



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Odontología

Escuela Profesional de Odontología

**Efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri*
("Sangre de grado") sobre el *Enterococcus faecalis*:
Estudio *in vitro***

TESIS

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR

Keiko Lucero ALARCON VELASQUEZ

ASESOR

Elba Estefania MARTÍNEZ CADILLO

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Alarcon K. Efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* (“Sangre de grado”) sobre el *Enterococcus faecalis*: Estudio *in vitro* [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, Escuela Profesional de Odontología; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Keiko Lucero Alarcon Velasquez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	70249117
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-3560-6040
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Elba Estefanía Martínez Cadillo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08621492
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-9601-7509
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Dora Noelia Gómez Meza
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06789735
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Sara Castañeda Sarmiento
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	21528573
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.3.3.3 Productos naturales de uso en odontología
Grupo de investigación	No aplica.
Agencia de financiamiento	No aplica
Ubicación geográfica de la investigación	Universidad Nacional Mayor de San Marcos Edificio: Facultad de Odontología de la UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Latitud: -12.05819215 Longitud: -77.0189181894387
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Junio 2022- febrero 2023
URL de disciplinas OCDE	Odontología, Cirugía oral, Medicina oral https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.02.14

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
VICE DECANATO ACADÉMICO
UNIDAD DE ASESORÍA Y ORIENTACIÓN DEL ESTUDIANTE
(AYOE)

"Año de la unidad, la Paz y el desarrollo"

A C T A DE SUSTENTACIÓN

PRESENCIAL N°008

Los Docentes que suscriben, reunidos el 29 de marzo del 2023 en la ciudad de Lima, siendo las 10:00 horas, por encargo del Señor Decano de la Facultad, con el objeto de constituir el Jurado de Sustentación para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista de la Bachiller:

ALARCON VELASQUEZ, KEIKO LUCERO

CERTIFICAN:

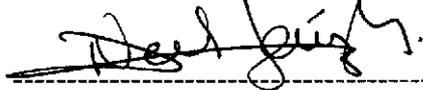
Que, luego de la Sustentación de la Tesis «EFECTO ANTIBACTERIANO DEL LÁTEX DE CROTON LECHLERI ("SANGRE DE GRADO") SOBRE EL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*: ESTUDIO *IN VITRO*» y habiendo absuelto las preguntas formuladas, demostró un grado de aprovechamiento: Sobresaliente

(escala)
siendo calificado con un promedio de: dieciocho 18

(en letras) (en números)

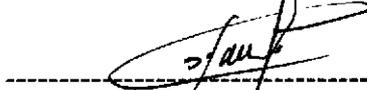
En tal virtud, firmamos en la Ciudad Universitaria, a los veintinueve días del mes de marzo del dos mil veintitrés.

PRESIDENTE DEL JURADO



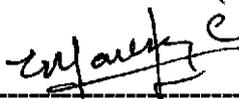
Mg. Dora Noelia Gómez Meza

MIEMBRO SECRETARIO



Mg. Sara Castañeda Sarmiento

MIEMBRO VOCAL (ASESOR)



Blg. Elba Estefanía Martínez Cadillo



INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

1. AUTORIDAD ACADÉMICA QUE EMITE EL INFORME DE ORIGINALIDAD

Directora de la Escuela Profesional de Odontología

2. APELLIDOS Y NOMBRES DE LA AUTORIDAD ACADÉMICA

Dra. Doris Elizabeth Salcedo Moncada

3. OPERADOR DEL PROGRAMA INFORMÁTICO DE SIMILITUDES

Marianella Morales Valdivieso

4. DOCUMENTO EVALUADO

Efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* (“Sangre de grado”) sobre el *Enterococcus faecalis*: Estudio in vitro

5. AUTOR DEL DOCUMENTO

Keiko Lucero Alarcón Velásquez

6. FECHA DE RECEPCIÓN DE DOCUMENTO

17/03/2023

7. FECHA DE APLICACIÓN DEL PROGRAMA INFORMÁTICO DE SIMILITUDES

17/03/2023

8. SOFTWARE UTILIZADO

- Turnitin

9. CONFIGURACIÓN DEL PROGRAMA DETECTOR DE SIMILITUDES

- Excluye textos entrecomillados
- Excluye bibliografía
- Excluye cadenas menores a 40 palabras

10. PORCENTAJE DE SIMILITUDES SEGÚN PROGRAMA DETECTOR DE SIMILITUDES

9%

11. FUENTES ORIGINALES DE LAS SIMILITUDES ENCONTRADAS*

12. OBSERVACIONES

13. CALIFICACIÓN DE ORIGINALIDAD

- Documento cumple criterios de originalidad, sin observaciones
- Documento cumple criterios de originalidad, con observaciones
- Documento no cumple criterios de originalidad

14. FECHA DEL INFORME

17/03/2023



Firmado digitalmente por SALCEDO
MONCADA Doris Elizabeth FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 17.03.2023 12:58:36 -05:00

FIRMA DEL EVALUADOR

DEDICATORIA

Dedicado especialmente a mi madre Juana por su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida y por el arduo esfuerzo para que parte de mis sueños sean posibles.

Dedicado a mi hermano Leonardo, a mis tíos, primos y abuela por su apoyo y por brindarme la seguridad emocional.

Dedicado a mis amistades y docentes de la facultad por apostar en sus estudiantes y brindarnos los conocimientos necesarios para afrontar el mundo laboral.

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento especial a todas las personas que participaron de manera directa e indirecta durante el desarrollo de mi trabajo de investigación y en especial:

- A mi asesora Blga. Martínez Cadillo, Elba Estefanía; docente de la Facultad de Odontología de la UNMSM por su orientación y su apoyo durante la elaboración y ejecución de mi trabajo de investigación.
- Al Dr. Suarez Ponce, Daniel; por su apoyo, confianza y su capacidad para guiar mis ideas durante el desarrollo de mi tesis.
- A la Mg. Jara Castro, Marisa Cecilia; por su orientación y vasta experiencia en el campo de la endodoncia; encaminando así el trabajo de investigación.
- Al Dr. Ramos Perfecto, Donald; por su apoyo incondicional durante la obtención de "Sangre de grado".

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como propósito evaluar el efecto antibacteriano del látex *Croton lechleri* (Sangre de grado) frente *Enterococcus faecalis*. Se empleó un diseño experimental *in vitro*. **Material y método:** Se trabajó con el látex de *Croton lechleri*; en una primera etapa se determinó el diámetro del halo de inhibición de crecimiento bacteriano, utilizando “Sangre de grado” a diferentes concentraciones (25%,50%,100%) de manera cuantitativa con el método de difusión en placa, posteriormente se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del *Croton lechleri* frente a *E. faecalis*. Los datos encontrados fueron sometidos al análisis estadístico empleando el SPSS. **Resultados:** Los resultados muestran que la clorhexidina 2%, el látex de “Sangre de grado” al 100% y 50% muestra efecto inhibitorio positivo a diferencia del etanol 96% y “Sangre de grado” al 25% que no tuvo efecto inhibitorio sobre *E. faecalis*. **Conclusiones:** Estos resultados demuestran que la actividad antimicrobiana del látex “Sangre de grado” al 100% presenta mejor efecto sobre la bacteria *E. faecalis*.

PALABRA CLAVE: “Sangre de grado”, *Enterococcus faecalis*, actividad antibacteriana, concentración mínima inhibitoria, concentración mínima bactericida, método de difusión en placa, fitoterapia, *in vitro*.

ABSTRACT

The purpose of this research is to evaluate the antibacterial effect of *Croton lechleri* "Sangre de grado" latex against *Enterococcus faecalis*. An in vitro experimental design was used. Method: It was worked with *Croton lechleri* latex; in a first stage, the diameter of the inhibition zones was determined using "Sangre de grado" at different concentrations (25%, 50%, 100%) in a quantitative way with the diffusion method in plate, then the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of *Croton lechleri* against *E. faecalis* were determined. The data found were subjected to statistical analysis using SPSS. Results: The results show that 2% Chlorhexidine, 100% and 50% "Sangre de grado" latex shows positive inhibitory effect unlike 96% ethanol and 25% "Sangre de grado" didn't have inhibitory effect on *Enterococcus faecalis*. Conclusions: These results suggest that the antimicrobial activity of 100% "Sangre de grado" shows better effect on *E. faecalis* bacteria.

KEYWORD: Sangre de grado, *Enterococcus faecalis*, antibacterial activity, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration, diffusion method, phytotherapy, *in vitro*.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	16
II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	17
2.1 ÁREA PROBLEMA	17
2.2 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	19
2.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	20
2.4 OBJETIVOS	20
2.4.1 Objetivo general.....	20
2.4.2 Objetivos específicos	20
2.5 JUSTIFICACIÓN	21
2.6 LIMITACIONES	22
III. MARCO TEÓRICO	22
3.1 ANTECEDENTES	22
3.2 BASES TEÓRICAS.....	25
3.2.1 Factores asociados al fracaso de la terapia pulpar	25
3.2.1.1 Generalidades de la pulpa dental	25
3.2.1.2 Etiología de la enfermedad pulpar	26
3.2.1.3 Fisiopatología de la pulpa y lesiones periapicales	27
3.2.1.4 Microbiología de la infección del conducto radicular	29
3.2.1.5 Procedimiento endodóntico.....	29
3.2.1.6 Medicación interradicular	30
3.2.1.7 Gluconato de clorhexidina	31
3.2.2 <i>Enterococcus faecalis</i>	32
3.2.3 Medicina tradicional	32
3.2.3.1 Fitoterapia	33
3.2.4 <i>Croton lechleri</i> “Sangre de grado”	34
3.2.4.1 Descripción botánica	34
3.2.4.2 Taxonomía.....	34
3.2.4.3 Hábitat	35
3.2.4.4 Obtención del látex de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de grado”	35
3.2.4.5 Composición química	36
3.2.4.6 Actividades farmacológicas.....	37
3.3 HIPÓTESIS.....	39
3.3.1 Hipótesis de investigación.....	39

3.3.2 Hipótesis nula.....	39
3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	39
IV. METODOLOGÍA.....	41
4.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	41
4.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	41
4.2.1 Población.....	41
4.2.2 Muestra	41
4.2.2.1 Criterio de inclusión	42
4.2.2.2 Criterio de extrusión.....	42
4.2.2.3 Unidad de análisis.....	42
4.3 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS	42
4.3.1 Adquisición de muestra.....	42
4.3.2 Activación de la cepa bacteriana	43
4.3.3 Preparación del inóculo.....	43
4.3.4 Método por difusión en placa	43
4.3.5 Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CMI)	46
4.3.6 Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB).....	48
4.4 PROCESAMIENTO DE DATOS	49
4.4.1 Técnica de recolección de datos	49
4.4.2 Ficha de recolección de datos.....	50
4.5 ANÁLISIS DE RESULTADO	50
V. RESULTADOS.....	50
VI. DISCUSIÓN.....	55
VII. CONCLUSIONES.....	58
VIII. RECOMENDACION.....	59
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	60

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Prueba de normalidad	45
Tabla 2. Prueba de muestras relacionadas.....	45
Tabla 3. Relación del tiempo con clorhexidina y “Sangre de grado” a diferentes concentraciones.....	46

FIGURAS

Figura 1. Método de difusión en placa.....	38
Figura 2. Elementos para llevar a cabo el método de difusión en placa.....	39
Figura 3. Secuencia del método de difusión en placa.....	40
Figura 4. Concentración mínima inhibitoria.....	40
Figura 5. Secuencia para determinar la Concentración mínima inhibitoria.....	41
Figura 6. Secuencia para determinar la concentración mínima bactericida.....	42
Figura 7. Concentración mínima bactericida.....	43
Figura 8. Efecto antibacteriano de las muestras en estudio.....	47
Figura 9. Crecimiento bacteriano en placas de cultivo celular.....	48
Figura 10. Tinción Gram y crecimiento de <i>Enterococcus faecalis</i>	48
Figura 11. Crecimiento bacteriano con cada una de las muestras en estudio.....	49

ANEXO

Anexo 1: Autorización para acceder a las instalaciones del laboratorio de Microbiología.....	58
Anexo 2: Constancia de determinación botánica del <i>Croton lechleri</i>	59
Anexo 3: Ficha de recolección de datos.....	60

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones endodónticas son los principales agentes etiológicos en las periodontitis apicales, por ese motivo el propósito de los tratamientos de conducto es: reducir la inflamación, desinfectar y sellar los sistemas de conductos radiculares y ayudar a conservar los dientes naturales para su posterior rehabilitación. Este tratamiento radicular ortógrado es normalmente muy predecible con altas tasas de éxito en casos relativamente sencillos; sin embargo, el 15% resultan ser un fracaso que pueda conllevar a realizar un retratamiento.(1) Una característica notable en estos conductos contaminados esta la capacidad de sobrevivencia de diferentes bacterias entre ellas *Enterococcus faecalis* que crecen y sobreviven en un medio hipotónico, hipertónico, pH ácido, básico y carente de nutrientes que le permiten adherirse a las superficies del huésped; además, la anatomía interradicular hace que la preparación biomecánica no sea eficaz en la eliminación completa de los microorganismos presentes en el interior del conducto,(2) motivo por el cual la medicación intraconducto es imprescindible porque restringe el crecimiento bacteriano y crea una barrera física.(1)

Se han propuesto múltiples sustancias medicadas a nivel intrarradicular entre ellas el hidróxido de calcio por sus múltiples propiedades antibacterianas y biocompatibilidad, sin embargo, la literatura ha demostrado que el hidróxido de calcio es ineficaz frente a *Enterococcus faecalis*; en consecuencia, se llevaron a cabo estudios en el campo de la fitoterapia entre ellas la de Emilio C. Sponchiado que estudió, la *Pothomorphe umbellata* comprobando ser efectiva sobre *E. faecalis*; sin embargo a fin de hallar más opciones que sean capaces de eliminar o controlar los microorganismos eficientemente, se busca múltiples opción viables para tratamientos endodónticos donde puedan ser eficaces sobre *E. faecalis*.(2)

La fitoterapia con fines terapéuticos se ha convertido en una elección para el tratamiento de diferentes tipos de enfermedades de manera que pueda satisfacer las necesidades de salud de la población, razón por la cual se busca impulsar el empleo de productos

naturales entre ellas la de *Croton lechleri* (Sangre de grado), que demuestra ser efectiva y sin efectos colaterales.(3)

El género *Croton* se caracteriza por presentar principios activos entre ellas 30 alcaloides siendo estos componentes químicos investigados para su uso terapéutico como: antiinflamatorias, antibacterianas, antisépticas, antirreumáticas, anticancerígenas, cicatrizantes y antivirales.(4)

Por tal motivo el propósito de este trabajo consiste en determinar el efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* (Sangre de grado) sobre *Enterococcus faecalis*. Se realizó un estudio prospectivo experimental y se evaluó la efectividad del *Croton lechleri* (Sangre de grado) a diferentes concentraciones (25%, 50%, 100%) sobre *Enterococcus faecalis*.

II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

2.1 ÁREA PROBLEMA

La cavidad bucal constituye un hábitat que alberga una variedad de microorganismos predispuestos a desarrollar enfermedades bucales, tales como, la caries y periodontitis; sin embargo, estas también podrían estar asociadas con el fracaso de tratamientos endodónticos a causa de una infiltración microbiana en el sistema de conductos radiculares desencadenando en determinadas situaciones un proceso inflamatorio o infeccioso, esto como consecuencia de la preparación químico-mecánica, relleno, virulencia o de la respuesta del huésped. (5).(6)

La persistencia de la infección en la enfermedad posterior al tratamiento endodóntico hace posible el predominio de bacilos y cocos grampositivos facultativos anaerobios, como: el *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Actinomyces*; estos microorganismos se suspenden en la fase líquida del conducto para su posterior adherencia en las paredes formando colonias en una matriz de sustancia polimérica extracelular. Para adaptarse en un entorno con poca disponibilidad de nutrientes y condiciones desfavorables es necesario que estos microorganismos generen endotoxinas a nivel perirradicular para

inducir y perpetuar la lesión; y entre las bacterias con la capacidad de responder a los cambios tenemos a *Enterococcus faecalis* que comúnmente está asociado a infecciones resistentes al tratamiento.(7)

Ante la necesidad de eliminar las bacterias a nivel del conducto radicular y garantizar el tratamiento endodóntico se busca emplear irrigantes químicos durante todo el proceso de tratamiento, con el propósito de mantener desinfectado y estéril el conducto; porque se evidencia que la instrumentación mecánica no garantiza la completa eliminación de los microorganismos, motivo por el cual se está buscando otros componentes y mecanismos que puedan evitar el avance y alojamiento de las bacterias a nivel intraconducto posterior al tratamiento. (6)

Durante la década de 1970 la Organización Mundial de la Salud (OMS) promocionó la integración de la medicina tradicional en los programas de salud pública en los países en desarrollo, de manera que se lleven a cabo estudios detallados de componentes naturales por sus múltiples propiedades medicinales que son empleados de manera tradicional e incorporadas en ciertas circunstancias a la farmacopea por su componente antibacteriano y cicatrizante; como el caso de Sangre de grado producida en la región de la amazonia peruana.(8)

La fitoterapia ha recobrado importancia por sus múltiples aplicaciones y propiedades entre ellas: antibacterianas, antihemorrágicas, analgésicas, antitumorales y antiinflamatorias; con la finalidad de combatir infecciones que afecten la salud y controlar el dolor. (6) En la actualidad las propiedades protectoras de la Sangre de grado frente a las injurias agudas de la mucosa gástrica así como sus propiedades cicatrizantes sin alteración del pH del medio ha permitido ser una opción a las múltiples alteraciones a nivel de diferentes tejidos; entre otros compuestos podemos encontrar antivirales como el SP-303 que presenta actividad frente a cepas de virus de ARN y ADN entre ellos el virus de la influenza, el virus sincitial respiratorio, el virus del herpes y de los virus de hepatitis A y B. Además podemos mencionar componentes como: neolignanos, procianidina B-1 y B-4, catequina, epicatequina y galocatequina que le confieren un rol

de prevención de enfermedades, motivo por el cual se ha incrementado el desarrollo de investigaciones con el propósito de buscar alternativas terapéuticas que han demostrado ser eficaces y seguras en su aplicación como el *Croton lechleri* (Sangre de grado).(9) Sin embargo cabe resaltar que las investigaciones de *Croton lechleri* sobre los microorganismos prevalentes en defectos y fracasos endodónticos son escasos.

2.2 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

El tratamiento endodóntico es un procedimiento predecible con tasas de éxito entre 86% y el 98% (5) y dentro de los fracasos endodónticos que representan un 14%, los microorganismos predominantes responsables de la persistencia de la infección post tratamiento de conductos está el *Enterococcus faecalis* un coco grampositivo, anaerobio facultativo con una prevalencia que oscila entre 24% y el 77%.(6).

El microorganismo *Enterococcus faecalis* por sus características es capaz de escapar de los medios de desinfección, empleando el líquido del ligamento periodontal como alimento y la biopelícula como protección contra la resistencia del huésped. Adicional a estos mecanismos está la capacidad de resistencia antibiótica a los macrólidos (eritromicina y azitromicina). Esta bacteria anaerobia penetra en los túbulos dentinarios facilitando su posterior adherencia al colágeno del conducto radicular para el desbridamiento químico-mecánico en complicidad con las diferentes cepas y sus diferentes sinergismos responsables del fracaso endodóntico.(10)

Frente a los constantes fracasos endodónticos se ha propuesto componentes antimicrobianos que eviten la adherencia de la bacteria más prevalente, motivo por el cual se ha visto conveniente buscar nuevos campos de investigación que nos permitan aumentar los conocimientos y dentro de ello podemos destacar a la fitoterapia que ha permitido impulsar el uso de productos de origen vegetal como látex de *Croton lechleri* (Sangre de grado) que permite ampliar las nuevas alternativas terapéuticas sin que repercuta en la salud. Diversas investigaciones respaldan la efectividad del *Croton lechleri* otorgándole múltiples propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, cicatrizantes, entre

otras; gracias a que posee metabolitos como catequinas, proantocianidinas (lignanós), y alcaloides (taspinas), ácido clorequínico, coberinas A – B, el 1,2,3- trimetoxibenceno y el 2,4,6-trimetoxifenol, estas cinco últimas consideradas promotoras principales del efecto antibacteriano debido a que fue corroborado en diferentes estudios mostrando efectividad en bacterias como: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Porphyromona gingivalis* y *Lactobacillus acidophilus*.(11).(3).(12).(13)

La fitoterapia ha permitido que diversas áreas de investigación puedan demostrar que sustancias activas como los opioides, terpenos, taninos y flavonoides verificadas en las especies vegetales actúen como bactericidas sobre algunos microorganismos.(14).

En tal sentido se busca comprender la relevancia de la actividad fitoterapéutica del *Croton lechleri* a través de un estudio *in vitro* que buscará generar nuevos conocimientos básicos del efecto sobre la bacteria *Enterococcus faecalis* presente a nivel de los conductos radiculares.

2.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es el efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* (Sangre de grado) sobre el *Enterococcus faecalis*?

2.4 OBJETIVOS

2.4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* (Sangre de grado) sobre el *Enterococcus faecalis*.

2.4.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* al 100% (Sangre de grado) sobre el *Enterococcus faecalis* a las 48 horas y 72 horas de incubación.
- Evaluar el efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* al 50% (Sangre de grado) sobre el *Enterococcus faecalis* a las 48 horas y 72 horas de incubación.
- Evaluar el efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* al 25% sobre (Sangre de grado) el *Enterococcus faecalis* a las 48 horas y 72 horas de incubación.

2.5 JUSTIFICACIÓN

JUSTIFICACIÓN TEÓRICA

En diferentes estudios nacionales e internacionales el *Croton lechleri* ha demostrado tener una prometedora actividad antibacteriana sobre bacterias gramnegativas y grampositivas como *S. mutans* .(12) Sin embargo, es importante destacar que a la fecha no hay estudios que evalúen el efecto de *Croton lechleri* sobre *Enterococcus faecalis*. Es en este contexto que el propósito de este estudio es determinar la actividad antibacteriana de Sangre de grado sobre *Enterococcus faecalis* y evaluar la concentración adecuada efectiva sobre el determinado microorganismo.

JUSTIFICACIÓN SOCIAL

Múltiples aplicaciones en la medicina complementaria se basan en el uso de productos naturales para diferentes enfermedades, permitiendo satisfacer las necesidades de salud de la población, por tal motivo, se busca impulsar el uso del látex *Croton lechleri* para ser empleado sobre bacterias anaerobias facultativas que forman parte de la microbiota de la cavidad bucal del ser humano, la cual se relaciona con infección persistente capaz de sobrevivir en condiciones desfavorables en el conducto radicular posterior a un tratamiento endodóntico.

JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA

El presente trabajo está orientado al desarrollo de las investigaciones dirigidas al descubrimiento de nuevos componentes con acciones farmacológicas provenientes de origen vegetal.

El aporte del estudio a realizar permitirá coadyuvar en la dirección de futuras investigaciones que permita obtener hallazgos complementarios con diferentes métodos, que podrán ser implementados en el campo de la microbiología, así como en la medicina tradicional buscando incursionar en nuevas alternativas de tratamientos odontológicos con el propósito de potenciar las propiedades de productos ya estandarizados.

2.6 LIMITACIONES

Las limitaciones presentadas en el siguiente trabajo son:

- La adquisición del látex de *Croton lechleri* con los estándares de calidad provenientes de los centros autorizados con ISO9001 que garantice la calidad del producto.
- Acceso limitado a los artículos científicos actualizados en relación al tema de investigación.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 ANTECEDENTES

Silva,A 2022. Evaluación de la acción antimicrobiana del látex de *Croton lechleri* Mull.Arg (Euphorbiaceae) en bacterias grampositivas y gramnegativas. El estudio tiene como propósito observar la acción antibacteriana del extracto de *C. lechleri*. Para evaluar la concentración adecuada emplearon la prueba de hemólisis a partir del extracto crudo diluido a 1mg/ml sometido a diluciones seriadas de 1:2 hasta una concentración de 125ug/ml. Las cepas que se emplearon para determinar el efecto antibacteriano fueron: *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli* y *E. faecalis*. En los resultados se demostró que el efecto antibacteriano de *Croton lechleri* sobre *E. faecalis* formó halos de inhibición mayor a 10mm en una concentración de 300mg/mL. (15)

Xiangkuo Z. 2021. Eficacia antibacteriana y antibiopelícula de la Sangre de grado chino contra *Staphylococcus aureus* aislado de heridas infectadas. El propósito de este estudio fue investigar la eficacia antibacteriana y anti-biofilm de Sangre de grado chino contra *S. aureus* aislado de heridas infectadas, para este propósito se empleó pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, ensayo de curva de crecimiento, ensayo de biopelícula, análisis de microscopía electrónica de barrido, prueba de membrana celular y reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa en tiempo real (qRT – PCR). El cultivo de *S. aureus* en crecimiento se trató con diferentes concentraciones seriadas de “Sangre de grado” (0.32; 64; 128; 256 y 512 ug/mL), se encontró que “Sangre de grado” no tiene ningún efecto sobre el crecimiento de *S. aureus* a la concentración menor o igual a 64 ug/ml en comparación con el grupo de

control; mientras que a la concentración mayor o igual 128 ug/mL que podrían inhibir el crecimiento de la bacteria.(16)

Faisal Alghamdi. 2020. La influencia de *Enterococcus faecalis* como patógeno del conducto radicular dental en tratamiento endodóntico: una revisión sistemática. Entre los 2943 estudios solo 11 cumplieron con los criterios de inclusión y se incluyeron en la revisión para un análisis. Una de las principales causas para el fracaso en los tratamientos endodónticos es la persistencia de microorganismos dentro del conducto radicular como *Enterococcus faecalis*. Estas bacterias son más resistentes a los agentes desinfectantes provocando una infección intrarradicular. Se requiere ensayos clínicos sobre *E. faecalis*, que proporcionen información valiosa sobre nuevos métodos de detección microbiana para disminuir la cantidad de *E. faecalis* dentro del sistema de conductos radiculares.(10)

Meza C. 2019. Efecto inhibitorio del látex de *Croton lechleri* (Sangre de grado) y el extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa), sobre *Streptococcus mutans* atcc 25175. El trabajo tiene como propósito comparar el efecto inhibitorio de látex de *Croton lechleri* y del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* sobre *Streptococcus mutans*. Este trabajo responde a un diseño *in vitro* para ello se seleccionó una muestra biológica realizando 10 repeticiones con las concentraciones de 75% y 100% contra las cepas de *Streptococcus mutans*. En los resultados se obtuvo que el látex de *Croton lechleri* en la concentración de 75% presentó un halo de inhibición de 9.81mm y al 100% se logró un halo de inhibición de 16.86mm. Se concluye que el látex de *Croton lechleri* si presentan mayor efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* a diferencia del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus*. (17)

Verduga B. 2019. Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Croton lechleri* sobre la *Porphyromona gingivalis* tiene como objetivo determinar el efecto inhibitorio de *Croton lechleri* sobre las cepas de *Porphyromona gingivalis*. Para la evaluación *in vitro* se empleó diferentes concentraciones del látex (25, 50 y 100%) y un control positivo de Clorhexidina 0.12%. Se midieron los halos de inhibición cuyos resultados relevantes determinaron que la Clorhexidina al 0.12% formó un halo de 12 mm a diferencia de las concentraciones de 25% y 50% del látex que presentaron un efecto inhibitorio de 11mm y 8mm respectivamente.(13)

Montaluisa.L 2018. La actividad antimicrobiana de extracto alcohólico de hojas y corteza de dos variedades de Sangre de grado comparada con la actividad antimicrobiana presente en el látex de la misma especie tiene como propósito estudiar la eficacia antibacteriana del látex de dos variedades de Sangre de Grado *Croton lechleri* Muller Arg y *Croton urucurana* Bail y comparar esa efectividad con la actividad antimicrobiana de los extractos alcohólicos de sus hojas y corteza. Se evaluó la actividad de los extractos alcohólicos y látex frente a *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*. El recuento de bacterias se leyó después de 5 días de incubación y en cuanto a la lectura se realizó a las 24 y 48 h de incubación con dos repeticiones. Se demostró que tanto los extractos alcohólicos del material vegetal como el látex (2500ppm y 5000ppm) presentaron una efectiva actividad antimicrobiana sobre *S. epidermidis*, con una actividad antimicrobiana moderada sobre *B. subtilis* y una actividad antimicrobiana nula sobre *E. coli*.(18)

Chininin J. 2018. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del látex de *Croton lechleri* (Sangre de grado) frente a *Staphylococcus aureus*, tiene como objetivo evaluar la actividad antibacteriana de Sangre de grado sobre *Staphylococcus aureus*, para ello se preparó 6 placas con el cultivo bacteriano y se sembró discos embebidos con etanol 96%, eritromicina y el látex al 50%, 70%,100% cada una en una proporción de 15 uL, se incubaron y a las 48 horas, se midieron los halos de inhibición, durante el análisis identificaron que el valor de $F=61,67$ y significancia menor a 0,01 que indica que existe diferencia significativa entre los promedio de halos de inhibición , siendo el del látex de *Croton lechleri* al 100% el que demostró mayor promedio de inhibición del 54.75% sobre el *Staphylococcus aureus*.(3)

Vasquez E, Carruitero M.2016. Efecto antifúngico *in vitro* del látex de *Croton lechleri* frente a *Candida albicans*, esta investigación tuvo como propósito determinar el efecto antifúngico del látex sobre *Candida albicans*. Se usó un diseño experimental *in vitro* para determinar la concentración mínima fungicida y la sensibilidad del hongo ante el látex. Se evaluaron cuatro concentraciones (16 por cada concentración) 25%,50%,75% y 100% diluidas con el extracto etanólico y el fluconazol como control para la prueba de sensibilidad. En conclusión, la

Candida albicans presentó mayor sensibilidad a medida que se aumentaba la concentración del látex con un crecimiento negativo menor a 16 ufc/ml.(19)

Fura Choquehuanca 2016. Efecto antibacteriano *in vitro* del *Croton lechleri* y gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Lactobacillus acidophilus*, esta investigación tiene como propósito determinar el efecto antibacteriano del *Croton lechleri*, en las diferentes concentraciones del 50%, 75% y 100% sobre *Lactobacillus acidophilus*, al mismo tiempo comparar los efectos con el gluconato de clorhexidina al 0.12%. Para tal fin se trabajó con una muestra representativa de 6 unidades de estudio por cada concentración y para el grupo control evaluados a las 24 y 48 horas. Este trabajo corresponde a un diseño prospectivo, longitudinal, laboratorio y comparativo. Finalmente se demostró que en una concentración del 100% del látex *Croton lechleri* se obtuvo los mejores resultados antibacterianos frente *Lactobacillus acidophilus*.(11)

Cayo C. 2014. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del *Croton lechleri* sobre cultivos de *Streptococcus mutans*. El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto antibacteriano del látex en el crecimiento del *Streptococcus mutans*. Esta investigación es experimental *in vitro*, de tipo aplicada, transversal, prospectivo y descriptivo. Se emplearon diferentes concentraciones del látex (100%, 75% y 40%) donde se demuestra que a menor concentración hubo menor efecto inhibitorio.(12)

3.2 BASES TEÓRICAS

3.2.1 Factores asociados al fracaso de la terapia pulpar

3.2.1.1 Generalidades de la pulpa dental

La pulpa dental deriva de las células de la cresta neural (ectomesénquima). La proliferación y condensación de estas células conduce a la formación de la papila dental a partir de donde se origina la pulpa madura. La pulpa tiene un parecido con el tejido conectivo embrionario ya que posee células especializadas, con una buena inervación y abundante microcirculación.(20)

La pulpa presenta células diferenciadas, como los odontoblastos y las células indiferenciadas en general. Las fibras colágenas producto de los fibroblastos son las principales células del

tejido conectivo pulpar, así mismo presenta otro tipo de células como: histiocitos, linfocitos, células mesenquimales diferenciadas, eosinófilos y macrófagos.(21)

La pulpa dental está fuertemente perfundida por un sistema circulatorio venoso y arterial que necesariamente ingresan por el foramen apical o foramen accesorio, el cual disminuye de diámetro con la edad a medida que el diente envejece, así mismo estas son susceptibles a la congestión en consecuencia de procesos inflamatorios. Durante los procedimientos de endodoncia, es importante considerar los mecanismos neurales proporcionados por dos tipos de fibras nerviosas que están estrechamente relacionadas con la microcirculación pulpar denominada fibras –D y fibras C.(21)

3.2.1.2 Etiología de la enfermedad pulpar

La pulpa dental está expuesta a una serie de agentes nocivos que alteran su funcionalidad poniendo en peligro su estructura. Cada uno de ellos tendrá efectos diferentes en la pulpa como inflamación aguda, crónica o necrosis y estas estarán en relación a la clasificación establecida.(20)

Dentro de los agentes causales de la enfermedad pulpar tenemos:

- Microorganismo

Una de las causas más frecuentes en la destrucción y alteración de la estructura dental son las infecciones bacterianas que pueden ingresar a nivel de canales laterales y cementos dañados como resultado de una enfermedad periodontal, grietas, fracturas y restauraciones con interfaz.(20)

Las infecciones se dan por una flora microbiana mixta predominantemente anaerobia. Se ha investigado que el *Streptococcus mutans* por sí mismo no induce inflamación pulpar a diferencia de especies como *Porphyromonas* y *Enterococcus* que si generan daños irreversibles. También es importante destacar que la pulpa puede inflamarse mucho más antes de que la bacteria llegue físicamente a la pulpa. Sustancias como toxinas bacterianas,

enzimas, antígenos, quimio toxinas, ácidos orgánicos y productos de destrucción de tejidos pueden difundirse a través de los túbulos dentinarios para causar pulpa irritada.(20)

- **Traumas dentales**

La fractura de la corona producto de un trauma puede proporcionar una vía para el ingreso de microorganismos, que puede generar una necrosis pulpar y la infección del sistema de conductos. En mucho de los casos una fractura a nivel radicular puede interrumpir el suministro sanguíneo que resulta en estasis vascular con el desarrollo de hipoxia e isquemia y en consecuencia una necrosis pulpar.(20)

- **Factor iatrogénico**

El daño generado por un acto médico involuntario puede dañar la pulpa dental. Por otro lado, la refrigeración es indispensable para realizar los procedimientos odontológicos, caso contrario puede ocasionar una irritación de la pulpa. Las restauraciones grandes pueden causar grietas cuando están bajo carga y esto facilita el ingreso de microorganismos. El movimiento de ortodoncia, el legrado periodontal y la manipulación protodóntica también puede causar inflamación y daño pulpar. La técnica Caldwell-Luc que implica la extracción del revestimiento del seno maxilar, también puede causar inflamación y necrosis pulpar.(20)

3.2.1.3 Fisiopatología de la pulpa y lesiones periapicales

Los dientes con o sin pulpa viable son mucho más resistentes a la invasión bacteriana que ingresan con mucha facilidad, por otro lado, la pulpa juega un rol importante en el proceso de defensa ya que cuenta con túbulos dentinarios que en cuyo interior alberga a los odontoblastos, fibras nerviosas, colágeno, glicoproteínas y fluidos que pueden comportarse colectivamente como un hidrogel cargado positivamente capaz de detener la invasión bacteriana y reducir la permeabilidad de la dentina.(20)

La pulpa dental puede sufrir daños irreversibles y generar una necrosis pulpar con un crecimiento microbiano a nivel intracanal. Cuando los subproductos microbianos se extienden

al espacio del ligamento periodontal la pieza puede manifestar sintomatología a la percusión o dolor espontáneo, así mismo puede presentar cambios radiográficos que va desde un engrosamiento del espacio del ligamento periodontal hasta la aparición de una lesión radiolúcida a nivel periapical. (1)

La terminología y la clasificación de las lesiones periapicales se basa en lo sugerido por la Asociación Americana de Endodoncia. (22)

- **Periodontitis apical asintomática**

La lesión periapical asintomática está relacionada con la inflamación y destrucción del periodonto apical que es originado por un daño pulpar. Esta lesión periapical no produce síntomas clínicos y no suelen responder a pruebas de sensibilidad; radiográficamente presenta una radiolucidez a nivel apical y la persistencia puede variar entre los pacientes.(22)

- **Periodontitis apical sintomática**

Esta afección se caracteriza por una inflamación del periodonto apical con manifestaciones clínicas que incluye una respuesta dolorosa durante la percusión o la palpación. Esta lesión puede o no estar asociada a una radiolucidez apical, así como las pruebas de sensibilidad pulpar. Sin embargo, es importante destacar que durante el análisis radiográfico se visualizará el ensanchamiento del espacio para el ligamento periodontal.(22)

- **Absceso apical agudo**

Se define como una reacción inflamatoria caracterizada por un inicio rápido, dolor espontáneo, sensibilidad a la presión y formación de pus. Para la evolución clínica el diente no responderá a ninguna prueba de sensibilidad pulpar y mostrará diversos grados de movilidad. Radiológicamente se visualizó un ensanchamiento del espacio para el ligamento periodontal y una radiolucidez a nivel apical. La inflamación se manifestará intraoralmente y los tejidos adyacentes presentan cierto grado de inflamación. Otras manifestaciones clínicas muy frecuentes son: alza térmica y los ganglios linfáticos cervicales y submandibulares con cierto grado de sensibilidad a la palpación.(22)

- Absceso apical crónico

Es una reacción inflamatoria caracterizada por un inicio gradual y con ausencia de molestias. Clínicamente presenta secreción de pus a través de un tracto sinusal que puede mostrarse a nivel intra o extraoral. Por lo general la pieza dental no es sensible a la palpación, sin embargo, el paciente puede ser un poco sensible a la percusión.(22)

3.2.1.4 Microbiología de la infección del conducto radicular

La infección microbiana genera una resistencia de la dentina frente a la reacción inflamatoria provocada por los microorganismos que restringen la circulación en la pulpa debilitando la capacidad de respuesta que conduce a un daño pulpar irreversible. El propósito del tratamiento de conducto mediante la preparación químico-mecánica es evitar la contaminación e infección del conducto radicular.(7)

La reproducción microbiana prevalece hasta un 80% en los dientes previamente tratados endodónticamente mediado por diferentes factores entre ellos el medio interno, la disminución de oxígeno y el grado de acidez que da lugar a un crecimiento excesivo de algunos microorganismos dentro del conducto radicular entre las más predominantes están *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.(7)

El fracaso de los tratamientos endodónticos es producto de la persistencia de los microorganismos intrarradiculares por ello para asegurar la permanencia de la restauración estas deben de ser selladas herméticamente.(7)

3.2.1.5 Procedimiento endodóntico

El procedimiento endodóntico tiene como propósito preservar las piezas dentales dañadas, evitando así su pérdida. Para ello se extrae el tejido pulpar y en la cavidad formada se rellena con material inerte y biocompatible. Estos tratamientos al ser procedimientos invasivos y difíciles por la anatomía compleja suelen tener altas tasas de éxito, sin embargo, en algunos casos surgen algunas complicaciones debido a los reparos anatómicos, a los errores iatrogénicos y durante la preparación biomecánica. (23)

El éxito de un tratamiento endodóntico depende de una correcta desinfección químico-mecánico acompañada de una irrigación, la cual tiene que lograr efectos químicos, mecánicos

y biológicos; dentro de ello permite la eliminación los restos del tejido pulpar, dilución del tejido orgánico e inorgánico y eliminación del tejido residual dentinario. Los irrigadores más utilizados en la actualidad son: Hipoclorito de sodio, clorhexidina y el EDTA.(24)

Para efectuar un correcto procedimiento en la terapia pulpar es indispensable que, durante la interacción entre preparación de la cavidad y las variables de restauración, se fomente la reparación de respuesta a la infección pulpar. Para contar con un mayor éxito es necesario tomar en consideración lo siguiente; utilizar la refrigeración durante la preparación de la cavidad sin desgaste excesivo de la estructura dental, seleccionar los materiales adecuados tomando en consideración los efectos biológicos, así como su acción química, evitar la microfiltración bacteriana que fomentará la restauración y reducirá las complicaciones postoperatorias.(25)

3.2.1.6 Medicación interradicular

Los procedimientos antisépticos en endodoncia para evitar la presencia de gérmenes, marcan el éxito del tratamiento realizado en el campo de esta especialidad. Por consiguiente se ha demostrado que la medicación interradicular juega un rol en la desinfección del conducto radicular por lo que estaría indicada en raíces infectadas, así mismo cabe destacar que cumple múltiples funciones entre ellas; elimina microorganismos restantes después de la instrumentación, reduce la inflamación del tejido residual a nivel del conducto y actúa como barrera ante fugas de relleno temporal.(26)

El desbridamiento del canal radicular se considera el procedimiento más pertinente para la disminución y eliminación de bacterias, pero si todo el proceso no presenta buenos resultados es necesario el empleo de los medicamentos interradiculares.(26)

Numerosos son los medicamentos que se emplean para tal propósito y dentro de ellos se encuentra el hidróxido de calcio que destruye todas las bacterias que quedan después de la instrumentación en el conducto radicular, reduciendo la inflamación de los tejidos periapicales y neutralizando los restos de tejido.(27)

3.2.1.7 Gluconato de clorhexidina

Es un antiséptico desarrollado en Reino Unido usado como irrigante y medicamento en endodoncia durante más de una década. Este componente cuenta con un pH de 5.5 y 7 y debido a sus cargas catiónicas es capaz de unirse a las superficies cargadas negativamente de las bacterias, dañando la membrana celular.(1)

Este componente a diferencia de NaCl, es capaz de mantenerse en la dentina debido a su naturaleza catiónica, así mismo cuenta con la propiedad de sustentividad que permite la liberación gradual y prolongada a niveles terapéuticos; esta propiedad está relacionada directamente con el tiempo y la concentración de la clorhexidina.(1)

La clorhexidina se emplea como irrigante y medicación intracanal. Se ha demostrado en un estudio *in vitro* que la clorhexidina al 2% presenta mayor efecto antibacteriano que la Clorhexidina al 0.12% sin embargo a diferencia de NaCl, no tiene la capacidad de disolver el material orgánico.(1)

En diferentes estudios *in vitro* y RTQ-PCR entre clorhexidina al 2%, clorhexidina 0.12% y la de NaCl al 2.5% en dientes con periodontitis apical se demostró que la Clorhexidina es deficiente durante la disolución de tejido orgánico; por lo tanto, el NaCl se considera la solución irrigante más empleada en endodoncia.(1)

-Clorhexidina como medicación intraconducto

En un estudio *in vitro* se comparó la eficacia antimicrobiana entre el hidróxido de calcio (Ca (OH)) y la clorhexidina al 2%, el cual resultó que esta última presentó mayor eficacia en la eliminación de biopelículas de *E. faecalis*, ya que evita la colonización de bacterias a nivel de las paredes del canal radicular.(1)

Sin embargo, en otros estudios se demostró que la medicación Ca (OH), el gel de Clorhexidina al 2% y la mezcla de ambos componentes aplicada durante 7 días no redujo la concentración bacteriana más allá de lo que se consiguió tras la preparación química con NaCl al 1%, motivo por el cual los resultados pueden ser variables según los diagnósticos, el tiempo y la concentración de los componentes a emplear.(1)

- Clorhexidina con hidróxido de calcio

La Clorhexidina con el Ca (OH) por sus propiedades antimicrobianas actúan de forma sinérgica para aumentar su eficacia. El alto pH del hidróxido de calcio no se afecta al combinarse con la clorhexidina sin embargo las diferentes investigaciones son controversiales debido a que no siempre cumplen la función antibacteriana.(1)

3.2.2 *Enterococcus faecalis*

El término *Enterococcus* descubierto en 1899, son cocos grampositivos anaerobios facultativos que no forman endosporas ni cápsulas, pero causan infecciones oportunistas a causa de sus toxinas que secreta de forma directa o indirecta inducidas por el proceso inflamatorio. Posee muchos mecanismos de supervivencia en condiciones desfavorables tales como; ambientes de poco oxígeno, pH alto, amplio rango de temperatura (10°- 60°), alta salinidad y un ambiente deficiente de nutrientes; así mismo todo este proceso facilita la penetración en los túbulos dentinarios, adherencia al colágeno de tipo I y IV y estimulan la liberación de factores de necrosis tumoral e interferones como resultado de la liberación de células T inducidas por la bacteria. Los factores de virulencia son; agregación de sustancias, adherencia de la superficie bacteriana, producción de ácido lipoteicoico y liberación de enzimas (gelatinasa y hialuronidasa). En los múltiples estudios se demostró que esta bacteria puede vivir en presencia de medicación intracanal tales como hidróxido de calcio y ante la presencia de hipoclorito de sodio al 6.5%. Además, cuenta con la capacidad de resistencia a los antibióticos especialmente la eritromicina y azitromicina.(28)

Las lesiones apicales persistentes a consecuencia de los fracasos de tratamientos endodónticos son frecuentemente invadidas por *Enterococcus faecalis* (89,6%).(28)

3.2.3 Medicina tradicional

La medicina tradicional se presenta en todo el mundo, porque forma parte del patrimonio cultural de cada país que ha venido desarrollando antes de nuestra medicina actual. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estado promoviendo el uso de aquellos medicamentos tradicionales que han resultado efectivos y seguros en la Atención Primaria de

la Salud (APS) desde 1976. Uno de los países que promueve el empleo de estos medicamentos es Cuba cuyas facultades hacen uso del laboratorio multidisciplinario de investigación para la producción y control de calidad de medicamentos herbarios y tiendan a establecer colaboraciones con los dispensarios de farmacias hospitalarias y otras áreas de salud.(29)

3.2.3.1 Fitoterapia

La fitoterapia es un neologismo empleado por Henri Leclerc, médico francés; este término se empleó para designar la utilización de las plantas medicinales con fines terapéuticos. Posteriormente fue definida como terapia complementaria que utiliza plantas o parte de ellas donde el empirismo de la medicina tradicional se transforma en fundamento científico que pone a prueba al método científico realizado en laboratorios. Ante la necesidad de complementar la información médica se ha impulsado la revaloración y empleo de las plantas medicinales armonizando la medicina tradicional con las terapias oficiales de cada país.(30)

- Características de la fitoterapia

A diferencia de la medicina convencional esta utiliza matrices vegetales complejas. Estas matrices constituyen plantas enteras, parte de ellas (hojas raíces, etc.). El fitocomplejo es la mezcla de sustancias activas y otras acompañantes que actúan en conjunto para lograr un mismo fin terapéutico. Estas sustancias activas son llamadas técnicamente metabolitos secundarios que son producto secundario de la fotosíntesis y que intervienen en procesos vegetales como la defensa frente a patógenos y protección a los rayos UV. Estos metabolitos corresponden a compuestos que dependiendo al origen genético pueden ser biosintetizados siguiendo varias rutas metabólicas, así podemos encontrar compuestos de la familia fenólica como los flavonoides, terpénica como saponinas y aceites esenciales; alcaloides; esteroides como cardiotónicos y fitohormonas, y polímeros heterogéneos como gomas y mucilagos. La fitoterapia y fitocomplejo referente a la planta medicinal puede sufrir un conjunto de procesos al que se le denomina como producto final fitomedicamento.(30)

- **Fitoterapia en odontología**

La difusión de la fitoterapia entre otros programas preventivos y curativos ha estimulado el avance y la evaluación de extractos de plantas para su uso en odontología como controladores de biofilm y otras afecciones dentales. Es así que en estos últimos años se busca nuevos productos con mayor actividad terapéutica, con menor toxicidad, mejor biocompatibilidad y precios más accesibles. La aceptación de la fitoterapia lleva a nuevas perspectivas y estudios en laboratorio para comprobar su eficacia y beneficio dentro del área de la odontología, a partir de la cual surgen nuevas pesquisas respecto a sus efectos antibacterianos, antivirales, antiinflamatorios y cicatrizantes naturales.(31)

3.2.4 *Croton lechleri* “Sangre de grado”

3.2.4.1 Descripción botánica

Es una especie perenne solitaria de hasta 25 metro de altura y un diámetro de 40 cm, presenta copas esféricas, ramas irregulares y generalmente fusionadas con marcada tendencia a ramificarse durante el crecimiento. Este árbol de la familia de *Euphorbiaceae* tiene una corteza blanca de 20-25 mm de espesor, con látex rojizo, ramas cubiertas de pelos estrellados, hojas anchas ovaladas con bases glandulares y plurinervadas; los peciolos son alargados; inflorescencia en forma de racimos con flores blancas unisexuales y vainas pubescente de 5mm de diámetro.(14)

3.2.4.2 Taxonomía

- División: *Magnoliophyta*
- Clase: *Magnoliopsida*
- Orden: *Euphorbiales*
- Familia: *Euphorbiaceae*
- Género: *Croton*
- Sección: *Cyclostigma*
- Especie: *Croton lechleri*

- N. Científico: *Croton lechleri MullerArg*
- N. Común: Sangre de grado o Sangre de drago, palo sangre, huampo.(32)

Asimismo, mencionar que en Perú existen 5 especies a más, con propiedades de producir látex medicinal entre ellas tenemos: *C. draco cham*, *C. draconoides Mull Arg*, *C. equinocarpus Mull Arg*, *C. urucurana*, *C. xalapensis H.B.K* entre otras. (32)

3.2.4.3 Hábitat

Esta especie vegetal es originaria de las regiones tropicales y subtropicales de Sudamérica desde Bolivia, Colombia, Ecuador, Brasil y principalmente Perú,(33) crece en bosques densos; especialmente en bosques húmedos. Se presenta en la región amazónica, a una altitud de 705-1660 msnm, en las provincias de Amazonas, Cusco, Huánuco, Junín, San Martín, Madre de Dios, Loreto y en los valles de Oxapampa, Entaz, Cacazú y Palcazú del departamento de Pasco.(34)

3.2.4.4 Obtención del látex de *Croton lechleri* “Sangre de grado”

El proceso de obtener “Sangre de drago” se denomina sangrado. El látex se obtiene realizando una incisión a nivel de la corteza del tallo. Hay dos tipos de recolección, una incisión en diagonal, en espiral o en forma de V, para llevar a cabo este proceso se arranca un trozo de la corteza con un machete y el exudado se recoge en un recipiente. Suelen efectuar el sangrado periódico del mismo árbol y para comprobar su autenticidad se frota el látex sobre la piel, debiendo ésta cambiar a color blanquecino. La segunda modalidad ha sido utilizada solamente para recolección industrial donde disponen a tumbar el árbol para que quede inclinada y la copa en la parte más baja facilite el sangrado, que finalmente será recolectado en un recipiente. Las propiedades del látex varían según la técnica utilizada. Cuando se extrae con machete el rendimiento es de unos 30 ml y permite cosechas periódicas. Sin embargo, cuando se recolecta con técnicas de rasgado se obtiene alrededor de 1 litro y al aserrar árboles hasta más de 4 litros.(33)

La cantidad obtenida dependerá principalmente de los siguientes factores, ordenados por orden de importancia:

- Diámetro del árbol que va en relación directa con el incremento de látex.
- Existencia de cortes previos en la corteza.
- Hora de recolección durante el día, debido a que durante la mañana el látex fluye con mayor intensidad.
- Presencia temporal de agua en el suelo.
- Hábitat de la planta.
- Característica intrínseca de la planta.(33)

3.2.4.5 Composición química

- Proantocianidinas

Es un componente que supone más del 90% del peso seco de la Sangre de grado, incluyendo catequinas como oligómeros proantocianidínicos (taninos catéquicos) de hasta 20 unidades. Entre las catequinas que destacan tenemos: epicatequina, galocatequina y epigalocatequinas. Entre los oligómeros más grandes, destaca el SP-303, que es un oligómero proantocianidínico heterogéneo constituido por 5 a 11 unidades de todas las catequinas.(33)

- Alcaloides

El látex de *Croton lechleri* contiene taspina que es el primer compuesto que muestra actividad farmacológica. El contenido de taspina en el látex varía ampliamente y oscila entre 1,3% y el 20,4% en peso seco. A diferencia del látex, las hojas de esta especie contienen otros alcaloides adicionales, de los cuales se han identificado tres sustancias químicas diferentes. (33)

- Lignan y otros compuestos minoritarios

Entre los componentes minoritarios también se encuentran lignanos denominado 3,4-0 dimetil-cedrusina, y diterpenos como ácido hardwickiico, bicantriol, crolequinico, corberina A y corberina B. Además, están presentes β - sitosterol-3-0- β -D glucopiranosido, 1,3,5-

trimetoxibenceno, 2,4,6- trimetroxifenol, 3,4- dimetoxifenol., alcohol 3,4 -dimetoxibenzilico y alcohol 4- hidroxifenetilico. (33)

3.2.4.6 Actividades farmacológicas

- Actividad cicatrizante y antiulcerosas

La “Sangre de grado” estimula la contracción de la herida, ayuda a la formación de la costra formando colágeno y en consecuencia a la regeneración rápida de la piel. Los polifenoles (catequinas y proantocianidinas), la taspina y el 3-4-o- dimetilcedrusina demostraron que este látex genera mayor efecto que sus componentes aislados. A su vez la taspina en una fase temprana promueve la curación de las heridas y su actividad terapéutica podría estar relacionada con la estimulación de la quimiotaxis de fibroblastos, aunque no existan estudios contundentes donde afirmen esta actividad celular. Además, se ha comprobado la actividad de la taspina en el tratamiento de úlceras gástricas agudas, reduciendo la mieloperoxidasa, el tamaño de la úlcera y la sepsis. También queda demostrado los polifenoles generan una acción secuestradora de radicales libres y las proantocianidinas estimulan la reparación de tejido estimulando la formación de costra y cierre de heridas.(33)

- Actividad antiinflamatoria

Se ha estudiado a la tapina y se demostró que inhibe la proliferación de células SK23 y HT29, mostrando una mayor actividad sobre la primera. Los resultados demuestran que otros componentes del látex como la proantocianina intervienen en las actividades antiinflamatorias. Por otro lado, se ha comprobado en un estudio *in vivo* que el látex intraperitoneal es altamente efectivo para disminuir la acción inflamatoria. (33)

- Actividad inmunomoduladora

Esta actividad se demostró en estudios experimentales *in vitro*, debido a su actividad inhibidora del sistema de complemento y su doble respuesta a la producción de especies reactivas de oxígeno, sobre la fagocitosis y su actividad linfocitaria. La actividad sobre el

sistema de complemento, le brinda la capacidad de interactuar de forma efectiva sobre el sistema celular y humoral, así mismo esta podría ser afectada por la formación de complejo atacante de membrana, por lo que cabe mencionar que la actividad de “Sangre de grado” sobre el sistema de complemento podría estar relacionado con la reducción de iones de Ca^{2+} y Mg^{2+} , fundamentales para la actividad del sistema de complemento.(33)

La “Sangre de drago” presenta múltiples actividades (prooxidante /antioxidante) sobre la producción de especies reactivas de oxígeno como se ha demostrado en estudios *in vitro* con monocitos de sangre humana y leucocitos polimorfonucleares, estimulados con peróxido como con PMA. Esta propiedad de antioxidante la confiere los ácidos fenoles, polifenoles, flavonoides debido a su a su actividad quelante. Importante mencionar que también este látex puede generar actividad sobre la fagocitosis y sobre la proliferación linfocitaria.(33)

- **Actividad antimutagénica**

La “Sangre de grado” tras estudios demuestra que no es mutagénico ni genotóxico. También se ha observado que tiene un efecto profiláctico frente a mutaciones inducida por 2-aminoantraceno, el cual estaría relacionada con la presencia de proantocianidinas.(33)

- **Actividad antidiarreica**

Se ha demostrado *in vivo* que SP-303 es eficaz en el tratamiento de las diarrea inducida por la toxina del cólera y estudios sugieren que el mecanismo de acción está relacionado con la inhibición de la secreción de cloruro mediada por el AMPc, en las células epiteliales del tejido intestinal.(14)

- **Actividad antimicrobiana y antiviral**

Diversos estudios respaldan la actividad antimicrobiana y antiviral de la “Sangre de drago”, gracias al componente SP-303. Esta proantocianidina fue investigada tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*, así como en humanos, demostrando que inhibe diferentes virus DNA y RNA, incluyendo el virus herpes, el virus de la hepatitis, el virus de la influenza y el virus

sincitial respiratorio. La Sangre de grado por sus múltiples principios activos ha demostrado efectividad sobre *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*. Y esto debido a que presenta 1,3,5-trimetoxibenceno y el 2,4,6 trimetoxifenol dos componentes incluso más potente que la penicilina y el cloranfenicol.(33)

- **Efectos adversos**

Los efectos secundarios del uso de “Sangre de grado” son: estreñimiento, indigestión y trastornos circulatorios. No es recomendable usar indiscriminadamente en heridas extensas o quemaduras. Los efectos citotóxicos de la Taspina en úlcera duodenal pueden causar daño hepático. Se han realizado estudios experimentales en animales sin efectos tóxicos a dosis apropiada para el peso corporal.(35)

3.3 HIPÓTESIS

3.3.1 Hipótesis de investigación

El látex de *Croton lechleri* (Sangre de grado) si presenta efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis*.

3.3.2 Hipótesis nula

El látex de *Croton lechleri* (Sangre de grado) no presenta efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis*.

3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	TIPOS	CLASIFICACIÓN	INDICADOR CATEGÓRICO	VALOR	ESCALA DE MEDICIÓN
Látex de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de grado” a diferentes concentraciones	El extracto de látex es obtenido directamente de la corteza del <i>Croton lechleri</i> .	Este árbol de la familia de <i>Euphorbiaceae</i> presenta una corteza blanquecina de 20-25 mm de espesor provista de un látex rojizo. (Según Iglesias. J)	Independiente	Cualitativa	Concentraciones	25%-50%-100%	Ordinal
Gluconato de Clorhexidina 2%	Antiséptico utilizado como agente antimicrobiano a nivel intracanal.	La clorhexidina al 2% es eficaz para eliminar biopelícula de <i>E.faecalis</i> , e inhibe la reabsorción radicular externa.(Según Berman. L.H)	Independiente	Cualitativa	Concentración	2%	Nominal
Efecto antimicrobiano sobre <i>Enterococcus faecalis</i>	Acción de ciertos elementos que actúan contra <i>Enterococcus faecalis</i> inhibiendo el crecimiento		Dependiente	cuantitativo	THICM: tamaño del halo de inhibición del crecimiento del microorganismo	Según escala de Duraffourd - Nula (-) = < 8 mm - Sensible (+) = 8 a 14 mm - Muy sensible (++) = 14 a 20 mm Sumamente sensible (+++) = ≥20 mm	Continua

IV. METODOLOGÍA

4.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Método: Científico

El diseño es de tipo experimental, longitudinal y prospectivo.

Experimental: Se empleó recursos materiales para determinar el comportamiento de la bacteria en relación al efecto antibacteriano generado por el látex de *Croton lechleri*.

Prospectivo: La información se registró en paralelo conforme se ejecutó el experimento.

Longitudinal: Las muestras fueron evaluadas en dos momentos (48 y 72 horas).

4.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

4.2.1 Población

La población es una cantidad infinita de cepas de *Enterococcus faecalis*, que se manejó mediante parámetros indicados según el laboratorio Gen Lab.

4.2.2 Muestra

La unidad de análisis estuvo conformada por cultivos de la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

- **Tipo de muestreo:** Se aplicó un muestreo no probabilístico por conveniencia.

Tamaño muestral

Se empleó la fórmula que corresponde a comparación de medias, aplicando la susceptibilidad bacteriana.

$$n = \frac{2 \times (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \times \sigma^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Dónde: n = Número de placas Petri para cada concentración.

$Z_{\alpha/2}$ = 1.960 Valor Z al 5% de error tipo I

Z_{β} = 0.842 Valor Z al 20% de error tipo II

σ^2 = 1.46 Desviación estándar de la susceptibilidad bacteriana.

$\mu_1 - \mu_2$ = Diferencia a detectar en la susceptibilidad bacteriana

Se asume: $\sigma / (\mu_1 - \mu_2) = 1$

Reemplazando se tiene:

n= 10 repeticiones

4.2.2.1 Criterio de inclusión

- Cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 puras y libres de contaminantes.

4.2.2.2 Criterio de extrusión

- Cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 contaminadas durante la experimentación.
- Placas Petri con defectos de fábrica que presenten algún tipo de daño en su estructura durante el proceso de incubación.

4.2.2.3 Unidad de análisis

La unidad de análisis para el método de difusión en placa se estableció en cada una de las placas de Petri con cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y sobre ella el látex de *Croton lechleri* en determinadas concentraciones.

4.3 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

Procedimiento

Para ejecutar el proyecto dentro del laboratorio de Microbiología, se solicitó el permiso a las autoridades de la facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **(ANEXO 1)**

4.3.1 Adquisición de muestra

Las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fueron adquiridas del laboratorio estadounidense Gen Lab, sede Lima- Perú.

El látex de *Croton lechleri* (Sangre de grado) fue obtenida directamente del laboratorio de Amanatura del Perú S.A.C y certificada por el biólogo Darío Dávila Paredes docente de la UNAP (Universidad Nacional de la Amazonía Peruana) garantizando los estándares de calidad. **(ANEXO 2)**

Para la dilución de látex de Sangre de grado se empleó el etanol al 96% con el propósito de obtener diferentes concentraciones de 25%, 50% y 100%; una vez realizada la dilución se procedió a destilar por filtración de membrana. (10) (2) (11) (12).

ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

4.3.2 Activación de la cepa bacteriana

La cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 se activó sembrando en agar BHI y fue sometido a condiciones de 37 °C por 48 - 72 horas en una cámara de microanaerobiosis (5 a 10% de CO₂) en jarra Gaspak.

4.3.3 Preparación del inóculo

Se realizó diluciones de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en suero fisiológico hasta obtener una turbidez semejante al tubo N° 0.5 del Nefelómetro de la escala de Mc Farland (suspensión experimental) que corresponde a 1.5×10^8 UFC.

Determinación de la actividad antibacteriana

4.3.4 Método por difusión en placa

El método por difusión en placa estuvo orientado a la determinación cuantitativa de la actividad antibacteriana, para tal fin se empleó el agar Müller Hinton que es el medio más adecuado para realizar las pruebas de sensibilidad. **(Fig 1)**

Se prepararon discos de papel filtro estériles de la marca Whatman de 2 µm, embebidos con las concentraciones experimentales (100%,50%,25%) y las soluciones de control positivo y negativo.

Se prepararon las placas Petri con medio agar Müller Hinton, sobre las cuales se sembró el *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, a partir de una suspensión en suero fisiológico con turbidez equivalente a la escala de Mac Farland (1.5×10^8), **(Fig 2)** seguidamente se añadió 100 microlitros y se empleó la técnica de diseminación en placas de manera uniforme sobre toda la superficie del agar, previamente se prepararon discos de papel de filtro estériles de 6 mm de diámetro, los cuales fueron sumergidos dentro de las concentraciones 25%, 50%, y 100% de látex de *Croton lechleri*, luego con una pinza estéril estos se colocaron sobre los cultivos de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, en las Placas Petri previamente preparadas; todo el procedimiento se llevó a cabo dentro del diámetro de 10cm de la llama de un mechero; se realizaron 10 repeticiones para cada concentración

experimental, y se empleó como grupo control discos embebidos en Clorhexidina al 2%. Las placas se voltearon de posición y se incubaron en microanaerobiosis utilizando la jarra de GasPack, con el método de la vela en extinción, el cual consiste en sellar la jarra GasPack con una vela encendida dentro hasta que se extinga, el cual todo este proceso nos permitió obtener un ambiente aproximadamente de 5 a 10% de CO₂, y una temperatura de 37° C durante 48 y 72 horas.

La lectura se llevó a cabo a las 48 y 72 horas respectivamente mediante la inspección visual de cada placa. La medición se efectuó tomando el registro en milímetros de diámetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. (**Fig 3**).

El protocolo de eliminación de cepas y de todo el material biológico utilizado, fue esterilizado por calor húmedo por autoclave para su posterior descarte.

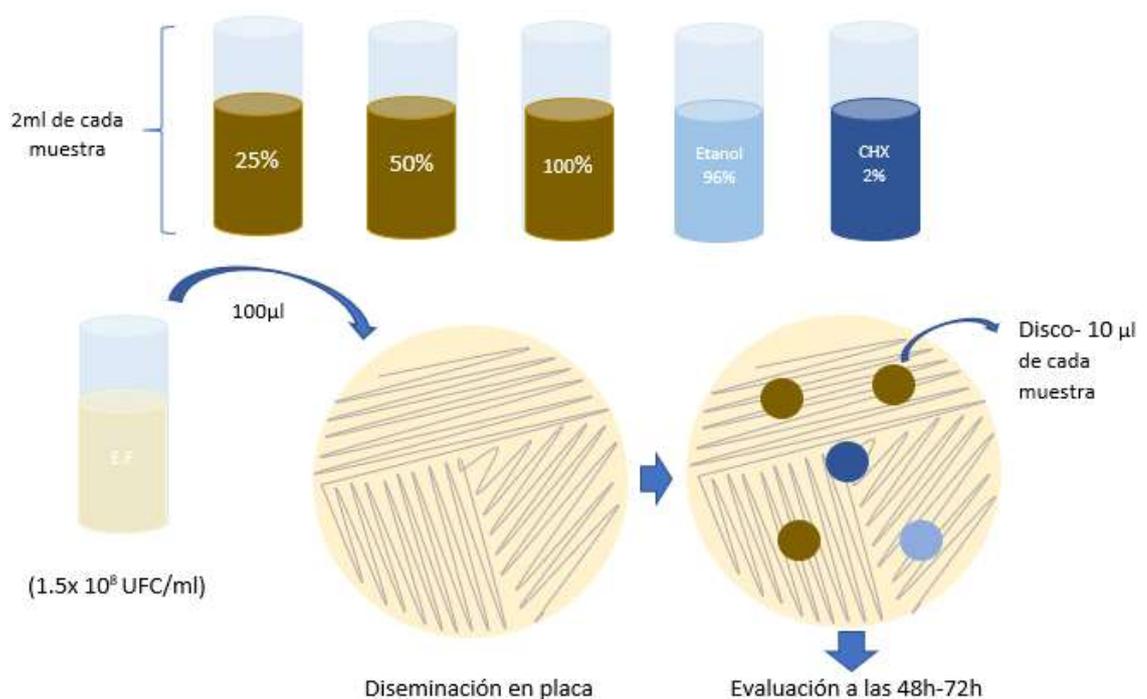


Figura 1: Proceso del método de difusión en placa

Fuente: Propia

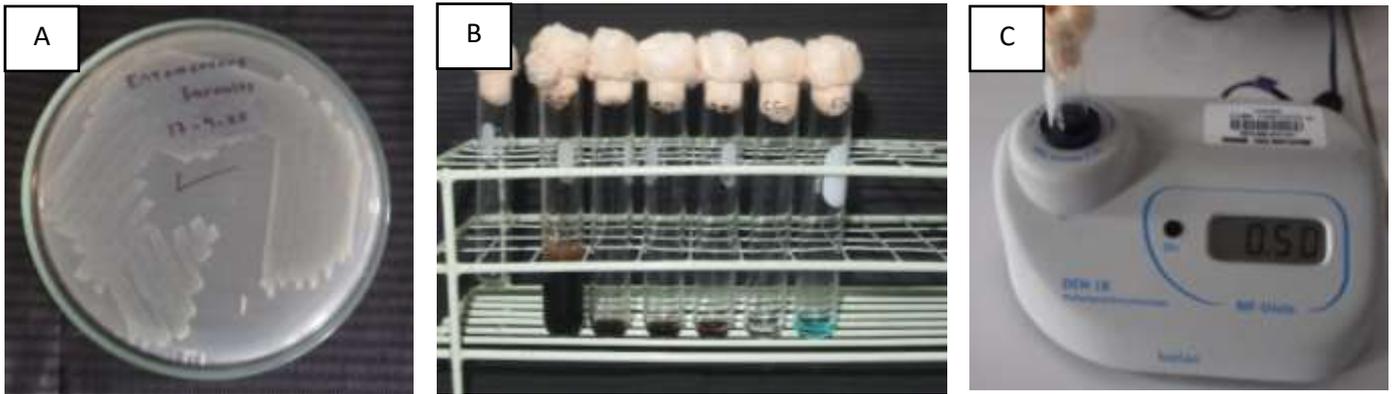


Figura 2: **A.** *Enterococcus faecalis* **B.** Sangre de grado (25%,50%,100%), Clorhexidina 2%, etanol 96° **C.** *E.F* según la escala de Mac Farland (1.5×10^8) en el densitómetro.

Fuente: Propia

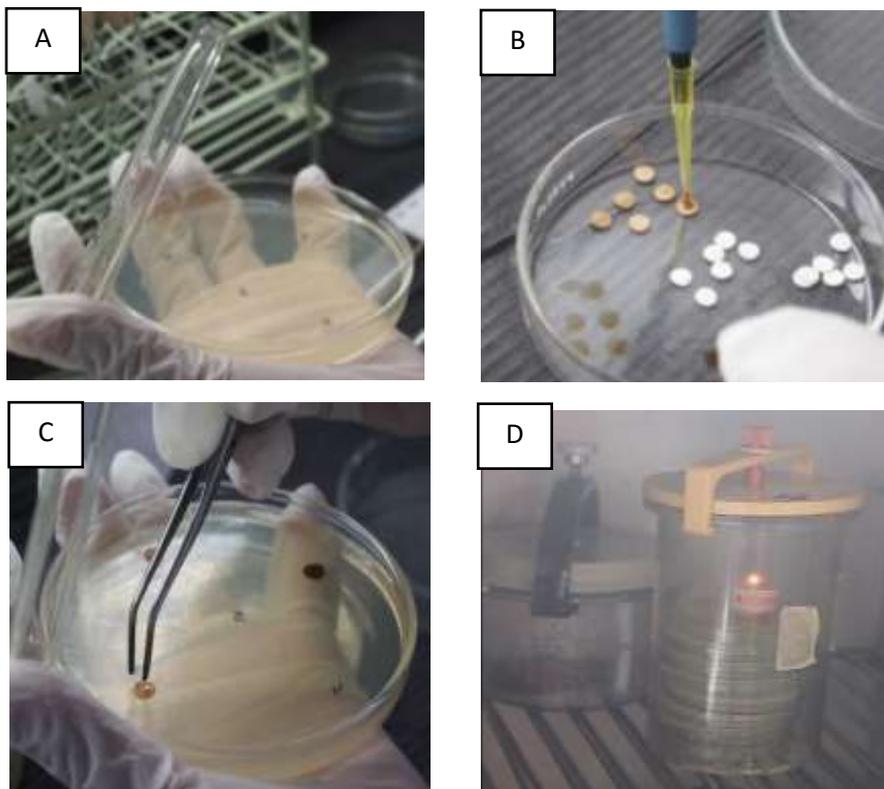


Figura 3: **A.** Diseminación en placa **B.** Disco embebido con cada muestra **C.** Distribuir cada disco en la placa **D.** Micro anaerobiosis con el método de la vela en extinción

Fuente: Propia

4.3.5 Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CMI)

Se determinó mediante la prueba de dilución en microplacas, para cumplir con el propósito se empleó el agar Müller Hinton y se procedió a realizar las diluciones (1:1; 1:3;1:7) para cada una de las diferentes concentraciones (25%,50%,100%) así como del grupo control positivo y negativo. (Fig 4)

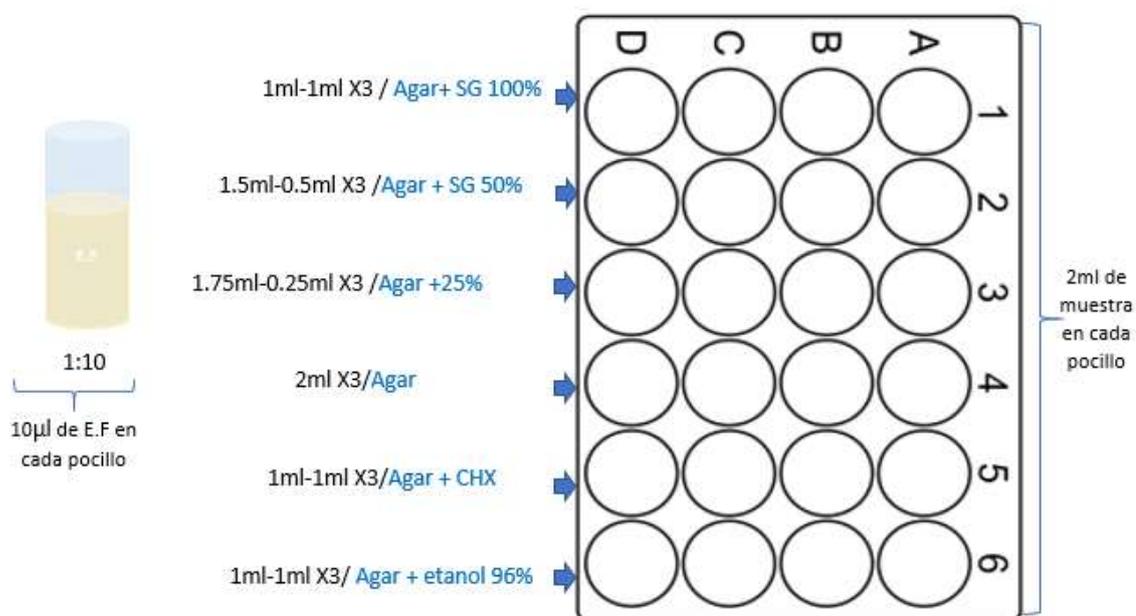


Figura 4: Proceso de la concentración mínima inhibitoria

Fuente: Propia

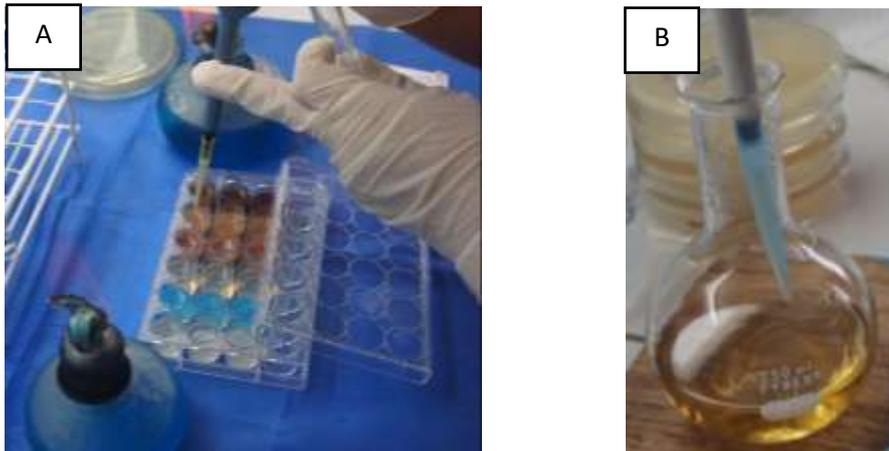


Figura 5: A. Diluciones de agar Müller Hinton con etanol, Clorhexidina y Sangre de grado. B. Agar MüllerHinton es estado líquido

Fuente: Propia

Las placas del ensayo fueron sometidas a los rayos UV por 2 horas y luego fueron llevadas a incubación a 37 C° por 24h para su control. (**Fig 5**)

El inóculo empleado fue preparado en un tubo con 4ml de suero fisiológico estéril, al que se añadió colonias de *Enterococcus faecalis*, hasta alcanzar una turbidez equivalente al tubo N° 0.5 de la escala de Mc Farland (1.5×10^8 UFC/ml), se realizó una dilución 1:10 de este tubo a partir del cual se extrajo 10 microlitros como inóculo final.

El inóculo final fue depositado sobre la superficie de las placas con el medio de cultivo en concentraciones decrecientes y estas fueron incubadas en microanaerobiosis a 37C° por un periodo de 48h, luego del cual se retiraron las placas para visualizar el crecimiento microbiano en la superficie de las placas realizando la coloración Gram.

Se considero como la concentración mínima inhibitoria, la concentración más baja de látex Sangre de grado que inhibió el crecimiento visible de la bacteria.

4.3.6 Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)

Para determinar la concentración mínima bactericida se realizó diluciones seriadas de Sangre de grado en caldo BHI, para ello se emplearon tubos y en cada una de ellos se colocaron 2ml de las concentraciones de látex de Sangre de grado, así mismo se empleó un tubo estéril con 2ml de etanol 96% (control negativo), Clorhexidina al 2% (control positivo) finalmente caldo BHI puro como control de crecimiento. **(Fig 6).**

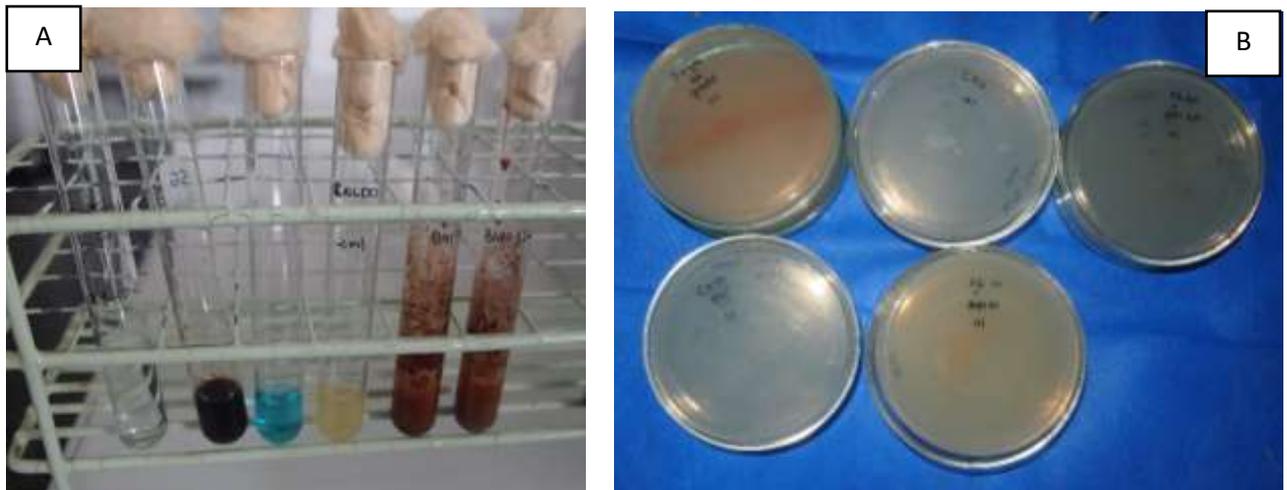


Figura 6: **A.** Preparar las diluciones con el caldo BHI. **B.** La muestra se extiende sobre la superficie con el medio agarizado

Fuente: Propia

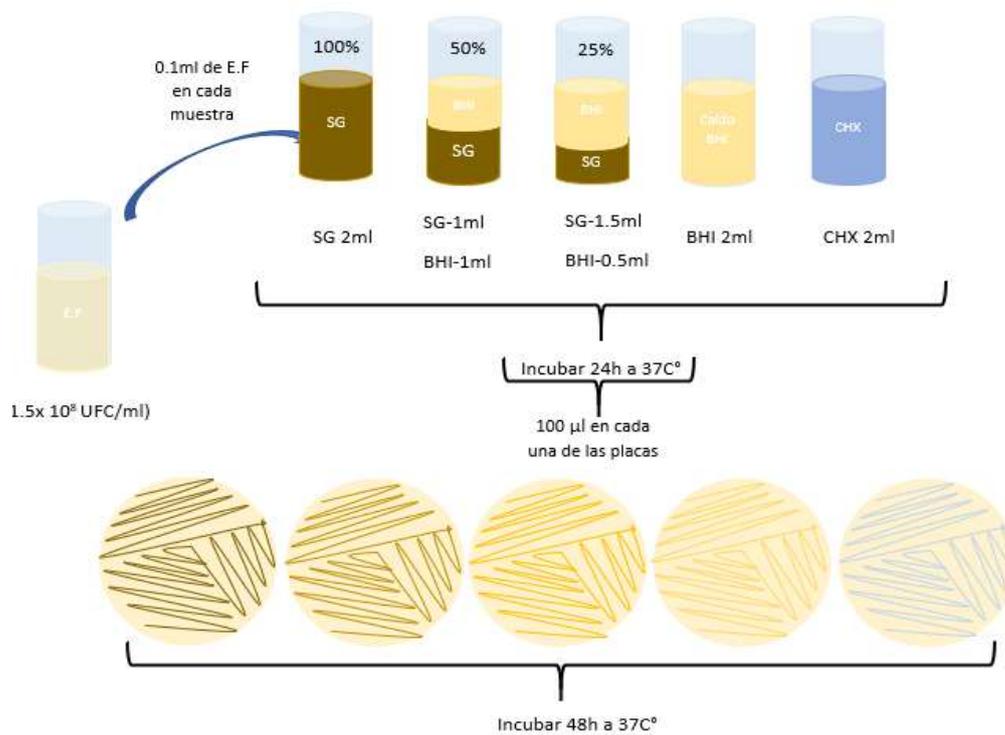


Figura 7: Proceso de la concentración mínima bactericida

Fuente: Propia

Se inoculó a cada tubo una misma concentración de *Enterococcus faecalis*, estos medios fueron incubados en condiciones de micro anaerobiosis a 37C° por 24h. Luego de ese tiempo se extrajeron 100 microlitros del medio de cultivo para ser sembrados en placas de agar Müller Hinton por 48h en condiciones de micro anaerobiosis a 37C°. **(Fig 7).**

Luego del periodo de incubación las placas fueron revisadas para evidenciar el crecimiento de la bacteria; se consideró como la concentración mínima bactericida a la menor concentración a partir de la cual no se recuperaba a la bacteria.

4.4 PROCESAMIENTO DE DATOS

4.4.1 Técnica de recolección de datos

Experimental observacional

4.4.2 Ficha de recolección de datos

Para efectos de la investigación se elaboró una ficha para registrar datos en relación al conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) y el promedio del diámetro de halos de inhibición expresados en milímetros (mm). **(ANEXO 3)**

4.5 ANÁLISIS DE RESULTADO

Se realizó el registro de los datos obtenidos en la base de datos Excel para que posteriormente sean procesados y analizados estadísticamente en el Software IBM SPSS Statistics, 64.

Los resultados se representaron mediante tablas y gráficos. Se obtuvieron medidas estadísticas descriptivas: media y desviación estándar. Los valores de los grupos que cumplieron con el supuesto de normalidad, se evaluaron con la prueba de Shapiro-wilk, en consecuencia, las comparaciones entre las muestras independientes fueron examinadas por la prueba de T Student.

V. RESULTADOS

METODO POR DIFUSIÓN EN PLACA

Los resultados demuestran que *Croton lechleri* al 50% y 100% tienen efecto inhibitorio sobre *Enterococcus faecalis*, sin embargo, ambas no superan la actividad de la clorhexidina al 2%.

El análisis estadístico de los resultados mostró una variación significativa durante la evaluación a las 48h y 72h, para demostrar esta variabilidad se realizó la prueba de normalidad de Shapiro Wilk, con lo cual quedó demostrado que el nivel de significancia es superior a 0.05 ($p > 0.05$), por lo tanto, se manifiesta que las muestras provienen de una población con distribución normal. **(Tabla N 1)**

TABLA N 1: Prueba de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Sangre de grado al 100%	0,181	20	0,086	0,910	20	0,063
Sangre de grado al 50%	0,173	20	0,117	0,903	20	0,047
Sangre de grado 25%	0,142	20	0,200*	0,955	20	0,453
Clorhexidina 2%	0,106	20	0,200*	0,959	20	0,524

TABLA N 2. Prueba de muestras relacionadas, T student

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilatera l)
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
Sangre de grado al 100% 48h Sangre de grado al 100% 72h	-1,22400	0,70118	0,22173	-1,72559	-,72241	-5,520	9	0,000
Sangre de grado al 50% 48h Sangre de grado al 50% 72h	-1,36700	0,56974	0,18017	-1,77457	-,95943	-7,587	9	0,000
Sangre de grado 25% 48h Sangre de grado 25% 72h	-,66100	0,54637	0,17278	-1,05185	-,27015	-3,826	9	0,004
Clorhexidina 2% - 48h-72h	-,39500	0,26647	0,08426	-,58562	-,20438	-4,688	9	0,001

Con esta prueba T Student para muestras relacionadas podemos comparar las medias de las variables de un solo grupo, en la que queda demostrado que hay un incremento de las medias de cada una de las muestras estudiadas, ($p < 0.05$), (**Tabla N 2**), tal es el caso de Sangre de grado al 100% que a las 72h su media aumenta de 8.32 a 9.54, Sangre de grado al 50% su

media aumenta de 6.9 a 8.2, Sangre de grado al 25% aumenta de 6.4 a 7.09 y finalmente Clorhexidina al 2% presenta un pequeño aumento de 18.6 a 18.9. **(Tabla N 3)**

TABLA N 3. Relación del tiempo con Clorhexidina al 2% y Sangre de grado a diferentes concentraciones

Tiempo		Sangre de grado al 100%	Sangre de grado al 50%	Sangre de grado 25%	Clorhexidina 2%
48h	Media	8,3200	6,9190	6,4720	18,6000
	N	10	10	10	10
	Desv. típ.	0,57149	,45591	,30738	,56255
72h	Media	9,5440	8,2860	7,0960	18,9950
	N	10	10	10	10
	Desv. típ.	0,44680	,33909	,47284	,53140
Total	Media	8,9320	7,6025	6,7840	18,7975
	N	20	20	20	20
	Desv. típ.	,80220	,80292	,50312	,56985

La sensibilidad *in vitro* de *Enterococcus faecalis* frente a látex de *Croton lechleri* se dio en las diferentes concentraciones; con una diferencia significativa ($p < 0,001$) entre las muestras de látex y el grupo control.

Se pudo visualizar en cada placa que el diámetro mayor es del grupo control positivo con un diámetro mayor de 19,63 mm, en tanto el grupo experimental el que presentó mayor diámetro fue el de látex de *Croton lechleri* al 100% con un halo mayor de 9.90mm, ambas mediciones fueron tomadas a las 72h debido a que mostraron mayor crecimiento del halo durante ese tiempo; según Duraffourd la Clorhexidina 2% a las 48h y 72h fue muy sensible, *Croton lechleri* al 100% a las 48h y 72h fue sensible, así mismo es importante destacar que *Croton lechleri* al 50% presentó una variación significativa ($p < 0,03$) a las 48h debido a que durante ese tiempo su actividad fue nula sin embargo a las 72 horas presentó sensibilidad, situación muy distinta sucedió con *Croton lechleri*

al 25% que al ser evaluada a las 48h y 72h su actividad fue nula como la del etanol al 96°. (Fig 8)

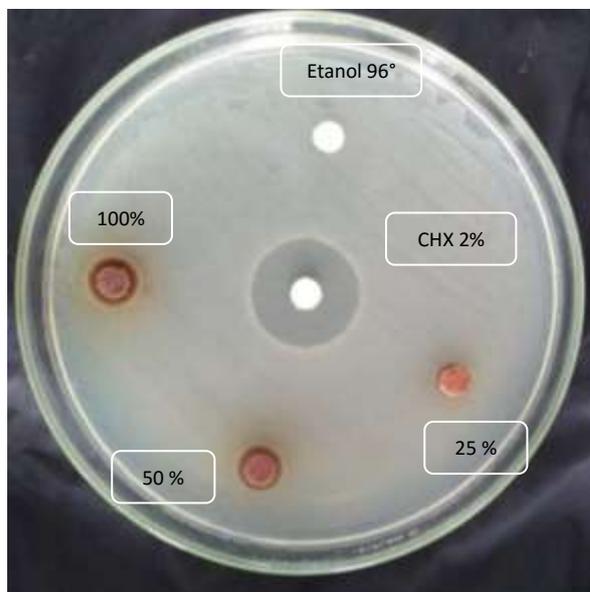


Figura 8: Efecto antibacteriano de las muestras en estudio

Fuente: Propia

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI)

Los resultados obtenidos de la prueba realizada muestran que el efecto inhibitorio de látex de Sangre de grado frente a *Enterococcus faecalis* se da a mayores concentraciones. La CMI de las diferentes concentraciones de “Sangre de grado” varía entre el producto puro y la dilución 1:7, tal es el caso que a la evaluación macroscópica y microscópica se evidencia crecimiento de *Enterococcus faecalis*, sin embargo, queda demostrado que a partir de las diluciones de 1:3 e inferiores a ella presentan mejor efecto inhibitorio del crecimiento de la bacteria. (Fig 9)

Así mismo para descartar crecimiento bacteriano se realizó tinción Gram de cada una de las muestras y quedó demostrado que en la dilución de 1:7 existió crecimiento de *Enterococcus faecalis*. (Fig 10)

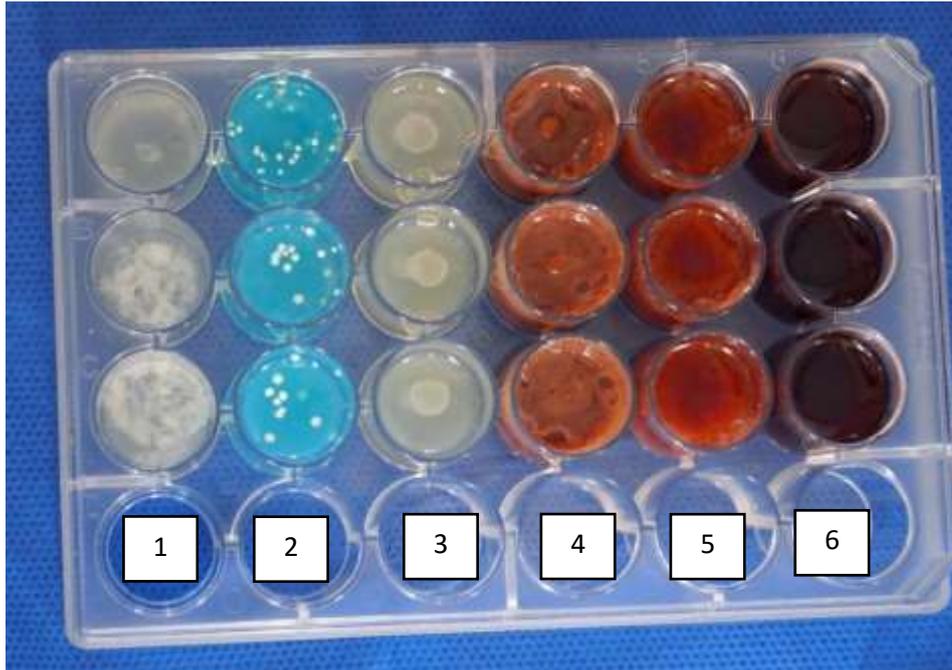


Figura 9: 1. Etanol 96° evidencia crecimiento, 2. Clorhexidina 2% evidencia cristalización
 3. Agar Müller Hinton evidencia crecimiento 4. Dilución de 1:7 si evidencia crecimiento 5.
 Dilución de 1:3 no evidencia crecimiento 6. "Dilución de 1:1 no evidencia crecimiento"

Fuente: Propia

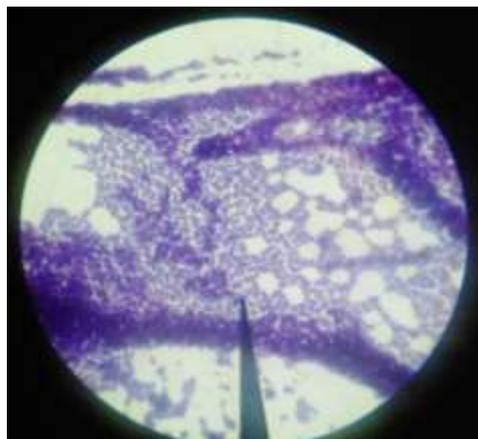


Figura 10: Tinción Gram y crecimiento de *Enterococcus faecalis*,

Fuente: Propia

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)

Los resultados obtenidos muestran un efecto bactericida del látex de Sangre de grado al 100% frente a *Enterococcus faecalis*. La actividad de *Croton lechleri* al 100% fue optima a diferencia de *Croton lechleri* al 50% y 25% donde pierde su efecto bactericida. En la placa con el control positivo (Clorhexidina 2%) presenta un efecto bactericida y situación muy diferente sucede con el control negativo (caldo BHI) donde se evidencia crecimiento de la bacteria. (**Fig 11**)

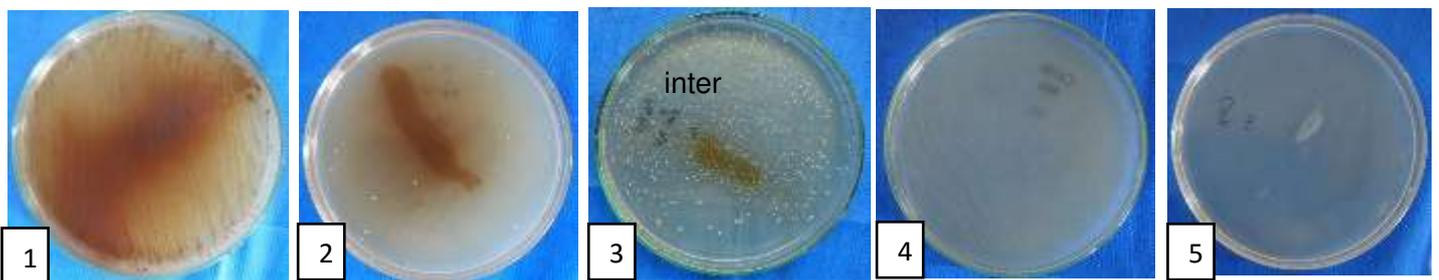


Figura 11: 1. *Croton lechleri* 100%, no evidencia crecimiento bacteriano 2. *Croton lechleri* 50%, se evidencia colonias dispersas de *Enterococcus faecalis* 3. *Croton lechleri* 25%, se evidencia abundantes colonias de *Enterococcus faecalis* 4. Caldo BHI Evidencia crecimiento bacteriano 5. Clorhexidina 2% no evidencia crecimiento bacteriano.

Fuente: Propia

VI. DISCUSIÓN

La bacteria anaerobia facultativa *Enterococcus faecalis*, encontrada en la microbiota oral humana, se establece dentro de los canales radiculares, siendo asociada frecuentemente con las infecciones endodónticas persistentes, la elevada prevalencia de la especie *Enterococcus faecalis*, es debido a sus diversos mecanismos de sobrevivencia entre ellos el de penetrar en los túbulos dentinarios y adherirse a las paredes de la dentina y formar biofilm, así mismo tienen la capacidad de prevalecer en condiciones desfavorables. Por lo tanto, resulta evidente la necesidad de abordar el problema mediante una terapia de erradicación de la bacteria.

Para ello, existen diferentes esquemas de tratamiento antibacteriano, pero la aplicación de estos puede resultar muy costosa, en tal sentido surge la necesidad de alternativas de tratamiento más accesibles, una opción a considerar es: El uso de productos naturales, que en estos años están alcanzando niveles altos de aceptación gracias a su eficacia, biocompatibilidad y baja toxicidad, muestra de ello es la “Sangre de grado”, motivo de la investigación.

Este trabajo tuvo como propósito evaluar el efecto antibacteriano de *Croton lechleri* sobre *Enterococcus faecalis*, en la que queda demostrado que “Sangre de grado” al 100% tiene un efecto bacteriostático y bactericida a diferencia de “Sangre de grado” al 50% que muestra un efecto antibacteriano menor, así también se evidenció que el efecto de “Sangre de grado” al 25% no presentó un efecto inhibitorio significativo y que según Duraffourd (38) se considera nulo al igual que el etanol al 96°. Sin embargo, la clorhexidina al 2% mostró mayor efectividad frente *Enterococcus faecalis* superando el halo de inhibición de “Sangre de grado” al 100%.

Dentro de las sustancias testadas, la solución de clorhexidina al 2% fue la que presentó mayor efectividad sobre *E. faecalis* (36), situación que se afirma en nuestro estudio al presentar un halo promedio de 18.9 mm que según Duraffourd (38), es considerado muy sensible.

Estos resultados guardan relación con los estudios realizados por Xanguo Zheng y Chinin J.(16) quienes demuestran que el látex de *Croton lechleri* ejerce una eficacia antibacteriana positiva en *S. aureus*, siendo esta una bacteria grampositiva anaerobia facultativa implicada en los fracasos endodónticos cuyas condiciones los hacen resistentes. Estudios previos han revelado que los principales componentes que le confieren las propiedades antibacterianas son las proantocianinas, fenoles, flavonoides y sesquiterpenos en abundancia (30)(37).

Los hallazgos anteriores fueron respaldados debido a que se corroboró que el látex de “Sangre de grado” reduce los factores de virulencia al disminuir la capacidad de producción de alfa-hemolisina de las cepas grampositivas anaerobias facultativas.(16)

Estudios como la de Cesar Cayo (12) que buscó determinar el efecto de látex de *Croton lechleri* sobre *Streptococcus mutans*, presentó halos de inhibición con un mayor diámetro en concentraciones de 100%. Dos trabajos que contribuyen con el empleo de mayores concentraciones de látex de *Croton lechleri* para una mayor efectividad es el Torrejón M.(19) que buscó la efectividad de Sangre de grado sobre *Candida albicans* donde obtuvo un halo con diámetro de 14.19mm; y Ortiz (38) que sometió el látex a *Helicobacter pylori*, muestra que la concentración presenta una relación directa con la inhibición de la bacteria. En el último estudio Silva (15) demostró que si existe efecto antibacteriano de *Croton lechleri* sobre *E.faecalis* pero en concentraciones de 300mg/ml con halos de 14mm a diferencia de nuestro estudio que a una concentración mayor solo se logró obtener un halo de 9.9mm.

Montaluisa (18) en otro estudio muestra la actividad antibacteriana moderada de látex de *Croton lechleri* sobre *S. epidermidis*, *E. coli*, *B. subtilis*, considerando esta última una bacteria involucrada en los procesos endodónticos, pero cabe destacar que para evitar el crecimiento bacteriano emplearon menores concentraciones (125ppm) el cual no concuerda con lo reportado en estudios previos. Un trabajo similar es el de Verduga (13) que pudo determinar que el efecto de látex de Sangre de grado en concentraciones de 25% producen inhibición del crecimiento con un halo de 11mm sobre *Porphyromona gingivalis*, bacteria gramnegativo presente en la cavidad oral.

A diferencia de antimicrobianos estándares donde existe un consenso sobre las concentraciones aceptables de uso, para las plantas medicinales aún no se ha descrito un estándar, encontrándose en las diferentes investigaciones, concentraciones variables.

Al parecer estas diferencias significativas en los resultados puede estar relacionado con una variedad de factores, dentro de ellos podemos citar, las diferentes metodologías de cada estudio (*In vitro*), las limitaciones existentes para cada tipo de prueba; también se puede mencionar, el origen, las distintas formas de presentación. Otro punto a considerar es la finalidad para el cual el látex de *Croton lechleri* será utilizado, y el propósito es evaluar

la efectividad sobre *E. faecalis* y que más adelante pueda ser viable como medicación intraconducto en fracasos endodónticos.

El efecto fitoterapéutico como medicación intracanal, en cuanto a la actividad inhibitoria frente a microbiotas resistentes en las endodoncias, parece prometedor, sin embargo, para tal fin se requiere más pruebas antimicrobianas empleando intervalos de tiempo más largo y controlar los procesos de manera que puedan contribuir en el impacto del trabajo de investigación.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, ayudan a sustentar la evidencia científica relacionada con la fitoterapia odontológica y así ampliar el conocimiento de los beneficios y ventajas de látex de *Croton lechleri* en relación a la bacteria *Enterococcus faecalis*.

VII. CONCLUSIONES

- En base a la metodología aplicada y los hallazgos encontrados se puede concluir que el látex *Croton lechleri* ejerce una acción antibacteriana positiva en *E. faecalis*,
- El efecto antibacteriano de látex de *Croton lechleri* al 100% frente a *E. faecalis*, fue mayor al evaluar a las 72h presentando un halo de inhibición de 9.9mm. (Sensible)
- El látex de *Croton lechleri* al 50% mostró un efecto antibacteriano mayor frente a *E. faecalis* a las 72h presentando un halo de inhibición de 8.82mm. (Sensible)
- El látex de *Croton lechleri* al 25 % no mostró un efecto antibacteriano significativo frente a *E. faecalis* a las 48h ni a las 72h presentando un halo de inhibición máximo de 7.84mm. (Nulo)
- En la prueba de CMI las diluciones de látex de *Croton lechleri* en concentraciones de 100% y 50% inhibieron el crecimiento bacteriano
- En la prueba de CMB del látex de *Croton lechleri* al 100% mostró la actividad bactericida
- La clorhexidina al 2% presentó mayor efecto de inhibición que *Croton lechleri* en todas las concentraciones.

VIII. RECOMENDACIÓN

- Los estudios han demostrado que el látex de *Croton lechleri* tiene un efecto antibacteriano. Sin embargo, para obtener mejores resultados se recomienda realizar interacciones con otros componentes que potencien su acción, así mismo estas sean aplicadas sobre otros patógenos de importancia clínica.
- Se recomienda continuar con los estudios analíticos para evaluar el comportamiento de la variable de interés (*Croton lechleri*) sobre los microorganismos prevalentes en la cavidad oral.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Berman L.H, Hargreaves K. M Cohen's pathways of the pulp - 12.^a ed.Elsevier.St Louis Missouri 2021 Disponible en: <https://www.elsevier.com/books/cohens-pathways-of-the-pulp/berman/978-0-323-67303-7>
2. Sponchiado EC, Pereira JV, Marques AAF, Garcia L da FR, França SC. In vitro assessment of antimicrobial activity of Pothomorphe umbellata extracts against Enterococcus faecalis. Indian J Dent Res Off Publ Indian Soc Dent Res. febrero de 2014;25(1):64-8.
3. Hilario CBC, Vílchez JJC. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del látex de Croton lechleri "sangre de grado" frente a Staphylococcus aureus atcc 25923: 23 de octubre de 2018;9(1):129-36.
4. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual-Comisión Nacional contra la biopiratería. Tema "Sangre de grado" año 5 N°3 de marzo del 2019 Disponible en: <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/3180041/sangre+de+grado.pdf/17a80543-27c3-c45d-0d47-3fc18398e9e0>
5. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Collado-Castellano N, Manzano-Saiz A. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. Med Oral Patol Oral Cirugia Bucal. 1 de mayo de 2019;24(3):364-72.
6. Saavedra SA, Herrera-Plasencia P, Enoki-Miñano E, Ruiz-Barrueto M, Gómez PAM. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Prosopis pallida sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212. Pediculosis Capitis En Alumnos Esc Públicas Mex. 2018;70(2):1-12.
7. Sakko M, Tjäderhane L, Rautemaa-Richardson R. Microbiology of Root Canal Infections. Prim Dent J. 1 de mayo de 2016;5(2):84-9.
8. Bussmann, RW (2013). La globalización de la medicina tradicional en el norte del Perú: del chamanismo a las moléculas. Medicina alternativa y complementaria basada en la evidencia, 2013, 1–46
9. Sandoval M, Ayala S, Oré R, Loli A, Huamán O, Valdivieso R, et al. Capacidad antioxidante de la sangre de grado (Croton palanostigma) sobre la mucosa gástrica, en animales de experimentación. An Fac Med. septiembre de 2006;67(3):199-205.
10. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. Cureus. 13 de marzo de 2020;12(3):7257.
11. Fura Choquehuanca Y. Efecto antibacteriano in vitro del Croton Lechleri (Sangre de Grado) y Gluconato de Clorhexidina al 0.12% sobre Lactobacillus Acidophilus. Arequipa - 2016. 4-30

12. Rojas CC, Barrera R. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del Croton lechleri sobre cultivos de Streptococcus mutans (ATCC 25175). Cienc Desarro. 9 de agosto de 2016;17(1):5-10.

13. Yasig Verduga, Bryan Alexander (2019). Efecto antimicrobiano in vitro del extracto de Croton lechleri (sangre de drago) sobre la Porphyromona gingivalis. Trabajo de titulación previo a la obtención del Título de Odontólogo. Carrera de Odontología. Quito: UCE. 84 p. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/18313>

14. Iglesias J, Cañigüeral S. Interés terapéutico del látex de Croton lechleri: 2001 oct Paris 20-21; p. 2-13.

15. Silva AL do N, Silva KA da, Magalhães TN, Sá MKS de, Ramos RA, Gomes YRM dos S, et al. Avaliação da ação antimicrobiana do látex de Croton lechleri Müll. Arg. (Euphorbiaceae) em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Res Soc Dev. 30 de noviembre de 2022;11(16)

16. Zheng X, Chen L, Zeng W, Liao W, Wang Z, Tian X, et al. Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Chinese Dragon's Blood Against Staphylococcus aureus Isolated From Infected Wounds. Front Microbiol. 2021;12.

17. Cerin Meza Y. Efecto inhibitorio del látex de croton lechleri (sangres de grado) y el extracto acuoso de cymbopogon citratus (hierba luisa), sobre streptococcus mutans atcc 25175, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad - 2019. Universidad católica Los Ángeles Chimbote. Trabajo de titulación previo a la obtención del título para cirujano dentista.

18. Barba Guevara C, Montaluisa L and Maldonado Rodriguez ME. La actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de hojas y cortezas de dos variedades de "Sangre de Drago" comparada con la actividad antimicrobiana presente en el látex de la misma especie

19. Torrejón EMV, Honores MJC. Efecto antifúngico in vitro del látex de Croton lechleri (sangre de grado) frente a Candida albicans ATCC 10231. 26 de septiembre de 2016;27(1):89-94-94.

20. Yu C, Abbott PV. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. Aust Dent J. marzo de 2007;52: 4-16.

21. Correa JMA, González RM, López IM, Cruz IO de la. Complejo dentino pulpar. Estructura y diagnóstico. Rev Med Isla Juv. 2 de diciembre de 2013;12(1):82-99.

22. Marroquín Peñaloza TY, García Guerrero CC. Guía de diagnóstico clínico para patologías pulpares y periapicales. Versión adaptada y actualizada del «consensus conference recommended diagnostic terminology», publicado por la asociación americana de endodoncia (2009). Rev fac odontol univ antioquia. Junio de 2015;26(2):398-424.

23. Miccoli G, Seracchiani M, Zanza A, Giudice AD, Testarelli L. Possible Complications of Endodontic Treatments. J Contemp Dent Pract. 1 de mayo de 2020;21(5):473-4.

24. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Muwaquet-Rodríguez S, Alberio-Monteagudo A. Update of the therapeutic planning of irrigation and intracanal

- medication in root canal treatment. A literature review. *J Clin Exp Dent*. 2019 Feb 1;11(2): 185-193.
25. Murray PE, Smith AJ. Saving pulps--a biological basis. An overview. *Prim Dent Care J Fac Gen Dent Pract UK*. enero de 2002;9(1):21-6.
 26. Chong BS, Pitt Ford TR. The role of intracanal medication in root canal treatment. *Int Endod J*. 1992 Mar;25(2):97-106. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1399059/>
 27. Rodríguez Gutiérrez G, Álvarez Llanes M, García Boss J, Arias Herrera SR, Más Sarabia M. El hidróxido de calcio: su uso clínico en la endodoncia actual. *Rev Arch Méd Camagüey*. junio de 2005;9(3):143-52.
 28. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus*. 12(3):7257.
 29. Morón Rodríguez FJ, Jardines Méndez JB. La medicina tradicional en las universidades médicas. *Rev Cuba Plantas Med*. abril de 1997;2(1):35-41.
 30. Avello L M, Cisternas F I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Rev Médica Chile*. octubre de 2010;138(10):1288-93.
 31. Francisco kleryson ms. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. *Rev Saúde - UNG-Ser*. 5 de octubre de 2009;4(1):18-24.
 32. Barrera CAC. Importancia medicinal del género *Croton* (euphorbiaceae). *Rev Cuba Plantas Med [Internet]*. 17 de febrero de 2016 [citado 14 de septiembre de 2020];21(2).
 33. Folcará SC, Rodríguez ER, Casanovas RV, Henriques AT. Bases químicas y farmacológicas de la utilización de la sangre de drago. *Rev Fitoter*. 2005;5(2):101-16.
 34. *Natura Medicatrix: Revista médica para el estudio y difusión de las medicinas alternativas*. Nº. 3, 2003 [Internet]. Dialnet. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/ejemplar/387095>
 35. Langenheim J.H Plant resins:Resinas vegetales: química, evolución, ecología y etnobotánica. 1 abril 2003 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/44720069_Plant_resins_chemistry_evolution_ecology_and_ethnobotany_Jean_H_Langenheim
 37. Diedrich C, da Silva LD, Sari R, de Cristo Borges GC, Muniz HS, de Lima VA, et al. Bioactive compounds extraction of *Croton lechleri* barks from Amazon forest using chemometrics tools. *J King Saud Univ - Sci* 1 de junio de 2021;33(4):101416.
 38. Tamariz Ortiz JH, Capcha Mendoza R, Palomino Cadenas EJ, Aguilar Olano J. Actividad antibacteriana de la Sangre de Grado (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*. *Rev Medica Hered*. abril de 2003;14(2):81-8.

MATRIZ DE CONSIS

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADOR	VALOR	TÉCNICA RECOLECCIÓN DE DATOS	DE DE
<p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del látex de <i>Croton lechleri</i> (“Sangre de grado”) sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL Evaluar el efecto antibacteriano del látex de <i>Croton lechleri</i> (“Sangre de grado”) sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Evaluar el efecto antibacteriano del látex de <i>Croton lechleri</i> al 100% (“Sangre de grado”) sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> a las 48 horas y 72 horas de incubación. - Evaluar el efecto antibacteriano del látex de <i>Croton lechleri</i> al 50% (“Sangre de grado”) sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> a las 48 horas y 72 horas de incubación. - Evaluar el efecto antibacteriano del látex de <i>Croton lechleri</i> al 25% sobre (“Sangre de grado”) el <i>Enterococcus faecalis</i> a las 48 horas y 72 horas de incubación. 	<p>HI El látex de <i>Croton lechleri</i> (“Sangre de grado”) SI presenta efecto antibacteriano sobre <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p>HO El látex de <i>Croton lechleri</i> (“Sangre de grado”) NO presenta efecto antibacteriano sobre <i>Enterococcus faecalis</i>.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Látex de <i>Croton lechleri</i> “Sangre de grado” a diferentes concentraciones - Gluconato de clorhexidina 2% - Efecto antimicrobiano sobre <i>Enterococcus faecalis</i> 	<p>Tamaño del halo de inhibición a diferentes concentraciones (25%,50%,100%)</p> <p>Tamaño del halo de inhibición de gluconato de clorhexidina 2%</p> <p>HICM: Halo de inhibición de crecimiento del microorganismo</p>	<p>Según escala de Duraffourd</p> <p>Nula (-) = ≤ 8mm</p> <p>Sensible (+) = 9 a 14 mm</p> <p>Muy sensible (++) = 15 a 19mm</p> <p>Sumamente sensible (+++) = ≥ 20mm</p>	<p>Observacional Experimental porque los datos son relativamente controlados y la variable es susceptible a ser manipulada.</p> <p>INSTRUMENTO</p> <p>Se emplea la ficha de recolección de datos que toma en consideración las variables</p> <p>V1. Látex de “Sangre de grado” a diferentes concentraciones</p> <p>V2. Gluconato de clorhexidina 2%</p> <p>V3. Efecto antibacteriano mediante los halos de inhibición.</p>	

ANEXO

Anexo 1: Autorización para acceder a las instalaciones del laboratorio de Microbiología



DECANATO - FACULTAD DE ODO... lun, 15 ago 2022, 10:28
para JUANA, CERSEU-ODONTOLOGIA, mí ▾



Buenos días Dra. Juana Delgadillo
Directora del DACB

Mediante el presente hacemos de conocimiento que la estudiante Keiko Alarcón ha solicitado a través del documento adjunto acceso a las instalaciones del laboratorio de microbiología, por tal motivo, hacemos llegar dicho requerimiento para su aprobación, salvo mejor parecer.

Asimismo, adjuntamos la R.D. N° 0230-FO-D-2019 que aprobó las tarifas para el servicio del Laboratorio de Microbiología.

Saludos cordiales,

--

Anexo 2: Constancia de determinación botánica del *Croton lechleri*



UNAP

Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN BOTÁNICA
n.º 001-2023 AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRNA), de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por **KEIKO LUCERO ALARCÓN VELÁSQUEZ**, bachiller de la **Facultad de Odontología** de la **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**, pertenece al proyecto de tesis de titulado **"Efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* ("sangre de grado") sobre el *Enterococcus faecalis*: Estudio *in vitro*"**; ha sido **DETERMINADA** en este centro de investigación y enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ-CIRNA-UNAP**, de acuerdo al nuevo sistema de clasificación taxonómica APG IV (2016), como se indica a continuación:

Clase: Equisetopsida C. Agardh
Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
Super orden: Rosanae Takht.
Orden: Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia: Euphorbiaceae Juss.
Género: *Crotón* L.
Nombre científico: *Croton lechleri* Müll. Arg.
Nombre común: "sangre de grado"

Determinador: Ing. Dario Davila Paredes

A los tres días del mes de febrero del año dos mil veintitrés, se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard J. Huananca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense
CIRNA - UNAP



Anexo 3: Ficha de recolección de datos

N° Placa Petri	<i>Croton lechleri</i>						Clorhexidina 2%	
	25%		50%		100%		Clorhexidina 2%	
	48h	72h	48h	72h	48h	72h	48h	72h
1	6.79	6.94	7.00	8.21	8.96	9.50	19.30	19.63
2	6.70	7.50	6.90	7,94	8.57	9.70	18.92	19.44
3	6.36	6.50	6.50	7.94	8.00	8.90	19.05	19.29
4	6.48	6.64	6.77	8.56	8.73	9.70	17.80	18.36
5	6.57	6.77	6.76	7.78	8.13	8.58	18.66	19.55
6	6.87	7.43	6.92	8.55	6.95	9.86	18.48	18.73
7	6.03	7,47	6.55	8.82	8.45	9.70	18.98	18.84
8	6.05	6.90	7.34	8.11	8.60	9.70	19.03	19.42
9	6.70	7.34	7.98	8.45	8.70	9.90	17.72	18.24
10	6.17	7.84	6.47	8.50	8.11	9.90	18.06	18.45