



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL CROTON LECHLERI
(SANGRE DE GRADO) Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL
0.12% SOBRE LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS. AREQUIPA-2016

Tesis presentada por la Bachiller:
YAKELIN FURA CHOQUEHUANCA
para optar el Título Profesional de
Cirujano Dentista

AREQUIPA – PERÚ
2017

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi principal guía, darme la sabiduría, paciencia y fuerza necesaria para salir adelante y lograr alcanzar esta meta.

A mis padres Adolfo y Agustina que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento, por sus consejos, por la constante motivación y su gran amor lo cual me ha permitido ser una persona de bien y hoy cumplir con mi meta, por todo esto les agradezco de todo corazón el que estén conmigo a mi lado

A mis hermanos Yovana, Armando y Roberto por estar conmigo y apoyarme siempre, los quiero mucho.

A mi hermano Carlos por su apoyo incondicional y constante presión durante toda la carrera.

A mis sobrinos por su amor, comprensión, paciencia y apoyo.

A mis amigos quienes siempre estuvieron a mi lado para compartir mis sueños hacerlos realidad, en especial a mis mejores amigas Mafer y Belen que en todo momento estuvieron siempre conmigo en los malos y buenos momentos, las quiero mucho.

AGRADECIMIENTO

Un agradecimiento muy especial a mi asesor director la Dra. Lindsay Calderón por su orientación e invaluable asesoría y apoyo en la realización de mi trabajo de investigación. A mi asesor metodológico el Dr. Xavier Sacca Urday y a mi asesor de redacción la Dra. María Luz Nieto Muriel, quienes me brindaron su apoyo desinteresado e incondicional durante la realización de mi trabajo de investigación, por ser unos excelentes profesionales a ellos mi eterna gratitud.

A todos los doctores que me brindaron su apoyo, tiempo y experiencia en la elaboración de este proyecto.

ÍNDICE

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	3
1. TÍTULO.....	4
2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	4
3. PROBLEMA DE INVESTIGACION	5
4. ÁREA DE CONOCIMIENTO.....	5
5. OBJETIVOS	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	7
A. MARCO TEÓRICO	8
1. SANGRE DE GRADO (CROTON LECHLERI	8
1.1. Identificación de la especie	8
1.2. Nombres científico	8
1.3. Nombres comunes.....	9
1.4. Descripción botánica	9
1.5. Ecogeografía	10
1.6. Hábitat y distribución	11
1.7. Ubicación en el Perú	11
1.8. Cultivo	10
1.9. Composición química: Principios activos	10
1.10. Indicaciones terapéuticas y dosis	12
1.11. Contraindicaciones y precauciones	13
1.12. Toxicología	13
1.13. Actividad farmacológica	14
2. CLORHEXIDINA	17
2.1. Grupo	17

2.2. Concepto	17
2.3. Historia	18
2.4. Estructura química.....	18
2.5. Espectro de acción	19
2.6. Inhibición de la biopelícula dental	19
2.7. Mecanismo antibacteriano	20
2.8. Mecanismo de acción	20
2.9. Espectro antibacteriano	22
2.10. Indicaciones.....	23
2.11. Toxicidad	23
2.12. Efectos Colaterales.....	24
2.13. Aplicaciones	24
3. MICROBIOLOGÍA ORAL.....	26
3.1. Formación y desarrollo de la biopelícula de la placa.....	27
3.2. Microorganismos relacionados con la caries dental	28
3.3. Pruebas microbiológicas de actividad de caries.....	30
LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS	30
a. Características Microbiológicas	30
b. Morfología	32
c. Metabolismo	32
d. Cultivos	32
e. Hábitat.....	33
f. Factores de virulencia	33
g. Poder patógeno	34
B. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	35
Antecedentes internacionales	35
Antecedentes nacionales.....	36
Antecedentes locales.....	38
C. HIPÓTESIS	40

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	41
1. ÁMBITO DE ESTUDIO	42
2. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	42
3. UNIDADES DEL ESTUDIO	43
4. POBLACIÓN Y MUESTRA	43
5. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS	45
6. PRODUCCIÓN Y REGISTRO DE DATOS.....	46
7. TÉCNICA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	49
8. RECURSOS	50
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	54
2. DISCUSIÓN.....	71
3. CONCLUSIONES	73
4. RECOMENDACIONES.....	74
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
ANEXOS.....	79

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo determinar el efecto antibacteriano del Croton Lechleri (Sangre de Grado), en las concentraciones del 50%, 75% y 100%, sobre el Lactobacillus Acidophilus, así mismo comparar sus efectos con el Gluconato de Clorhexidina al 0.12%.

Para tal fin, se trabajó con una muestra representativa de 6 unidades de estudio para cada concentración y para el grupo control (Gluconato de Clorhexidina al 0.12%); las cuales reunieron los criterios de inclusión y exclusión propuestos.

La técnica de recolección de datos que se utilizó fue la observación laboratorial, en tanto, el instrumento que se aplicó fue la hoja de recolección de datos, de elaboración propia.

La investigación corresponde a un nivel de tipo experimental, ya que probamos el efecto del Croton Lechleri sobre el Lactobacillus Acydophilus; además correspondió a un diseño prospectivo, longitudinal, laboratorial y comparativo.

Los resultados demostraron que, comparando las tres concentraciones del Croton Lechleri (Sangre de Grado), tanto a las 24 como 48 horas, el que obtuvo los mejores resultados fue la que tuvo la concentración del 100%. Así mismo, cuando se comparó esta concentración con el Gluconato de Clorhexidina al 0.12%, obtuvimos que a las 24 horas el Croton Lechleri no era igual de competitivo, sin embargo a las 48 horas se igualó con el grupo control, demostrando igual eficacia sobre la bacteria motivo de investigación.

Palabras clave:

Efecto antibacteriano. Croton lechleri. Gluconato de Clorhexidina al 0.12%. Lactobacillus Acydophilus

ABSTRACT

The aim of the present investigation was to determine the antibacterial effect of Croton Lechleri (Grade Blood) at 50%, 75% and 100% concentrations on Lactobacillus Acidophilus and to compare its effects with Chlorhexidine Gluconate at 0.12%.

For this purpose, we used a representative sample of 6 study units for each concentration and for the control group (0.12% Chlorhexidine Gluconate); Which met the proposed inclusion and exclusion criteria.

The technique of data collection that was used was laboratory observation, while the instrument that was applied was the data collection sheet, made by itself.

The research corresponds to an experimental type level, as we tested the effect of Croton Lechleri on Lactobacillus Acydophilus; Also corresponded to a prospective, longitudinal, laboratory and comparative design.

The results showed that, comparing the three concentrations of Croton Lechleri (Grade Blood) at both 24 and 48 hours, the one that obtained the best results was the one that had the concentration of 100%. When comparing this concentration with 0.12% Chlorhexidine Gluconate, we found that at 24 hours the Croton Lechleri was not as competitive, however, at 48 hours, it was equal to the control group, showing the same efficacy Bacterium research motif.

Key words:

Antibacterial effect. Croton lechleri. Chlorhexidine Gluconate 0.12%. Lactobacillus Acydophilus.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1. TÍTULO

Efecto antibacteriano in vitro del *Croton lechleri* (sangre de grado) y Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre el *Lactobacillus acidophilus*.
Arequipa-2016

2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

La cavidad oral se considera un ecosistema microbiano complejo, en la cual habitan más de 500 especies de bacterias en forma saprofitaria y cuya importancia se refleja de manera muy directa, cuando se da un desequilibrio ocasionando el inicio y desarrollo de enfermedades características de la cavidad oral como caries y enfermedad periodontal ya que la placa dental está íntimamente ligada a tal patología. En el Perú el Ministerio de Salud, notifica una prevalencia de 95% caries dental hasta el año 2014.

El número de *Streptococcus mutans* y de *Lactobacillus acidophilus* presentes en saliva son un indicador de susceptibilidad. Son los principales microorganismos en el inicio y la progresión de la caries dental.

Por otro lado, la medicina natural a partir del empleo de plantas por sus propiedades antimicrobianas, son muy utilizadas hoy en día con fines terapéuticos. La sangre de grado es una de las plantas más usadas en la fitoterapia durante varios años. Botánicamente conocida como *Croton lechleri*, se conoce como el látex que se extrae de un árbol amazónico (*Croton lechleri*) de la selva peruana. Posee potencial terapéutico gracias a su composición química. De acuerdo a estudios realizados, se le atribuye propiedades farmacológicas, destacando su actividad antiviral, antibacteriana, bacteriostático, bactericida, fungicida, cicatrizante, antiinflamatoria.

Si bien es cierto los estudios investigativos demuestran que la Sangre de Grado tiene actividad antimicrobiana “in vitro” sobre *Porphyromona Gingivalis* y también sobre el *Streptococcus Mutans*, es importante saber el

grado de actividad antibacteriana sobre el *Lactobacillus Acidophilus* ya que está presente en la cavidad bucal y su concentración varía según el estado de salud oral incrementando considerablemente con la caries. Se aíslan preferentemente en la saliva, el dorso de la lengua y las placas supragingivales y radiculares, siendo los primeros relacionados con el avance de la caries en dentina.

Teniendo en cuenta las propiedades curativas y el efecto antibacteriano que presenta el *Croton lechleri*, se considera oportuno saber su grado de efectividad comparado al Gluconato de clorhexidina para proporcionar una herramienta de origen natural y que se encuentre al alcance de la población de escasos recursos y lo que es más importante aminorar efectos adversos que las sustancias químicas en general aportan.

Así mismo, este trabajo es factible pues se cuenta con los recursos necesarios para llevarlo a cabo.

3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

¿Tendrá efecto antibacteriano in vitro el *Croton lechleri* (sangre de grado) y Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre el *Lactobacillus acidophilus*?

4. ÁREA DE CONOCIMIENTO

- A. Área : Ciencias de la Salud
- B. Campo : Odontología
- C. Especialidad : Cariología y Microbiología
- D. Línea : *Croton lechleri* y *Lactobacillus acidophilus*
- E. Tópico : Efecto Antibacteriano

5. OBJETIVOS:

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Croton lechleri* (sangre de grado) al 50% sobre el *Lactobacillus acidophilus*.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Croton lechleri* (sangre de grado) al 75% sobre el *Lactobacillus acidophilus*.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Croton lechleri* (sangre de grado) al 100% sobre el *Lactobacillus acidophilus*.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre el *Lactobacillus acidophilus*.
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del *Croton lechleri* (sangre de grado) al 50%, 75% y 100% sobre el *Lactobacillus acidophilus* con el Gluconato de clorhexidina al 0.12%.

CAPÍTULO II:

MARCO TEÓRICO

A. MARCO TEÓRICO:

1. SANGRE DE GRADO (CROTON LECHLERI):

Es un líquido viscoso de color rojo sangre, ¹ es una especie forestal amazónica que en los últimos años ha incrementado su demanda en el mercado nacional e internacional por las propiedades medicinales atribuidas al látex.²

Se utiliza desde tiempos ancestrales en la medicina tradicional como un efectivo cicatrizante de heridas externas, contra las úlceras y otras enfermedades.³

Los quichuas de la Amazonia ecuatoriana conocen a la especie croton lechleri como “ian iqui” y usan el látex para tratar “los fuegos” de las mucosas bucales o de la lengua y para la limpieza dental.⁴

El género más representativo de especies productoras de sangre de grado es Croton (Euphorbiaceae), y la especie más utilizada y estudiada es *C. lechleri* Muell.-Arg.¹

1.1. Identificación de la especie ⁵

Reino:	Plantae
Filo:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Euphorbiales
Familia:	Euphorbiaceae
Género:	Croton
Especie:	Lechleri

1.2. Nombre científico: Croton Lechleri Muell. Arg.⁵

1.3. Nombres comunes:

Palo de grado, sangre de drago, sangre de grado y Yahuar huiqui (quechua).⁴

En la región amazónica, especialmente en Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia se conocen con el nombre de “sangre de grado” a unas pocas especies de Croton productoras de un látex de color sangre en la que se han identificado varias propiedades medicinales. ⁴

1.4. Descripción botánica

- DESCRIPCIÓN: La sangre de grado es un árbol de copa amplia, que alcanza los 10-20 m de altura y redondeada.⁵
- TALLO: Cuya corteza externa del tallo, de color gris blanquecino, exuda un látex de color vino o rojo oscuro de varias tonalidades que es utilizado por la industria farmacéutica.^{5,3}
- RAÍZ: Raíz en forma cilíndrica cónica, con la raíz principal más desarrollada que las secundarias.⁵
- HOJAS: Sus hojas son simples con dos glándulas en la base, alternas, a veces opuestas de 12-20 cm de largo por 5- 14 cm de ancho, las hojas más tiernas de color blanco-rojizo.^{5,3}
- INFLORESCENCIA: Posee una inflorescencia terminal en forma de racimos, y presenta flores de color ámbar con numerosos estambres.³
- FRUTOS: Sus frutos, de forma capsular globoso, miden 3 mm de largo por 4.5 mm de ancho.^{3,5}
- SEMILLAS: Las semillas de la sangre de grado son lisas con carúncula.³

1.5. Ecogeografía

a. Características edáficas:⁶

- Suelos: Arcilloso, limo-arcilloso, franco-arcilloso, franco-limo arcilloso.
- Hábitat: Zonas no inundadas y principalmente en las depresiones de las quebradas.

b. Características climáticas:⁶

- Clima: Cálido y húmedo
- Temperatura (%): 15-35
- Precipitación (mm): 150-500
- Humedad atmosférica (%): 65-85

c. Características fitogeográficas:⁶

- Distribución altitudinal: 80-1000 m.s.n.m
- Distribución latitudinal: 05°- 17° L.S
- Distribución por departamentos: Amazonas, San Martín, Huánuco, Junín, Loreto, Madre de Dios, Cusco y Puno

d. Sistematización fitogeografía:⁶

- Pulgar (1967): Región Rupa-Rupa, Región Omagua
- Tosí (1960): Bosque Húmedo Subtropical (bh-S). Bosque Muy Húmedo Tropical (bmh-T). Bosque Muy Húmedo Pre Montano Tropical (bmh-PT). Bosque Muy Húmedo Subtropical (bmh-S)
- Brack (1986): Ecorregión de la Selva Alta, Ecorregión del Bosque Tropical Amazónico
- Mostacero y Cols (1996): Dominio Amazónico Provincia Montana; Provincia de la Hylaea

e. Características fenológicas:⁶

- Época de floración: Mayo a junio
- Época de fructificación: Julio a setiembre
- Formas de propagación: Semillas

1.6. Hábitat y distribución

El *Croton lechleri* es una especie nativa de Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Brasil, ¹ que ha sido introducida a otros países como especie ornamental.³

Originario de las regiones tropicales y subtropicales de Sudamérica (localizada principalmente en el Perú).⁵

La sangre de grado crece en las ecorregiones de la Selva Alta y Selva Baja, tanto de manera silvestre en las cumbres montañosas como cultivadas y regiones selváticas; especialmente en bosques húmedos.
^{3,5}

1.7. Ubicación en el Perú

Distribuido en la región amazónica, en un rango altitudinal de 705-1660 msnm; en los departamentos de Amazonas, Cusco, Huánuco, Junín, San Martín, Madre de Dios y Loreto. En los valles de Oxapampa, Entaz, Cacazú y Palcazú del departamento de Pasco.⁵

1.8. Cultivo

Se desarrolla en clima tropical y subtropical hasta los 2,000 msnm, en suelos arcillosos y areno-arcillosos, profundos o mediamente profundos ricos en nutrientes, con buen drenaje, buena aireación, y moderadamente ácidos o alcalinos. Se propaga por semillas, las mismas que deben ser sembradas al inicio de la época de lluvias.³

1.9. Composición Química: Principios activos

En 1989 algunos científicos peruanos y norteamericanos analizaron la composición química de la planta y descubrieron el principio activo de la especie, el cual denominaron Taspina, que tiene la capacidad de propiciar la migración de fibroblastos en la piel, lo que acelera el proceso de cicatrización.³

Corteza: (látex) se identificó esteroides, cumarinas, alcaloides [tipo isoquinoléico y fenantrénico (taspina)]. Polifenoles, diterpenos, flavonoides, taninos (54%), saponinas (baja concentración), antocianinas, proantocianidina-1, proantocianidina-4, proantocianidina SP-303 ; antracenos; compuestos reductores (4%) como lactosa, galactosa y ramnosa, triterpenoides, compuestos fenólicos (ácido gálico); además contiene vitamina A, E y C, contiene ácidos orgánicos de carácter débil, almidón , celulosa, grasas, lignanos (dihydrobenzofurano 3,4-O-dimetilcedrusina y dihydrobenzofurano 4-O-metilcedrusina), mucílagos, proteínas, catequinas (epicatequina, galocatequina , epigallocatequina).⁵

Hojas: Alcaloides, Aporfina (talliporfina y glaucina).⁵

1.10. Indicaciones terapéuticas y dosis

La Sangre de grado suele consumirse en distintas aplicaciones: por vía oral, diluida en un poco de agua y tópicamente, se puede aplicar directamente (erosiones, heridas, etc.) y en forma de colutorios, también diluida en un poco de agua. ⁴

- Usos etnomedicinales: El látex es empleado como cicatrizante tanto externo como interno (ulceras estomacales e intestinales, diluir 5 gotas de látex en medio vaso de agua y tomar una vez al día durante 30 días). Asimismo es usado para curar heridas y para baños vaginales antes del alumbramiento (40 gotas de látex diluida en agua tibia), antiinflamatorio, antiviral y antibacteriano, antiséptico, antidiabético, hipotensor, anticancerígeno, antioxidante, vulnerario.⁶
- 4 a 5 gotas de látex diluidas en medio vaso de agua tibia se hacen gargarismo contra ulceras de la garganta y amigdalitis. La sangre de grado tiene propiedades hemostáticos, pues acelera la curación de las heridas. También empleado para leucorreas y fracturas. También contra el reumatismo.⁶

- Anticonceptivo: Tomar el látex, 10 gotas todas las mañanas durante 10 días desde el inicio de la regla.⁷
- El látex de la sangre de grado se usa principalmente como cicatrizante de heridas.³
- Esta planta actúa contra las úlceras estomacales, hinchazones reumáticas, afecciones dérmicas, fiebre, leucorrea, cáncer, diarrea, faringitis y amigdalitis, gonorrea, hemorroides, paludismo, tumores, anemia y úlceras estomacales e intestinales.³
- También se le utiliza como calmante en el sobrepeso, luego de una extracción dental y como antiséptico vaginal.³

1.11. Contraindicaciones y precauciones

El uso excesivo del látex puede producir estreñimiento, ceguera, trastornos estomacales y circulatorios. No usar indiscriminadamente ni en grandes heridas causadas por quemaduras, por la actividad citotóxica de la taspina; su uso en úlcera duodenal puede causar lesiones del hígado.⁵

1.12. Toxicología

Basado en los estudios cromatográficos y de resonancia magnética nuclear, Pieters (1992), concluyó que la sangre de grado no contiene cantidades significativas de esteroides diterpenicos promotores de tumores. Entonces, no hay justificación para detener su uso, tampoco observaron ningún efecto cancerígeno o promotor de tumores en sangre de grado, extraído de *Croton lechleri* de Perú.³

La taspina del látex de *C. lechleri*, ha demostrado no ser tóxica para fibroblastos humanos. Las pruebas realizadas en laboratorio comprobaron los resultados obtenidos in vitro y, demostraron, además, la ausencia de toxicidad.⁵

1.13. Actividad farmacológica

Entre sus efectos más importantes debemos destacar su actividad como astringente, cicatrizante y hemostática, lo que puede permitir tratar con eficacia diferentes tipos de heridas en piel y mucosas, incluso las que presentan dificultad como úlceras por decúbito ó varicosas. ¹

También se ha podido demostrar que presentan acción antibacteriana, antimicótica y antivírica, lo que mejoraría su eficacia en los malestares antes mencionados como ciertos tipos de gastritis, cuadros de úlceras gastro-duodenales, con la finalidad de detener el sangrado inicialmente y posteriormente cicatrizar las lesiones; en estos casos se toma por vía oral con un poco de agua 2 ó 3 veces al día. Así mismo, suele consumirse en las erosiones y/o infecciones de mucosas de la cavidad bucal y oro faríngeo como gingivitis y sangrado de encías, utilizada en forma de colutorios, disuelta en agua, faringe-amigdalitis crónica y aguda haciendo gárgaras disuelta en un poco de agua, epistaxis (aplicación tópica), etc. ^{4,1}

▪ **Actividad cicatrizante:**

La taspina de grado estimula la contracción de la herida, ayuda en la formación de la costra y regenera rápidamente la piel ayudando a la formación de colágeno. A esta acción contribuyen la taspina, la 3'-4-O-dimetilcedrusina y los polifenoles (catequinas y proantocianidinas).¹

La taspina promueve las fases tempranas de la curación de una herida y su mecanismo de acción podría estar relacionado con la estimulación de la quimiotaxis de fibroblasto.¹

Además, se ha estudiado el efecto de la taspina en el tratamiento de la úlcera gástrica aguda inducida por indometacina en rata. La taspina reduce los índices de ulceración, aumenta el espesor y la consistencia de la capa de mucus gástrico.¹

El lignano 3'-4-O-dimetilcedrusina también interviene en la acción de curación de heridas con sangre de grado.¹

Sangre de grado facilita la curación úlceras gástricas, reduciendo la actividad mieloperoxidasa, el tamaño de la úlcera y la sepsis. Los polifenoles juegan un papel importante en la acción cicatrizante del látex. Las proantocianidinas estimulan la contracción de la herida y la formación de una costra oscura que recubre la herida.¹

▪ **Actividades antimicrobiana y antiviral:**

Numerosos estudios avalan la actividad antimicrobiana y antiviral de sangre de grado, y principalmente del SP-303. Esta proantocianidina inhibe diferentes virus DNA y RNA, incluyendo el virus herpes (HSV tipo 1 y 2), el virus de la hepatitis (A y B), el virus de la influenza A (FLU-A) y el virus de la parainfluenza (PIV). En un estudio in vitro determinaron que el extracto del látex tiene efecto antibacteriano sobre *S. aureus* y *S. epidermidis* y no posee efecto sobre *P. aeruginosa*.⁵ También es efectivo contra el virus RSV (virus sincitial respiratorio).¹

La actividad viral contra los dos tipos de virus herpes simple, incluye también el tipo I timidinaquinasa deficiente, ya que impide la penetración del virus en la célula. Sin embargo, es inactivo frente el citomegalovirus humano.¹

En ensayos vaginales en ratón, reduce significativamente la formación de la lesión cuando se aplica tópicamente al 5-10%. EL SP- 303 se encuentra en fase clínica como tratamiento tópico de pacientes de SIDA con lesiones recurrentes por herpes genital y como terapia de diarreas en enfermos de SIDA. Además se ha demostrado su eficacia en el tratamiento de las producidas por la toxina colérica.¹

Varios compuestos flavonoides, polifenólicos y diterpenos de sangre de grado de *C. lechleri* presentaron una potente actividad antibacteriana, debida a metabolitos tales como él: ácido clorequínico, las coberinas A y B y el 1,3,5-trimetoxibenceno y el 2,4,6-trimetoxifenol son muy activos frente a *B. subtilis*, entre otros más potentes que la penicilina y el cloramfenicol.¹

Compuestos fenolicos simples. Son los compuestos fotoquímicas más simples y consisten en un anillo fenolico sustituido. Los lugares y el número de grupos hidroxilo (OH) en el anillo parecen que están relacionados directamente con la toxicidad frente a los microorganismos, de forma que un aumento en la hidroxilación está ligada a una mayor toxicidad.¹

- **Actividad antiinflamatoria**

El alcaloide taspina que se ha considerado como el principio activo responsable de la actividad antiinflamatoria y propiedades de curar llagas.⁷

Se ha estudiado la actividad antiinflamatoria de la taspina en tres modelos farmacológicos. En el modelo del edema inducido por carragenina en la región subplantar de la rata. En el modelo del granuloma inducido por torunda de algodón, la taspina inhibió la formación de granulomas. En el modelo de artritis inducida por un coadyuvante en rata, la taspina inhibió la inflamación.¹

Se ha comprobado que la taspina no es el único responsable de la acción antiinflamatoria. El látex total presenta una potente actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa por vía intraperitoneal, en el modelo del edema inducido por carragenina en la región subplantar de la rata.¹

2. CLORHEXIDINA

Se trata de uno de los antisépticos con mayor aval bibliográfico y uno de los más usados en odontología; la clorhexidina es el antiséptico que posee mayor sustentividad, pero su nivel de desinfección es bajo.⁸ La sustentividad se define como la habilidad de un agente para unirse a las superficies tisulares y para liberar a través del tiempo,⁹ por lo que su efecto antimicrobiano es prolongado.¹⁰

La clorhexidina es un antiséptico catiónico bacteriostático y bactericida, con acción prolongada dependiente de su capacidad de adsorción a las superficies, desde donde se libera con lentitud.¹¹

Empleada para inhibir el desarrollo de la placa bacteriana y prevenir la gingivitis.¹¹

Demostrando ser altamente efectiva en la reducción de la biopelícula (55%) y la gingivitis (45%).⁸

Es un colutorio dental y conservador antiséptico, desinfectante y antibacteriano importante.¹²

2.1. Grupo: Bisbiguanida.¹²

2.2. Concepto

Clorhexidina, una bisbiguanida catiónica, que posee actividad antimicrobiano.⁸

Como es de naturaleza catiónica alcanza su máxima actividad a pH 8, disminuye su efecto a medida que baje el pH y pierde la actividad bactericida por debajo de un pH de 5,2.⁸

Estas bisguanidas o bisguanidinas deben conservarse en envases de polietileno, porque el vidrio las adsorbe y, como consecuencia, produce un descenso de su concentración.⁸

2.3. Historia

La clorhexidina fue desarrollada en la década de 1940 por Imperial Chemical Industries de Inglaterra y desde 1954 se comercializa como antiséptico para heridas cutáneas luego el antiséptico se utilizó más ampliamente en medicina y en cirugía, incluido su empleo en obstetricia, ginecología, urología y preparación pre quirúrgica de la piel tanto del paciente como del cirujano. En odontología se la usó inicialmente para la desinfección pre quirúrgica de la boca y en endodoncia. El primer estudio definitivo sobre este agente fue realizado por Loe y Schiott (1970), que demostraron que el enjuague durante 60 segundos dos veces por día con 10 mL de solución de gluconato de clorhexidina al 0.2% (dosis de 20 mg) en ausencia de higiene dental normal inhibe el nuevo crecimiento de placa y el desarrollo de la gingivitis. Después se realizaron numerosos estudios de manera que la clorhexidina fue uno de los compuestos más investigados en odontología.¹³

2.4. Estructura química

La clorhexidina es un antiséptico bisbiguanídico con una molécula simétrica consistente en cuatro anillos de clorofenilo y dos grupos biguanida conectados por un puente central de hexametileno. El compuesto es una base fuerte y dicatiónica a niveles de pH superiores a 3,5 con dos cargas positivas a cada lado de un puente de hexametileno. De hecho, es la naturaleza dicatiónica de la clorhexidina, que la torna extremadamente interactiva con los aniones, lo que resulta importante para su eficacia, su seguridad, sus efectos locales adversos y las dificultades en la formulación de los productos.¹³

2.5. Espectro de acción

Ha sido empleado como antiséptico de amplio espectro en medicina desde 1954. De los numerosos agentes antimicrobianos estudiados en diferentes ensayos clínicos, el que ha demostrado presentar beneficios clínicos y microbiológicos es el gluconato de clorhexidina. Los colutorios con clorhexidina se utilizaron primero al 0,12% en Europa y, posteriormente en Estados Unidos, al 0,12%.⁸

La clorhexidina pertenece a la segunda generación de inhibidores de placa convencionales, existiendo ya los de tercera generación que serían los aminos alcoholes los que no tienen acción bactericida sino más bien impiden la formación de la biopelícula.¹⁴

La clorhexidina ha sido utilizada desde la década de 1950 a diferentes concentraciones como antiséptico oral en forma de enjuague, irrigante subgingival y en terapias de prevención de caries. Es posible encontrarla en forma digluconato, gluconato o acetato de clorhexidina, sin que parezcan existir diferencias en cuanto al mecanismo de acción en estas diferentes formas químicas, aunque si se han encontrado en cuanto a su concentración.¹⁵

2.6. Inhibición de la biopelícula dental

La clorhexidina es una sustancia antibacteriana potente pero eso solo no alcanza para explicar su acción antiplaca.¹¹ Actúa inhibiendo la biopelícula dental por los siguientes mecanismos:⁸

- Bloqueando los grupos ácidos libres (sulfatos, carboxilos y fosfatos) de las glucoproteínas salivales. Esto provoca la reducción de la adsorción de las proteínas sobre la superficie

dental y, como consecuencia, evita o retarda la formación de película adquirida.⁸

- Impide la adhesión de las bacterias a las superficies de la película. La clorhexidina se une a las cargas negativas que se hallan sobre la superficie celular bacteriana y, de esta forma, dificulta el mecanismo de adsorción de las bacterias sobre la película adquirida.⁸
- Una vez que la película adquirida está depositada sobre la superficie dental, las bacterias se unen a esta a través de iones Ca^{++} , formando con el tiempo la biopelícula dental; la clorhexidina tiene la capacidad de desplazar el Ca^{++} impidiendo la adherencia y, por lo tanto, evita la sucesión, la agregación y la congregación que determina la biopelícula.⁸

2.7. Mecanismo antibacteriano

- Unión a la pared celular y a los componentes citoplasmáticos con carga negativa, lo que altera el equilibrio osmótico y precipitación de los componentes citoplasmáticos.¹²
- Espectro antimicrobiano: Bacterias grampositivas y gramnegativas, virus envueltos y hongos.¹²

2.8. Mecanismo de acción

1. Desplazamiento del ion calcio de la interface película-bacteria.⁸
2. Adhesión a la película salival adquirida de dientes y mucosa.⁸
3. Adhesión a las bacterias grampositivas.⁸

La clorhexidina tiene una fuerte capacidad para adherirse a las mucosas, a la película adquirida y a los microorganismos, tiene un amplio espectro de actividad contra microorganismos.¹⁸

Las células de los microorganismos asociados con la etiología de la caries dental se encuentran cargadas negativamente, y las moléculas catiónicas del gluconato de clorhexidina son rápidamente absorbidas a los grupos fosfato de dichas células bacterianas; esto altera la integridad de la membrana celular de las bacterias, lo que determina que la droga sea atraída hacia el interior de la célula, donde aumenta la permeabilidad de esta y permite que los componentes de bajo peso molecular como los iones potasio, sean liberados al exterior.⁸

En bajas concentraciones el efecto del gluconato de clorhexidina es reversible y los cambios estructurales producidos en la membrana citoplasmática son menores que los observados cuando las concentraciones son altas. El aumento de la concentración del gluconato de clorhexidina provoca proporcionalmente más daño, hasta llegar a producir la coagulación y la precipitación del citoplasma bacteriano por la formación de complejos fosfatados; esta situación es irreversible.⁸

Causa disrupción de las membranas celulares microbianas y precipitación de su contenido.¹²

La clorhexidina daña las membranas y provoca cambios en su permeabilidad; en bajas concentraciones da como resultado la pérdida de los constituyentes citoplasmáticos de bajo peso molecular, mientras que en concentraciones elevadas determina la coagulación del citoplasma.⁸

2.9. Espectro antibacteriano

Es activa contra bacterias grampositivas y gramnegativas, pero es menos efectiva contra *Pseudomonas* y especies de *Proteus*.⁸

Como colutorio la clorhexidina es utilizada al 0,05%, 0,12% o 2% en nuestro medio; siendo una de sus ventajas el amplio espectro antimicrobiano que posee, ya que actúa sobre bacterias gram – y gram +. Es activa sobre esporas bacterianas, virus lipofílicos, hongos como *Cándida albicans*.¹⁶

La actividad antimicrobiana varía según su concentración: en bajas concentraciones es bacteriostático, mientras que en altas concentraciones es un bactericida eficaz.⁸

Posee una amplia acción antimicrobiana contra un amplio espectro de bacterias grampositivas y gramnegativas (Wade y Addy 1989). También es eficaz contra algunos hongos y levaduras, entre ellas *Cándida*, y contra algunos virus, como el HBV y el HIV.¹³

Su acción tuberculicida y fungicida es mínima, pero es activa in vitro contra muchos virus (VHI, CMV, HVS, gripe).¹²

Este antiséptico se une con fuerza a la membrana plasmática bacteriana y en baja concentración esto da como resultado un aumento de la permeabilidad con pérdida de componentes intracelulares, incluido el potasio.¹³

La clorhexidina en alta concentración causa precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular. En la boca se adsorbe con rapidez a las superficies, que incluyen los dientes recubiertos por una película. Una vez adsorbida y a diferencia de otros antisépticos,

muestra una acción bacteriostática persistente que dura más de 1 hora (Schiott y col. 1970).¹³

Además de la concentración, el efecto producido depende del tipo de especie microbiana.⁸

2.10. Indicaciones

Está recomendada como adyuvante en el tratamiento de gingivitis asociada a la biopelícula dental, enfermedades periodontales necrosantes (GUNA, PUN) en pacientes que no pueden efectuar correctamente la higiene bucal (pacientes con dificultad motora, pacientes con aparatología ortodóncica) con el mismo fin para el mantenimiento del tratamiento mismo, y previo y posterior a una cirugía periodontal.⁸

2.11. Toxicidad

- Baja toxicidad.⁸

La naturaleza catiónica de la clorhexidina minimiza su absorción a través de la piel y la mucosa, incluida la del tubo digestivo. Por consiguiente, no existen informes sobre toxicidad sistémica por aplicación tópica o ingesta ni evidencias de teratogenicidad en modelos animales.¹³

La clorhexidina es bien tolerada incluso en infusión intravenosa en animales y esto ha ocurrido accidentalmente en seres humanos sin consecuencias graves. En Japón se comunicaron menos de 10 casos de reacciones de hipersensibilidad, que incluyeron anafilaxia y se debieron a la aplicación de productos con clorhexidina no patentados en sitios corporales distintos de la boca. La información resultó

insuficiente para confirmar que las reacciones se debieron realmente a la corhexidina.¹³

2.12. Efectos Colaterales

Existen informes sobre efectos colaterales locales del uso de clorhexidina en colutorios (Flotra y col. 1971). Estos efectos colaterales son:¹³

- Coloración parda de los dientes, de algunos materiales de restauración y del dorso de la lengua.¹³
- Alteración del gusto: El gusto salado parece ser afectado de manera preferencial (Lang y col. 1988) y los alimentos y las bebidas quedan con un sabor más bien insulso.¹³
- Erosión de la mucosa bucal.¹³
- Tumefacción unilateral o bilateral de la parótida.¹³
- Aumento de la formación del cálculo supra gingival. Este efecto puede deberse a la precipitación de proteínas de la saliva sobre la superficie dental.¹³

2.13. Aplicaciones

La clorhexidina se utiliza como antiséptico en el lavado de las manos al 4%, para enjuagatorio de las mucosas al 0.12% y para control del biofilm de placa bacteriana. El acetato de clorhexidina al 0,01% se usa como preservador en gotas oftálmicas. Cuando se requieren acciones antibacterianas más prolongadas, pueden emplearse cremas y ungüentos que contengan entre 0,1 y 1% de clorhexidina. La actividad de la droga depende del pH (óptimo, 5,5 a 7) y no debe almacenársela mucho tiempo, porque ello aumenta el pH disminuye su acción.⁸

Efectiva para el control de la placa bacteriana también se recomienda en diversas concentraciones en la irrigación de conductos radiculares.¹⁶

La clorhexidina es el agente antiplaca por excelencia, lo que ha quedado demostrado en innumerables estudios, se utiliza en forma de digluconato.⁸

Se recomienda su utilización como enjuagatorio en solución de digluconato de clorhexidina a 0,12% o en aplicación tópica al 2% dos veces al día.⁹

El paciente se debe enjuagar dos veces al día durante un minuto posterior al cepillado y debe ser combinado con las comidas para evitar las pigmentaciones.⁹

Sin embargo los colutorios con clorhexidina no afecta a los microorganismos dentro de las bolsas periodontales, su efecto es principalmente supragingival, sobre todo si las bolsas periodontales tienen una profundidad de 6 mm o mayores.¹⁶

- Enjuagatorios

El metodo mas utilizado, como coadyuvante de la higiene oral, es sin duda el colutorio en concentración de 0,2% y 0,12%.⁸

La clorhexidina se ha estudiado en un número de ensayos controlados. En estos estudios la reducción de la placa se situo entre el 16 y el 45%, y la reducción de la gingivitis entre el 27 y el 80 %. La duración de un estudio fue de hasta 24 meses y no se detecto ninguna resistencia bacteriana a la clorhexidina.⁸

Anderson ha demostrado la efectividad del gluconato de clorhexidina al 0,12% en colutorios junto con hábitos de higiene bucal en adolescentes con ortodoncia fija y su efecto se mantiene hasta los tres meses siguientes a su uso.⁸

No es aconsejable enjuagarse con agua inmediatamente después de usarlo, ya que puede disminuir su sustentividad.⁸

3. MICROBIOLOGÍA ORAL

La cavidad oral es una de las zonas anatómicas de nuestro organismo con mayor número y variedad de bacterias aerobias y anaerobias. Estos microorganismos interactúan tanto entre sí como con el medio oral estableciendo un complejo ecosistema dinámico donde se pueden encontrar de forma simultánea bacterias resistentes y transeúntes ocasionales.¹⁷

Las bacterias orales son normalmente comensales, en equilibrio con el huésped, pero algunos de sus componentes se convierten en agresivos, produciendo caries y enfermedad periodontal e infecciones cuando hay un cambio en la integridad de la mucosa bucal.⁸

La mayor parte de los microorganismos de la cavidad oral son cocos y bacilos grampositivos y gramnegativos, aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, según el nicho ecológico que los albergue.⁸

Estos nichos ecológicos o ecosistemas primarios poseen diferentes características físicas, químicas y nutricionales, que permitan el desarrollo de unas u otras especies microbianas.⁸

Los ecosistemas primarios orales son:⁸

- Mucosa
- Dorso de la lengua
- Superficies dentales

- Surco gingival
- Materiales biocompatibles
- Saliva ⁸

En el que podemos apreciar especies bacterianas en proporciones diferentes. Así por ejemplo, en el dorso de la lengua, asociada con otras bacterias gampositivas anaerobias facultativas, predomina la especie streptococcus salivarius y en el surco gingival predominan Streptococcus mitis, Streptococcus sanguis y Streptococcus oralis.⁸

El equilibrio de este ecosistema se puede ver perturbado por factores que modifiquen el medio y provocan que algunas especies predominen sobre otras en un hábitat determinado.¹⁵

3.1. Formación y desarrollo de la biopelícula de la placa

En la cavidad oral encontramos de forma natural un gran número de bacterias, cuando estas bacterias se adhieren a las superficies orales forman una película gelatinosa adherente llamada placa dental, que es el principal agente etiológico de la caries, la gingivitis y la enfermedad periodontal, que son las patologías más frecuentes a las que nos tenemos que enfrentar a diario.¹⁰

El control de la placa bacteriana es fundamental para la prevención y tratamiento de estas enfermedades. Sin embargo, la alta incidencia de caries, gingivitis y enfermedad periodontal indica que no es fácil lograr un control adecuado de la placa bacteriana solo con el cepillo dental, para facilitar y mejorar el control de la placa, se usan una serie de agentes químicos antimicrobianos que han sido avalados por numerosos estudios.¹⁰

La caries dental es una enfermedad infecciosa en cuyo comienzo y progresión intervienen microorganismos que conforman la biota habitual autóctona de la cavidad bucal. En la etiología multifactorial para caries dental se incorporan, el nivel socioeconómico, el estilo de vida y el estado de salud general, que a su vez inciden en los hábitos de higiene oral y en el estado del sistema inmune del hospedador.⁸

La función de la saliva es determinante en relación con el flujo, la viscosidad, el tipo de inmunoglobulinas, la presencia de fluoruros y el efecto tampón del Ph.⁸

3.2. Microorganismos relacionados con la caries dental

Los principales microorganismos relacionados con la caries dental son aquellos que participan en:⁸

- El desarrollo inicial de la enfermedad.⁸
- La progresión de las lesiones establecidas.⁸

Los microorganismos más relacionados con el inicio y progresión de la caries dental son: Streptococcus del grupo mutans (S.mutans y sobrinus), especies de Lactobacillus y Actinomyces.⁸

- a. Desarrollo inicial de la enfermedad: Numerosos estudios han demostrado que S. mutans está relacionado con la biopelícula de la placa cariogénica y asociada con su comienzo; al mismo tiempo, en la saliva hay un aumento significativo de estos microorganismos antes de la formación de la caries dental. S. sobrinus es la segunda especie de importancia.⁸
- b. Progresión de las lesiones establecidas: Se incluyen Lactobacilos spp. Actinomyces spp, y otros microorganismos,

capaces de sobrevivir y proliferar en medios ácidos, tal el caso de un hongo *Cándida albicans*. Generalmente estos microorganismos se ven favorecidos por las condiciones del medio promovidas por los estreptococos del grupo mutans.⁸

Los lactobacilos presentan poca afinidad por las superficies dentarias y, en consecuencia, no se los implican en el comienzo de la caries de esmalte; no obstante, son los primeros relacionados con el avance de la caries de dentina; actúan principalmente como “invasores secundarios” que aprovechan las condiciones ácidas y la retentividad existente en la lesión cariosa.⁸

A partir del contacto con nutrientes exógenos (sacarosa) estos microorganismos se relacionan con la película adquirida que cubre las piezas dentarias a través de una matriz de polisacáridos extracelulares y conforman un sistema denominado biopelícula de placa dental en el que crecen, maduran, se multiplican y generan ácidos como producto del metabolismo de los carbohidratos.⁸

Si hay baja disponibilidad de sacarosa en la interface placa-esmalte, el pH tiende a ser alcalino y favorece a los procesos de remineralización; en cambio, ante un exceso de sacarosa el pH se torna ácido y se acelera el proceso de desmineralización del esmalte.⁸

De acuerdo con el tiempo transcurrido, las bacterias del medio bucal se incorporan a la biopelícula, se agregan entre sí, se multiplican y se organizan hasta conformar una biopelícula (placa cariogénica) madura.

8

Si el biofilm no es eliminado, en un hospedador susceptible, con microorganismos cariogénicos y un sustrato hidrocarbonado, los hidrogeniones llegan a la capa subsuperficial del esmalte; la lesión se

trasluce clínicamente como “mancha blanca”. En este momento el proceso de desmineralización supera al de mineralización y si la lesión no se trata, se torna irreversible.⁸

Siguiendo la historia natural de la enfermedad, caries, los microorganismos y sus productos afectan al tejido dentinario.⁸

En las lesiones incipientes de la dentina; la microbiota hallada es similar a la de la biopelícula cariogénica y de las lesiones del esmalte; en las lesiones avanzadas las condiciones del medio cambian y aparece un predominio de microorganismos más proteolíticos.⁸

3.3. Pruebas microbiológicas de actividad de caries

Actualmente el odontólogo general, mediante pruebas sencillas realizadas a partir de la saliva, puede determinar el número de UFC/mL de *S. mutans*, un microorganismo relacionado con el inicio de la caries dental, y de especies de *Lactobacillus* asociadas con la progresión de la caries.⁸

LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

Son acidogénicos y acidúricos. Sobreviven y se reproducen en condiciones de acidez, poseen metabolismo oxidativo y fermentativo.⁸

a. Características Microbiológicas

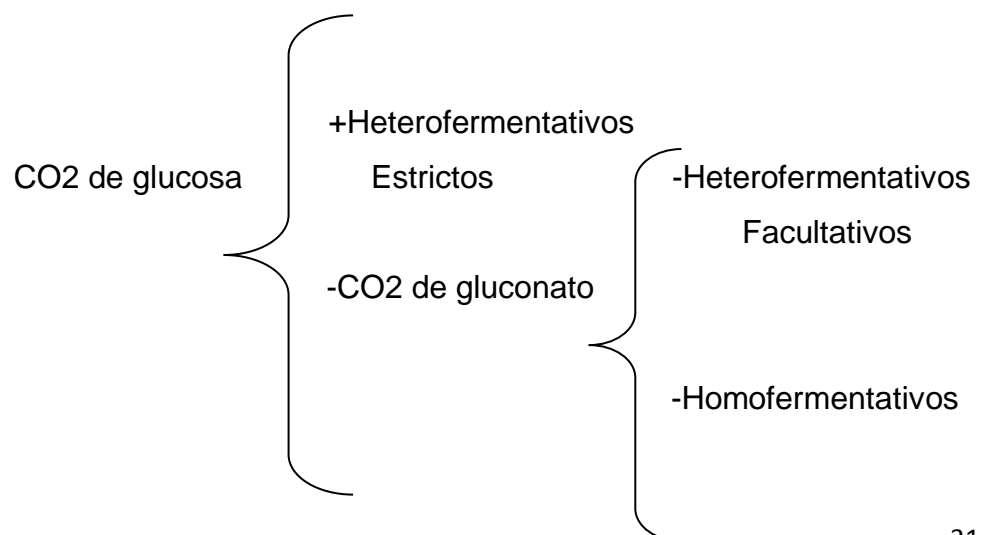
Son bacilos grampositivos no ramificados, anaerobios facultativos muy pleomorfos.⁸ En este género, incluido en la familia Lactobacillaceae, se distinguen más de cuarenta especies que, de acuerdo con sus actividades metabólicas sobre los hidratos de carbono, se clasifican en tres grupos.¹⁸

- Homofermentativos.
- Heterofermentativos estrictos.
- Heterofermentativos facultativos.¹⁸

Se denominan “homofermentativos” las especies que solo producen ácido láctico a partir de la glucosa y “heterofermentativos” las que además de ácido láctico elaboran otros productos, como ácido acético, etanol y dióxido de carbono. En la cavidad bucal los homofermentativos son las más importantes en relación a la caries dental: *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus salivaries*, ambas son homofermentadoras y metabolizan la glucosa por vía glucolítica del ciclo de Embden-Meyerhorf, con elevada producción de ácido láctico. Se las reconoce como “bacterias lácticas”. *L. fermentum* y *L. brevis* son heterofermentadoras estrictos y degradan la glucosa, producen ácido láctico, etanol o ácido acético.¹⁸

Además hay dos especies *L. casei* y *L. plantaum*, que utilizan ambas vías para degradar la glucosa y que se denominan heterofermentadoras facultativas.¹⁸

De acuerdo con lo expuesto, una forma de diferenciar los tres grupos sería el siguiente diagrama.¹⁸



b. Morfología

Desde el punto de vista morfológico los *Lactobacillus* son pleomorfos, pero debido a que se le dividen en un solo plano, nunca presentan ramificaciones; suelen aparecer asociados en parejas, cadenas, empalizadas o frecuentemente aislados. Solo muy escasas especies son móviles por flagelos peritricos.¹⁸

c. Metabolismo

Desde el punto de vista metabólico, presentan escasa o nula actividad proteolítica.¹⁸

Su crecimiento óptimo se consigue en una atmósfera anaerobia, aunque también pueden desarrollarse con bajas concentraciones de oxígeno con un enriquecimiento de un 5-10 por 100 de CO₂.¹⁸

d. Cultivos

En cuanto a los cultivos la temperatura óptima es de 36±1 °C y existe un medio líquido o sólido muy selectivo y que salvo algunas excepciones, solo permite el desarrollo de estos microorganismos.¹⁸

El medio idóneo para el desarrollo de estos microorganismos es el agar y caldo Rogosa-Mitchell-Wiseman, modificado por Rogosa que contiene tres azúcares (glucosa, sacarosa y arabinosa), mezcla heterogénea de sales, extracto de levadura, peptona tripsica, monooleato de Sorbitán, etc, y sobre todo un pH ácido 5,4±0,2. En el caldo, el crecimiento es homogéneo con depósitos en el fondo. Los cultivos desprenden un olor típico a leche fermentada. En el medio sólido, tras incubación en atmósfera de CO₂ a 36±1 °C

durante 48 horas. Las colonias son blancas, convexas, lisas, circulares de bordes regulares, con 2-5 mm de diámetro.¹⁸

e. Hábitat

Las especies del género *Lactobacillus* se encuentran en forma constante en la cavidad oral, la vagina y el aparato digestivo humano y de otros mamíferos. En la cavidad oral se aíslan preferentemente en la saliva, el dorso de la lengua y las placas supra gingivales y radiculares; su concentración variaría según el estado de salud oral, incrementados con la caries.¹⁸

Los lactobacilos se usan ampliamente en las industrias como fermentantes y acidificantes; así, por ejemplo, el yogur y los quesos se obtienen de la fermentación láctica de la leche.¹⁸

f. Factores de virulencia

En los lactobacilos, los factores de virulencia más notables son su acidogenicidad y aciduricidad, sustentados por la presencia de la ATPasa traslocadora de protones, cuya síntesis es regulada y aumenta la cantidad de enzimas de la membrana celular cuando el citoplasma comienza a acidificarse, tiene un valor óptimo a Ph5.⁸

Son particularmente importantes en aquellos microorganismos que se relacionan más con la caries, especialmente los homofermentativos. Tienen poder acidógenos y acidúrico, inician el crecimiento a pH 5, son particularmente acidófilos y ejercen una débil, pero constante, actividad proteolítica.¹⁸

Algunas cepas sintetizan polisacáridos intra y extracelulares a partir de la sacarosa, pero se adhieren muy poco a superficies lisas, por lo

que deben utilizar otros mecanismos para colonizar el diente; estos son, principalmente, del tipo de la unión física por atrapamiento bien porque quedan retenidos en superficies de retención (por ejemplo en fosas y fisuras oclusales o cavidades cariadas) o en la malla adherente que otras bacterias constituyen cuando forman las placas dentales.¹⁸

g. Poder patógeno

Se relacionan con la caries, su falta de poder adhesivo les resta interés como iniciadores del proceso carioso de superficies lisas, de forma que su papel sería más de invasor secundario cuando, al descender el pH a 5,4 o menos, que actúan en la progresión y avance del frente de caries.¹⁸

Sólo excepcionalmente, en zonas de mucha retención podrían ser importantes al comienzo de la caries.¹⁸

Su poder cariogénico es mayor en zonas retentivas en las que quedan atrapados físicamente. En cualquier caso su cantidad en la saliva aumenta en caries activas o en sujetos predispuestos.¹⁸

También se ha implicado a los Lactobacilos en las lesiones de la dentina, probablemente por su actividad proteolítica, aunque ésta no sea muy significativa.¹⁸

Fuera de la cavidad oral, estas bacterias no son consideradas normalmente como patógenas, ya que, salvo excepciones como *L. casei*, dotado de una cápsula polisacárida, carecen de factores de patogenicidad. Sin embargo, se han relacionado con diversos procesos patológicos tales como la endocarditis subaguda, las septicemias y los abscesos.¹⁸

B. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

ANTECEDENTES INTERNACIONALES:

Condo Curipalillo, Alicia Maribel. ESTUDIO IN VITRO DE LAS PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS DEL CROTON LECHLERI (SANGRE DE GRADO) COMO MEDICAMENTO ALTERNATIVO PREVENTIVO EN LA PROLIFERACIÓN DE BACTERIAS EXISTENTES EN CAVIDAD BUCAL DESPUÉS DE UNA EXTRACCIÓN DENTAL. Ambato-Ecuador 2014. (20). Se fundamenta teóricamente y científicamente las propiedades excelentes que posee el Croton Lechleri y una de ellas es la propiedad antibacteriana la cual evita el crecimiento bacteriano ayudando a evitar la infección dando como resultado una correcta y pronta cicatrización de la herida. El estudio in vitro del Croton Lechleri demuestra ser muy eficaz en evitar la proliferación bacteriana de la cavidad bucal, de esta manera queda demostrado teóricamente y científicamente que el Croton Lechleri tiene magnificas propiedades antibacterianas que ayuda a prevenir infecciones post extracción dentaria, al no poseer efectos adversos podría ser utilizada tranquilamente en cavidad oral.

Ramírez Corrales, Lucia. EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTIBACTERIAL IN VITRO DE CROTON LECHLERI FRENTE A AISLAMIENTOS BACTERIANOS DE PACIENTES CON ÚLCERAS CUTÁNEAS. Bogotá-Colombia. Junio 2013. (25). Esta investigación tuvo como objetivo la evaluación del potencial antibacterial in vitro de Croton lechleri frente a aislamientos bacterianos aeróbicos de pacientes con úlceras cutáneas del Sanatorio de Agua de Dios, Cundinamarca, Colombia. Presentando actividad antibacteriana frente a las bacterias aisladas de úlceras cutáneas sobreinfectadas de los pacientes del estudio. Para la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana in vitro, se realizaron pruebas de difusión en disco, dilución en agar y difusión en pozo, métodos estandarizados; usando como sustratos el extracto etanólico y de éter de petróleo de Croton lechleri. Se obtuvieron siete aislamientos bacterianos a partir de las úlceras cutáneas de pacientes del sanatorio, el estudio también incluyó ensayos con cepas de referencia ATCC: Staphylococcus aureus (ATCC) y de Escherichia coli (ATCC) como control. En los ensayos de

sensibilidad antimicrobiana in vitro, se evidencio que los extractos de Croton lechleri fueron efectivos frente a la mayoría de aislamientos bacterianos del estudio, siendo el extracto etanólico el de mayor potencial antibacterial y la técnica de difusión en pozo la que presento mejor sensibilidad y reproducibilidad. Croton lechleri es una planta con importantes propiedades antibacterianas, que la pueden hacer candidata para ser usada en la industria farmacéutica alternativa en el mercado actual.

ANTECEDENTES NACIONALES:

Gálvez Calla, Luis H; Roque Alcarraz, Mirtha; Villavicencio Gastelú, Jorge. PASTA TERAPÉUTICA ANTI-A. PRODUCTO (1RA PARTE) AVANCE. Lima-Perú 2005 (21). Los resultados mostraron una adecuada difusión del principio activo y una buena actividad antibacteriana frente a los grampositivos y gramnegativos. La propiedad biodegradable y reparativa deberá ser evaluada en posteriores investigaciones antes de su aplicación en humanos. Una de las plantas más usadas en la fitoterapia durante años ha sido la popular Sangre de Grado, botánicamente conocida como Crotón Lechleri la cual presenta diversas variedades. A esta planta se le atribuyen procesos curativos que han motivado diferentes investigaciones a nivel mundial, cuyo resultado es el aislamiento de un antibiótico denominado Taspina. De acuerdo con estos estudios, se han hallado evidencias de que la Taspina posee acciones del tipo antiinflamatorio, antibiótico, antimutágeno y regenerador de tejido. Además, el impacto socioeconómico que se nota al disminuir los costos de tratamientos con el uso de productos naturales para las dolencias patológicas a base del látex de Sangre de Grado, está en aumento.

Gálvez Calla, Luis H; Roque Alcarraz, Mirtha; Villavicencio Gastelú, Jorge; Petkova Gueorguieva, Marieta; Madrid Chumacero, Marco. PASTA TERAPÉUTICA ANTI-A. PRODUCTO (2DA PARTE). Lima- Perú. 2006. (22). La formulación final que incluye el extracto acuoso de Sangre de grado, excipientes y perseverantes; fue denominada Pasta Terapéutica Anti-A (PTA), que se logro después de efectuarse los ensayos de estabilidad acelerada, cada

30 días por espacio de tres meses, que consistió en conservar los frascos conteniendo la formulación de un mismo lote de fabricación a temperatura ambiente y 4 °C de refrigeración y evaluar la consistencia, aspecto, color, olor y actividad bactericida. Esta última se realizó mediante el método de difusión en agar y la técnica de excavación placa cultivo, frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas. Los resultados fueron satisfactorios para Gram positivas, como *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Bacillus subtilis* ATCC 6633, en el caso de Gram negativas solo se observó actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 8739. Más no así la *Pseudomonas aeruginosa*. En términos generales el efecto bactericida de la PTA ha quedado demostrado incrementándose en muchos casos, probablemente debido a la cantidad sensiblemente superior del principio activo (Sangre de grado), que para la PTA fue de 150 mg/mL y para la pasta experimental fue de 120 mg/mL.

Milla Comitre, Marcos Ernesto. ESTUDIO SOBRE EL MECANISMO DE ACCIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO DE LA "SANGRE DE GRADO". Lima. Perú. 1985. (24). Investigó sobre su mecanismo de acción, y encontró que la TASPINA sería su principio activo. Además, observó inhibición de la proliferación celular y contracción de heridas, estimulando la migración de fibroblastos. Con el objetivo de comprobar la acción cicatrizante de la "Sangre de Grado", investigó sobre su mecanismo de acción, y encontró que la TASPINA sería su principio activo. La Taspina es un alcaloide secotetrahidroisoquinolínico aislado de la corteza de *Croton lechleri*, (Euphorbiaceae), biológicamente presenta actividad antiinflamatoria es candidato como antagonista del receptor de estrógeno en el tratamiento de cáncer de mama independiente del estrógeno. Además, observó inhibición de la proliferación celular y contracción de heridas, estimulando la migración de fibroblastos.

Tamariz Ortiz, Jesús Humberto; Capcha Mendoza, Roberto; Palomino Cadenas, Edwin Julio; Aguilar Olano, José. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA SANGRE DE GRADO (*CROTON LECHLERI*) FRENTE A *HELICOBACTER*

PYLORI. Lima abril. 2003. (26). Actualmente ha sido aceptado el rol patogénico de *Helicobacter pylori* en la generación de gastritis y úlcera gástrica, así como la relación directa entre la erradicación de la bacteria y la ausencia de complicaciones y posteriores recurrencias. Considerando la actividad anti ulcerosa atribuida a la "sangre de grado" (*Croton lechleri*). El objetivo fue determinar la actividad antibacteriana de la sangre de grado frente a la bacteria. Los resultados muestran que la sangre de grado inhibe el crecimiento de *Helicobacter pylori* en concentraciones elevadas, también se determinó el efecto bactericida del producto concentrado. Estos resultados sugieren que la actividad cicatrizante de la sangre de grado probada en estudios anteriores y complementada con la actividad antibacteriana determinada en el presente estudio, serían las responsables de la capacidad curativa de este producto frente a las úlceras gástricas.

Zapata Cruz, Rosa Elvira. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE LA DROGA COMERCIALIZADA COMO "SANGRE DE GRADO". Lima-Perú. 1987. (28). En ensayos experimentales determinó que la "Sangre de Grado" tiene actividad antimicrobiana frente a los microorganismos gram positivos, entre ellos a: *S. Aureus* 6538 ATCC, *S. Epidermides* 12228 ATCC, y a los gram negativos: *Klebsiella* 602 FDA, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Salmonella* y *Pseudomonas*.

ANTECEDENTES LOCALES:

Zúñiga Talavera, Carla Alejandra. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL CROTON LECHLERI (SANGRE DE GRADO) Y GLUCONATO DE CLORHERXIDINA AL 2% SOBRE PORPHYROMONA GINGIVALIS, AREQUIPA 2009. (27). Se demostró que el *Croton lechleri* (Sangre de grado) si tiene actividad antibacteriana sobre *Porphyromona gingivalis*, en concentraciones mayores al 50%, a las 48%, 72% y 96 horas. La Sangre de grado en concentraciones superiores al 70% presento halos de inhibición mayores a los de Gluconato Clorhexidina al 2%, en los cultivos de *Porphyromona gingivalis*, a pesar de presentar una disminución significativa a partir de las 48 horas en comparación con la Clorhexidina, cuya disminución

solo fue significativa a partir de las 72 horas. El Gluconato de Clorhexidina al 2% presenta mayor efecto antibacteriano sobre *P.gingivalis* que las Sangre de grado A concentraciones menores de 70%, así mismo presenta una disminución no significativa hasta las 72 horas. Por lo tanto se determina que la hipótesis ha sido comprobada, habiéndose demostrado que la Sangre de grado resulta ser igual de eficaz que el gluconato de clorhexidina al 2% a una concentración de 70% (COB), presentando mayor eficacia que la Clorhexidina a concentraciones mayores.

Cayó Cesar, Barrera Rodolfo. EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL CROTON LECHLERI SOBRE CULTIVOS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175). UAP. Huacho. Enero-Junio 2014. (19). La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano in vitro del Croton lechleri en el crecimiento de cepas del Streptococcus mutans (ATCC 25175). Este trabajo responde a un diseño experimental in vitro, de tipo aplicada, transversal, prospectivo, y de nivel descriptivo. Para la cual se usaron concentraciones diferentes del Croton lechleri y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los discos embebidos con cada una de las concentraciones sobre las cepas del Streptococcus mutans (ATCC 25175). Como resultado se obtuvo que las concentraciones de 100% y 75% del Croton lechleri mostraron efecto inhibitorio positivo en los cultivos de cepas del Streptococcus mutans (ATCC 25175), mientras que la concentración del 40% no tuvo efecto inhibitorio en los cultivos de cepas del Streptococcus mutans (ATCC 25175). En conclusión existe un efecto antibacteriano de la Sangre de grado (Croton lechleri) inhibitorio positivo a las en cultivos de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

Juárez Hurtado, Zuleika Valeria. EFECTO DE LA APLICACIÓN TÓPICA DE SANGRE DE GRADO (CROTON LECHLERI) EN LA RECUPERACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS GINGIVALES DESPUÉS DE LAS TÉCNICAS QUIRÚRGICAS PERIODONTALES COMUNES EN PACIENTES DE LA CLÍNICA ODONTOLOGIA DE LA U.C.S.M. 2003. (23). El propósito fundamental de la presente investigación es validar la respuesta clínica de la

encia después de las técnicas quirúrgicas periodontales comunes a la aplicación tópica de Sangre de Grado en pacientes atendidos en la Clínica Odontológica de la U.C.S.M. en el año 2003. Para la realización de este estudio se optó por un grupo de 20 pacientes el cual la técnica empleada fue de observación clínica intraoral. Realizada la técnica quirúrgica periodontal; el lecho quirúrgico fue dividido en dos sectores uno experimental y otro control. Al primero se le realizó la topicación con Sangre de Grado y a ambos se les cubrió con el apósito convencional sin eugenol Perio Bond. Posteriormente se realizó el retiro del apósito y control a los 7 días, 14 días y 21 días respectivamente. Se trata de una investigación cuasi experimental de dicho trabajo ha permitido llegar a resultados que están plasmados en la siguiente afirmación: Siendo la acción cicatrizante la acción farmacológica más importante de la Sangre de Grado es que esta acelera de manera efectiva la recuperación del color, contorno y consistencia gingival en comparación al sector control; sin embargo se obtienen resultados favorables a los 7 días en el tamaño, textura superficial y sangrado gingival, alcanzando la normalidad a los 21 días post operatorios.

C. HIPÓTESIS:

Dado que la sangre de grado es una planta curativa, un látex resinoso que por sus componentes de alcaloides, polifenoles y flavonoides que posee, cuya composición predomina la actividad antimicrobiana, por la presencia en su estructura de hidroxilos fenólicos, que penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana y al combinarse precipitan proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos.

Es probable que la solución Croton Lechleri (sangre de grado) al ser inoculado al cultivo tenga igual efecto antibacteriano que el Gluconato de Clorhexidina al 0.12% sobre Lactobacillus Acidophilus.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

1. ÁMBITO DE ESTUDIO

Nuestro ámbito de estudio fue en la ciudad de Arequipa específicamente en el Laboratorio de la Universidad Católica Santa María en el área de microbiología, pabellón H 402-403.

2. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación es experimental porque se manipuló la variable y es una investigación de tipo laboratorial, por tratarse de una experimentación in vitro del Croton lechleri, para ver si esta causa algún efecto sobre Lactobacillus Acidophilus.

- **De acuerdo a la temporalidad :**

La presente investigación es **longitudinal** ya que los resultados se obtienen en dos momentos de las mediciones de las variables de interés a las 24 y 48 horas.

- **De acuerdo al lugar donde se obtendrán los datos :**

Este estudio se realizó in vitro en el **laboratorio** clínico para evaluar la susceptibilidad de cepas de Lactobacillus Acidophilus ante la solución natural del Croton Lechleri “sangre de grado”.

- **De acuerdo al momento de la recolección de datos :**

El presente estudio es **prospectivo** porque los datos se analizaron transcurrido un determinado tiempo en el futuro.

- **De acuerdo a la finalidad investigativa:**

El trabajo investigativo es **comparativo** puesto que se buscan semejanzas y diferencias entre la solución natural del Croton lechleri (sangre de grado) al 50%, 75% y 100% con el grupo control (Gluconato de clorhexidina al 0.12%).

3. UNIDADES DE ESTUDIO

VARIABLES PRINCIPALES

- *Croton Lechleri* “sangre de grado” (Estímulo)
- Gluconato de clorhexidina al 0.12% (Estímulo)
- Actividad antibacteriana (Respuesta)

4. POBLACIÓN Y MUESTRA

La población está constituida por cepas del *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356.

Tamaño de la muestra

Para la siguiente investigación el tamaño de la muestra se obtuvo a partir de la aplicación de la siguiente fórmula.

$$n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{E^2}$$

Donde:

n = Tamaño de la muestra

Z α = Nivel de confianza: 95% = 1.96

p = Probabilidad que ocurra el fenómeno (99%)

q = 100 – p = 1%

E = Error de muestra = 8%

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96)^2(99)(1)}{8^2}$$

$$n = 5.94 = 6$$

- Grupo Experimental: Esta conformado por 6 placas Petri con Croton lechleri al 50%, 6 placas Petri con Croton lechleri al 75% y 6 placas Petri con Croton lechleri al 100%.
- Grupo Control: Está conformada por 6 placas Petri con Gluconato de Clorhexidina al 0.12%.

a. Criterios de inclusión

- Ambiente adecuado para el crecimiento y desarrollo de la cepa
- Semejante medio de cultivo (el mismo medio de cultivo)
- Cepas de Lactobacillus Acidophilus.
- Igual tiempo de incubación
- Buena formación de halo de inhibición

b. Criterios de exclusión

- Contaminación del ambiente para el crecimiento y desarrollo de la cepa
- Otras cepas
- Deformación del halo de inhibición
- Diferente tiempo de incubación

5. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS:

a. Definición Operacional de Variables

VARIABLE	INDICADORES	SUB-INDICADORES	NATURALEZA	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE
<i>Croton lechleri</i> (sangre de grado)	- Concentración al 50%, 75% y 100%		Cualitativo	Nominal	Estímulo
<i>Gluconato de clorhexidina</i>	- Concentración al 0.12%:				Estímulo
Actividad antibacteriana	Prueba de sensibilidad (halo inhibitorio)	Milímetros	Cuantitativo	Razón	Respuesta

b. Técnicas e instrumentos de recolección.

Se utilizó la técnica de observación indirecta experimental microbiológica para recoger información de la variable respuesta y así mismo se *determinó* el halo inhibitorio del Croton Lechleri (sangre de grado) sobre el Lactobacillus Acidophilus.

INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN:

- Ficha de Observación
- Instrumento: Ficha laboratorial de recolección de datos (ANEXO 1)

6. PRODUCCIÓN Y REGISTRO DE DATOS:

Obtención de la sangre de grado:

La sangre de grado, con el que se trabajó, se obtuvo a través de la empresa de productos naturales Santa Natura®, Croton Lechleri al 100%.

Luego de obtenida la sangre de grado al 100% se procedió a preparar las concentraciones al 50% y 75%.

a. Dilución de la sangre de grado

Con la siguiente formula se preparo las diluciones correspondientes al 50% y 75%

- Sangre de grado al 50%

$$V1.C1=V2.C2$$

$$V1 (100%)= (15ml)(50%)$$

$$V1=7,5 \text{ ml Sangre de grado}$$

Diluir 7,5 ml de sangre de grado con 7,5 ml de agua destilada en un frasco de vidrio de color ámbar previamente esterilizado y

posteriormente se agitó el frasco para su homogenización de las dos sustancias.

- Sangre de grado al 75%

$$V1.C1=V2.C2$$

$$V1(100%)=(15ml)(75\%)$$

$$V2=11,25 \text{ ml Sangre de grado}$$

Diluir 11,25 ml de sangre de grado con 3,75 ml de agua destilada en un frasco de vidrio de color ámbar previamente esterilizado y posteriormente se agitó el frasco para su homogenización de las dos sustancias.

Frascos de vidrio de color ámbar, adecuados para su conservación y posterior utilización estos dejados a temperatura ambiente.

Obtención de la muestra:

Se obtuvo la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356, a través de la empresa GEN LAB DEL PERU S.A.C.

Estas se mantuvieron bajo refrigeración de 2 - 8 °C desde el momento de su adquisición hasta el momento de su reactivación.

Reactivación de la cepa bacteriana:

La cepa es retirada de su envase y siguiendo todas las instrucciones son sembradas (Anexo 3)

La cepa fue activada en caldo Tioglicolato, todo el material utilizado fue previamente esterilizado.

Posteriormente se procedió a colocar 10 ml de caldo tioglicolato en un tubo de ensayo previamente esterilizado. En condiciones estériles con el hisopo de la cepa certificada ATCC® 4356 de *Lactobacillus acidophilus* se recogieron colonias de los envases de Genlab, y se sumergió al tubo de

ensayo de caldo Tioglicolato. Se ajustó el inóculo al 0.5 de la escala de turbidez Mc Farland, que equivale a una concentración de 10^8 UFC/ml.

Finalmente, fueron llevadas a la cámara de anaerobiosis donde se incubó a $37\text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 horas.

Preparación de los medios de cultivo:

Se preparó 100 ml de Agar Rogosa (6.06 g) para 6 placas Petri esterilizadas anteriormente, en matraz de 250ml se diluyó el polvo en agua destilada, luego calentar la solución en la cocina eléctrica hasta que alcanzó su punto de ebullición y se tapó con papel aluminio para después llevar al autoclave por 30 minutos a $121\text{ }^\circ\text{C}$ y se repartió el medio en las 6 placas Petri previamente esterilizadas a razón de un espesor de 4 mm en condiciones de esterilidad (se trabajó todo el procedimiento con mechero bunsen).

Se dejó solidificar a temperatura de medio ambiente por 3 minutos, y se procedió a rotular las placas en la parte posterior divididas con el nombre de la sustancia a investigar y donde se realizaron las excavaciones respectivas.

Solidificado el agar en las placas se procedió hacer la siembra por superficie con una micropipeta. Se tomó 1ml de la cepa reactivada en caldo tioglicolato y se la vertió y se esparció con el asa de Digralsky sobre la superficie del agar.

Establecimiento de los grupos experimentales y controles:

Para el establecimiento de los grupos se procedió al método de difusión por excavación, con una punta de micropipeta esterilizado, se realizó señalizaciones en los lugares donde se realizaron dichas excavaciones de 4.0 mm de diámetro, en cuatro puntos separados en la superficie inoculada del agar, con el asa bacteriológica con cuidado y uniformemente se retiró el

medio de cultivo de las zonas pre-señaladas de modo que, perfora la superficie del agar inoculado (quedando 4 excavaciones en el agar).

Posteriormente con una micropipeta se llevo 30 microlitros de cada sustancia a comparar y se vertió dicha sustancia a cada excavación, la cual fue colocado en el espacio correspondiente de la placa Petri previamente rotulado a razón de 6 muestras para él: Grupo experimental: Croton Lechleri al 50%; 6 muestras para el Grupo Experimental Croton Lechleri al 75%; 6 muestras para el Grupo experimental Croton Lechleri al 100%; 6 muestras para el Grupo Control: Gluconato de Clorhexidina al 0.12%. Luego las placas Petri fueron colocadas en la cámara de anaerobiosis al 6.9% CO₂, 37°C.

Finalmente, se realizó la medición de los halos producidos por cada uno en los agentes microbianos con una regla de Vernier (UBERMANN) correctamente calibrada esto a las 24 y 48 horas.

7. TÉCNICAS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La tabulación de los datos se realizó a través de una matriz de sistematización. Respecto al procedimiento de información, esta se llevó a cabo de manera computarizada. La presentación de los datos se hizo a partir de la confección de tablas de simple y doble entrada y elaboración de gráficos de barras.

El análisis de los datos se llevo a cabo a través de la aplicación de la estadística descriptiva e inferencial.

Respecto a la estadística descriptiva, se calculó medidas de tendencia central (medida aritmética) y de dispersión (desviación estándar, valores mínimo y máximo) de la naturaleza cuantitativa de la variable respuesta.

Para demostrar si existe diferencias o no entre los grupos de estudio (experimentales y controles) se utilizó el estadístico inferencial T de student a un nivel de confianza del 95% (0.05).

El proceso estadístico se desarrolló con la ayuda del software EPI-INFO versión 6.0.

8. RECURSOS

A. HUMANOS:

Investigadora	: Bach. Yakelin Fura Choquehuanca
Asesores:	
Asesor Director	: Dra. Lindsay Calderón Medina
Asesor Metodológico	: Dr. Xavier Sacca Urday
Asesor de Redacción	: Dra. María Luz Nieto Muriel
Colaboradores	: Blga. Rocío Rodríguez Pino

B. FINANCIEROS:

El presente trabajo de investigación, es financiado en su totalidad por la investigadora.

C. MATERIALES

✓ Materiales Biológicos:

- Cepa de Lactobacillus Acidophilus ATCC® 4356, a través de la empresa GEN LAB DEL PERU.S.A.C.
- Croton Lechleri (sangre de grado), a través de la empresa SANTA NATURA.

✓ **Medios de Cultivo:**

- Agar Rogosa.
- Caldo de Tioglicolato

✓ **Instrumentos Mecánicos:**

- Autoclave.
- Balanza analítica
- Cámara de anaerobiosis.
- Mechero bunsen.
- Cocina eléctrica
- Refrigeradora
- Cuenta colonias digital con lupa escualizable
- Gradilla para tubos de ensayo
- Asa de Digralsky
- Asa bacteriológica
- Micropipeta
- Puntas
- Matraz
- Placa Petri
- Probeta graduada
- Tubos de ensayo
- Vernier (UBERMANN)

✓ **Otros:**

- Gluconato de clorhexidina al 0.12%
- Algodón.
- Alcohol de 70
- Alcohol de 90

- Agua destilada.
- Campo de trabajo.
- Gasa.
- Bolsas para desechos biológicos
- Mechero de alcohol
- Fosforo
- Guantes.
- Lejía.
- Pinzas metálicas.
- Papel platino.

✓ **Materiales de escritorio**

- Computadora e impresora.
- Cámara fotográfica digital.
- Escáner digital.
- Fotocopiadora.

D. INSTITUCIONALES:

- Universidad Alas Peruanas – Filial Arequipa.
- Universidad Católica de Santa María.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

TABLA N° 1

COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CROTON LECHLERI SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

Halo Inhibición 24 horas	Grupo de Estudio		
	C.L. 50%	C.L. 75%	C.L. 100%
Media Aritmética	15.13	16.55	18.64
Desviación Estándar	1.33	1.63	1.46
Halo Mínimo	13.58	15.15	17.07
Halo Máximo	16.73	19.56	20.93
Total	6	6	6

Fuente: Matriz de datos

P = 0.003 (P < 0.05) S.S.

INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas de aplicado el estímulo, el halo de inhibición observado en la concentración del 50% del Croton lechleri es en promedio de 15,13, en tanto a la concentración de 75% alcanzó un valor de 16.55 y al 100% este valor llegó hasta 18.64. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Croton lechleri al 100% fue la que mostró mejor ventaja competitiva que las demás en este momento de tiempo.

GRÁFICO N° 1

COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CROTON LECHLERI SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

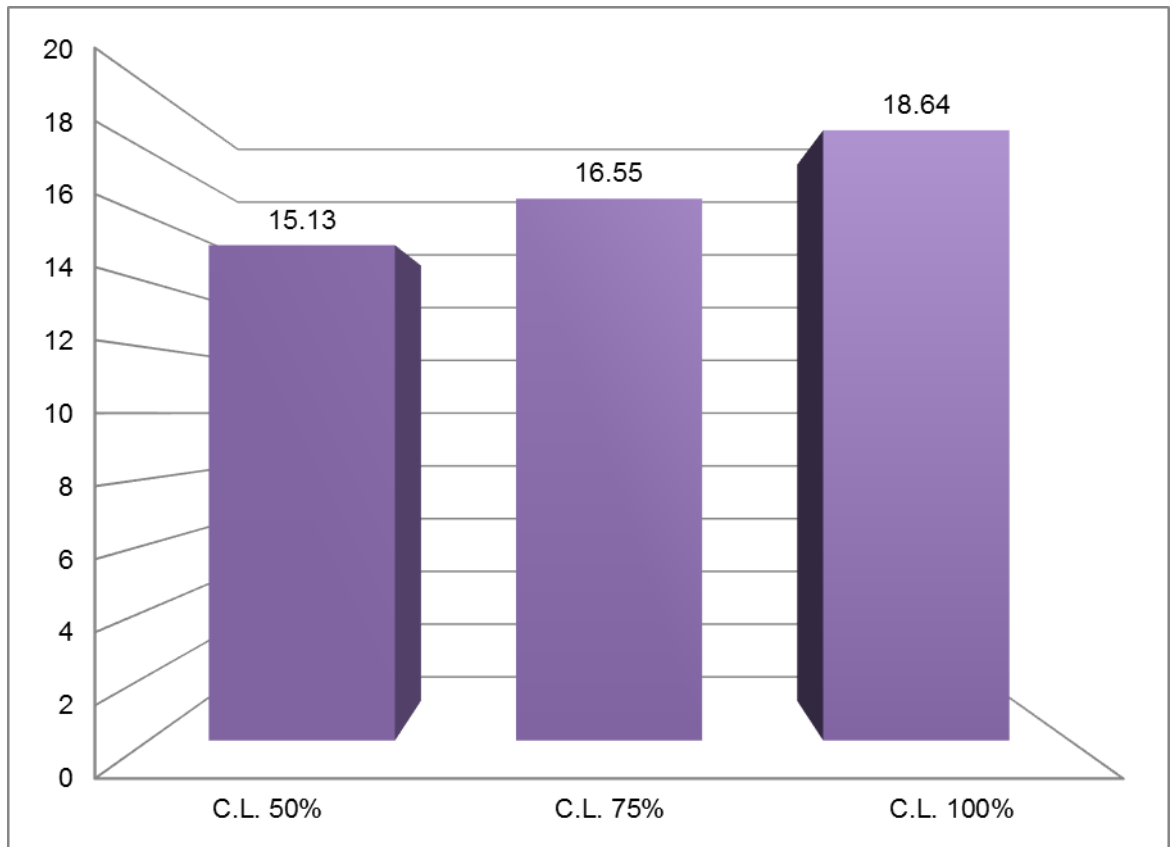


TABLA N° 2

COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CROTON LECHLERI SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

Halo Inhibición 48 horas	Grupo de Estudio		
	C.L. 50%	C.L. 75%	C.L. 100%
Media Aritmética	14.55	15.99	18.04
Desviación Estándar	1.36	1.48	1.27
Halo Mínimo	12.81	14.36	17.03
Halo Máximo	16.68	18.41	20.53
Total	6	6	6

Fuente: Matriz de datos

P = 0.002 (P < 0.05) S.S.

INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar que a las 48 horas de aplicado el estímulo, el halo de inhibición observado en la concentración del 50% del Croton Lechleri es en promedio de 14,55, en tanto a la concentración de 75% alcanzó un valor de 15.99 y al 100% este valor llegó hasta 18.04. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Croton Lechleri al 100% fue la que mostró mejor ventaja competitiva que las demás en este momento de tiempo.

GRÁFICO N° 2

COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CROTON LECHLERI SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

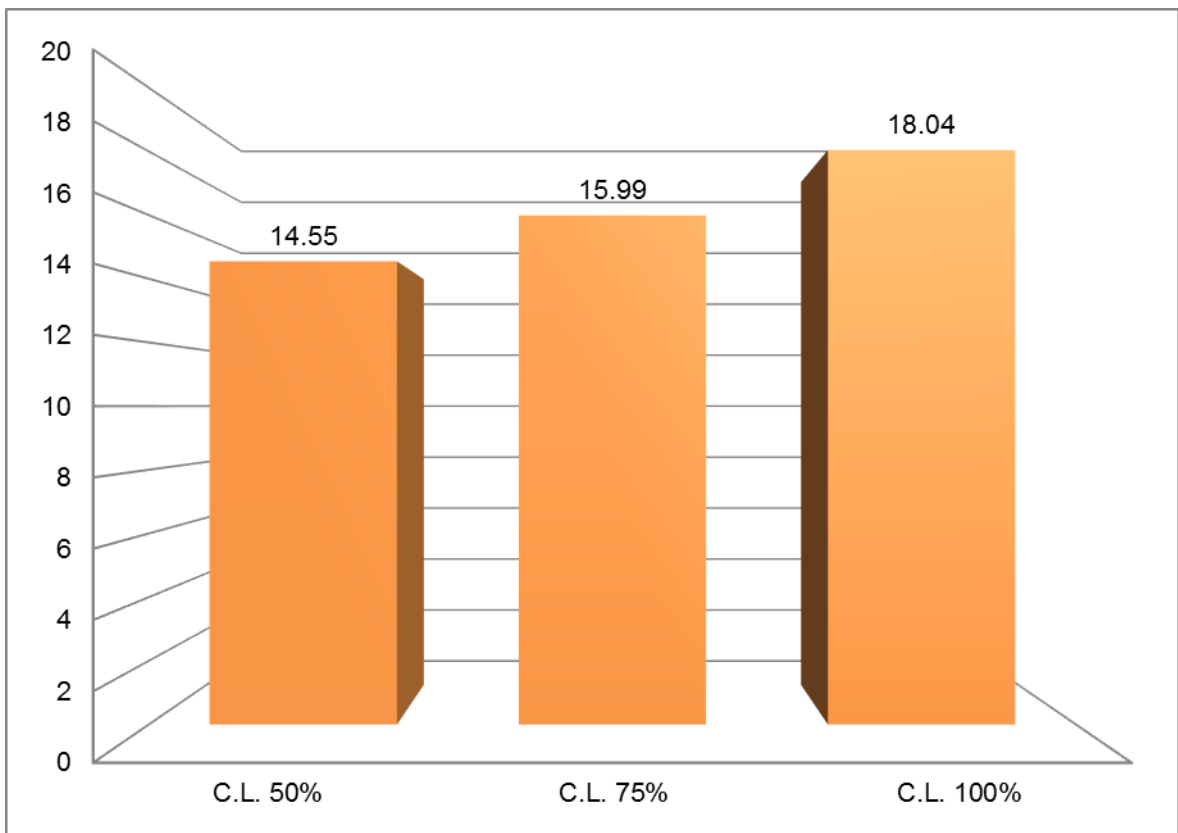


TABLA N° 3

COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL CROTON LECHLERI AL 50% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

C.L. 50%	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	15.13	14.55
Desviación Estándar	1.33	1.36
Halo Mínimo	13.58	12.81
Halo Máximo	16.73	16.68
Total	6	6

Fuente: Matriz de datos $P = 0.479$ ($P \geq 0.05$) N.S.

INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas, el halo formado por el Croton Lechleri al 50% sobre el Lactobacillus Acidophilus fue en promedio de 15.13, a las 48 horas de su aplicación este valor disminuyó hasta 14.55. Según la prueba estadística aplicada, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento del Croton Lechleri al 50% es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

GRÁFICO N° 3

COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL CROTON LECHLERI AL 50% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

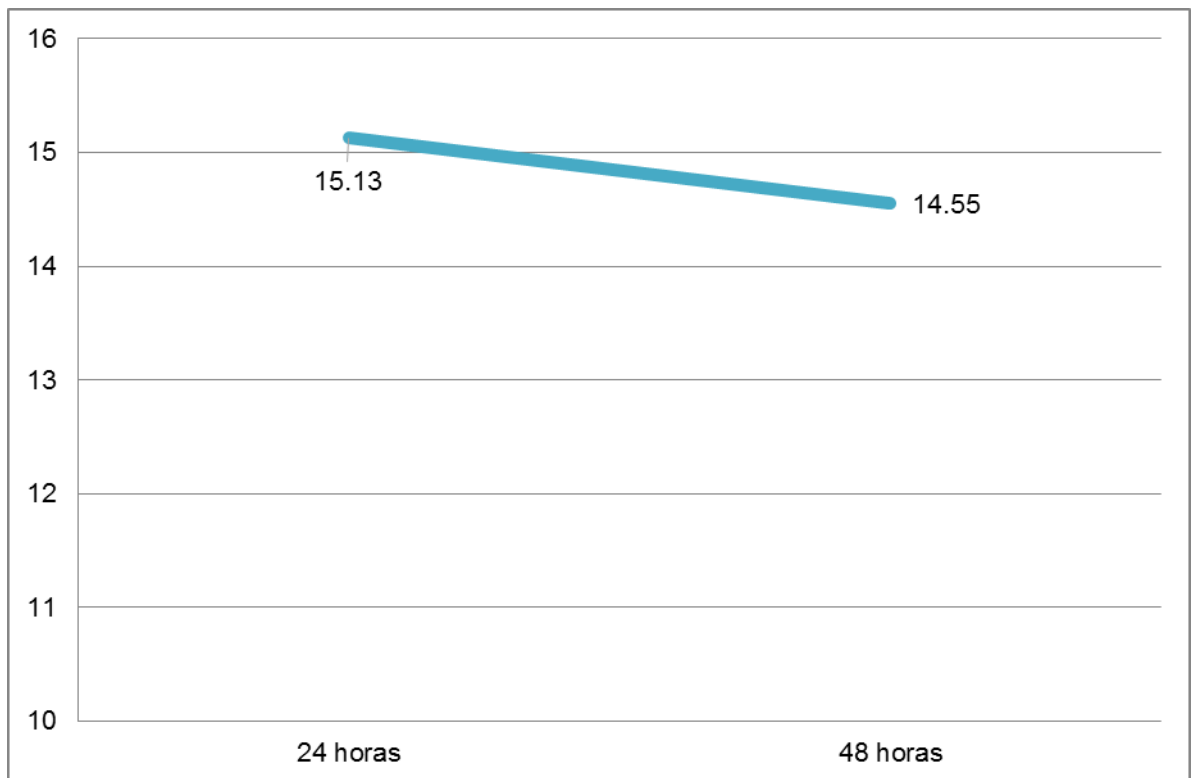


TABLA N° 4

COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL CROTON LECHLERI AL 75% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

C.L. 75%	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	16.55	15.99
Desviación Estándar	1.636	1.48
Halo Mínimo	15.15	14.36
Halo Máximo	19.56	18.41
Total	6	6

Fuente: Matriz de datos $P = 0.546 (P \geq 0.05) \text{ N.S.}$

INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas, el halo formado por el Croton Lechleri al 75% sobre el Lactobacillus Acidophilus fue en promedio de 16.55, a las 48 horas de su aplicación este valor disminuyó hasta 15.99. Según la prueba estadística aplicada, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento del Croton Lechleri al 100% es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

GRÁFICO N° 4

COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL CROTON LECHLERI AL 75% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

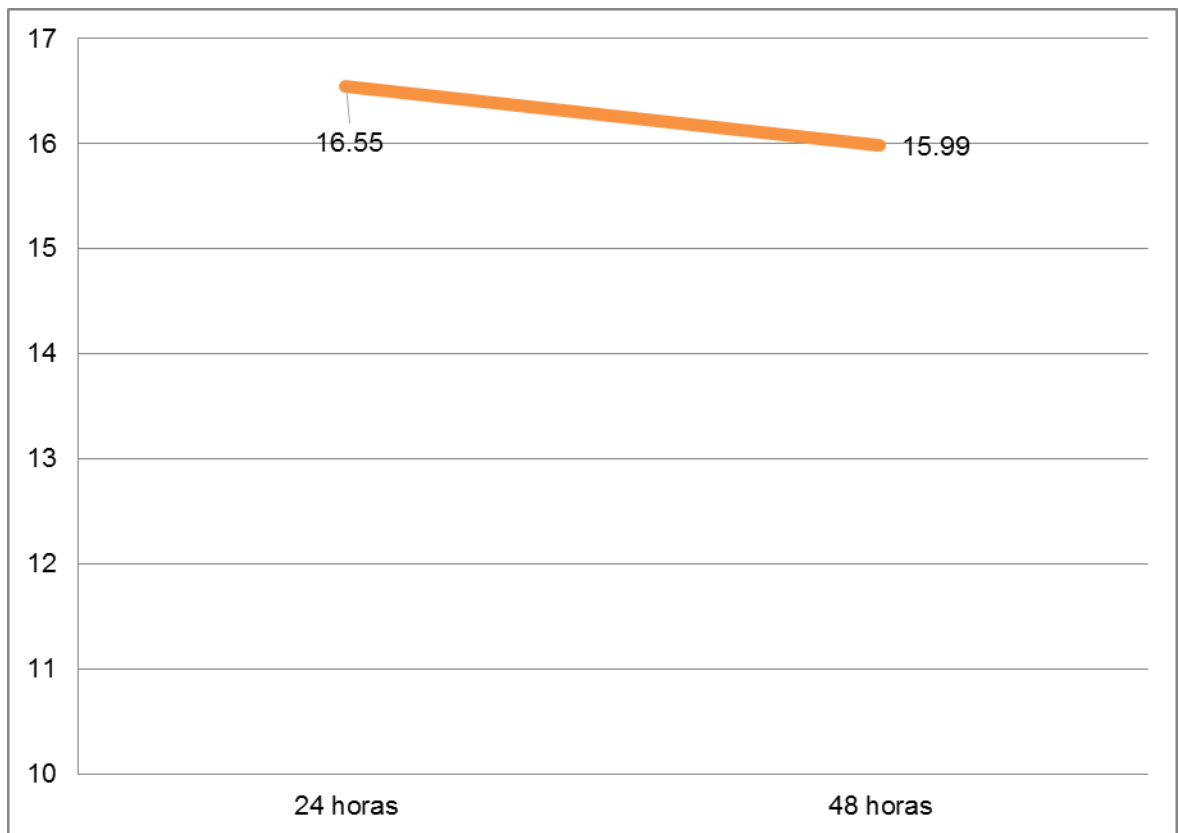


TABLA N° 5

COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL CROTON LECHLERI AL 100% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

C.L. 100%	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	18.64	18.04
Desviación Estándar	1.46	1.27
Halo Mínimo	17.07	17.03
Halo Máximo	20.93	20.53
Total	6	6

Fuente: Matriz de datos $P = 0.464$ ($P \geq 0.05$) N.S.

INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas, el halo formado por el Croton Lechleri al 100% sobre el Lactobacillus Acidophilus fue en promedio de 18.64, a las 48 horas de su aplicación este valor disminuyó hasta 18.04. Según la prueba estadística aplicada, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento del Croton Lechleri al 100% es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

GRÁFICO N° 5

COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL CROTON LECHLERI AL 100% SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

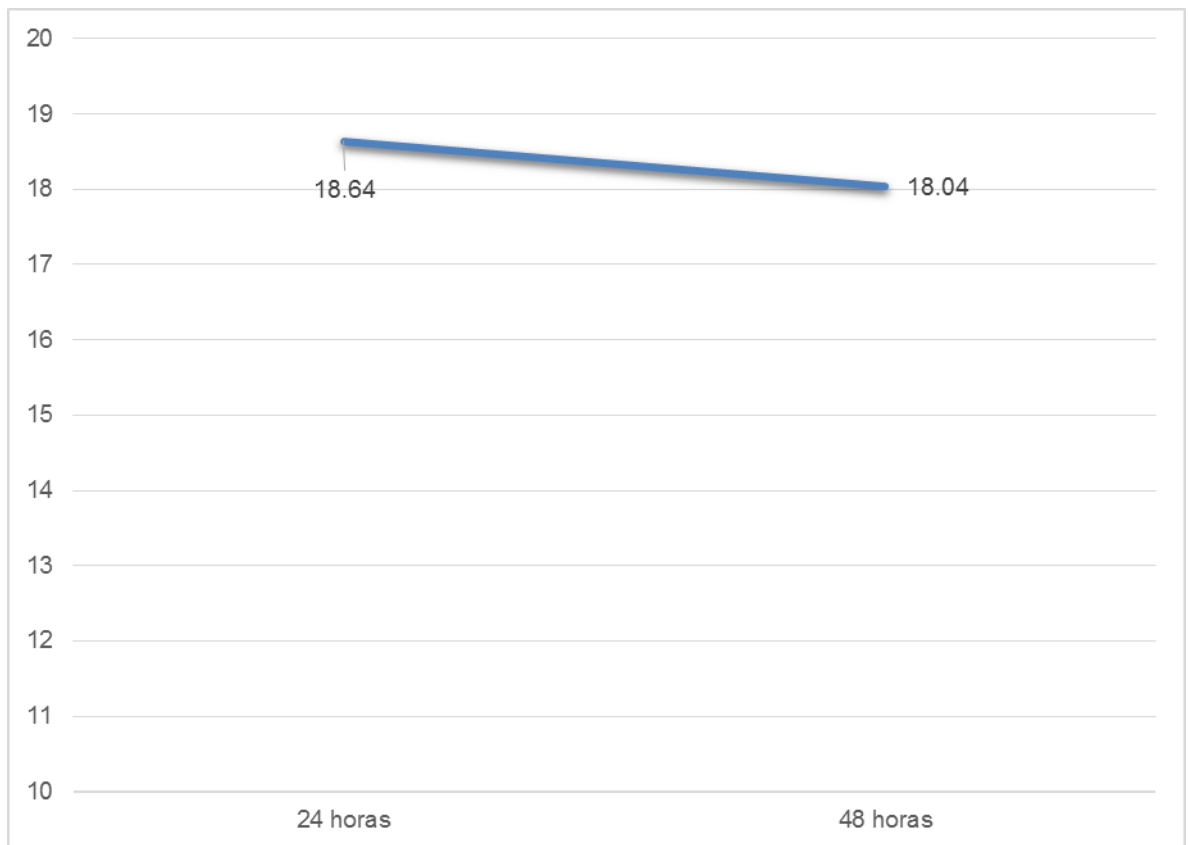


TABLA N° 6

**COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL
GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE EL LACTOBACILLUS
ACIDOPHILUS**

G. Clorhexidina	Medición	
	24 horas	48 horas
Media Aritmética	21.42	20.15
Desviación Estándar	2.27	2.49
Halo Mínimo	19.13	16.33
Halo Máximo	24.59	23.11
Total	6	6
Fuente: Matriz de datos	P = 0.377 (P ≥ 0.05) N.S.	

INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas, el halo formado por el Gluconato de Clorhexidina sobre el Lactobacillus Acidophilus fue en promedio de 21.42, a las 48 horas de su aplicación este valor disminuyó hasta 20.15. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el comportamiento del Gluconato de Clorhexidina es el mismo hasta las 48 horas de su aplicación.

GRÁFICO N° 6

COMPORTAMIENTO DEL HALO DE INHIBICIÓN EN EL GRUPO DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

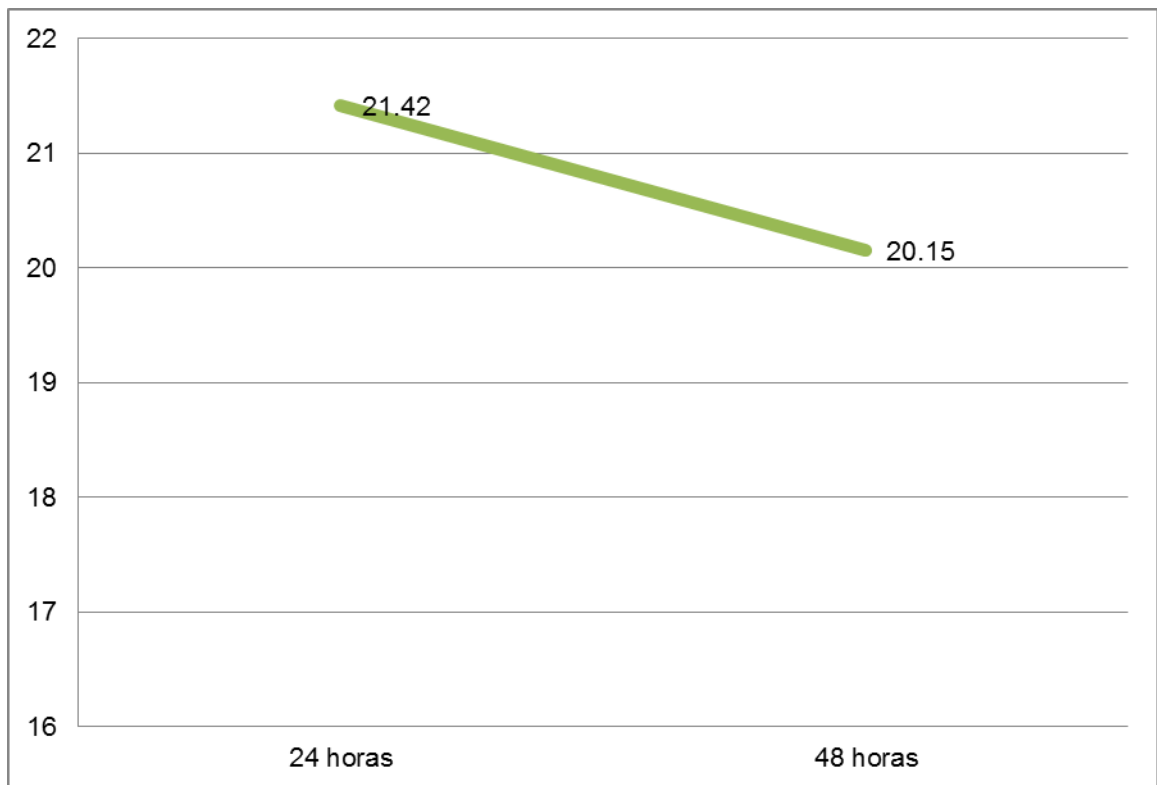


TABLA N° 7

COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE EL CROTON LESHLEI AL 100% Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

Halo de Inhibición 24 horas	Grupo de Estudio	
	C.L. 100%	G. Clorhexidina
Media Aritmética	18.64	21.42
Desviación Estándar	1.46	2.27
Halo Mínimo	17.07	19.13
Halo Máximo	20.93	24.59
Total	6	6
Fuente: Matriz de datos	P = 0.031 (P < 0.05) S.S.	

INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar que a las 24 horas de aplicados los estímulos, el Croton Lechleri al 100% logró un halo de inhibición promedio de 18.64, en tanto, el Gluconato de Clorhexidina llegó a un valor promedio de 21.42. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Gluconato de Clorhexidina a las 24 horas de su aplicación es más efectivo sobre el Lactobacillus Acidophilus que el Croton Lechleri al 100%.

GRÁFICO N° 7

COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS ENTRE EL CROTON LECHLERI AL 100% Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

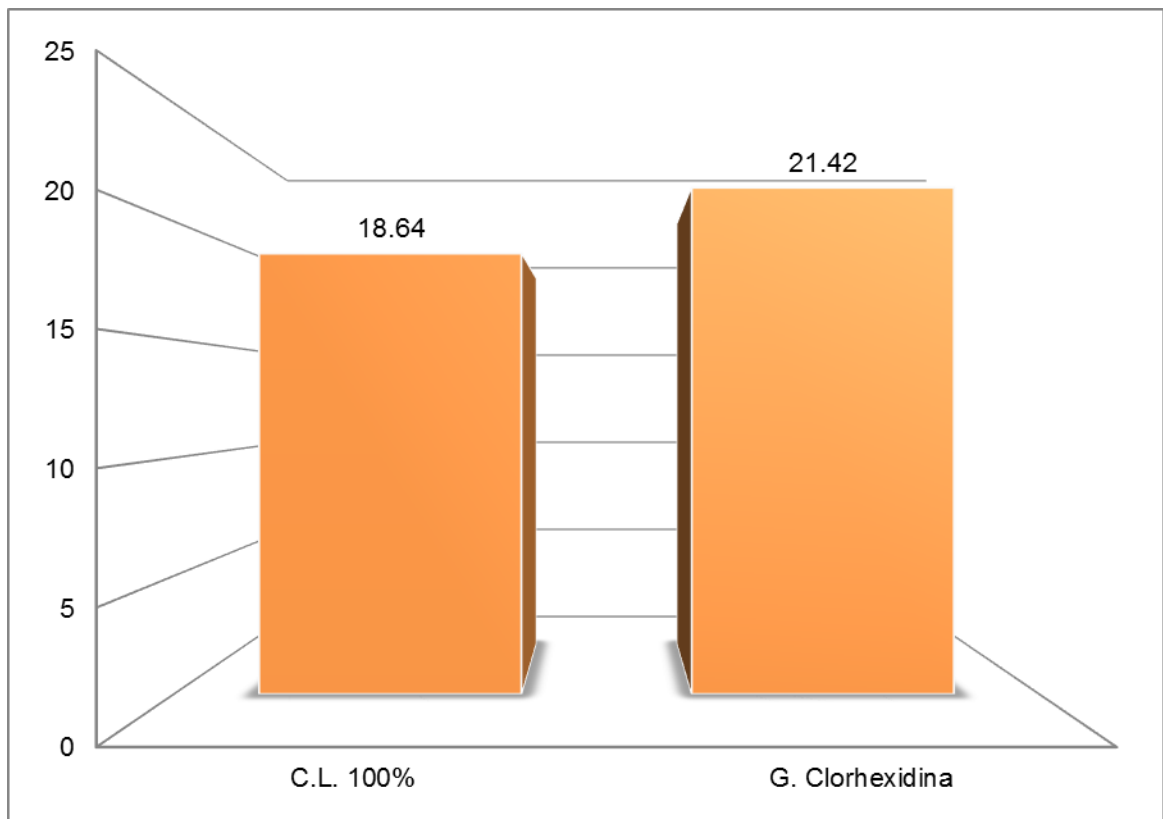


TABLA N° 8

COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE EL CROTON LECHLERI AL 100% Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

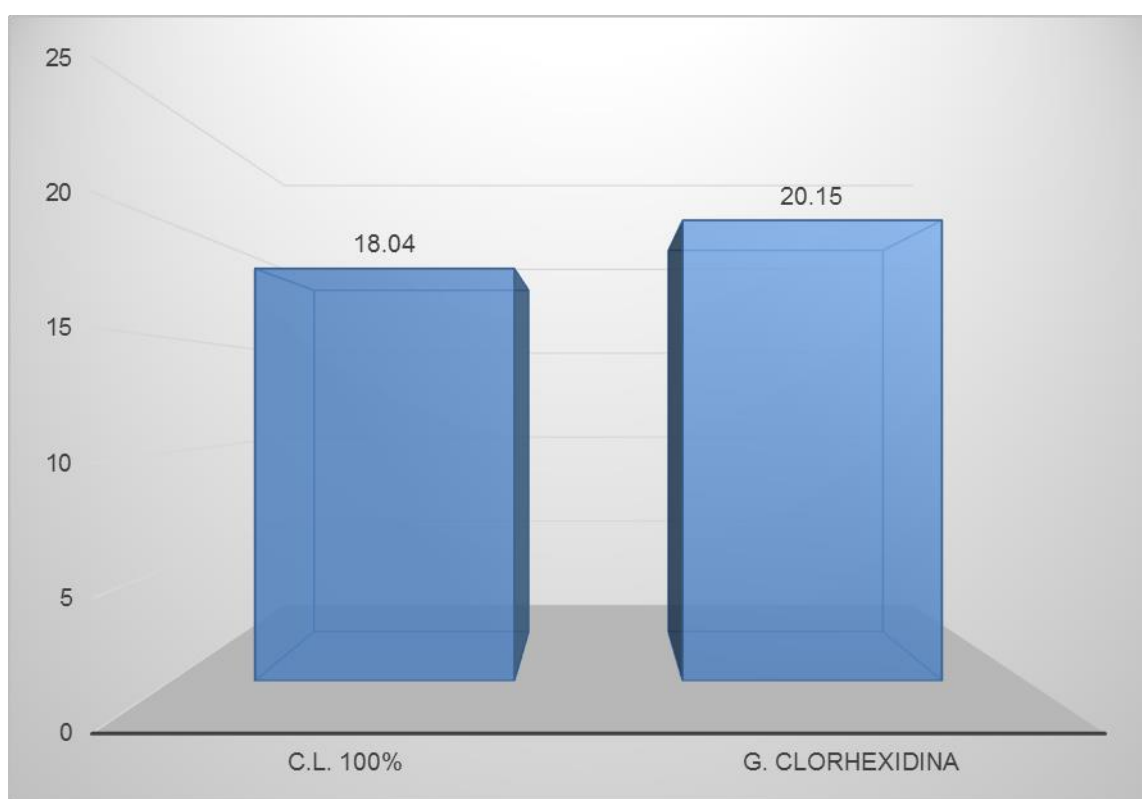
Halo de Inhibición 48horas	Grupo de Estudio	
	C.L. 100%	G. Clorhexidina
Media Aritmética	18.04	20.15
Desviación Estándar	1.27	2.49
Halo Mínimo	17.03	16.33
Halo Máximo	20.53	23.11
Total	6	6
Fuente: Matriz de datos	P = 0.195 (P ≥ 0.05) N.S.	

INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar que a las 48 horas de aplicados los estímulos, el CrotonLeshlerial 100% logró un halo de inhibición promedio de 18.04, en tanto, el Gluconato de Clorhexidina llegó a un valor promedio de 20.15. Según la prueba estadística, estas diferencias no son significativas, es decir, el Croton Lechleri al 100% es igual de competitivo que el Gluconato de CLorhexidina al 2% sobre los Lactobacillus Acidophilus en este momento de tiempo.

GRÁFICO N° 8

COMPARACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS ENTRE EL CROTON LESHLERI AL 100% Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA SOBRE EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS



1. DISCUSIÓN:

En nuestros tiempos se viene empleando diversos preparados a base de plantas con fines medicinales, para tratar distintas infecciones, sin conocer a plenitud su efectividad. Solo un verdadero estudio científico podrá corroborar o desvirtuar aquellas creencias permitiéndonos además ir conociendo la amplitud de su espectro.

Es así que en la actualidad existen estudios respecto al poder antibacteriano de *Croton lechleri* que han demostrado su efectividad frente a diversos tipos de microorganismos como el *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, Pero no habiéndose hecho de forma específica sobre el *Lactobacillus acidophilus* que es una bacteria que se encuentra en boca y en la caries de dentina.

El presente estudio de tipo experimental, demostró el efecto antibacteriano in vitro del *Croton lechleri* (sangre de grado) en las concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre el *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Se ha demostrado que la concentración que tuvo mejores resultados fue al 100% y que comparado con el Gluconato de clorhexidina no existe diferencias significativas a las 48 horas. En el estudio por Tamariz Ortiz, Jesús Humberto y colaboradores en el año 2003, los resultados muestran que la sangre de grado inhibe el crecimiento de *Helicobacter pylori* en concentraciones elevadas, también se determinó el efecto bactericida del producto concentrado.

Así mismo en la investigación de Zapata Cruz, Rosa Elvira en el año 1987, en ensayos experimentales determinó que la "Sangre de Grado" tiene actividad antimicrobiana frente a los microorganismos gram positivos y a

los gram negativos. Lo cual coincide con el resultado de nuestro trabajo ya que el *Lactobacillus acidophilus* es una bacteria gram positiva.

En la investigación realizada por Zúñiga Talavera, Carla Alejandra, en el año 2009 demostró un efecto antibacteriano in vitro del *Crotón lechleri* sobre *Porphyromona gingivalis* a concentraciones mayores al 50%. La Sangre de grado en concentraciones superiores al 70% presento halos de inhibición mayores a los de Gluconato Clorhexidina al 2%, en los cultivos de dicha bacteria.

En la investigación realizada por Cayó Cesar, Barrera Rodolfo en el año 2014, demostró un efecto antibacteriano in vitro del *Croton lechleri* en diferentes concentraciones sobre *Streptococcus mutans* y se comprobó el efecto antibacteriano ante dicha bacteria al 100% y 75 %, mientras que la concentración del 40% no tuvo efecto inhibitorio en los cultivos de cepas del *Streptococcus mutans* lo cual se sugiere su utilización para el tratamiento natural de la caries dental, al igual de nuestro estudio donde la concentración efectiva fue al 100%.

Como hemos visto anteriormente hay estudios que han utilizado el Gluconato de clorhexidina como grupo control a diferentes concentraciones teniendo resultados diversos, pero lo que respecta a nuestro estudio es importante recalcar que los resultados obtenidos han demostrado que el *Croton lechleri* al 100% es igual de competitivas que el Gluconato de clorhexidina al 0.12% a las 48 horas.

CONCLUSIONES

PRIMERO:

El Croton lechleri al 50% mostro una actividad antibacteriana a las 24 horas de 15.13 mm y a las 48 horas de 14.55 mm. Comparando ambos momentos, no se encontró diferencias estadísticamente significativa.

SEGUNDO:

El Croton lechleri al 75% mostro una actividad antibacteriana a las 24 horas de 16.55 mm y a las 48 horas de 15.99 mm. Comparando ambos momentos, no se encontró diferencias estadísticamente significativa.

TERCERO:

El Croton lechleri al 100% mostro una actividad antibacteriana a las 24 horas de 18.64 mm y a las 48 horas de 18.04 mm. Comparando ambos momentos, no se encontró diferencias estadísticamente significativa.

CUARTO:

El Gluconato de clorhexidina al 0.12% mostro una actividad antibacteriana a las 24 horas de 21.42 mm y 48 horas de 20.15 mm. Comparando ambos momentos, no se encontró diferencias estadísticamente significativas.

QUINTO:

Comparando las diferentes concentraciones del Croton lechleri, podemos afirmar que tanto a las 24 como a las 48 horas, la concentración al 100% fue la mejor. Así mismo, esta concentración es igual de competitivo que el Gluconato de clorhexidina a las 48 horas, sin embargo es inferior en efecto a las 24 horas. Según los datos obtenidos, la hipótesis planteada se acepta.

RECOMENDACIONES

PRIMERO:

Se recomienda realizar estudios investigativos sobre la actividad de la Sangre de grado frente a otros microorganismos cariogénicos, de modo tal que se puede ampliar su utilidad en Odontología.

SEGUNDO:

Se recomienda a los estudiantes de odontología el estudio de la utilización como un posible dentífrico a base de Sangre de grado (*Croton lechleri*) con el objetivo de aprovechar su efecto antibacteriano en especial contra el *Lactobacillus acidophilus* y el *Streptococcus mutans*. Para lo cual se sugiere hacer un seguimiento clínico

TERCERO:

Se recomienda a los estudiantes de odontología profundizar estudios sobre el extracto de Sangre de grado (*crotón lecherli*) como un posible enjuagatorio bucal aprovechando sus propiedades antibacterianas, dado su efectividad, sobre muchas bacterias, hongos y virus.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Risco, Ester; Vila, Roser; Henríquez, Amelia; Cañigueral, Salvador. Bases químicas y farmacológicas de la utilización de la sangre de drago. Revista de fitoterapia 2005. (Disponible en: [www. fitoterapia. net /php/descargar_documento.php?id=4673&doc_r=sn](http://www.fitoterapia.net/php/descargar_documento.php?id=4673&doc_r=sn))
2. Quiliano Castillo, Andrés; Torrejón Domínguez, Gilberto. EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE LÁTEX DE SANGRE DE GRADO (*Croton lechleri*). Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina. Ecol. apl. Vol. 9 No 2, pp. 61-69. 2010. Lima – Perú. (Disponible en: [http://www. lamolina. edu. pe /ecolapl/articulo_7_vol_9_no_2.pdf](http://www.lamolina.edu.pe/ecolapl/articulo_7_vol_9_no_2.pdf)).
3. Perú ecológico- sangre de grado. Citado 24 Nov 2016 (Disponible en: http://www.peruecologico.com.pe/flo_sangregrado_1.htm)
4. Vega, Mario. “Etnobotánica de la amazonia peruana”. 1ra edición. Ediciones Abya-Yala. 2001. Pág. 80-83
5. Ramírez, Gustavo. Sangre de drago (*Croton lechleri* Muell. Arg). Fisioterapia Revisiones Monograficas. Programa Nacional de Medicina Complementaria. Natura Medicatrix 2003; 21(4)-213-217. Es Salud Perú (Disponible en: [https://dialnet. unirioja. es/descarga /articulo/4956317.pdf](https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4956317.pdf))
6. Mostacero León, José. “Plantas medicinales del Perú”. Taxonomía, ecogeografía, fenología y etnobotánica. Editorial Asamblea Nacional de Rectores. 2011. Trujillo- Perú
7. Agapito F, Teodoro; Sung, Isabel. Fitomedicina. “1100 Plantas Medicinales”. Tomo 2. Editorial Isabel, Lima, Perú. ca. 2003
8. Negroni, Marta. “Microbiología estomatológica, fundamentos y guía práctica”. 2da edición. Pág. 114-239-251-262-265-300-301
9. Ferro Camargo, Maria Beatriz. “Fundamentos de odontología”. Periodoncia. Pontifica universidad Javeriana. Bogotá Segunda edición. Pág. 298

10. Enrile, Francisco. "Manual de higiene oral". Sociedad Española de periodoncia y osteointegración. Editorial Médica Panamericana – 2009. Pág. 112
11. Soares, Ilson José. "Endodoncia técnicas y fundamentos". Editorial Médica Panamericana – 2002. Pág. 128
12. Fitzpatrick. "Dermatología en medicina general". 7ª Edición-tomo 4. Pág. 2130- 2131
13. Lindhe, Jan. "Periodontología clínica e implantología odontológica". 5ta Edición-Tomo 2. Pág. 748-749-750
14. Herbert F. Wolf. Edith M. Rateitschak-Plüs, Klaus H. Rateitschak Periodoncia. 3ra edición Masson, 2005. Pág. 235
15. Hauman Ch. biocompatibilidad de materiales dentales usados en terapia endodóntica contemporánea: una revisión. Parte 1 sustancia de drogas intracanal. Int Endod J. 2003; 36: Pág. 76
16. Myron Nevins, James J. Mellonig. Terapia Periodontal Enfoques Clínicos y Evidencia de Éxito. 1ra edición. 2002. Pág. 118. Mostacero León, José. "Plantas medicinales del Perú". Taxonomía, ecogeografía, fenología y etnobotánica. Editorial Asamblea Nacional de Rectores. 2011. Trujillo- Perú
17. Mouton C. Robert. "Bacteriología bucodental", principales bacterias orales. Barcelona: Masson S.A. 1995. Pág. 49-87
18. Libeana Ureña. "Microbiología Oral". 2da edición. Interamericana-McGrawHill, 2002. Composición y ecología de la microbiología oral. Pág. 402
19. Cayo, César; Barrera, Rodolfo. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del *Croton lechleri* sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Universidad Alas Peruanas sede Huacho. Bachiller de Estomatología de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la UAP-Huacho. Enero-Junio 2014. (Disponible en: <http://revistas.uap.edu.pe/ojs/index.php/CYD/article/viewFile/1097/1075>)

20. Condo Curipallo, Alicia Maribel. Estudio in vitro de las propiedades antibacterianas del Croton Lechleri (Sangre de Grado) como medicamento alternativo preventivo en la proliferación de bacterias existentes en cavidad bucal después de una extracción dental. Universidad Regional Autónoma de los Andes "UNIANDES". Facultad de ciencias medicas. Carrera de odontología. Ambato-Ecuador 2014 (Disponible en: <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/2857/1/TUAODO014-2014.pdf>).
21. Gálvez Calla, Luis H; Roque Alcarraz, Mirtha; Villavicencio Gastelú, Jorge. Pasta terapéutica anti-A. Producto (1ra parte) avance. Revista Científica Odontología Sanmarquina. Vol 8. Núm 2. 2005. (Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/3138>).
22. Gálvez Calla, Luis H; Roque Alcarraz, Mirtha; Villavicencio Gastelú, Jorge; Petkova Gueorguieva, Marieta; Madrid Chumacero, Marco. Pasta terapéutica anti-A. Producto (2da parte). Revista Científica Odontología Sanmarquina. Departamento Académico de Ciencias Básicas. Facultad de Bioquímica y Farmacia. Departamento Académico de Estomatología Médico Quirúrgico 5 Departamento Académico de Estomatología Biosocial. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú E-mail: lgalvezc@unmsm.edu.pe. (Disponible en http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2006_n2/pdf/a02.pdf).
23. Juarez Hurtado, Zuleika Valeria. Efecto de la aplicación tópica de sangre de grado (Croton lechleri) en la recuperación de las características clínicas gingivales después de las técnicas quirúrgicas periodontales comunes en pacientes de la clínica odontología de la U.C.S.M. 2003. Para optar el título profesional de Cirujano Dentista. Facultad de Odontología. Arequipa-Perú 2004.
24. Milla Comitre, Marcos Ernesto. Estudio sobre el mecanismo de acción del principio activo de la "Sangre de Grado". Tesis para optar

el Grado de Bachiller en ciencias con mención en biología. UPCIL. Lima-Perú 1985.

25. Ramírez Corrales, Lucia. Evaluación del potencial antibacterial in vitro de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, D.C., Colombia. Nova vol.11 no.19 Bogotá Jan./June 2013 ((Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702013000100006)
26. Tamariz Ortiz, Jesús Humberto; Capcha Mendoza, Roberto; Palomino Cadenas, Edwin Julio; Aguilar Olano, José. Actividad antibacteriana de la Sangre de Grado (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*. Revista Medica Herediana. Versión On-line ISSN 1729-214X. Rev Med Hered v.14 n.2 Lima abr. 2003. Escuela de Tecnología Médica – Facultad de Medicina, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Laboratorio Inmunología – Departamento Microbiología, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Universidad Santiago Antunez de Mayolo – Ancash. (Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018-130X2003000200008&script=sci_arttext).
27. Zúñiga Talavera, Carla Alejandra. Efecto antibacteriano in vitro del crotón lechleri (Sangre de grado) y gluconato de clorhexidina al 2% sobre *porphyromona gingivalis*, Arequipa 2009. Universidad Católica de Santa María. Facultad Odontología. Programa profesional de odontología. 2009.
28. Zapata Cruz, Rosa Elvira. Actividad antimicrobiana in vitro de la droga comercializada como "Sangre de Grado". Escuela Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia. UNNISM. 1987. Lima-Perú.

ANEXOS

ANEXO N° 1

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

GRUPO	Nro. De muestra	DIAMETRO DE HALO INHIBITORIO (mm)	
		24 Hrs	48 Hrs
CEPA LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS CON CONCENTRACIÓN DE <i>Croton lechleri al 50%</i>	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		

GRUPO	Nro. De muestra	DIAMETRO DE HALO INHIBITORIO (mm)	
		24 Hrs	48 Hrs
CEPA LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS CON CONCENTRACIÓN DE <i>Croton lechleri al 75%</i>	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		

GRUPO	Nro. De muestra	DIAMETRO DE HALO INHIBITORIO (mm)	
		24 Hrs	48 Hrs
CEPA LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS CON CONCENTRACIÓN DE <i>Croton lechleri</i> al 100%	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		

GRUPO	Nro. De muestra	DIAMETRO DE HALO INHIBITORIO (mm)	
		24 Hrs	48 Hrs
CEPA LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS CON <i>Gluconato de clorhexidina</i> al 0.12%	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		

ANEXO N° 2

MATRIZ DE DATOS

N°	MEDICION	HALO INHIBITORIO			
		Croton Lechleri			G. Clorhexidina 0.12%
		C.L 50%	C.L 75%	C.L 100%	
1	A las 24 horas	16.73	19.56	20.93	22.3
	A las 48 horas	15.24	18.41	20.53	22.08
2	A las 24 horas	14.09	16.15	19.89	23.27
	A las 48 horas	13.68	16.02	18.09	23.11
3	A las 24 horas	16.68	17.15	18.01	19.53
	A las 48 horas	16.68	16.86	17.53	16.33
4	A las 24 horas	13.58	15.15	18.38	24.59
	A las 48 horas	12.81	14.7	17.82	21.38
5	A las 24 horas	15.24	15.3	17.61	19.75
	A las 48 horas	14.98	14.36	17.26	19.07
6	A las 24 horas	14.47	16.02	17.07	19.13
	A las 48 horas	13.96	15.59	17.03	18.96

INSTRUCCIONES DE USO



- Microorganismos LYFO DISK®
- Microorganismos KWIK-STIK™
- Microorganismos KWIK-STIK™ Plus

USO PREVISTO

Los Microorganismos LYFO DISK®, KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus son preparaciones de cultivos madre liofilizados de referencia que contienen una única cepa de un microorganismo. Estas preparaciones de microorganismos están destinadas al uso en el control de calidad de medios de cultivo, programas educativos o instructivos y aplicaciones industriales. Las preparaciones de microorganismos pueden atribuirse a la Colección Estadounidense de Cultivos Tipo (ATCC®) u otras colecciones de cultivos de referencia auténticas.

RESUMEN E HISTORIAL

Es fundamental contar con una fuente confiable de cultivos madre de referencia para su uso en programas microbiológicos de control de calidad. Los microorganismos con características conocidas y previsible se utilizan en programas de control de calidad, educativos y de competencia. La liofilización es un método bien documentado y recomendado para la conservación a largo plazo de microorganismos. El uso de este material liofilizado ofrece resultados equivalentes a los métodos tradicionales utilizados en la preparación, el almacenamiento y la sustentación de colecciones de cultivos madre de referencia.

 **Microbiologics®**

A safer, healthier world.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

- A. **Microorganismos KWIK-STIK™** Cada unidad de KWIK-STIK™ contiene un sedimento liofilizado de una única cepa de microorganismos, un reservorio de líquido hidratante y un hisopo de inoculación. Cada dispositivo está sellado dentro de una bolsa laminada que contiene un secante para evitar la acumulación adversa de humedad. Los Microorganismos KWIK-STIK™ ofrecen una función adicional:
- Cada preparación de microorganismos liofilizada es menor o igual a cuatro (4) pases de un cultivo de referencia.

PRECAUCIONES Y LIMITACIONES

- Estos productos son para uso in vitro únicamente.
- Consulte la hoja de datos de seguridad de los materiales (MSDS, por sus siglas en inglés) para obtener información más detallada. Visite nuestro sitio web, www.microbiologics.com, y obtenga la MSDS en la biblioteca de documentos del centro de soporte técnico.
- Estos dispositivos, y la proliferación de estos microorganismos, son considerados material de riesgo biológico.
- Estos dispositivos contienen microorganismos viables que pueden producir enfermedades. Se deben emplear las técnicas adecuadas para evitar la exposición y el contacto con cualquier proliferación de microorganismos.
- El laboratorio de microbiología debe contar con el equipo y las instalaciones para recibir, procesar, mantener, almacenar y desechar el material de riesgo biológico.
- Solamente el personal de laboratorio capacitado debe usar estos dispositivos.
- Las agencias y los estatutos regulan el desecho de todos los materiales de riesgo biológico. Cada laboratorio debe conocer, y cumplir, las normas adecuadas de desecho de materiales de riesgo biológico.

INSTRUCCIONES DE USO

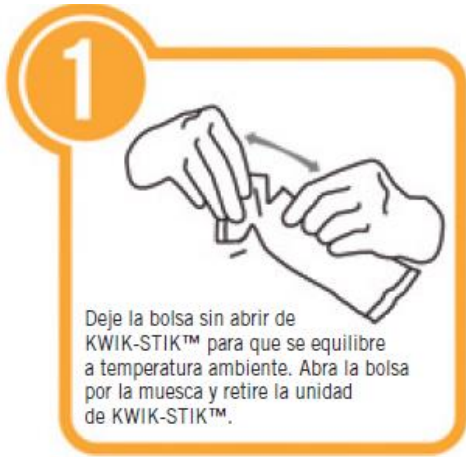
A. Procedimiento para Microorganismos KWIK-STIK™ y KWIK-STIK Plus™

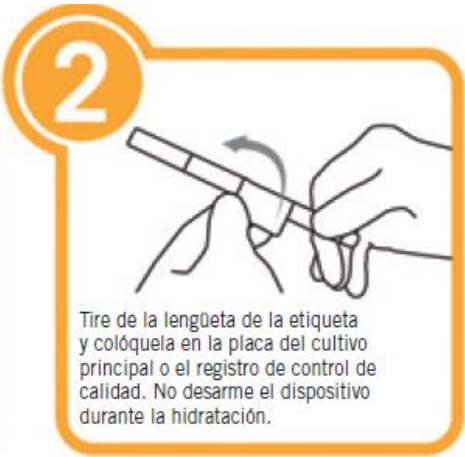
1. Deje que la bolsa KWIK-STIK™ sin abrir se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa por la muesca y retire la unidad KWIK-STIK™.
2. Tire de la lengüeta para retirar la etiqueta y colóquela en la placa del cultivo principal o el registro de control de calidad. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
3. Apriete (una sola vez) la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK™ (justo por debajo del menisco de líquido de la ampolla) situado en la tapa para liberar el líquido hidratante.
4. Sujete en posición vertical y golpee sobre una superficie dura para facilitar el flujo de líquido a través del eje hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento. Deje que el líquido hidratante fluya a través del eje del hisopo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento.
5. Apretando en la parte inferior de la unidad, triture el sedimento en el líquido hasta que la suspensión del sedimento sea homogénea.
6. **DE INMEDIATO**, sature bien el hisopo en el material hidratado y transfiera a un medio de cultivo con agar.
7. Inocule la placa del cultivo principal haciendo rodar el hisopo con suavidad sobre un tercio de la placa.
8. Con un asa estéril, cree vetas para facilitar el aislamiento de colonias.
9. Utilice un método de desecho de riesgo biológico adecuado para desechar KWIK-STIK™.
10. **DE INMEDIATO**, incube la placa del cultivo principal inoculado a la temperatura y las condiciones adecuadas para los microorganismos.

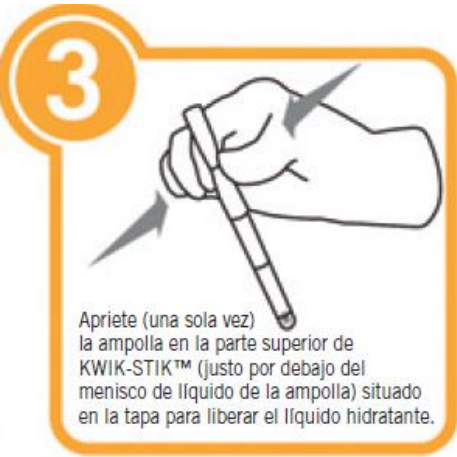
KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ PLUS

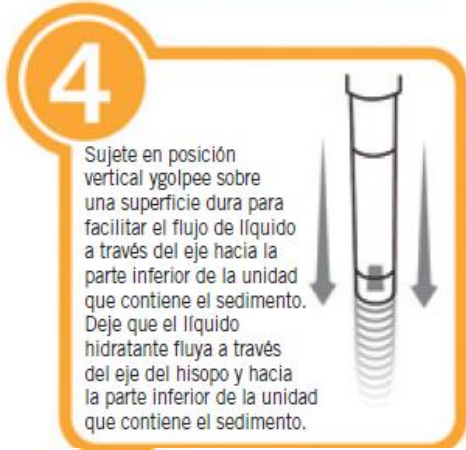
INSTRUCCIONES ILUSTRADAS

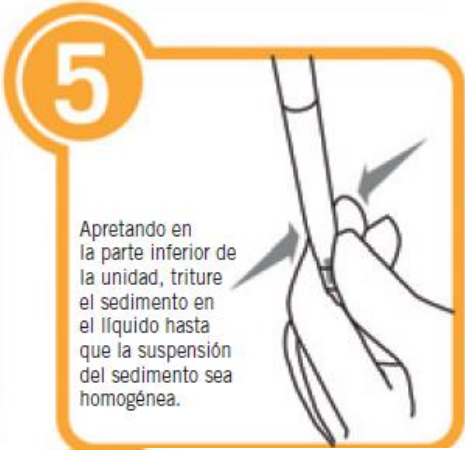
Las preparaciones de microorganismos KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus contienen un sedimento liofilizado de una única cepa de microorganismos.


- 


Deje la bolsa sin abrir de KWIK-STIK™ para que se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa por la muesca y retire la unidad de KWIK-STIK™.
- 


Tire de la lengüeta de la etiqueta y colóquela en la placa del cultivo principal o el registro de control de calidad. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
- 

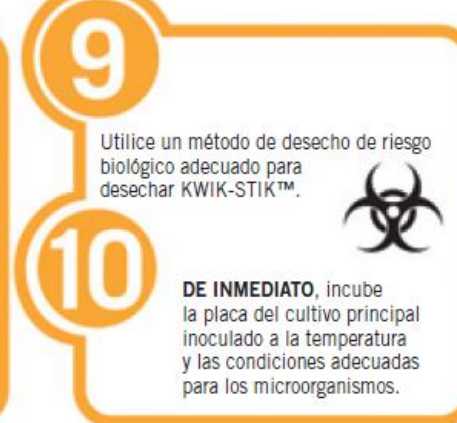
Apriete (una sola vez) la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK™ (justo por debajo del menisco de líquido de la ampolla) situado en la tapa para liberar el líquido hidratante.
- 


Sujete en posición vertical y golpee sobre una superficie dura para facilitar el flujo de líquido a través del eje hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento. Deje que el líquido hidratante fluya a través del eje del hisopo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento.
- 

Apertando en la parte inferior de la unidad, triture el sedimento en el líquido hasta que la suspensión del sedimento sea homogénea.
- 

DE INMEDIATO, sature bien el hisopo en el material hidratado y transfiera a un medio de cultivo con agar.
- 

Inocule la placa del cultivo principal haciendo rodar el hisopo con suavidad sobre un tercio de la placa.
- 

Con un asa estéril, cree vetas para facilitar el aislamiento de colonias.
- 

Utilice un método de desecho de riesgo biológico adecuado para desechar KWIK-STIK™.
- 

DE INMEDIATO, incube la placa del cultivo principal inoculado a la temperatura y las condiciones adecuadas para los microorganismos.

 **Microbiologics®**

A safer, healthier world.

ANEXO N° 4

CONSTANCIA ESPECIAL



Universidad Católica de Santa María

☎ (51 54) 382038 Fax: (51 54) 251213 ✉ ucsm@ucsm.edu.pe 🌐 <http://www.ucsm.edu.pe> Apartado: 1350

CONSTANCIA ESPECIAL N°0024-Coord.Lab-2016

LA QUE SUSCRIBE COORDINADORA DE LABORATORIOS DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA, DEJA CONSTANCIA QUE LA SEÑORITA:

FURA CHOQUEHUANCA, YAKELIN

INSTITUCION EDUCATIVA : UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS. AREQUIPA.

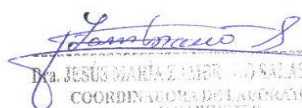
HA DESARROLLADO EL PROYECTO DE TESIS, INTITULADO:

“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL Croton lechleri (SANGRE DE GRADO) Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE Lactobacillus acidophilus, AREQUIPA-2016”

PERIODO : del 19 de noviembre al 12 de diciembre del año 2016.

SE EXPIDE LA PRESENTE CONSTANCIA A SOLICITUD EXPRESA, Y PARA LOS FINES QUE CONVENGA.

Arequipa, 2016,12.14.


DRA. JESÚS MARÍA AMOR ROSALES DE CALLE
COORDINADORA DE LABORATORIOS
Y CABINETES
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO N° 5

MATERIALES UTILIZADOS

<p>SANGRE DE GRADO AL 100%</p> 	<p>CLORHEXIDINA AL 0.12%</p> 	<p>CEPA CERTIFICADA ATCC® 4356</p> 	<p>AGAR ROGOSA</p> 	<p>CALDO TIOGLICOLATO</p> 
<p>COSINA ELECTRICA</p> 	<p>BALANZA ANALITICA</p> 	<p>MECHERO BUNSEN</p> 	<p>REFRIGERADORA</p> 	<p>AUTOCLAVE</p> 
<p>CÁMARA DE ANAEROBIOSIS</p> 	<p>CUENTA COLONIAS/ LUPA</p> 	<p>VERNIER (UBERMANN)</p> 	<p>ASA DE DIGRALSKY</p> 	<p>ASA BACTERIOLÓGICO</p> 
<p>AGUA DESTILADA</p> 	<p>PLACAS PETRI, MATRAZ Y PROBETA</p> 		<p>MICROPIPETA Y PUNTAS</p> 	

ANEXO N° 6

SECUENCIA FOTOGRÁFICA: PROCEDIMIENTO LABORATORIAL



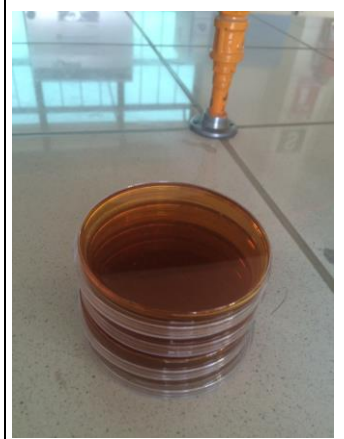
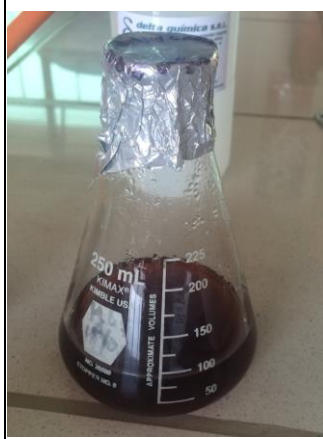
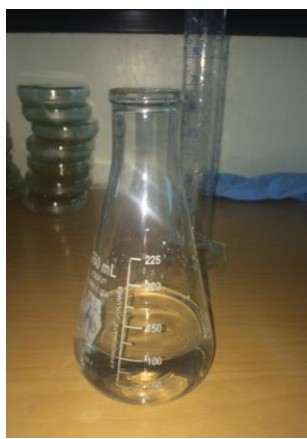
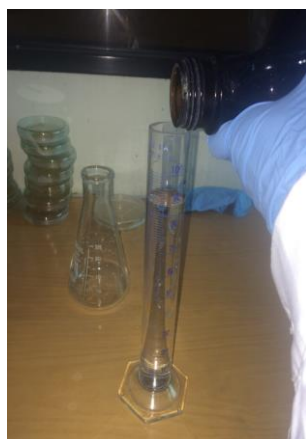
DILUCIÓN DE LA SANGRE DE GRADO



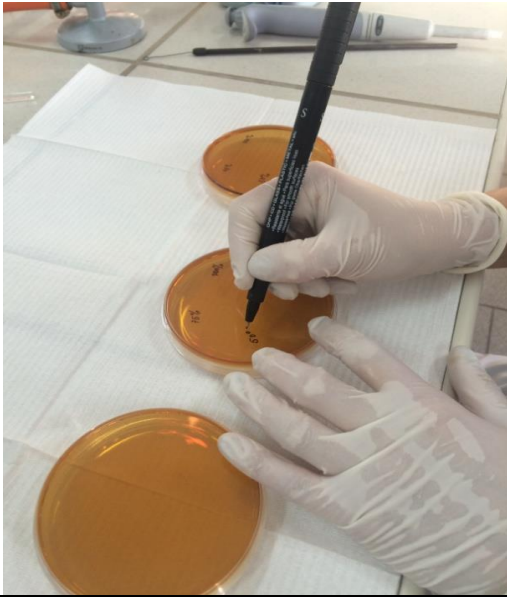
REACTIVACIÓN DE LA CEPA *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356



ESCALA DE Mc Farland



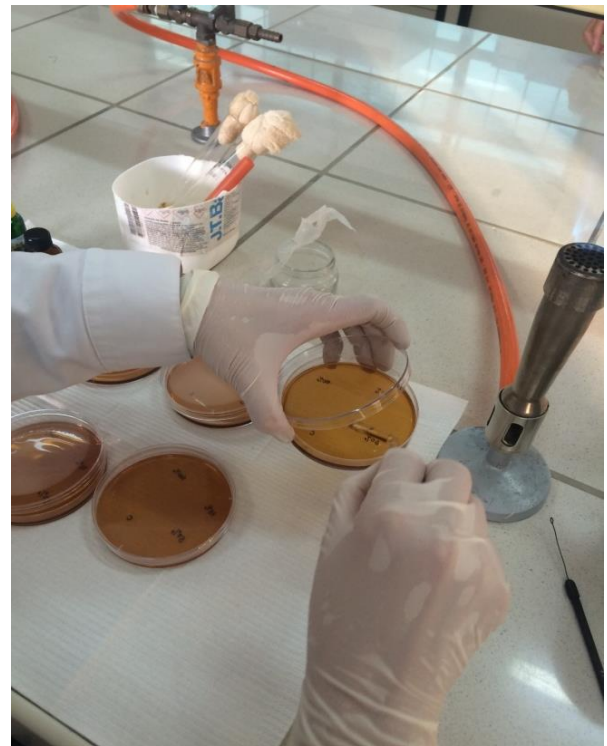
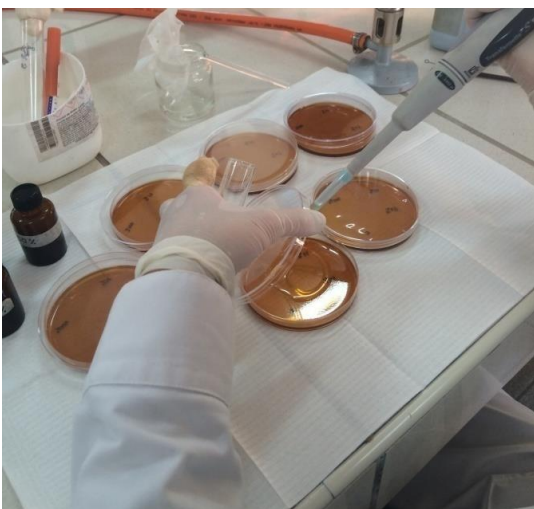
PREPARACIÓN Y ESTERILIZACIÓN DEL AGAR



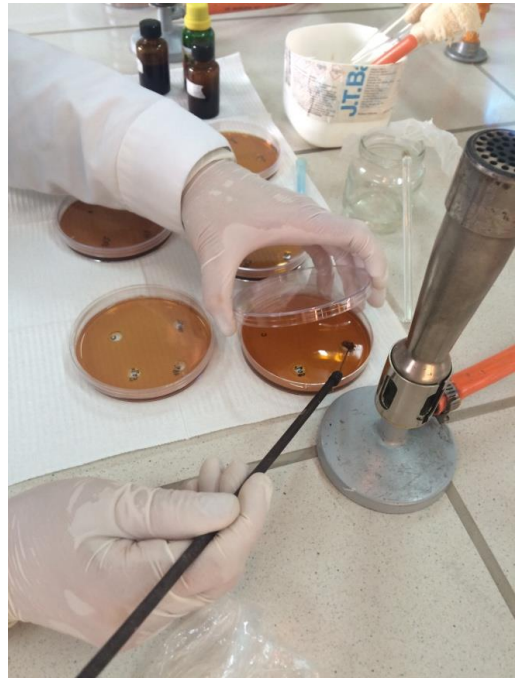
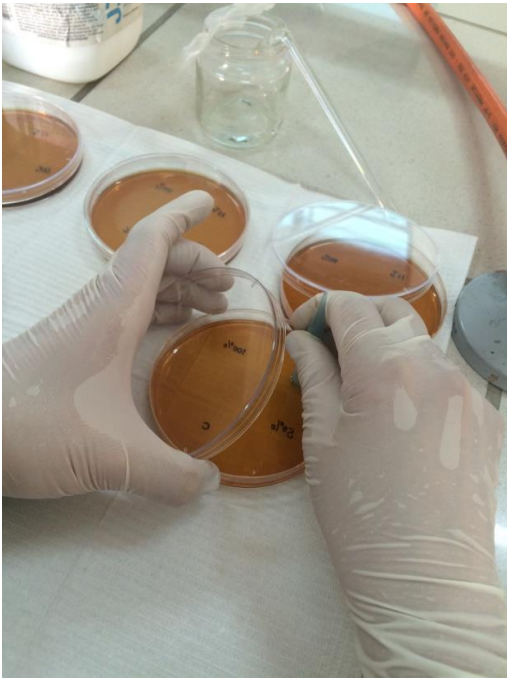
ROTULADO



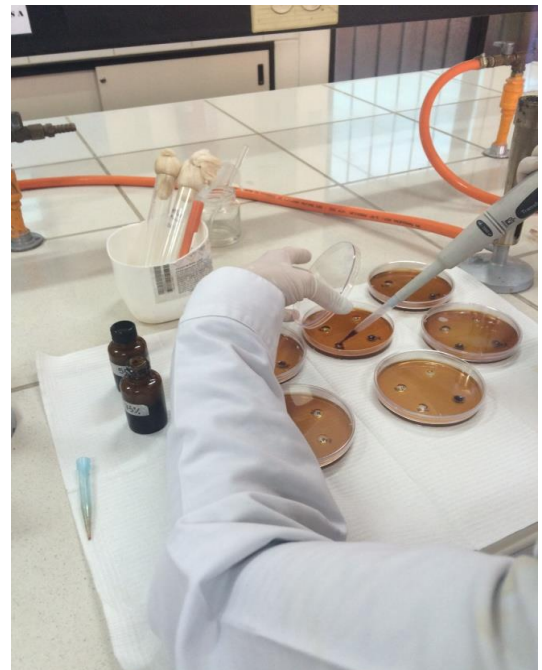
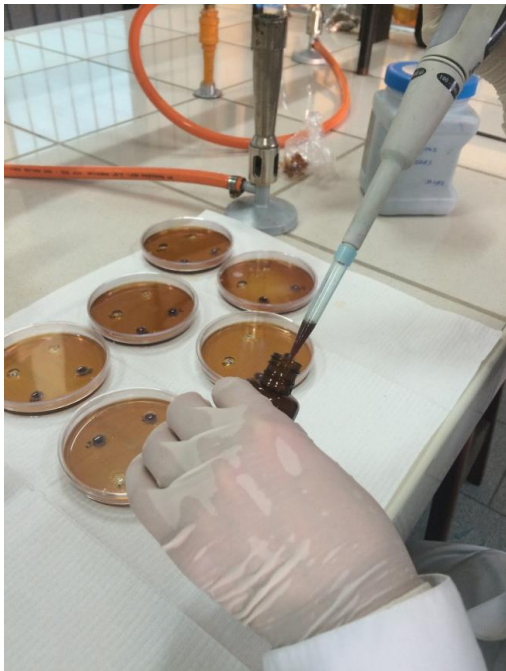
**SE COLOCO 1 ML DE LA CEPA
REACTIVADA**



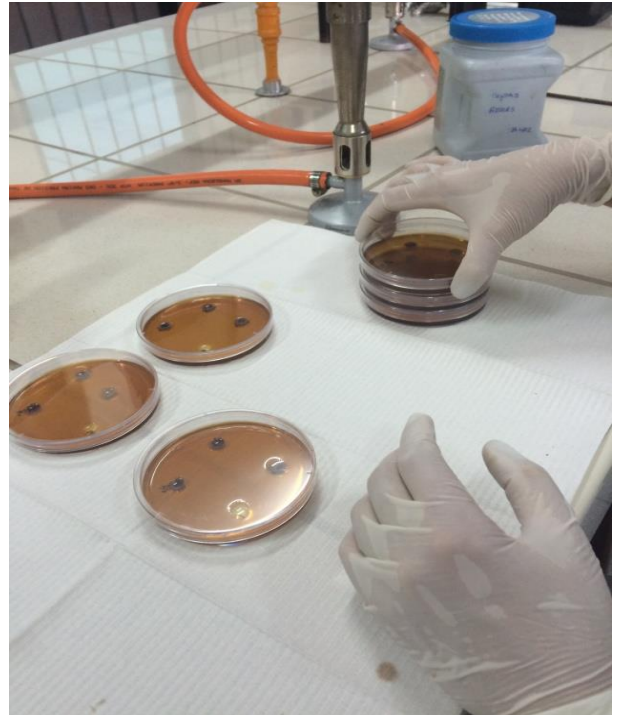
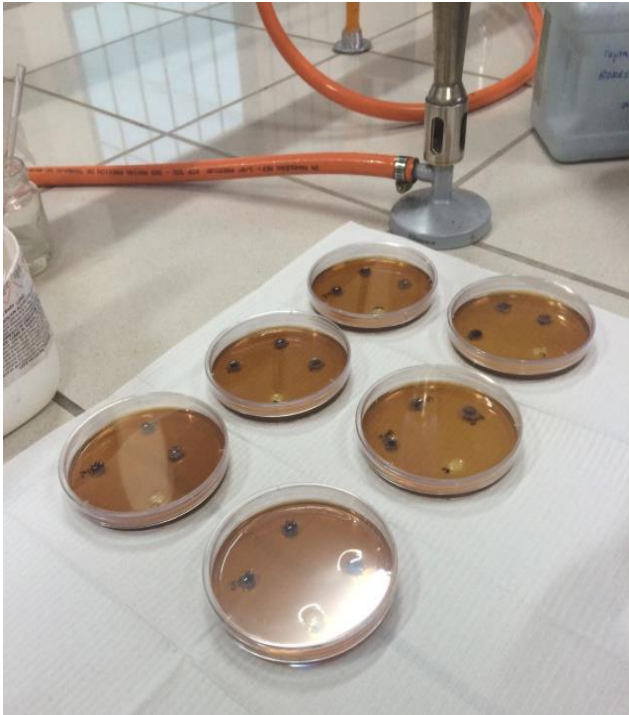
**ESPARCIENDO CON EL ASA DE
DIGRALSKY**



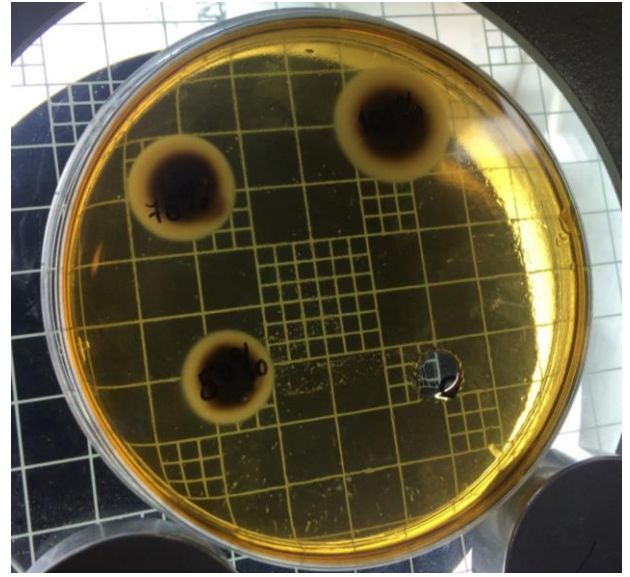
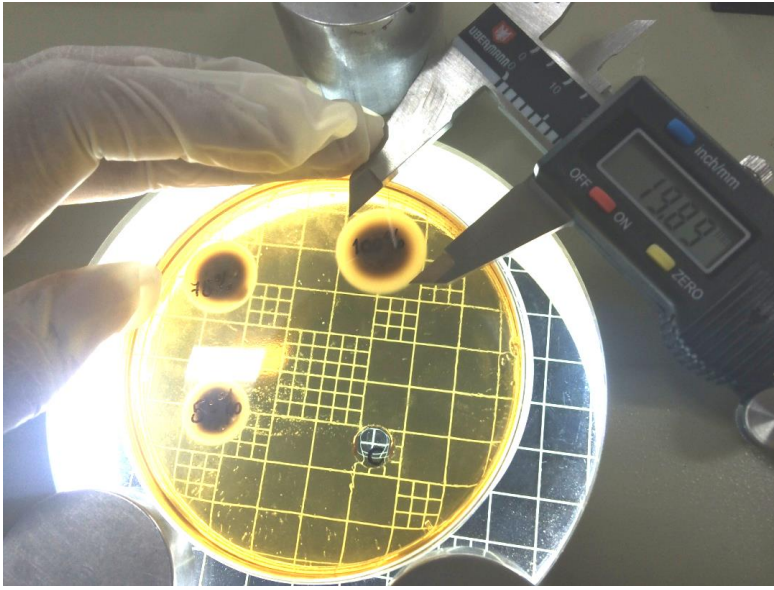
METODO DE DIFUSIÓN POR EXCAVACIÓN



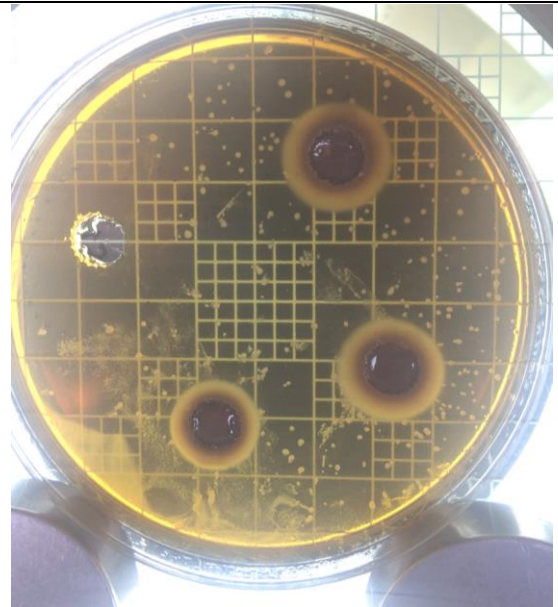
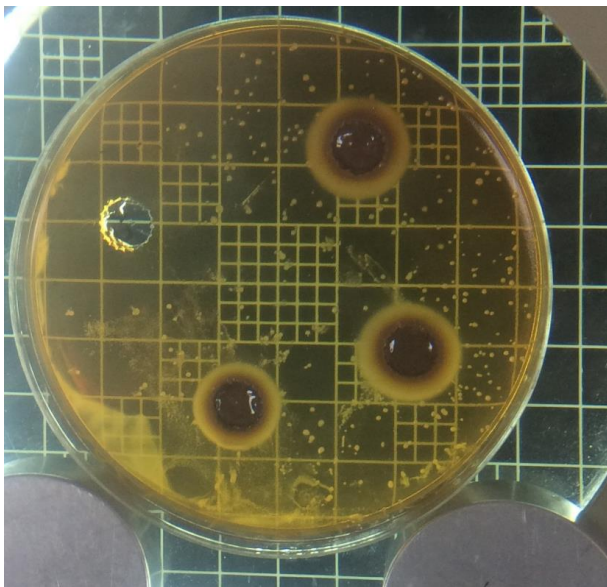
LLENADO DE LAS EXCAVACIONES



**COLOCACIÓN DE LAS PLACAS
PETRI EN LA CAMARA DE
ANAEROBIOSIS**



MEDICIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN AL PROMEDIAR LAS 24 HORAS.



MEDICIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN AL PROMEDIAR LAS 48 HORAS.