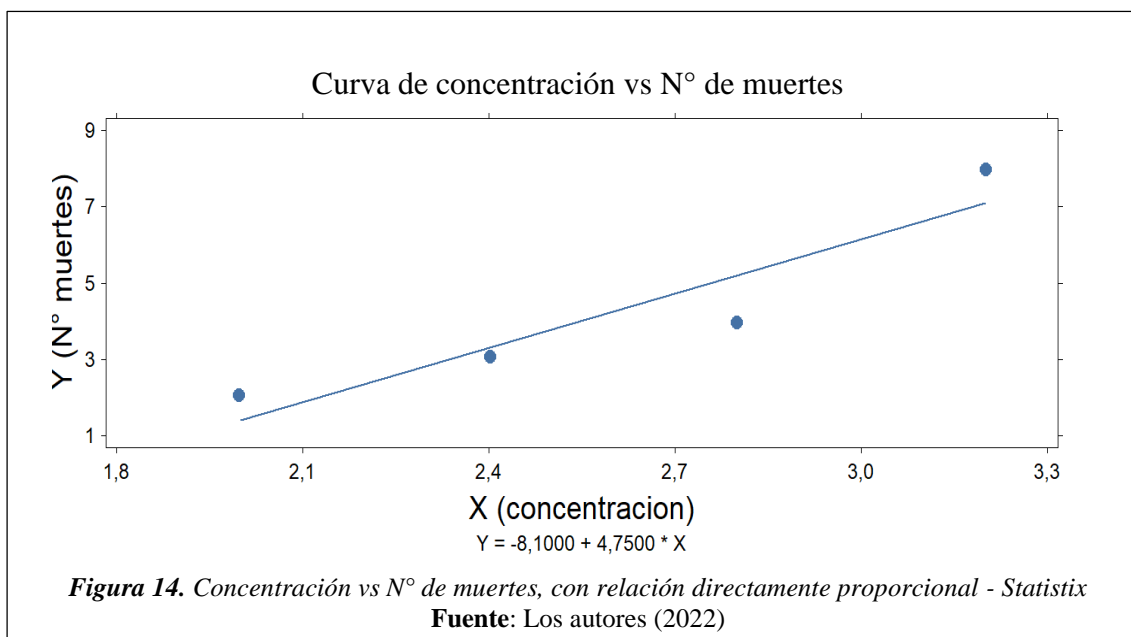
Tabla 20.
Regresión lineal - Statistix

Variables de predicción	Coefficiente	Error estandar	T	P	
Constante	-26,99	11,43	-2,36	0,14	
X	15,83	4,33	3,65	0,06	
R2	0,86				
Ajuste R2	0,80				
AICc	M				
Pulso	179,50				
Fuente	DF	SS	MS	F	P
Regresion	1	200,53	200,53	13,34	0,06
Residual	2	30,06	15,03		
Total	3	230,59			
Casos incluidos	4	Casos perdidos	0		

Fuente: Los autores (2022)

En la tabla 20 se puede apreciar que P (0,0675) es mayor que el nivel de significancia α : 0,05 por lo tanto se puede decir que se acepta la hipótesis alternativa: la concentración del aceite de *Cannabidiol* es directamente proporcional al porcentaje de mortalidad de los individuos de estudio.

3.4.8 Dosis letal 50



En la evaluación de toxicidad del aceite de *Cannabidiol* frente *Artemia salina*, obtuvimos un DL50 de 4,86 % (48 mg/mL), Ferrante et al., (2020) concuerdan que al utilizar el aceite de *Cannabidiol* a concentraciones desde 2 % en adelante aumenta paulatinamente el número de *Artemias salinas* muertas. Berame et al., (2017) y Quazi et al., (2017) mencionan que un aceite de una planta al sobrepasar un CL50 de 1000 ppm en bioensayos con *Artemia salina* no tiene un alto grado de toxicidad, debido a la capacidad de los nauplios en presentar una cutícula muy fina, lo que las hace sensibles a tóxicos en el medio, los cuales penetran a través de las barreras fisiológicas absorbiéndose rápidamente.

3.4.9 Ensayo de toxicidad – tercera dilución

Tabla 21.
Ensayo de toxicidad con aceite de Cannabidiol - Tercera dilución

Concentración	N° de nauplios	N° de nauplios vivos			Total	Muertes	% de mortalidad	Grado de toxicidad	Observación
		X1	X2	X3					
3,2	10	8	7	8	23	7	23,3	Relativa mente inocuo	2 individuos con problemas de nado
3,1	10	8	7	8	23	7	23,3	Relativa mente inocuo	
3	10	9	7	7	23	7	23,3	Relativa mente inocuo	
2,9	10	7	8	8	23	7	23,3	Relativa mente inocuo	
2,8	10	8	7	8	23	7	23,3	Relativa mente inocuo	

Fuente: Los autores (2022)

Al momento de realizar una tercera regresión lineal y curva de mortalidad con intervalos muy pequeños de concentración, resulta estadísticamente no medible debido a que, la suma total de cuadrados es igual a $1,22 \times 10^{-30}$, lo que resulta ser demasiado pequeño para continuar. Esto quiere decir que la variable dependiente (N° de muerte) puede ser casi constante.

Conclusiones

Se obtuvo el aceite de *Cannabidiol* valorado de una empresa ecuatoriana, la cual presenta una concentración de 500 mg/30mL, es un producto que cuenta con su respectiva ficha técnica y evaluación mediante la técnica de HPLC.

El aceite de *Cannabidiol* presento actividad antibacteriana con promedios de halo de 1,8 cm; 1,7 cm y 1,8 cm para *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* respectivamente a una concentración de 0,8 %, comparado con el antibiótico control (Amoxicilina) con 2 cm de halo, mediante el análisis estadístico se pudo rechazar la hipótesis nula y aceptar la alternativa ya que el aceite de *Cannabidiol* inhibe a *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* con las concentraciones propuestas. De igual forma se acepta las hipótesis alternativas para el análisis de varianza y Tukey, al menos un grado de concentración del aceite de *Cannabidiol* inhibe a las 3 bacterias con un efecto similar a Amoxicilina. Al terminar el trabajo experimental se concluyó que los resultados obtenidos bajo el ensayo de laboratorio demuestran que el uso del aceite de *Cannabidiol* es eficaz para el control de las bacterias mencionadas y resulta ser un campo prometedor para posibles elaboraciones de fitoproductos de uso humano con el fin de mejorar y brindar todos los beneficios que ofrece.

Para el bioensayo de toxicidad en donde se utilizó *Artemia salina*, se logró obtener un valor de DL50 de 4,8 % que demostró que el aceite de *Cannabidiol* comercial en una presentación de 500 mg/30mL equivalente a 1,6 %; es un producto relativamente inocuo en la más alta concentración y no tóxico en muy bajas concentraciones. Aunque a concentraciones más altas si se puede ver afectada negativamente la supervivencia por los problemas de nado, los resultados confirmaron la hipótesis alternativa, la concentración del aceite de *Cannabidiol* es directamente proporcional al porcentaje de mortalidad de *Artemia salina*.

Bibliografía

- Alós, J. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(10), 692–699. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>
- Ángeles, G., Brindis, F., Niizawa, S., & Ventura, R. (2014). Cannabis sativa L., una planta singular. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 45(4), 2014. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v45n4/v45n4a4.pdf>
- Appendino, G., Gibbons, S., Giana, A., Pagani, A., Grassi, G., Stavri, M., Smith, E., & Rahman, M. (2008). Antibacterial Cannabinoids from Cannabis sativa: A Structure-Activity Study. *American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy*. <https://doi.org/10.1021/np8002673>
- Argote, A., Mora, Ó., González, L., Zapata, J., & Uribe, D. (2014). Aspectos fisiopatológicos del acné Acne. *Revista Asociación Colombiana de Dermatología*, 22(3), 200–208. https://revistasocolderma.org/sites/default/files/aspectos_fisiologicos_del_acne.pdf
- Armas, G. (2012). *Estudio de la actividad antibacteriana y tóxica del Kuiship (Jacaranda copaia)* [Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/4074>
- Asadi, R., Ali, S., Sarkheid, M., & Je, I. (2019). On how environmental and experimental conditions affect the results of aquatic nanotoxicology on brine shrimp (*Artemia salina*): A case of silver nanoparticles toxicity. *Environmental Pollution*, 255. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113358>
- Baquero, D. (2013). *Aislamiento y caracterización de bacteriófagos nativos colombianos de Propionibacterium acnes* [Universidad de los Andes]. <http://hdl.handle.net/1992/16462>
- Baral, P., Bagul, V., & Gajbhiye, S. (2020). Hemp seed oil for skin care (non-drug Cannabis sativa L.): A review. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 9(8), 2534–2556. <https://doi.org/10.20959/wjpr20208-18346>
- Baswan, M., Klosner, E., Glynn, K., Rajgopal, A., Malik, K., Yim, S., & Stern, N. (2020). Therapeutic potential of cannabidiol (CBD) for skin health and disorders. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 13, 927–942. <https://doi.org/10.2147/CCID.S286411>
- Berame, J., Cuenca, S., Cabilin, D., & Manaban, M. (2017). Preliminary Phytochemical Screening and Toxicity Test of Leaf and Root Parts of the Snake Plant (*Sansevieria trifasciata*). *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*, 05(03). <https://doi.org/10.4172/2329-9002.1000187>
- Bermúdez, M., Granados, F., & Molina, A. (2019). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y *Cymbopogon citratus*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 66(8), 1727–1730. <https://doi.org/10.1271/BBB.66.1727>
- Bhuvaneshwari, M., Thiagarajan, V., Nemade, P., Chandrasekaran, N., & Mukherjee, A. (2017). Toxicity and trophic transfer of P25 TiO₂ NPs from *Dunaliella salina* to *Artemia salina*: Effect of dietary and waterborne exposure. *Environmental Research*. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.09.022>
- Blaskovich, M., Kavanagh, A., Elliott, A., Zhang, B., Ramu, S., Amado, M., Lowe, G., Hinton, A., Thu, D., Zuegg, J., Beae, N., Quach, D., Sharp, M., Pogliano, J., Rogers, A., Lyras, D., Tan, L., West, N., Crawford, D., ... Thrun, M. (2021). The antimicrobial potential of cannabidiol. *Communications Biology*, 4(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/S42003-020-01530-Y>
- Camarena, J., & Sánchez, R. (2010). Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. In

- Cansian, R., Vanin, A., Orlando, T., Piazza, S., S Puton, B., Cardoso, R., Gonçalves, I., Honaiser, T., Paroul, N., & Oliveira, D. (2017). Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. *Braz. J. Biol*, 77(1), 155–161. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.12215>
- Carrillo, C., & Díaz, R. (2020). Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de hojas de dos variedades de *Mangifera indica* L. *Ciencia Unemi*, 13(32), 69–77. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol13iss32.2020pp69-77p>
- Casado, B., Gómez, C., Ramón, J., Gómez, R., Mingorance, J., Moreno, R., & Herranz, P. (2012). Prevalencia de infecciones de piel y tejidos blandos producidas por *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina Comunitario en Madrid. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 30(6), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.11.011>
- Castro, P., Niño, K., Pineda, E., & Torres, J. (2019). *Actividad antimicrobiana del aceite esencial de Cannabis sativa sobre Fusobacterium nucleatum. Estudio in vitro* [Universidad Cooperativa de Colombia]. https://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/11227/1/2019_Cannabis-Coayudante-Fusobacteriumnucleatum.pdf
- Catro, R., Villafaña, L., Rocha, J., & Alvis, N. (2018). Resistencia antimicrobiana en *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*: tendencia temporal (2010-2016) fenotipo de multiresistencia, Cartagena (Colombia). *Revista Biosalud*, 17(2), 25–36. <https://doi.org/10.17151/biosa.2018.17.2.2>
- Cervantes, E., García, R., & Salazar, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab*, 61(1), 28–40. www.medigraphic.com/patologiaclinicawww.medigraphic.org.mx
- Conabio. (2012). *Cannabis sativa* - ficha informativa. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/cannabaceae/cannabis-sativa/fichas/ficha.htm>
- Corzo, D. (2012). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Cestrum buxifolium* Kunth. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(3), 81–86. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v43n3/v43n3a9.pdf>
- Covarrubias, N. (2019). Uso medicinal de la Marihuana. *Anestesia En México*, 31(2), 49–58. <http://www.scielo.org.mx/pdf/am/v31n2/2448-8771-am-31-02-49.pdf>
- Cruz, J., & Guitiérrez, K. (2015). *Evaluación fitoquímica de los metabolitos secundarios para la determinación de la DL50 en la raíz de la especie vegetal mata de piedra (Anthurum cubense); tilgüe, isla de ometepe*. [Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua]. <http://repositorio.unan.edu.ni/id/eprint/1203>
- De la Fuente, N., Villarreal, J., Díaz, M., & García, A. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 46(2), 1–10. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v46n2/1870-0195-rmcf-46-02-00007.pdf>
- Dessinioti, C., & Katsambas, A. (2016). Propionibacterium acnes and antimicrobial resistance in acne. *Clinics in Dermatology*. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2016.10.008>
- Díaz, M., García, F., Perales, I., & Pescador, P. (2019). Diagnostico microbiologico de las infecciones oculares. In E. Cerenado & R. Cantón (Eds.), *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y*

<https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia31A.pdf>

- Dréno, B. (2017). What is new in the pathophysiology of acne, an overview. *European Academy of Dermatology and Venereology*, 31(5), 8–12. <https://doi.org/10.1111/jdv.14374>
- Dréno, B., Pécastaings, S., Corvec, S., Veraldi, S., Khammari, A., & Roques, C. (2018). *Cutibacterium acnes (Propionibacterium acnes) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates Funding source*. <https://doi.org/10.1111/jdv.15043>
- ElSohly, M., & Slade, D. (2005). Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences*, 78(5), 539–548. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.09.011>
- Farha, M. A., El-Halfawy, O. M., Gale, R. T., Macnair, C. R., Carfrae, L. A., Zhang, X., Jentsch, N. G., Magolan, J., & Brown, E. D. (2020). Uncovering the Hidden Antibiotic Potential of Cannabis. *ACS Infectious Diseases*, 6(3), 338–346. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.9b00419>
- Farha, M., El-Halfawy, O., Gale, R., Macnair, C., Carfrae, L., Zhang, X., Jentsch, N., Magolan, J., & Brown, E. (2020). Uncovering the Hidden Antibiotic Potential of Cannabis. *ACS Infectious Diseases*, 6(3), 338–346. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.9b00419>
- Fassio, A., Rodríguez, M., & Ceretta, S. (2013). *Cáñamo (Cannabis sativa L.)*. <http://www.inia.org.uy>
- Feldman, M., Sionov, R., Mechoulam, R., & Steinberg, D. (2021). Anti-biofilm activity of cannabidiol against candida albicans. *Microorganisms*, 9(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020441>
- Fernández, A., Mendiola, J., Monzote, L., García, M., Sariego, I., Acuña, D., Scull, R., & Guitiérrez, Y. (2009). Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de Artemia salina L. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61(3), 254–259. <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v61n3/mtr09309.pdf>
- Fernández, R., & Pérez, N. (2020). Acné vulgaris: actualizaciones en fisiopatología y tratamiento. *Ciencia Y Salud*, 4(4), 52–65. <http://revistacienciaysalud.ac.cr/ojs/index.php/cienciaysalud/article/view/174/265>
- Ferrante, C., Chiavaroli, A., Angelini, P., Venanzoni, R., Angeles, G., Brunetti, L., Petricci, M., Politi, M., Mnghini, L., Leone, S., Recinella, L., Zengin, G., Ak, G., Di Mascio, M., Bacchin, F., & Orlando, G. (2020). Phenolic Content and antimicrobial and anti-inflammatory effects of Solidago virga-aurea, Phyllanthus niruri, Epilobium angustifolium, Peumus boldus, and Ononis spinosa extracts. *Antibiotics*, 9, 783. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110783>
- Flores, I., & Verpoorte, R. (2008). Secondary metabolism in cannabis. *Phytochemistry Reviews*, 7(3), 615–639. <https://doi.org/10.1007/S11101-008-9094-4>
- Flores, J., Ochoa, M., López, L., Trejo, E., & Morelos, A. (2016). Interacciones farmacológicas relacionadas con la administración de antibióticos betalactámicos. *Revista Asociación Dental Mexicana*, 73(5), 227–234. <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2016/od165c.pdf>
- Gallego, J. (2011). *El cultivo ecológico del cannabis*. <http://www.bibpedagogica-stafe.org.ar/omp/opac/tapas-pdf/124852.pdf>
- Gilaberte, Y. (2009). Dermatología pediátrica: ¿qué hay de nuevo en el acné? *Pediatría Atención Primaria*, 11, 303–316. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322009000700002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Gopequi, E. (2015). *Epidemiología molecular y resistencia a los antimicrobianos en Staphylococcus spp. en centros sanitarios de Mallorca durante los últimos 15 años (1999-2013)* [Universitat de les Illes Balears]. <https://www.tdx.cat/handle/10803/384005#page=1>
- Grotenhermen, F., & Müller-Vahl, K. (2012a). Das therapeutische Potenzial von Cannabis und Cannabinoiden. *Deutsches Arzteblatt International*, 109(29–30), 495–501. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2012.0495>
- Grotenhermen, F., & Müller-Vahl, K. (2012b). *The Therapeutic Potential of Cannabis and Cannabinoids*. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2012.0495>
- Hernández, A., Cruz, M., Guerra, D., Cunill, J., Guerra, P., Rivera, F., Ramírez, O., & Avila, A. (2019, November 25). Estudio de la actividad antioxidante, antimicrobiana y toxicidad de tres extractos de *Heliocarpus appendiculatus* Turcz (malvaceae). *Acta Agrícola y Pecuaria*, 1–10. <http://aap.uaem.mx/index.php/aap/article/view/78/71>
- Hinojosa, M., & Marín, I. (2017). *El descubrimiento del cannabidiol, el principal componente del cannabis*. <https://www.researchgate.net/publication/317237790>
- Ibarra, D., Escandón, S., Fierro, L., & Bonifaz, A. (2019). Reclasificación de *Propionibacterium acnes* a *Cutibacterium acnes*. *Revista Mexicana de Dermatología*, 63. <https://dermatologiarevistamexicana.org.mx/article/reclasificacion-de-propionibacterium-acnes-a-cutibacterium-acnes/>
- Ibarra, M., & Paredes, E. (2013). Eficacia antibacteriana in vitro de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y Paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) en una formulación cosmética. In *Universidad Politecnica Salesiana*. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Jin, H., Sarkheil, M., Seon, H., Je, I., & Ali, S. (2019). Comparative toxicity of silver nanoparticles (AgNPs) and silver nanowires (AgNWs) on saltwater microcrustacean, *Artemia salina*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 218(January), 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.01.002>
- Kircik, L. (2019). What's New in the Management of Acne Vulgaris. *Cutis*, 104(1), 48–52. <https://cdn.mdedge.com/files/s3fs-public/KircikCT104001048.PDF>
- Kosgodage, U., Matewele, P., Awamaria, B., Kraev, I., Warde, P., Mastroianni, G., Nunn, A., Guy, G., Bell, J., Inal, J., & Lange, S. (2019). Cannabidiol is a novel modulator of bacterial membrane vesicles. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9(324), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00324>
- Kuehnast, T., Cakar, F., Weinhäupl, T., Pilz, A., Selak, S., Schmidt, A., Rüter, C., & Schild, S. (2018). Comparative analyses of biofilm formation among different *Cutibacterium acnes* isolates. *International Journal of Medical Microbiology*, 308(8), 1027–1035. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2018.09.005>
- López, J., Herranz, P., & Dréno, B. (2017). Consenso español para establecer una clasificación y un algoritmo de tratamiento del acné. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 108(2), 120–131. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2016.10.001>
- López, T., Giayetto, V., Cannistraci, R., Biganzoli, P., Peirotti, M., González, S., Ferreyra, L., Cuevas, V., Sienko, G., Kiguen, X., Lazzarino, J., Isa, M., Nates, S., Littvik, A., & Pavan, J. (2021). Tras las huellas de un mundo invisible. In *Nuevos sistemas de comunicación e información*. <http://bacteriologiayvirologiamedicas.webs.fcm.unc.edu.ar/files/2021/06/Tras-las-Huellas-de-un-Mundo-Invisible-2020.pdf>

- Maccallum, C., & Russo, E. (2018). Practical considerations in medical cannabis administration and dosing. *European Journal of Internal Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2018.01.004>
- Mahto, A. (2017). Acne vulgaris. *Medicine*, 45(6), 386–389. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2017.03.003>
- Manzanilla, R., & Limones, V. (2019a). Cannabis sativa L. y su potencial farmacéutico. *Desde El Herbario CICY*, 11, 167–171. http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/
- Manzanilla, R., & Limones, V. (2019b). Cannabis sativa L. y su potencial farmacéutico. *Herbario CICY*, 11, 167–171. http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/
- Microbiologics. (2011). *Microbiology control products*. www.microbiologics.com
- Millán, R., & Isais, S. (2019). Cannabis y los sistemas exocannabinoide y endocannabinoide. Su uso y controversias. *Gaceta Médica de México*, 155, 508–512. <https://doi.org/10.24875/GMM.19004881>
- Missouri Botanical Garden. (2013). *Tropicos | Name - Cannabis sativa*. <https://www.tropicos.org/name/21302042>
- Moon, S., Roh, H., Kim, Y., Kim, J., Ko, J., & Ro, Y. (2012). Antibiotic resistance of microbial strains isolated from Korean acne patients. *Journal of Dermatology*, 39(10), 833–837. <https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.2012.01626.x>
- Moreno, A. (2017). *Factores asociados a la selección clonal de Staphylococcus aureus resistentes a meticilina y quinolonas* [Universida de Vigo]. <http://hdl.handle.net/11093/751>
- Neruda, P. (2014). *Y cuánto vive?* <https://poemario.com/cuanto-vive/>
- Nunes, B., Carvalho, F., Guilhermino, L., & Van Stappen, G. (2006). Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environmental Pollution*, 144, 453–462. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.12.037>
- Ogé, L., Broussard, A., & Marshall, M. (2019). Acne vulgaris: Diagnosis and treatment. *American Family Physician*, 100(8), 475–484. <https://www.aafp.org/afp/2019/1015/p475.html>
- Oláh, A., Markovics, A., Szabó-Papp, J., Szabó, P., Stott, C., Zouboulis, C., & Bíró, T. (2016). Differential effectiveness of selected non-psychotropic phytocannabinoids on human sebocyte functions implicates their introduction in dry/seborrheic skin and acne treatment. *Experimental Dermatology*, 25(9), 701–707. <https://doi.org/10.1111/exd.13042>
- Omer, H., McDowell, A., & Alexeyev, O. (2017). Understanding the role of *Propionibacterium acnes* in acne vulgaris: The critical importance of skin sampling methodologies. *Clinics in Dermatology*, 35(2), 118–129. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2016.10.003>
- Orozco, M., Campo, M., Anaya, L., Atuesta, J., Ávila, M., Balcázar, L., Barona, M., Becerra, M., Cárdenas, L., Concha, C., Cruz, A., Danies, M., Díaz, T., Díaz, L., Espinoza, D., Gaita, A., García, G., García, L., Huyke, B., ... Velásquez, N. (2011). Guías colombianas para el manejo del acné: una revisión basada en la evidencia por el Grupo Colombiano de Estudio en Acné. *Revista Asociación Colombiana de Dermatología*, 19, 129–158. https://revistasocolderma.org/sites/default/files/guias_colombianas_para_el_manejo_del_acne_0.pdf
- Ortega, S. (2018). Biopelículas microbianas y su impacto en áreas médicas: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. *Boletín Medico Del Hospital Infantil de México*, 75, 79–88.

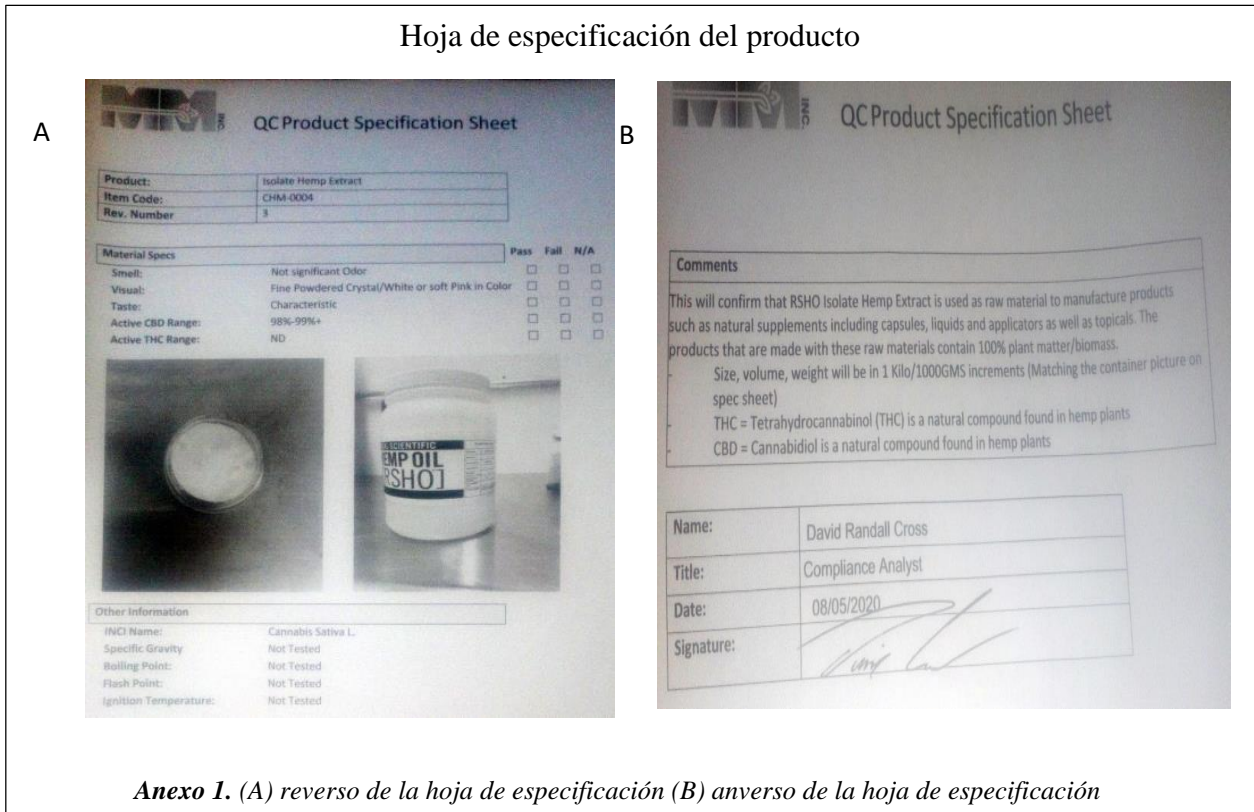
<https://doi.org/10.24875/BMHIM.M18000012>

- Palmieri, S., Maggio, F., Pellegrini, M., Ricci, A., Serio, A., Paparella, A., & Sterzo, C. (2021). *Effect of the distillation time on the chemical composition, antioxidant potential and antimicrobial activity of essential oils from different Cannabis sativa L. cultivars*. 13. <https://doi.org/10.3390/molecules26164770>
- Pasachova, J., Ramirez, S., & Muñoz, L. (2019). Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova*, 17(32), 25–38. <https://doi.org/10.22490/24629448.3631>
- Patiño, L., & Morales, C. (2013). Microbiota de la piel: el ecosistema cutáneo. *Revista Asociada Colombiana de Dermatología*, 21(2), 147–158. www.revistasocolderma.com
- Pediapress. (2013). *Cannabis sativa*. http://www.biblioteca.cij.gob.mx/Archivos/Materiales_de_consulta/Drogas_de_Abuso/Articulos/Planta1.pdf
- Picardo, M., Eichenfield, L., & Tan, J. (2017). Acne and Rosacea. *Dermatology and Therapy*, 7. <https://doi.org/10.1007/s13555-016-0168-8>
- Picazo, J. (2000). Procedimientos en Microbiología Clínica. In *Recomendaciones de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
- Pino, O., & Lazo, J. (2010). Ensayo de Artemia: Útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. *Rev. Protección Veg*, 22(1), 34–43. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v25n1/rpv08110.pdf>
- Plancarte, R., Mansilla, A., De los Reyes, V., & Meneses, F. (2019). Aplicaciones terapéuticas por acción de los cannabinoideos. *Gaceta Medica de Mexico*, 155(3), 307–318. <https://doi.org/10.24875/GMM.18004928>
- Quazi, S., Fatema, A., & Mir, M. (2017). Brine shrimp lethality assay. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(2), 186–189. <https://doi.org/10.3329/bjp.v12i2.32796>
- Quinchuela, C., & Vaca, I. (2020). *Estudio de las propiedades antibacterianas, antioxidantes y toxicidad de cuatro especies del género Huntleya (Orchidaceae) del Ecuador* [Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18435>
- Rabbani, A. J., & Rabbani, R. R. (2020). Article Effect of increasing concentrations of cannabidiol (CBD) on hatching , survival and development of Artemia salina. *Emerging Investigators*, 3, 1–5.
- Ramirez, J., Medina, Y., & Uscanga, I. (2018). *Manual de laboratorio de microbiología*. <https://doi.org/http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2992>
- Rodríguez, E., & Fontaine, J. (2020). Situación actual de Cannabis sativa, beneficios terapéuticos y reacciones adversas. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 19(6), 1–17.
- Roldán, E. (2016). *Introducción a la toxicología*. UNAM. https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/publicaciones/libros/cbiologicas/libros/Toxicologo18.pdf?fbclid=IwAR3Nm5D_XljtbiqFmFJJJKQdmYrDFiDJMUeMO6LYbY2dFp81EI0Oiyrn2E
- Saetama, V., Vera, L., Vanegas, M., Cruzat, C., & Brazales, D. (2018). Evaluación toxicológica de

- soluciones acuosas de ibuprofeno mediante bioensayos con *Artemia salina*, *Allium schoenoprasum* L y *Lactuca sativa*. *Revista Toxicológica*, 35, 112–118. <http://revista.aetox.es>
- Sánchez, E., Castillo, S., & García, P. (2016a). *Actividad antimicrobiana*. <https://doi.org/10.3926/oms.334>
- Sánchez, E., Castillo, S., & García, P. (2016b). Actividad Antimicrobiana. In OmniaScience (Ed.), *Investigación en plantas de importancia médica* (pp. 77–100). <https://doi.org/10.3926/oms.334>
- Sangiovanni, E., Fumagalli, M., Pacchetti, B., Piazza, S., Magnavacca, A., Khalilpour, S., Melzi, G., Martinelli, G., & Dell’Agli, M. (2019). Cannabis sativa L. extract and cannabidiol inhibit in vitro mediators of skin inflammation and wound injury. *Phytotherapy Research*, 33(8), 2083–2093. <https://doi.org/10.1002/ptr.6400>
- Santiseban, R., & Betancurt, J. (2020). Perfiles fitocannabinoides en cannabis medicinal veterinario: ¿Qué es y por qué debe importar? *Remevet*. <https://www.researchgate.net/publication/343836447>
- Sanz, S. (2011). *Prácticas de microbiología*. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/libro/100835.pdf>
- Silbergeld, E. (2010). Toxicología. In *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo* (Vol. 33, pp. 1–84). <https://www.bibliotecadigitaldebogota.gov.co/resources/3072566/>
- Süer, K., & Güvenir, M. (2019). Propionibacterium acnes (Cutibacterium acnes) and acne vulgaris: The latest updates of antimicrobial activity. *Turk Dermatoloji Dergisi*, 13(2), 57–59. https://doi.org/10.4103/TJD.TJD_5_19
- Tan, A., Schlosser, B., & Paller, A. (2018). A review of diagnosis and treatment of acne in adult female patients. *International Journal of Women’s Dermatology*, 4(2), 56–71. <https://doi.org/10.1016/j.ijwd.2017.10.006>
- Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2015). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. In *Temas de bacteriología y virología médica* (pp. 663–671). <http://higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>
- Tascini, C., Sozio, E., Viaggi, B., & Meini, S. (2016). Reading and understanding an antibiogram. *Italian Journal of Medicine*, 10(4), 289–300. <https://doi.org/10.4081/itjm.2016.794>
- Valdés, K., Romero, A., Rosas, M., & Morales, M. (2020). Acné y lácteos: ¿existe una asociación? . *Rev Cent Dermatol Pascua*, 29(3), 56–60. <https://doi.org/10.35366/99917>
- Vázquez, F. (2021). *Una breve historia del cannabis en tres partes* (Vol. 194, Issue 13). https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2021/2021-09-30-Vazquez-Flota-Una-breve-historia-del-cannabis.pdf
- Wassmann, C., Hojrup, P., & Klitgaard, J. (2020). Cannabidiol is an effective helper compound in combination with bacitracin to kill Gram-positive bacteria. *Scientific Reports*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/S41598-020-60952-0>
- Zaenglein, A. (2018). Acne vulgaris. *The New England Journal of Medicine*, 14, 1343–1352. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1702493>

Anexos

Hoja de especificación del producto

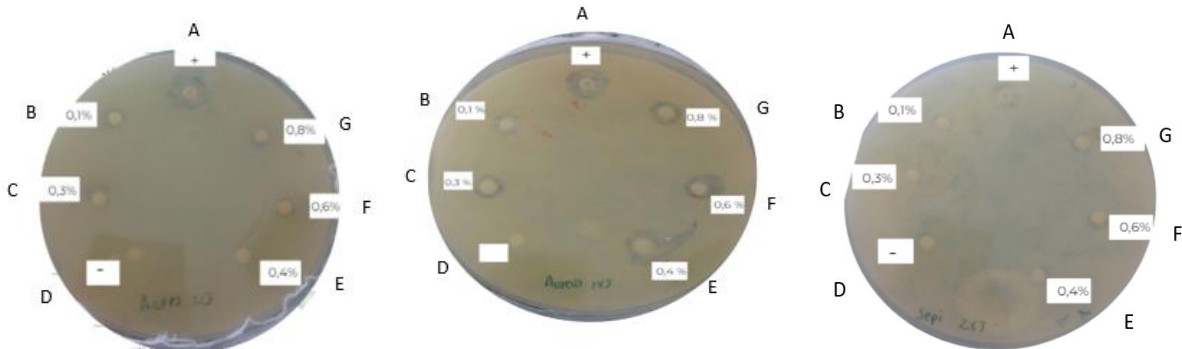


Antibiogramas

Propionibacterium acnes

Staphylococcus aureus

Staphylococcus epidermidis



Anexo 2. (A) control positivo - Amoxicilina (B) aceite de CBD 0,1 % (C) 0,3 % (D) control negativo - DMSO (E) aceite de CBD al 0,4 % (F) aceite de CBD al 0,6 % (G) aceite de CBD al 0,8 %