



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
ESTOMATOLOGÍA**

TESIS

**EFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES
CONCENTRACIONES DE LATEX DE SANGRE
DE GRADO (*Croton Lechleri*) SOBRE CEPAS DE
Streptococcus Mutans ATCC 25175, CHICLAYO
2019**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

Autor:

Bach. Guevara Castro Katia Medalí
ORCID.ORG/0000-0001-5979-582X.

Asesor:

Mg. CD. Portocarrero Mondragón Juan Pablo
<https://orcid.org/0000-0001-5459-8034>

**Línea de Investigación:
Ciencias de la vida y
cuidado de la salud
humana**

**Pimentel – Perú
2020**

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES
DE LATEX DE SANGRE DE GRADO (*Croton Lechleri*) SOBRE
CEPAS DE *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, CHICLAYO
2019

APROBACION DEL INFORME DE INVESTIGACION

MG.CD. Juan Pablo Portocarrero Mondragón
Presidente Del Jurado De Tesis

MG.CD. Espinoza Plaza José José.
Secretario Del jurado De Tesis

MG.CD Paola Beatriz La Serna Solari
Vocal Del Jurado De Tesis

DEDICATORIA

A Dios, por darme el don de la vida, por ser mi esperanza en el proceso. A mis queridos progenitores, José Antonio y Aída Castro, por su grande amor infinito. A mis hermanos, Yamilet, Marisol, Anthony y Lesly, por su incondicional apoyo desde que comencé a estudiar esta noble profesión. A mi hija Lyah Nihal porque es la fuente de mi inspiración, mis ganas de superación, mi motor de ser para continuar mirando hacia adelante.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar quiero agradecer a mis padres, José Antonio e Aída Castro, por haberme concebido, por brindarme toda su ayuda incondicional durante todo el trayecto estudiantil, y por inculcarme valores basados en la humildad, el respeto y la responsabilidad, ya que más adelante lo aplicaré en la práctica personal y profesional.

A mis hermanos, Yamilet, Marisol, Anthony y Lesly por su cariño, amistad, ánimo y apoyo incondicional cuando más los necesitaba, durante el pregrado de mi carrera universitaria, su apoyo moral fue de mucha ayuda para lidiar con todos mis temores y seguir formándome profesionalmente.

A mis docentes, quienes han sido mis educadores, gente lleno de valores y saber, quienes se han esmerado por brindarme sus mejores conocimientos para lograr un buen aprendizaje y estar en el lugar donde me encuentro, logrando obtener una verdadera instrucción global en cuanto a lo que demanda la profesión de estomatología.

A mi casa superior de estudios, por haber sido mi morada de aprendizaje y enseñanzas durante 5 años. Por haberme brindados la mejor calidad de enseñanza y una buena infraestructura en bienestar de todos.

Al Dr. Juan Pablo Portocarrero Mondragón, tutor del presente trabajo por su afán, voluntad y determinación en ser guía e instruirme para terminar el estudio.

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DE LATEX DE SANGRE DE GRADO (Croton Lechleri) SOBRE CEPAS DE Streptococcus Mutans ATCC 25175, CHICLAYO 2019

ANTIBACTERIAL EFFECT OF THREE CONCENTRATIONS OF LATEX DE SANGRE DEGRADO (Croton Lechleri) ON STRAINS OF Streptococcus Mutans ATCC 25175, CHICLAYO 2019

Katia Medalí Guevara Castro¹

RESUMEN

Como se sabe por todas las investigaciones realizadas, el **Streptococcus Mutans** es el principal causante y factor microbiológico para el crecimiento y expansión de las lesiones cariosas. La enfermedad que es capaz de provocar este microorganismo nos conlleva a estructurar medidas de prevención para el decrecimiento de este tipo de bacteria que implica un alto riesgo cariogénico en el ser humano.

Debido al difícil acceso y carencias en la atención de salud oral se examina la posibilidad de encontrar un agente natural y de fácil acceso que nos ayude a menguar el crecimiento de esta bacteria y por ende disminuir la prevalencia de patologías orales. El principal objetivo de estudio de esta investigación es valorar la eficacia antibacteriana de tres concentraciones de látex de (Croton Lechleri) sangre de grado frente a cepas de Streptococcus Mutans ATCC 25175.

Se manejaron porcentajes de 100 % 75% y 50% de sangre de grado (*Croton Lechleri*) en el cual se usó la clorhexidina 0,12% para control positivo y agua destilada para verificación de control negativo. Se realizó la comprobación de medidas para los halos de inhibición procedentes de los discos empapados con cada una de las concentraciones sobre **Streptococcus Mutans** sembradas en agar Muller Hinton.

Por ende se concluyó que las concentraciones de látex de sangre de grado al 100% y 75% revelaron efecto de inhibición frente a **Streptococcus Mutans**, a diferencia de la concentración al 50% fue poco sensible. En grupo control se verifico que la Clorhexidina al 0.12% expuso mayor efecto de inhibición que las concentraciones de sangre de grado (**Croton lechleri**) en todas la concentraciones evaluadas.

Palabras Clave: Efecto Antibacteriano, Sangre De Grado (Croton Lechleri), Prevención, Streptococcus Mutans.

ABSTRACT

As is known from all the research carried out, the Streptococcus Mutans is the main cause and microbiological factor for the development of dental caries. The disease that this microorganism is capable of causing leads us to structure prevention measures for the decrease of this type of bacteria, which implies a high cariogenic risk in humans.

Due to the difficult access and deficiencies in oral health care, the possibility of finding a natural and easily accessible agent that helps us reduce the growth of this bacterium and therefore reduce the prevalence of oral pathologies is being examined. The main study objective of this research is to assess the antibacterial efficacy of three concentrations of latex of grade blood (Croton Lechleri) on strains of Streptococcus Mutans atcc 25175.

Concentrations of 100%, 75% and 50% of (Croton Lechleri) were used, in which 0.12% chlorhexidine was used for positive control and distilled water for verification of negative control. Measurements were verified for the inhibition halos from the discs soaked with each of the concentrations on Streptococcus Mutans seeded on Muller Hinton agar.

Therefore, it was concluded that the concentrations of latex of grade blood at 100% and 75% revealed an inhibition effect against Streptococcus Mutans, unlike the concentration at 50%, it was not very sensitive. In the control group, it was verified that Chlorhexidine at 0.12% exhibited a greater inhibition effect than the concentrations of sangre de Grado (Croton lechleri) in all the concentrations evaluated.

KEY WORDS: Antibacterial Effect, Sangre Degrado (Croton Lechleri), Prevention, Streptococcus Mutans.

-
1. Adscrito a la Escuela Profesional de Estomatología, Pregrado, Universidad Señor de Sipán, Pimentel, Perú, email: gcastrokatia@crece.uss.edu.pe
 2. Adscrito a la Escuela Profesional de Estomatología, Pregrado, Universidad Señor de Sipán, Pimentel, Perú, email: @crece.uss.edu

INDICE

APROBACION DEL INFORME DE INVESTIGACION	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
INDICE.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1. Realidad problemática.....	10
1.2. Trabajos Previos.....	14
1.3. Teorías relacionadas al tema.....	17
SANGRE DE GRADO.....	17
1.1 Identidad De La Especie.....	18
1.1.1 Denominación Científica.....	18
1.1.2 Denominación Común.....	18
1.1.3 Características Botánicas.....	18
1.1.4 Ecogeografía.....	20
1.2 Distribución y habitad	20
1.3 Localización en territorio Peruano.....	20
1.4 Plantación.....	21
1.5 Compuesto Química: Principal parte Activa.....	21
1.6 Dosis e indicaciones para tratamientos.....	22
1.6.1 Precauciones y Limitaciones de uso	23
1.6.2 Toxicología.....	23
2. ACCION FARMACOLÓGICA.....	24
2.1. Función Cicatrizante.....	24
2.2. Función Antiviral y antimicrobótica.....	26
2.3. Función Antiinflamatoria.....	26
3. STREPTOCOCCUS MUTANS.....	27
3.1. Taxonomía.....	27
3.2. Particularidad del Virus.....	28
3.3 Forma del Mutans.....	28

3.4 Elementos De Virulencia.....	29
1.4. Formulación del problema.....	29
1.5. Justificación e importancia del estudio.....	29
1.6. Hipótesis.....	30
1.7. Objetivos.....	30
1.7.1. Objetivos generales.....	30
1.7.2. Objetivos específicos.....	31
II. MÉTODO.....	31
2.1. Tipo y diseño de investigación.....	31
2.2. Población y muestra.....	31
2.3. Variables y Operacionalización.....	32
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	33
2.4.1 Técnica.....	33
2.4.2 Instrumento.....	33
1. Obtención de Sangre de drago (<i>Croton lechleri</i>).....	33
2. Medio de Cultivo.....	34
3. Diluciones del látex.....	34
4. Reactivación de cepas de <u><i>Streptococcus mutans</i></u> ATCC 25175.....	34
5. Inyección de la lámina.....	35
6. Procedimiento según Kirby – Bauer (CLSI).....	35
7. Disposición de discos con (<i>Croton lechleri</i>).....	35
8. Incubación de la placa.....	36
9. Lectura de halos de inhibición.....	36
3.4.1 Validez.....	37
3.4.2 Confiabilidad.....	37
2.5. Procedimientos de análisis de datos.....	37
2.6. Criterios éticos.....	38
2.7. Criterios de rigor científico.....	38
III. RESULTADOS.....	39
3.1. Resultados en Tablas y Figuras.....	39
3.2. Discusión de resultados.....	50

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	52
4.1. Conclusiones.....	52
4.2. Recomendaciones.....	52
REFERENCIAS.....	53
Anexo 3: Fotografías Del Procedimiento.....	55
Anexo 4: Certificado De Esterilización De Instrumentos.....	57
Anexo 5: Ficha De Recolección De Datos.....	58
Anexo 6: Certificación Para La Realización De Pruebas Microbiológicas.....	59
Anexo 7: Autorización Para El Uso De Instalaciones De Desecho.....	60
Anexo 8: Constancia De Calibración.....	61
Anexo 9: Constancia De Prestación De Servicios Para Análisis Estadístico.....	62

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA.

En los estados avanzados por su gran desarrollo, las patologías bucodentales, como la periodontitis, gingivitis, caries dental y los cánceres orales, son un inconveniente de salud de trascendencia universal que aqueja a una gran cantidad de personas, cada vez con mayor incidencia en las naciones en transcurso de desarrollo, en específico entre las personas con menos recursos económicos. La mayor organización de salud del mundo (OMS) ha emitido un informe en donde se estima que un aproximado de millones de personas en todo el mundo tienen o han tenido anteriormente caries dental.¹

“Se considera en todos los países que la pérdida de dientes es producto del paso del tiempo y del envejecimiento y desgaste natural de los mismos, pero que con ayuda de técnicas y métodos se puede prevenir” La Dra. Katherine, sub directora de la OMS para el área de Salud Mental y Patologías no permutables, ha emitido declaraciones en donde afirma que las localidades en países desarrollados mantiene una idea errónea acerca de la caries dental, ya que consideran que no es un problema, no obstante se sabe que esta patología aqueja entre un 59% y 89% de la población infantil en la gran mayoría en su etapa escolar y también a la población adulta. Por estudios epidemiológicos se sabe que la caries dental es un problema oral frecuente en países latinoamericanos y asiáticos.¹

Los efectos que producen el tener presencia de caries dental vendrían a ser dolor, inflamación, limitación funcional y por ende llegaría a disminuir la buena disposición de salud de las personas, por lo tanto se estima que para realizar un tratamiento no es muy accesible ya que demanda de costos considerables que representa el 6% y el 11% del consumo de salud en los países desarrollados, y estos valores está muy por arriba de las naciones subdesarrollados.¹

Debido a los cambios de circunstancias y modo de vivir de las personas en países en aras de la prosperidad y el crecimiento en cuanto a economía. En el cual hay un excesivo aumento de consumo de azúcares y escasa utilización de flúor, es muy factible que las caries dental sigan en aumento. Aunque tal parece que el problema es menos grave en gran parte de los países africanos.¹

El Dr. Peterson Poul, quien es el encargado del proyecto de la OMS para la salud bucal tiene el concepto de que el acceso de atención para la salud bucal es limitado en numerosos países en proceso de desarrollo. En todo el continente africano el número de cirujanos dentistas por cada persona es alrededor de uno por cada 160 000 individuos, a diferencia de los países con mayor industria que es 1 por cada 1800 individuos. Si bien es cierto habido algunos estudios en donde determinan la disminución de esta enfermedad en los niños y jóvenes de los países desarrollados. Por otro lado también hay muchas personas mayores quienes padecen a consecuencia de la caries dental y llegan a considerarla principal fuente de dolor y escasa salud. ¹

El 5% y el 15% son cifras que representan a la gran mayoría de población quienes vienen padeciendo enfermedades bucodentales tales como periodontitis que en sus estadios graves conllevan a la pérdida dentaria. Se sabe que la mayoría de niños en el mundo pueden llegar a presentar algún signo y síntoma de gingivitis (sangrado de encías), y en el caso de los adultos las periodontopatías en sus fases iniciales son las que predominan.¹

En el Perú, después del último reporte de información que obtuvo el Ministerio de Salud (MINSA) en el año 2015. Obtuvieron como resultados que el 92% de caries dental prevalece entre la población en la edad de etapa escolar. Sin embargo también se obtuvo resultados que la incidencia de caries en la zona urbana completa el 89,7% y en la zona agraria o rural el 87,9%.

Según los datos de varias investigaciones la cantidad de índice De CPOD en dentición primaria y permanente fue de 5,84, y la cantidad de (DMF-D-12) en este grupo de edad fue de 12 años al inicio nivel nacional (DMF-D-12) fue de 3,67 (IC 95%: 3,37-3,97).²

Estos resultados fueron conseguidos de una minuciosa labor ejecutada con una capacidad de muestra de 7229 alumnos en varias zonas y ciudades del país. Los investigadores fueron muy competentes y los datos medidos, según los juicios y criterios de la OMS.²

Se sabe que también hay otros reportes de prevalencia de caries dental que han sido publicados, sin embargo, estas indagaciones no están del todo concretas ya

que han sido realizados con escaso uso de metodología en la investigación y como muestran reportan solo a poblaciones específicas que por lo tanto no representa a la población total²

Cabe señalar que la entidad que se encarga de la salud en el país en el programa de estrategia de salud pública ha realizado diferentes actividades promocionando la salud bucal como eje principal de la prevención y ha utilizado el reglamento de utilización de flúor en un contenido que indica el uso de flúor de 200ppm en su composición. Sin embargo existe un problema relevante ya que no hay ninguna estrategia de seguimiento y control por lo cual se sabe que el producto que repartían como medio de utilización de flúor no ha sido llevado a todos las jurisdicciones del país y la estructura y elaboración de los productos entregados no respetan la normativa que dio el MINSA en cuanto a la concentración y composición de flúor en el producto. Actualmente se está realizando un trabajo en equipo en el cual el fin del estudio se centra en los niños de entre 5 y 9 años de edad respectivamente, para iniciar la utilización del xilitol en la leche que es repartida por precaución para evitar la caries dental. Después de toda la información epidemiológica en cuanto a salud bucal y caries dental en el Perú, se indica a las oficinas de vigilancia epidemiológica la caracterización de medidas preventivas infalibles en bienestar de la población.²

En el departamento de Lambayeque, ciudad de Chiclayo nueve de cada diez residentes presentan caries dental y tienen dificultades dentales, todo esto detallo el jefe del Departamento de Odontoestomatología del Hospital Las Mercedes³

El Doctor encargado experto en el tema dio a conocer que la población Chiclayana tienen escasos conocimientos en cuanto a salud bucal, por lo tanto es considerado un inconveniente ya que subsiguientemente al tener estos problemas las enfermedades bucodentales va a llegar a deteriorar, incluso la salud general del paciente. También afirmo que muchas personas hace mucho tiempo no realizan una consulta o chequeo de rutina con un cirujano dentista.³

“Es asombroso y lamentable que según investigaciones 9 de cada 10 personas, padecen de caries, teniendo como última opción su salud bucal, no se toma en cuenta esto y finalmente por eso llegan muchas enfermedades”

Se sabe también que la deficiencia en la técnica del cepillado en una constante que persiste en la mayor parte de población adolescente, esto conlleva que en un futuro la dentadura presente múltiples problemas, la más frecuente caries dental para lo cual se tendría que acondicionar el uso de prótesis ya sean totales o removibles para que el paciente logre alcanzar una vida con normalidad, en el caso que haya perdido piezas dentales.³

Justamente este año en el Hospital Las Mercedes se habilitó un programa llamado “Volver a Sonreír” en el cual se confeccionaron 50 prótesis dentales a un grupo de pacientes con bajos recursos económicos a partir de los 60 años y en condiciones de extrema pobreza, para potenciar sus condiciones de vida³

Los cirujanos dentistas exhortan a la población visitarlos por lo menos unas 3 veces al año para regenerar su salud bucal.

A través de las enzimas fructosiltransferasa y glucosiltransferasa (GTF) El *Streptococcus Mutans* (*S. Mutans*) sintetiza polisacáridos extracelulares, están tienen la capacidad de generar fructano y glucano, lo cual proporcionan mayor capacidad para poder adherirse, nutrirse.⁴

Teniendo en cuenta toda esta información obtenida acerca de la prevalencia de caries dental en el mundo nos queda claro que la única solución es estar prevenidos, preparados y cuidar de la salud bucal antes de esperar que la patología ya esté presente. Lo más conveniente es la implementación de cuidados provisionales en el grado uno de atenciones lo cual nos accederá reducir en gran manera la incidencia de mencionada enfermedad. Es por eso que nos vemos obligados y en la necesidad de crear antimicrobianos de uso local en base a productos convencionales o naturales, que actúen de forma eficaz inhibiendo la proliferación bacteriana.⁴

Croton lechleri (*C. lechleri*) es un árbol que tiene origen en la amazonia sudamericana, esta planta llega a excretar y producir un líquido color sangre casi similar al color rojo característico de la sangre en los seres humanos. Diferentes investigaciones han llegado a comprobar que tiene variedad de propiedades medicinales y curativas para el tratamiento de varias afecciones. Sus efectos cicatrizantes, antivirales, antimicóticos, lo vuelven objeto de diferentes estudios.

Según un autor llamado Cayo la sangre de grado presenta acción de inhibición sobre las cepas del microorganismo con mayor presencia en boca. En este estudio, conjuntamente, interviene inhibiendo el desarrollo del *Helicobacter pylori* en congregaciones elevadas.⁴

Teniendo en cuenta estas referencias, esta investigación busca evaluar si la sangre de grado tiene efecto de inhibición sobre el aumento y desarrollo in vitro para el *S. Mutans*, averiguando promover el uso de esta planta medicinal nativa del Perú, como un ayudante que actué de forma alterna de fácil acceso para promover la prevención de la caries en las personas que tienen inconvenientes para poder ser atendidos por un profesional de salud bucal en los establecimiento de salud.⁴

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Huapaya Y. Lima¹ (2020) Este proyecto tuvo como principal objetivo hacer un examen microbiológico de látex de *Croton lechleri* que es repartido para su comercialización comúnmente conocido en el mercado como "Sangre de grado", procedentes de varias lugares del país, para verificar la acción antimicrobiana de esta planta milenaria. Como resultados se obtuvieron que de 47 muestras resultantes de la Lima, el 18% dieron positivo para coliformes totales y un 9% a coliformes fecales. De las muestras restantes obtenidas de San Martín y demás departamentos se comprobó una marcada acción antimicrobiana para *Staphylococcus* en concentraciones de 50% y 100%. Se concluye evidenciando que la sangre de grado vendida en la calle muestra mayor contaminación a diferencia de las muestras que se traen desde su origen.

Meza C. Trujillo² (2019) El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo comparar el efecto inhibitorio del látex de *Croton lechleri* (Sangre de Grado) y del extracto acuoso de *Cymbopogon Citratus* (Hierba Luisa), sobre *Streptococcus Mutans* ATCC 25175. Los resultados según las medidas de halos de inhibición favorecieron a la sangre de grado con un halo de 16.86 en concentración de 100% en cambio la hierba luisa *Cymbopogon Citratus* no presentó ninguna

medida. Se concluye demostrando que la Sangre de Grado (Croton lechleri) en dilución de 75% y 100% si muestra un efecto de inhibición sobre Streptococcus Mutans ATCC 25175 a comparación con Cymbopogon citratus (hierba luisa) utilizando las mismas concentraciones no mostro efecto inhibitorio.

Montalva E. Lima³ (2019) El objetivo de este proyecto tuvo lugar a determinar si existe efecto antimicrobiano del extracto puro de Croton lechleri Müll. Arg frente a Staphylococcus Aureus ATCC 43300. Se analizaron varias concentraciones del extracto de sangre de grado obteniendo como resultado positivo al efecto de inhibición del Croton Lechleri frente al Staphylococcus aureus ATCC 43300 en concentraciones ascendentes al 77% mostrando inhibición total de hasta un 91 y 100% respectivamente. De acuerdo a los datos analizados según las lecturas de halos de inhibición se concluye que el Croton lechleri Müll. Arg. Tiene capacidad bactericida frente al Staphylococcus aureus ATCC 43300, este se puede comprobar si se utiliza en concentraciones no menor al 77%.

Espinoza C. Lima⁴ (2018) El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del látex de Croton lechleri Müll. Arg. (Sangre de grado) frente a Staphylococcus aureus. Se logró demostrar por medio de los resultados que la bacteria es sensible a concentraciones de 25, 50, 75 y 100% en cambio a las concentraciones de 75 y 100% es muy sensible. Se concluye determinando que si hay efecto antibacteriano del látex de Croton lechleri Müll. Arg. Frente a Staphylococcus aureus. Y que debido a sus componentes químicos que presenta es el grado de efecto antibacteriano.

Aviles A. Ecuador⁵ (2018) El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto inhibitorio de Sangre de drago (Croton lechleri) frente a cepas de Streptococcus Mutans. Como resultado la concentración de 50% no mostro efecto inhibitorio frente al crecimiento y proliferación bacteriana de Streptococcus Mutans, solo las concentraciones del 75% y 100% de Sangre de Drago (Croton lechleri) demostraron acción de inhibición frentes al Streptococcus Mutans, sin embargo la clorhexidina al 0, 12% mostro mayor acción de inhibición que todas las concentraciones de sangre de grado utilizada. Por ende se concluye

demostrando que el *Streptococcus Mutans* es sensible a concentraciones de 75 y 100% pero el microorganismo tiene mayor sensibilidad a la clorhexidina al 0,12%⁵.

Aguilar k. Perú⁶ (2018). El objetivo de este trabajo estuvo basado en determinar si hay actividad antibacteriana frente al *Streptococcus Mutans*. Como resultado se supo que los AE de *C. citratus* y *P. Elongatum* expusieron una poderosa acción antibacteriana en concentraciones del 15 y 20%, individualmente, cuyos diámetros de los halos de inhibición fueron 15, 67 y 10 mm, proporcionalmente. En diferencia, los AE de *M. Setosa* y *S. molle* expusieron una disminuida acción antibacteriana. Se concluye que por el pequeño tamaño de los halos de inhibición a partir de altas concentraciones de los AE, 40 y 75%, proporcionalmente. El AE de *L. chequen* no mostró actividad antimicrobiana sobre *S. Mutans*.

Moromi H. Ramos P. Perú⁷ (2018) Realizo una investigación en el cual el objetivo principal fue determinar el efecto antibacteriano in vitro de la oleorresina de *Copaifera Reticulata* (*C. Reticulata*) "copaiba" y del aceite esencial de *Oreganum Majoricum* (*O. Majoricum*) "orégano" frente a *Streptococcus Mutans* (*S. Mutans*) y *Enterococcus Maecalis* (*E. faecalis*). Los resultados obtenidos con copaiba y orégano marcaron que la concentración al 100% produce mayor acción antibacteriana con halos de $30,00 \pm 0,00$ mm. Frente a *Streptococcus Mutans*. El estudio concluyo que el orégano y la copaiba siendo productos naturales muestran efecto antibacteriano sobre *S. Mutans*.

Yakelin F. Arequipa⁸ (2018) Hizo un estudio utilizando concentraciones de látex de sangre de grado al 50, 75 y 100 % los objetivos fueron verificar efecto inhibitorio sobre *Lactobacillus Acidophilus*, así mismo realizar una comparación con el gluconato de Clorhexidina con una concentración de 0,12%. En los resultados de comparaciones se supo que el que tuvo mejor efecto fue la concentración de 100%. También se observó que la comparación de Gluconato de Clorhexidina al 0.12% con el *Croton lechleri* tuvo una mejor respuesta de inhibición en 24 horas, sin embargo al esperar las 48 horas el *Croton lechleri* tuvo igual respuesta de inhibición. se concluye que comparando las diferentes concentraciones del *Croton lechleri*, podemos afirmar que tanto a las 24 como a las 48 horas, la concentración

al 100% fue la mejor.

Espinosa A. Ecuador⁹ (2018) Realizo una investigación y su principal objetivo fue verificar el efecto inhibitorio de la sangre de grado frente a cepas de *Streptococcus Mutans* ATCC® 25175TM y *Porphyromona gingivalis* ATCC® 33277TM. Según los resultados obtenidos la concentración de sangre de grado al 100% a las 24h dio un halo de inhibición de 19.10mm sobre *Streptococcus Mutans*, por otro lado a las 72h en una concentración de 100% el halo de inhibición fue 14.30 mm para *Porphyromona gingivalis*. Sin embargo la clorhexidina al 2 % lo supero ya que su halo tuvo una medida de 26.5mm para *Mutans* y 30mm para *Porphyromona gingivalis*. Se llega a la conclusión de que la sangre de grado tiene acción de inhibición más potente para el *Streptococcus Mutans* que para la *Porphyromona gingivalis*.

TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA.

1. Sangre De Grado (*Croton Lechleri*):

Considerado como una planta medicinal por sus propiedades curativas gracias al látex, tienen un color rojo sangre muy característica de consistencia viscosa, oriunda de la amazonia peruana, en los últimos tiempos ha ido en crecimiento la demanda para la adquisición de este producto¹⁰.

Se sabe que tiene uso desde hace muchos años atrás y es considerado una planta milenaria y su uso para la medicina tradicional es muy común ya que tiene propiedades medicinales tales como producir un efecto cicatrizante de heridas externas, también utilizado para el lavado de úlceras como un desinfectante natural y en otras patologías. ¹⁰

Los nativos de la región amazónica del Perú son aquellas personas quienes hacen que esta planta se use con mayor frecuencia.

La población que se encuentra en la Amazonia ecuatoriana distingue al género de la sangre de grado y le denominan “ian iqui” palabra en quechua y utilizan el

producto como tratamiento de “los granitos” de la mucosa bucal o los que están presentes en la lengua y también como un excelente antiséptico para la limpieza bucodental.¹⁰

1.1 Identidad Del Género.

Dominio: Plantae: Magnoliophyta

Categoría: Magnoliopsida

Estructura: Euphorbiales

Grupo: Euphorbiaceae

Variedad: Croton

Género: Lechleri

1.1.1 Denominación Científica:

Croton Lechleri Muell. Arg.

1.1.2 Denominación Común:

En varias regiones de nuestro país es comúnmente conocido como Sangre de Dragón, palo de dragón, sangre de grado o también como le denominan en el idioma (quechua) Yahuar huiqui.

En las regiones amazónicas de Bolivia, Colombia, Ecuador y Peru con mayor frecuencia lo conocen los nativos como “sangre de grado”. Se sabe que pequeñas variedades de tipo Croton que produce el líquido del color rojo característico de la sangre es la que se ha verificado con diferentes propiedades medicinales.¹¹

1.1.3 Características Botánicas

Descripción: Considerado un arbusto que tiene amplia copa que aproximadamente obtiene entre por lo menos 12 a 20 m de altitud.¹²

Tallo: Con un amplio tallo en la que se puede observar las grandes cortezas externas del árbol, desde su interior exuda un líquido viscoso de color rojo

característico semejante a la sangre humana, o color vino, también rojo oscuro en diversas tonalidades, este es el látex utilizado por las grandes empresas farmacéuticas.¹²

Raíz: El raigón primordial tiene mayor desarrollo que las raíces accesorias, tienen una forma cilíndrica cónica.¹²

Hojas: Tiene hojas tiernas que son de color blanco rojizo. Sus hojas son simples y tienen glándulas en su base, miden un aproximado de 11 a 20 cm de extensión y de 6 a 16 cm de amplitud.¹²

Inflorescencia: Posee flores que tienen un color ámbar con varios estambres, presente inflorescencia que tienen forma de racimos.¹²

Frutos: Sus frutos tienen apariencia globosa, miden unos 4 mm de extensión y unos 3,5 mm de amplitud.¹²

Semillas: Sus semillas con carúncula son lisas.¹²

1.1.4 Ecogeografía

a. Peculiaridades edáficas:¹³

Hábitat: Bandas no mojadas y especialmente en las descendencias de las quebradas.

Suelos: Arenoso, franco-arenoso, limo-arenoso, franco-limo arenoso.

b. Peculiaridades climáticas:¹³

Nivel de Calentura (%): 14-34.8°

Clima: Tropical y húmedo

Humedad atmosférica (%): 66-86

Precipitación (mm): 148-498

c. Peculiaridades fitogeográficas:¹³

Repartición latitudinal: 05° - 17° L.S

Repartición altitudinal: 79-1000 m.s.n.m

Repartición por Provincias: Chachapoyas, Moyobamba, Huánuco, Huancayo, Ucayali, Puerto Maldonado, Cusco y Puno.

d. Clasificación geográfica:¹³

Brack (1986): Región ecológica de la Selva alta de la Amazonia.

Cols y Mostacero (1996): Amazonas

Pulgar (1967): Región ceja de selva, selva baja

Tosí (1960): Pluvisilva, jungla empapada con clima subtropical.

e. Particularidades fenológicas:¹³

Tiempo de florecimiento: abril a mayo

Período de producción: Junio y agosto

Modos de expansión: Gérmenes.

1.2 Distribución y Habitat

El Croton lechleri que con mayor frecuencia lo logra hallar en lugares como, Quito, Bogotá, Lima, Brasilia y la Paz es introducida a los mercados de otros países como especie nativa ornamental.¹³

(Localizado principalmente en Perú) también tiene origen en zonas tropicales y subtropicales de Sudamérica.¹³

La sangre de grado crece mayormente en bosques húmedos, en zonas silvestres montañosas, en regiones selváticas, en eco regiones tanto de selva baja y selva alta, por esas zonas encontramos arboles de sangre de grado con mayor facilidad.¹³

1.3 Localización En Territorio Peruano

Los podemos ubicar en diferentes ciudades capitales de algunos departamentos

del país distribuidos en la región amazónica a un rango de altura de entre 704 y 1670 msnm; tales como Huánuco, Puerto Maldonado, Cusco, Ucayali. En el departamento de Pasco.¹³

1.4 Plantación

Se hace la propagación de este árbol con semillas que deben ser sembrados al inicio de temporadas de lluvias, para que su crecimiento sea más efectivo, la siembra debe ser en suelos franco arenoso bien hondo o medianamente hondo, con excelente desecamiento rico en nutrientes, buena ventilación y con moderados ácidos o alcalinos. Para un efectivo desarrollo el clima debe ser tropical o subtropical hasta con 2010msnm.¹³

1.5 Compuestos Químicos: Principal Parte Activa

Algunos científicos del Perú y de Estados Unidos en 1988 estudiaron y analizaron la composición química del árbol de sangre de grado y descubrieron cual era la sustancia activa del género, por lo tanto decidieron denominar con Taspina ya que es un alcaloide con excelente actividad biológica para tratamientos de lesiones en la piel y demás en los seres humanos. Estos compuestos son sumamente importantes para acelerar el proceso de cicatrización.¹⁴

Corteza: se han identificado esteroides (látex), cumarina, alcaloides [isoquinolina y taspin]. Y la sustancia química con mayor relevancia son los polifenoles, estas son partes biactivas que se encuentran en las plantas con mayor porcentaje en la corteza del *Croton lechleri*, se caracterizan por tener una molécula más de fenol en su grupo, se ha demostrado en diferentes investigaciones que esta sustancia ayuda al organismo a contrarrestar diferentes afecciones ayudando a mejorar su calidad de vida si se usa de la manera más adecuada posible.

Hojas: alcaloides, apofina (taliporfina y acantina). Estas sustancias químicas que se encuentran en las hojas de este árbol milenario tienen orientaciones para su tratamiento con una cantidad adecuada de uso según indicaciones por varias vías

de administración (oral o tópico) incluso se da uso directamente en las lesiones de la piel diluidas con un poco de agua estéril en forma de colutorio¹⁴

1.6 Dosis E Indicaciones Para Tratamiento

La sangre de grado con mayor indicación y uso en forma tópica, aplicada directamente a la zona de la lesión, en heridas superficiales o profundas. Su uso en forma de colutorios para la aplicación tópica.

También es indicada por consumo en vía oral diluido con agua.¹⁴

Usos etnomedicinales: El uso de látex de sangre de grado es utilizado como antiinflamatorio, antiviral, antibacteriano, anticancerígeno, antioxidante, vulnerario, hipotensor. Empleado como agente cicatrizante tanto en lesiones internas como en externas (muy bueno en úlceras intestinales y estomacales) diluido en 15 gotas del producto en una copa que lleve algún líquido por lo general agua tomando una vez diariamente por un mes promedio. Del mismo modo utilizado en heridas así como también para duchas vaginales antes de dar a luz (50 gotas de látex de sangre de grado diluidas en agua tibia)¹⁴

Empleado con mayor frecuencia para la curación de heridas por sus propiedades cicatrizantes y homeostáticas. Cuando hay úlceras de garganta y amigdalitis se puede realizar gárgaras una vez al día diluido el látex unas 5 o .6 gotas en un vaso con agua tibia. También empleado para fracturas, leucorreas y reumatismo en adultos mayores.¹⁴

Anticonceptivo: Durante el inicio del periodo tomar 12 gotas en las mañanas por aproximadamente 10 días.¹⁴

El líquido viscoso producto de la extracción de corteza del árbol de sangre de grado tiene un uso particular como excelente hemostático y cicatrizante de lesiones en la piel.³ La sangre de grado según algunos estudios es eficiente para diferentes males y afecciones como faringitis, hemorroides, paludismo, tumores, anemia, diarrea, cáncer, afecciones dérmicas, hinchazones, úlceras estomacales,

ulceras intestinales.¹⁴

Luego de una extracción dental considerado excelente antiséptico y cicatrizante, se usa también como calmante después del parto, y muy buen antiséptico vaginal.¹⁴

1.6.1 Precauciones Y Limitaciones De Uso

Cuando se usa de forma irracional y de manera excesiva puede causar ceguera, trastornos circulatorios y estomacales. Por lo tanto se debe limitar el uso cuando existe una lesión grande producto de una quemadura por ejemplo ya que presenta acción citotóxica compuestos de los alcaloides de taspina. Del mismo modo tener mucha precaución en úlceras estomacales ya que el uso inadecuado desencadena enfermedades hepáticas.¹⁵

1.6.2 Mecanismos De Efectos Tóxicos

Según artículos y diferentes investigaciones la taspina que contiene el látex de sangre de grado ha demostrado no tener nada de toxicidad para los fibroblastos de los humanos. Las pruebas que se realizaron in vitro en varios laboratorios coincidieron con sus resultados quienes demostraron que no hay toxicidad en la taspina de Croton Lechleri.

Pieters en 1992 realizó un estudio basado en cromatográficos y de RR. MM nuclear, luego de su investigación informo que la sangre de grado no tiene suficientes proporciones que representen daño o peligro en su uso en humanos, ni cantidades de esteres diterpenicos causantes de varios tipos de tumores. Por lo tanto su uso no amenaza con causar efectos adversos u ocasionar la etiopatología de alguna enfermedad en el organismo. Por ende hay una buena justificación para su uso y medicación para algunos males y lesiones descritos en varios estudios. Se sabe que todos estos análisis e indagaciones se realizaron con sangre de grado extraídos de árboles en Perú.¹⁵

2. Acción Farmacológica

Se puede destacar como efectos más importantes la actividad cicatrizante y la actividad hemostática que tiene el látex de sangre de grado. Lo que puede tratar con un elevado nivel de eficacia y agrado en los pacientes que lo utilizan en diferentes tipos de lesiones en la piel y demás partes del cuerpo, incluso tratar enfermedades en pacientes que presentan úlceras por decúbito, escaras o varices.

Como ya se ha venido mencionando anteriormente el látex de sangre de grado ha demostrado gran eficacia por presentar componentes para su acción antimicótica, antimicrobiana, antiviral, por lo cual es recomendado para tratar ciertas afecciones como gastritis, cuadros de úlceras, enfermedades duodenales, tiene como única finalidad hacer hemostasia en sangrados iniciales para luego reforzar el proceso de cicatrización. Si existen afecciones el modo de usos es aplicar 3 o 4 gotas en un vaso de agua tibia e ingerirlos por unos 5 a 7 días todos los días.

También importante señalar su uso para cicatrización de heridas en la cavidad oral y faríngeo tales como, gingivitis, amigdalitis, para estos casos se utiliza en forma de colutorios orales para realizar gárgaras por las mañanas, o en todo caso si el paciente presenta otro tipo de lesión en la mucosa aplicar de forma tópica.¹⁵

2.1 Función Cicatrizante:

La sangre de grado actúa inmediatamente en la zona de lesión ayudando a generar colágeno para la formación de la costra y así estimular la pronta cicatrización de la herida. A toda esta acción se une la sustancia llamada taspina presente en el látex de sangre de grado.¹⁵

Su principal factor de acción de la taspina está relacionado directamente con la gran cantidad de alcaloides que hacen trabajo de quimiotaxis por lo que en una concentración suficiente de *Croton lechleri* se está promoviendo constantemente su efecto bactericida y bacteriostático y su acción cicatrizante.

Para el tratamiento de úlceras gástricas se han hecho investigaciones donde se ha inducido indometacina en ratas para analizar el efecto de la taspina. Se concluyó que la taspina tiene el efecto para reducir los índices de ulceración, y también hacer la mucosa gástrica más consistente aumentando su espesor para la protección de varias afecciones.

Al igual que la taspina la sangre de grado también tiene otros componentes químicos que ayudan en su eficacia como por ejemplo el lignano 3'-4-O-dimetilcedrusina en proporción minoritaria pero que también intervienen con sus múltiples beneficios.

La sangre de grado con una actividad cicatrizante, reduce la acción mieloperoxidasa por lo tanto facilita la cicatrización y por ende curar lesiones como úlceras gástricas, u otro tipo de úlceras de diferentes tamaños. Un componente llamado polifenoles tiene un rol muy importante que ayuda en el trabajo de cicatrización. Unas sustancias llamadas proantocianidinas incitan la creación de células fibroblásticas en la zona de lesión, después del paso de varias horas se da inicio a la creación y formación de una capa oscura que cubre la herida, esta es llamada costra.¹⁵

2.2 Función Antiviral Y Antimicrobótica:

Varios estudios relevantes han reconocido y comparado las actividades antiviral y antimicrobiana de Sangre de Grado, especialmente SP-303. Se llega a la conclusión que es muy importante su uso para combatir el virus de la gripe AH1N1, también el virus de la hepatitis tipo A y B, así como el virus del herpes simple.¹⁵

Grandes estudios in vitro han evidenciado el efecto positivo antimicrobiano que posee el Croton lechleri para generar grandes medidas en los halos de inhibición frente a varias cepas de microorganismos causantes de varias patologías en diferentes órganos del cuerpo humano, facilitando así que la mayoría de las personas consuman este producto por sus grandes beneficios que ofrece, incluso

para afecciones respiratorias también se está llevando a cabo estudios.¹⁵

En otras investigaciones donde se realizó ensayos vaginales en ratón, se verifico que la labor de la sustancia del látex de sangre de grado reduce significativamente la formación de lesiones cuando su modo de uso es de forma tópica entre un 6 al 12%.¹⁵

Se sabe que el SP 303 se forma en periodo clínico como parte del proceso como procedimiento y terapia que presentan y padecen personas que tienen el virus del VIH con múltiples lesiones periódicas y quienes acuden al establecimiento de salud con frecuentes lesiones producidas por herpes genital y con disentería en pacientes con comorbilidad por VIH.¹⁶

Diferentes combinaciones de polifenoles, flavonoides y diterpenoides de Sangre de Grado (*C. lechleri*) muestran potentes efectos antibacterianos debido a sus metabolitos tales como: coberinas, A y B, 1, 3, 5 -Trimetoxibenceno y 2, 4,6-trimetoxifenol son muy eficaz contra *Bacillus subtilis*, entre ellos más eficaz que la penicilina y el cloranfenicol. ¹⁶

Los agregados fenólicos simples son los compuestos fotoquímicos más simples compuestos por anillos fenólicos sustituidos. La cantidad de asociación de hidroxilo (OH) en el aro aparenta tener afinidad con la toxicología para los microbios, por lo que una mayor hidroxilación se asocia con una mayor toxicidad.¹⁶

2.3 Función Antiinflamatoria:

Se ha comprobado que no solo la taspina presenta un componente comprometido con la acción antiinflamatoria que tiene la sangre de grado. El látex total de por si tienen efecto potente para ejercer actividad antiinflamatoria, según estudios estadísticos significativos por vía intraperitoneal, en el modelo suplantar de la rata.

17

El encargado de la acción antiinflamatoria tiene propiedades extensas, capaz de

llega a regenerar una llaga, con su principio activo presente en la taspina de sangre de grado.

Para verificar el efecto antiinflamatorio de la taspina, se realizaron tres modelos farmacológicos bajo investigación. En el primer modelo, los granulomas se inocularon en hisopos de algodón y la taspina de sangre de Grado impidió el desarrollo de granulomas. En un modelo de rata de artritis adyuvante, la taspina también suprimió la inflamación. Taspin de Látex de sangre de Grado también tiene acción antiinflamatoria en un ejemplo de fascitis plantar estimulado por carrageninas en ratas. ¹⁷

3. STREPTOCOCCUS MUTANS

Esta bacteria se considera una bacteria anaeróbica facultativa Gram-positiva que se ubica en la boca de los seres humanos como porción de una biopelícula en los dientes conjuntamente con sarro adherido a los dientes. Esta bacteria se asocia con mayor frecuencia con el excesivo incremento y proceso de lesiones producidas por caries en el esmalte dental. Se sabe que esta enfermedad de deterioro de las piezas dentales ataca casi a la mayoría de personas casi llegando a un grado universal. Considerado un microorganismo neutrofílico ya que tiende a sobrevivir en un ambiente de pH neutro, también metaboliza cualquier derivado del azúcar por lo que es acidogénico y acidúrico ya que es capaz de sintetizar lo contrario a los ácidos en estas condiciones. Cumple otra importante función de metabolizar compuestos de disacáridos de glucosa y fructuosa para elaborar enzimas que ayuden en metabolizar polisacáridos (elemento de consistencia blanda que favorece la afinidad de microorganismos a la cara libre de cada diente) e intracelulares (metabolismo energético). Con buena salud bucal, el número de estas bacterias en la boca será inferior a 100.000 UF ¹⁸

3.1 Clasificación

Tipo: Bacilli

Estructura: Lactobacillales

Afinidad: Streptococcaceae

Variedad: Streptococcus

Dominio: Bacteria

Filo: Firmicutes

Especie: S. Mutans

3.2 Particulares Del Virus:

SE diferencian por ser microorganismo anaerobio facultativos, ya que tienen capacidad de vivir en ausencia o presencia de oxígeno.

Demandan de por lo menos 4 a 10% de Dióxido de carbono para poder tener un desarrollo adecuado en el laboratorio por lo que se nombran microaerófilos.

De acuerdo a la hemólisis que desarrollen en un medio de cultivo de tipo agar sangre se cataloga como gamma hemolítica o alfa

Tienden a ser microorganismos demasiado susceptibles por lo que al ser expuestos a diferentes cambios ambientales y de temperatura no sobreviven.

Mantiene una postura nutritiva demasiado estricta cuando se tiene este tipo de microorganismo en el laboratorio¹⁸

3.3 Forma Del Virus

Streptococcus Mutans son células redondas, es por eso el origen del nombre en la terminación “cocos” Se pueden observar siempre formados en cadenas.

Cuando se utiliza la técnica de coloración en el laboratorio, tienden a teñir un color morado característicos para bacterias gram positivas. No son móviles y tampoco forman esporas.

No contiene una capa de capsula, pero si están bien protegidos por una gruesa pared bacteriana, característica de los gram positivos.

Sujeta un peptidoglicano grueso de 79 Mm de grosor, en el que se halla aferrado el ácido teicoico, mientras que el ácido lipoteicoico se encuentra unido a la membrana celular.

En su pared celular no poseen carbohidratos. ¹⁸

3.4 Elementos De Virulencia

Se denomina factor de virulencia aquellos componentes o mecanismos con lo que dispone un microorganismo para ser capaz de originar un patología en cualquier ser vivo. *S. Mutans* dispone de:

Desplazamiento para una efectiva adherencia y desarrollo de biopelícula.

Elaboración de cantidades elevadas de ácidos orgánicos (acidogenicidad).

Elaboración de glucosiltransferasas.

Capacidad para sobrevivir a pH bajo (aciduricidad).

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Tendrá efecto antibacteriano significativo las concentraciones de látex de sangre de grado (Croton Lechleri) sobre cepas de *Streptococcus Mutans*?

1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO.

Diversos estudios e investigaciones realizadas en varios países tienen sustentos técnicos en relación a las propiedades de esta especie vegetal; tales como cicatrizantes, curativas, antiinflamatorias, antimicóticas, que tiene el uso de la sangre de grado así lo testifican en sus averiguaciones.

Dada a la gran relevancia que tiene la caries dental, que la mayoría de población a nivel de todo el mundo lo tiene sin discriminar raza, sexo o condición social producida por *Streptococcus Mutans*, microorganismo presente en la iniciación de caries en dentina. Por lo cual se compone como el microorganismo de mayor relevancia a investigación en todos los aspectos, especialmente en aquellos

quienes tratan de prevenir, controlar o aminorar el porcentaje de incidencias de caries dental en la población mundial, buscando diferentes tácticas de prevención y control para la disminuir o eliminar esta bacteria presente en caries dental y en grandes cantidades en la cavidad bucal. Se sabe por diferentes investigaciones que aun este microorganismo anaerobio facultativo no ha sido controlado en boca y uno de los productos químicos que con mayor frecuencia se utiliza para su control tiene efectos adversos.

La sangre de grado ha demostrado ser un buen agente curativo y cicatrizante y tener varias propiedades medicinales, sin embargo lo que me inclino a realizar este estudio es el escaso énfasis en las propiedades antibacterianas que tiene la sangre de grado frente al *Streptococcus Mutans*, por lo cual no reúne muchas referencias y es objeto de estudio.

1.5. HIPÓTESIS.

H1: El efecto antibacteriano de las concentraciones de látex de sangre de grado (*Croton Lechleri*) sobre cepas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, producen un efecto distinto y significativo.

H0: El efecto antibacteriano de las concentraciones de látex de sangre de grado (*Croton Lechleri*) sobre cepas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, no producen un efecto distinto y significativo.

1.6. OBJETIVOS.

1.6.1. OBJETIVOS GENERAL

Evaluar el efecto antibacteriano de tres concentraciones de látex de sangre de grado (*Croton Lechleri*) sobre cepas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175.

1.6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar el efecto antibacteriano del látex de sangre de grado (*Croton Lechleri*) al 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Streptococcus Mutans*.
- Comparar el efecto antibacteriano del látex de sangre de grado (*Croton Lechleri*) con el efecto producido por la Clorhexidina, frente a las cepas de *Streptococcus Mutans*.

II. MÉTODO

2.1 TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.

- Conforme los investigadores, la interferencia es experimental.
- Es prospectivo en base a la programación calculada a partir de las variables de estudio
- Es longitudinal en función del número de veces que se valida la variable de estudio en cuanto a la medición.
- Es analítico basado en la cantidad de variables de utilidad.

2.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.

La población estará constituida por la cepa de *Streptococcus Mutans* con referencia ATCC 25175.

La muestra estará constituida por 10 repeticiones para cada concentración de (*Croton Lechleri*) sangre de grado.

Criterios de inclusión:

- Láminas de Petri sembradas con la cepa S. Mutans ATCC 25175
- Proporcionar un entorno apropiado para el incremento y proliferación.
- El origen de la cepa tiene que estar con medios similares (mismo ambiente)

Criterios de exclusión:

- Laminas Petri sembradas con Cepa de *S. Mutans* que se evidencie señal de asepsia.
- Otras cepas.

2.3 VARIABLES, OPERACIONALIZACIÓN.

Dependiente: efecto antibacteriano sobre cepas de *S. Mutans ATCC 25175*

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	VALOR FINAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA
(croton lechleri) Sangre de grado	Fluido mucilaginoso de color carmesí, este inhibe el crecimiento bacteriano pueden ser de 2 tipos naturales o sintéticos	Se utilizará 3 concentraciones de látex de sangre de grado	Concentraciones	100% 75% 50%	Cualitativa	Ordinal
Efecto antibacteriano	Susceptibilidad que tiene un microorganismo a la acción De un fármaco o a un preparado natural.	Se comprobará de acuerdo a la evaluación según la medida que proporcione los Halos inhibitorios.	Diámetro del halo de inhibición en milímetros	mm	Cuantitativa	Nominal

Independiente: (*Croton Lechleri*) Sangre de Grado.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.

TÉCNICA: Se empleó el procedimiento sistemático de contemplación observacional microbiológica experimental de forma indirecta para luego almacenar información de las variables en cuanto a las respuestas, por ende se valoró los halos de inhibición de la (sangre de grado) *Croton Lechleri* sobre el *S. Mutans*.

INSTRUMENTO:

- Papeleta de observación.
- Papeleta de laboratorio de acumulación de referencias.
- Regla milimetrada marca ISO.

Proceso Para Recaudación de (*Croton lechleri*) Sangre de drago.

El fluido mucilaginoso se consiguió de las casas naturistas de la amazonia del Perú, ubicado en Moyobamba, Rioja y en Juanjui, donde se distribuye hacia el interior del País, ellos son los encargados de obtener el látex puro concisamente de las sembradíos de *Croton Lechleri*, donde para obtención del látex realizan el corte de una conjunto alargado de la corteza del árbol de sangre de grado, realizando ese corte el árbol empieza a eliminar hacia el exterior el látex de sangre de grado.

Luego de la obtención del líquido directamente de la corteza del árbol, se tenía que comprobar que esta sea 100% pura, oriundo y no se haya sido mezclado con ninguna otra sustancia que modifique sus propiedades y por ende los resultados de nuestro experimento.

Por lo que para comprobar su efectividad se realizaron varias pruebas físicas químicas tales como PH, viscosidad, densidad, en el laboratorio, estas pruebas están previamente documentadas en cuanto a la sangre de grado

Método Para El Cultivo:

Se utilizó el medio más competente para esta clase de procedimiento el cual es el Agar M.H ya que es el adecuado para verificar la efectividad de una sustancia mediante medios de sensibilidad.

Sus características más destacadas son la rápida proliferación de microorganismos capaces de causar enfermedades humanas, sobre todo Streptococcus, y la amplia evidencia y seguridad científica que respaldan las pruebas de susceptibilidad en este medio, la investigación ha sido desarrollada en el laboratorio de la universidad Pedro Ruiz Gallo Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad

Diluciones del látex:

Teniendo la cantidad adecuada para el experimento de 10 ml de sangre de grado (*Croton lechleri*) se hizo el tratamiento para diluciones. Por tanto:

- ✓ 50% diluidos en 10 ml
- ✓ 75% diluidos en 10 ml
- ✓ 100% diluidos en 10 ml

Consecutivamente todas las concentraciones de diluciones serán expuestas a radiación utilizando lámpara UV para impedir cualquier tipo de contaminación.¹

Reactivación de cepas de *S. Mutans ATCC 25175*

Las cepas de *S. Mutans ATCC 25175* fueron obtenidas mediante coordinación con el laboratorio de Ciencias Biológicas de la universidad P.R.G, almacenada en refrigeración a 8°C. La estimulación de la cepa se hizo con toda la siguiendo secuencia del reglamento sugerido por el microbiólogo.

El medio utilizado para la reactivación de las cepas de *S. Mutans ATCC 25175* fue el caldo de infusión cerebro corazón (BHI), donde se tomaron porciones de la bacteria para ser sembradas en tubos con caldo (BHI), incubándolas en anaerobiosis por 24 horas a 37°C estableciéndose su viabilidad por la turbidez del

caldo, luego fue sembrada en placas con Agar (BHI) por 24 horas a 37°C para la identificación mediante las características macroscópicas que son representadas por colonias puntiformes; y en la tinción Gram se observó cocos en cadenas gram positivas que verificaron la pureza de las cepas.¹

Inyección de la lámina.

La inoculación de la bacteria se hizo en tres direcciones distintas para lograr que esta sea dispersa en toda la superficie del agar, estos movimientos se hicieron desde la parte superior de la placa. Cabe señalar que la siembra de los microorganismos se llevó a cabo durante 16 minutos luego de la hora estándar con el hisopo completamente estéril. Todo este procedimiento fue realizado en el ambiente de laboratorio de Biología de la UNPRG. Donde en todo momento se utilizó un mechero para evitar la contaminación.

Procedimiento según Kirby – Bauer (CLSI)

Existe un comité llamado Instituto de modelos Clínicos y de manejo en laboratorio (CLSI) la cual es una institución delegada para propagar varias pautas de laboratorio que son normalizadas a nivel internacional para su adecuado uso. En una de sus guías con referencia M2 – A7 explica claramente el protocolo que se debe seguir y está explicado por Kirby – Bauer como narración para todos los ensayos de sensibilidad que se realizan por difusión de disco.¹

Disposición de discos con (*Croton lechleri*).

Para efectuar el experimento de acción de la sangre de grado preparamos desinfectando y esterilizando los rosetones de papel filtro para luego ser empapados en las diluciones de sangre de grado (50, 75 y 100%). Se ubicó mediante una micropipeta de la marca BOECO- BRAND rango de (10- 100 µl) la cantidad 10 microlitros en cada disco.

Con ayuda de una pinza estéril fueron empapados los discos de papel con

diferentes cantidades, que son puestas en recipientes de Petri. Posterior a este procedimiento teniendo en cuenta una temperatura ambiente se dejó durante 15 minutos para que los discos de papel absorban toda el agua posible del medio de cultivo y así se realice la propagación de los microorganismos utilizados para la investigación. ¹

Incubación de la placa.

Después colocamos las cajas Petri en una jarra de tipo Gas Pack, esta jarra se encarga de favorecer un ambiente de anaerobiosis para proliferación bacteriana, luego de colocados los recipientes petri se sella la tapa de la jarra herméticamente, Se procedió a poner en una estufa a una temperatura máxima de 35° C y CO₂ al 7% por unas 19 horas, para poder lograr una adecuada incubación de esta bacteria.¹

Lectura de halos de inhibición.

Después de 19 horas de haberse realizado la incubación, utilizamos el instrumento para graduar los halos inhibitorios que corresponde a una escuadra milimetrada de acero inoxidable con graduación en milímetros y pulgadas marca ISO.¹

La recolección de la información se realizó mediante un cuadro elaborado en Word. Debido a que los datos fueron medibles se tuvo que ejecutar el análisis de datos, que fue ubicado es escala de tipo nominal para descifrarlo en diferentes categorías con un determinado valor numérico, para posteriormente.

Consecutivamente se dio lugar a efectuar la comparación de datos, por lo que fueron aportes graduables se colocó en una secuencia nominal, para luego catalogarlos por la clase a la que pertenecen con un valor numérico, y por último, los resultados fueron constituidos en listas y representaciones

Para comprobar la validez de los resultados coleccionados. La totalidad de este se manejó se llevó a cabo con la utilización de los programas de Microsoft Word y

Excel.

Validez

En este estudio, se considerarán tablas de recolección de datos relacionadas con el número de repeticiones para permitir la consistencia interna de los efectos antibacterianos de tres concentraciones de látex sanguíneo graduado (Croton Lechleri) contra cepas de S. Mutans. ATCC 25175.

Confiabilidad

Se completó la exposición de datos fidedignos recopilados y almacenados. La veracidad y solidez de toda la información se efectúa por la intervención de herramientas efectivas y de suma confianza. El producto que deje la investigación será utilizado por otro estudio para cumplir con los principios de transferibilidad.

	Concentraciones	Mediciones
Sangre De Grado	100%	10 Rep.
	75%	10 Rep.
	50%	10 Rep.

2.5 PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS DE DATOS.

Para realizar un estudio estadístico se utilizan pruebas paramétricas y se deben cumplir 3 requisitos. Primero, obligatoriamente deberá presentar una típica variable según el número de proporción. En segundo lugar, debe satisfacer la hipótesis de (homogeneidad de muestras), y al final, debe satisfacer la hipótesis de (varianza homogénea).

Si el trabajo de investigación cumple con la variable numérica, se aplican dos tipos de prueba. Si la muestra es mayor a 30 se realiza la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y si la muestra es menor de 30 se realiza la prueba de Shapiro-Wills.

Si se llega a demostrar la hipótesis de normalidad, se evidenciará muestras paramétricas conjuntamente con la técnicas ANOVA. Si no se demuestra la hipótesis de normalidad, se usará una prueba no paramétrica.

2.6 CRITERIOS ÉTICOS.

La Universidad Señor De Sipán maneja un reglamento ético que todos los estudiantes e investigadores deberán cumplir al momento de desarrollar sus trabajos de investigación, su único objetivo para la utilidad del mismo es proteger varios derechos importantes del ser humano tales como, confianza, supervivencia, fortaleza física, tranquilidad y honorabilidad, de todas las personas implicadas que trabajan haciendo investigaciones científicas de calidad, con técnica formadora en favor de cumplir los reglamentos éticos que han sido admitidos por la constitución del país y del extranjero.

La eliminación y manejo de los desechos generados durante y después de realizar el procedimiento tuvo que ser de manera eficiente, para ello se usó una cámara de flujo laminar de tipo 2, También se usó material estéril que fue aplicado en el laboratorio. Después de haber desarrollado la etapa experimental de nuestra investigación se procedió a realizar la eliminación de los desechos que se produjeron. Todo este proceso se llevó a cabo teniendo en cuenta el protocolo y las reglas establecidas en el laboratorio de la UNPRG.

2.7 CRITERIOS DE RIGOR CIENTÍFICOS

Los métodos utilizados están validados universalmente, ya que estos procedimientos afirman que los resultados obtenidos son veraces objetivos y oportunos. Teniendo en cuenta que la presentación de la bibliografía utilizada sigue el formato Vancouver, que se ha establecido internacionalmente para estudios en el área de disciplinas médicas y de salud. Este estudio cumplió con todos los estándares de rigor científico y, por lo tanto, es un estudio sin precedentes y debe considerarse como tal.

III. RESULTADOS

Después de haber realizado las pruebas en el laboratorio se utilizó este cuadro para recolección de los mismos según el número de repeticiones para obtener la medida de los halos inhibitorios.

En base a estos resultados se han desarrollado la parte estadística, posterior a ello tener conclusiones.

<i>REPETICION</i>	SANGRE DE GRADO			CLORHEXIDINA
	HALOS DE INHIBICION			(Control Positivo)
	50%	75%	100%	0, 12%
<i>1</i>	9	12	17	20
<i>2</i>	9	12	17	20
<i>3</i>	9	12	17	22
<i>4</i>	9	13	16	20
<i>5</i>	8	13	18	20
<i>6</i>	8	13	18	21
<i>7</i>	8	13	18	20
<i>8</i>	7	11	17	20
<i>9</i>	7	11	17	22
<i>10</i>	8	10	16	22

Fuente: Guevara Castro Katia Medalí

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la resolución de saber si hay efecto de inhibición de la sangre de grado sobre las cepas de *S. Mutans* ATCC 25175 se agruparon de 3 maneras utilizando diluciones en 3 concentraciones distintas al 50, 75 y 100%, estos se establecen luego de haber medido los halos en milímetros. Se reiteraron 10 veces los ensayos conjuntamente con el grupo control y se interpretaron las medidas según Duraffourd y Lapraz.

Objetivo General:

Evaluar el efecto antibacteriano de tres concentraciones de látex de sangre de grado (*Croton Lechleri*) sobre cepas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175

Tabla 1

Análisis descriptivo de las medidas de halos de inhibición en mm.						
Tratamientos	N°	Rango	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Estándar
Sangre de grado al 50%	10	2	7	9	8,20	,789
Sangre de grado al 75%	10	3	10	13	12,00	1,054
Sangre de grado al 100%	10	2	16	18	17,10	,738
Control (+) Clorhexidina	10	2	20	22	20,70	,949
Control (-) Agua destilada	10	0	6	6	6,00	,000
Total	50		6	22		

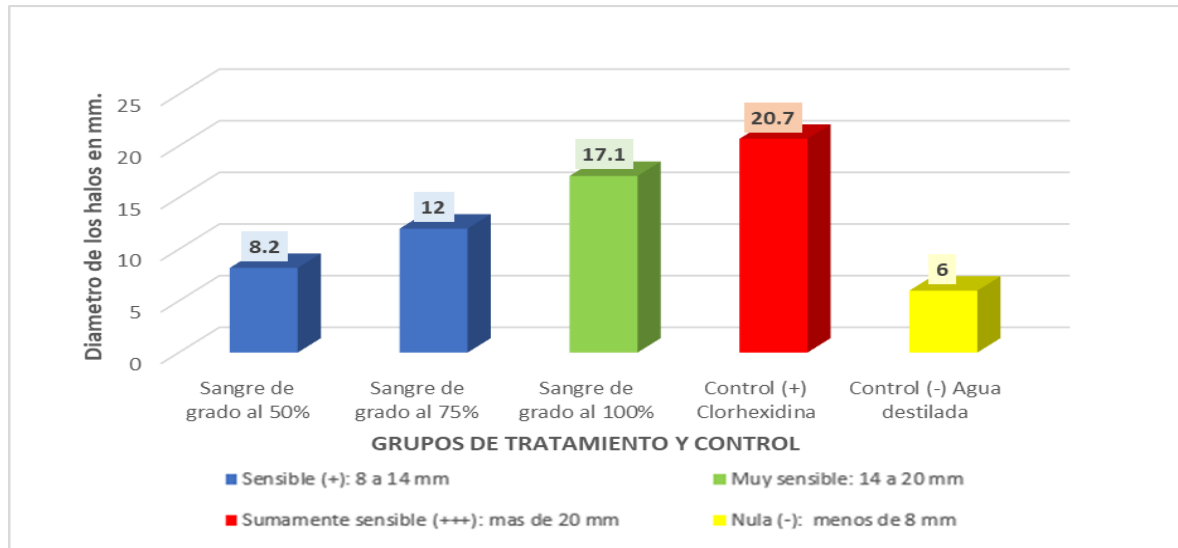


Figura 1: Promedios de diámetros (mm) en los Halos de inhibición para cada tratamiento y grupo control

Fuente: ING. Alexander Carrera. Salida Office Excel 2019

En la tabla 1 y Figura 1 se puede observar las medidas del diámetro medio para los 5 grupos de concentraciones para el análisis, con base en 10 pruebas realizadas, interpretadas según las escalas de Duraffourd y Lapraz. Posteriormente según los resultados mostrados se ha logrado determinar si existe o no efecto antibacteriano de la sangre de grado frente al *S. Mutans* ATCC 25175.

En cuanto al grupo 1 y el grupo 2, la concentración al 50% y 75% respectivamente la sangre de grado (*Croton Lechleri*) tiene lecturas promedio para los halos de inhibición de 8.2 mm y 12 mm para cada grupo; situándose ambas concentraciones en un rango sensible (+), entonces el *Streptococcus Mutans* manifiesta ser sensible a dichas concentraciones como modo de tratamientos.

En cuanto al grupo 3, las medidas que revelaron los halos de inhibición fueron en promedio de hasta 17.1mm, posicionándolas en un rango sumamente sensible (++), de acuerdo a ello se interpreta que el microorganismo es bastante sensible si es expuesto al porcentaje de dicha concentración.

En cuanto a los grupos 4 y 5, definidos como los grupos Clorhexidina (+) y Agua destilada (-) respectivamente, se observan resultados totalmente opuestos. En la

agrupación 4 se obtuvieron medidas de los halos hasta en un promedio de 20.7, interpretando así que el microorganismo es extremadamente sensible (++++) a la clorhexidina al 0, 12% utilizado como control positivo. Por otro lado en el control negativo se utilizó (agua estéril) y las lecturas de los halos mostraron un promedio de 6mm en cuanto a su diámetro, posicionándolas como respuesta de inhibición limitada o invalida.

Las hipótesis que se plantea para este diseño experimental de investigación son las siguientes:

$$H0: \mu_{SG\ 50\%} = \mu_{SG\ 75\%} = \mu_{SG\ 100\%}$$

$$H1: \mu_{SG\ 50\%} \neq \mu_{SG\ 75\%} \neq \mu_{SG\ 100\%}$$

La finalidad del diseño experimental es aceptar la hipótesis alterna. Es decir, comprobar si hay una valiosa discrepancia en cuanto a los resultados obtenidos de las medidas de halos inhibitorios de cada porcentaje de concentración al 50, 75 y 100% con una magnitud de seguridad de hasta un 95%

Para la determinación de las tres dosis de sangre de grado sobre cepas de *Streptococcus Mutans* tienen un efecto significativo, se procede a realizar una prueba estadística en base a la evidencia de la muestra. Siendo este el caso en que los datos no cumplen con el criterio de distribución normal y homogeneidad de varianza (**Anexo 9**), se empleó la técnica no paramétrica según Kruskal Wallis.

La técnica no paramétrica según Kruskal Wallis compara la mediana de cada halo de inhibición tomado de los tres tratamientos de látex de sangre de grado en un rango de fiabilidad de aproximadamente el 95%.Entonces, se demuestra que al menos una de las dosis de sangre de grado (Croton Lechleri) al 50, 75 y 100% produce un efecto distinto y significativo sobre las cepas de *Streptococcus Mutans*.

Sin embargo, esta prueba no determina cuál de las dosis aplicadas al *Streptococcus Mutans* es la que más aporta al diseño experimental. Es por ello

que es sumamente necesario aplicar una prueba POST – HOC con el fin de comparar individualmente los grupos de análisis.

ANEXO 9. SUPUESTOS PARA EL ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS TRES CONCENTRACIONES DE LATEX AL 50%, 75% Y 100%

SUPUESTO DE NORMALIDAD

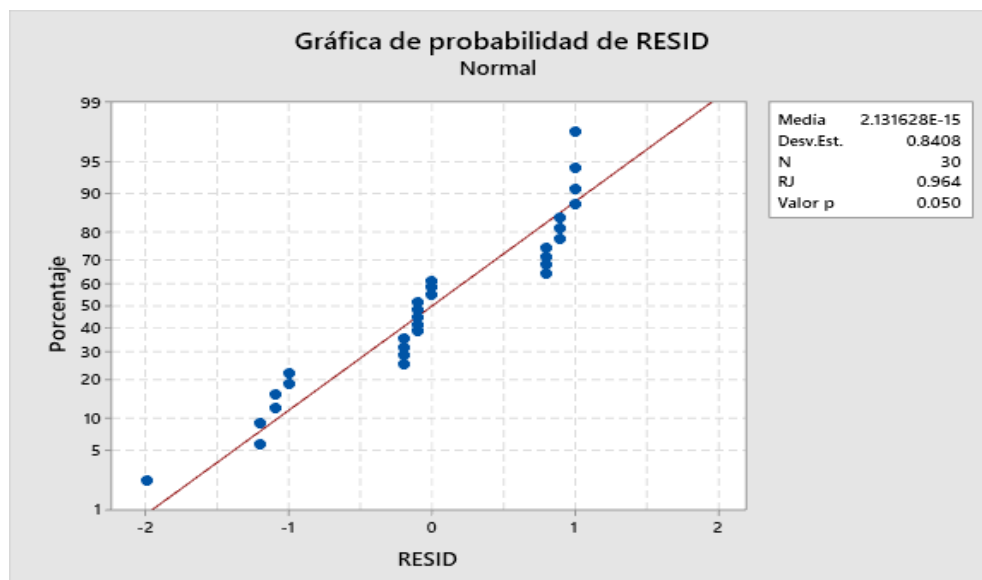
Probabilidades:

H0: Repartición normal que se ajustan a los datos

H1: No hay ajuste de los datos para una repartición normal.

Rango De Connotación:

$\alpha = 0,05$



Fuente: ING. Carlos Carrera

Conclusión

Según Ryan Joiner los datos no se llegan ajustar para una repartición normal utilizando la justificación de normalidad ya que p viene a ser igual al rango de evidencia $\alpha = 0.05$, rechazando la probabilidad nula. Además los valores no se ajustan a la recta.

SUPUESTO DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZA

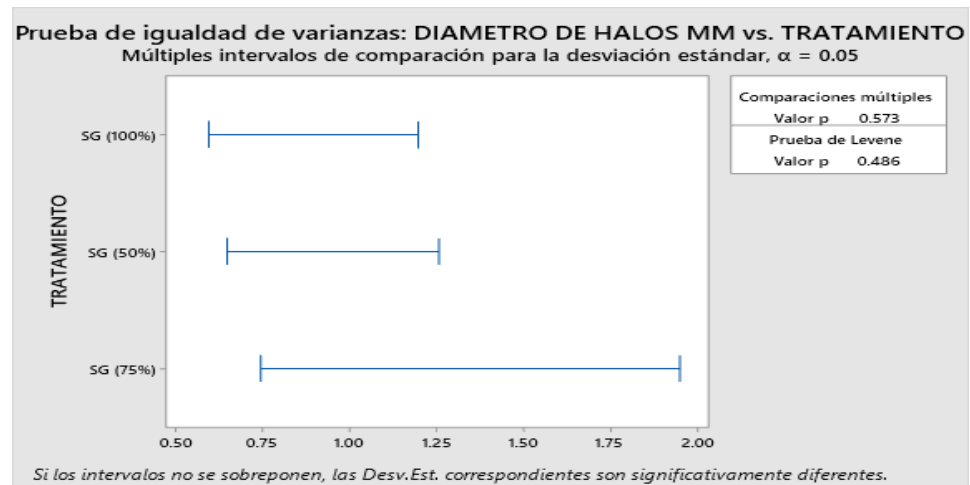
Hipótesis:

H0: Las varianzas entre las cantidades de sangre de grado son iguales.

H1: Las varianzas entre las cantidades de sangre de grado son diferentes.

Nivel de significancia:

$$\alpha = 0,05$$



Fuente: ING. Carlos Carrera

Conclusión

La justificación de homogeneidad de diferencias de Levene concluye que las diferencias entre las concentraciones de látex de sangre de grado son iguales aceptando la hipótesis nula con un valor p de 0.486, siendo este valor mayor al nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

Objetivos Específicos:

Comparar el efecto antibacteriano del látex de sangre de grado (Croton Lechleri) al 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Streptococcus Mutans*.

Se optó por unir todos los grupos de análisis del diseño experimental y así poder hacer una comparación múltiple según el interés de la investigación.

Todo está en base a los porcentajes de diámetro de los halos inhibitorios para luego comparar si existen diferencias entre ambos según lo señalado por la prueba tukey. Sin embargo, para proceder con el análisis, este test se realiza en

base a la repartición de los datos de la muestra.

Se utilizó (ANOVA) para este tipo de situaciones esta técnica nos ayuda a diferenciar estadísticamente una análisis de diferencias que sean de relevancia para las lecturas de los halos inhibitorios en todos los tratamientos utilizaos en el estudio con un rango de validez de hasta un 95%.

Las hipótesis que se plantea para este diseño experimental de investigación son las siguientes:

$$H0: \mu_{SG\ 50\%} = \mu_{SG\ 75\%} = \mu_{SG\ 100\%} = \mu_{GC(+)} = \mu_{GC(-)}$$

$$H1: \mu_{SG\ 50\%} \neq \mu_{SG\ 75\%} \neq \mu_{SG\ 100\%} \neq \mu_{GC(+)} \neq \mu_{GC(-)}$$

Como en el anterior caso, la finalidad del diseño experimental es aceptar la hipótesis alterna. Es decir, comprobar si existen diferencias significativas entre las medidas de los halos de inhibición de todos los grupos de análisis, con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 2

Análisis de varianza (ANOVA) entre las concentraciones de todos los grupos de estudio sobre cepas de <i>Streptococcus Mutans</i>					
Fuente	GL	SC Ajustado	MC Ajustado	Valor F	Valor p
TRATAMIENTOS	4	1489.40	372.350	585.87	0.000
Error	45	28.60	0.636		
Total	49	1518.00			

Fuente: ING. Alexander Carrera Salida de MINITAB 19.

La tabla 2 muestra que el valor p está muy por debajo del nivel de significancia $\alpha = 0.05$, esto quiere decir que se niega la probabilidad nula. Entonces, se demuestra que por lo menos una de las dosis empleadas sobre el *Streptococcus Mutans* produce un efecto distinto y significativo.

Comparar el efecto antibacteriano entre los grupos control y las concentraciones

de látex de sangre de grado (Croton Lechleri) al 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Streptococcus Mutans*.

Tabla 3

Comparación de concentraciones en los grupos de control sobre cepas de <i>Streptococcus Mutans</i> usando el método de Tukey					
Diferencia de niveles	Diferencia de medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p
SG 100% - CONTROL (-)	11.100	0.357	(10.09; 12.11)	31.13	0.000
SG 50% - CONTROL (-)	2.200	0.357	(1.19; 3.21)	6.17	0.000
SG 75% - CONTROL (-)	6.000	0.357	(4.99; 7.01)	16.83	0.000
SG 100% - CONTROL (+)	-3.600	0.357	(-4.61; -2.59)	-10.10	0.000
SG 50% - CONTROL (+)	-12.500	0.357	(-13.51; -11.49)	-35.06	0.000
SG 75% - CONTROL (+)	-8.700	0.357	(-9.71; -7.69)	-24.40	0.000
SG 100% - SG 50%	8.900	0.357	(7.89; 9.91)	24.96	0.000
SG 100% - SG 75%	5.100	0.357	(4.09; 6.11)	14.30	0.000
SG 75% - SG 50%	3.800	0.357	(2.79; 4.81)	10.66	0.000

Fuente: ING. Alexander Carrera. Salida de MINITAB 19.

En la tabla 3, se contempla la comparación entre las concentraciones de látex de sangre de grado y los grupos control (+) y (-). Es evidente que la diferencia de promedios entre las concentraciones de sangre de grado y el grupo de control (-) de agua destilada son significativamente diferentes, con un valor p (0.000) disminuido rango de validez ($\alpha = 0.05$).

Respecto a la comparación promedio de las concentraciones de sangre de grado (Croton Lechleri) en los tres grupos de porcentajes evaluados

conjuntamente con la Clorhexidina (+) como control, también son significativamente diferentes con un valor p (0.000) menor rango de validez ($\alpha = 0.05$), determinando que la clorhexidina al 0,12% produce una acción antibacteriana más elevado que el Croton Lechleri.

Para la comparación promedio entre las propias concentraciones de sangre de grado (Croton Lechleri). Se evidencia que son significativamente diferentes con un valor p (0.000) menor al rango de validez ($\alpha = 0.05$), paralelamente se puede indicar que mientras mayor sea la concentración de sangre de grado mejora el efecto en cuestiones para su tratamiento y utilización frente al microorganismo. Para que los halos obtengan medidas mayores a las que se demostraron.

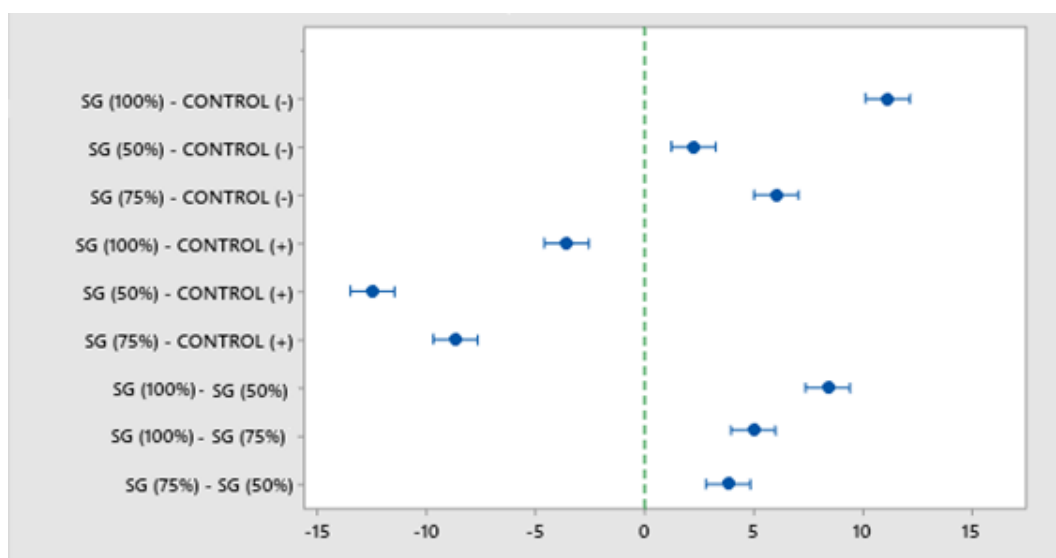


Figura 2: Intervalos de confianza simultáneos para la diferencia de medias de halos en mm entre cada dosis empleada.

En cuanto a la figura 2 se muestra los intervalos de confianza de cada diferencia de medias entre los grupos de análisis en estudio, esto se complementa con la tabla anterior. Las hipótesis que se quieren comprobar son:

H0: El IC de la diferencia de medias contiene a cero

H1: El IC de la diferencia de medias no contiene a cero

En este caso se evidencia que ningún intervalo pasa por la ordenada cero,

concluyendo que las diferencias entre los promedios de halos de inhibición (mm) para cada tratamiento del diseño experimental son significativamente diferentes.

Las pruebas si cumplen con el criterio de distribución normal y homogeneidad de varianza (**Anexo 10**), por lo cual se hacen uso de la prueba POST HOC de Tukey.

ANEXO 10. SUPUESTOS PARA EL ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS CONCENTRACIONES DE SANGRE DE GRADO Y DE GRUPOS CONTROL EN CONJUNTO

SUPUESTO DE NORMALIDAD

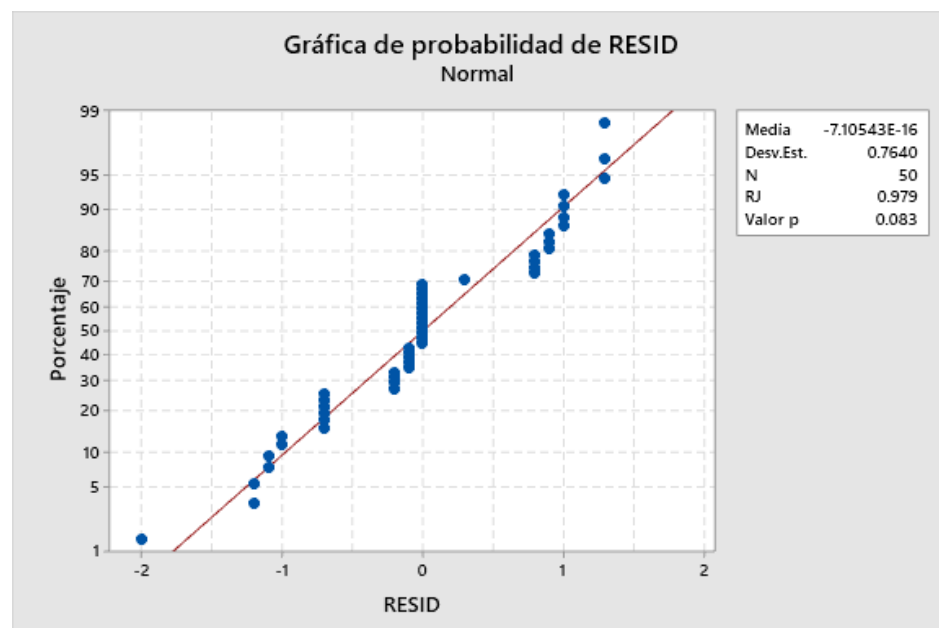
Probabilidades:

H0: Repartición normal que se ajustan a los datos

H1: No hay ajuste de los datos para una repartición normal.

Rango De Connotación:

$\alpha = 0,05$



Fuente: ING. Carlos Carrera

Conclusión

Según Ryan Joiner los datos si se llegan ajustar para una repartición normal utilizando la justificación de normalidad ya que $p = 0.083$ viene a ser mayor al rango de evidencia $\alpha = 0.05$, aceptando la probabilidad nula.

SUPUESTO DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZA

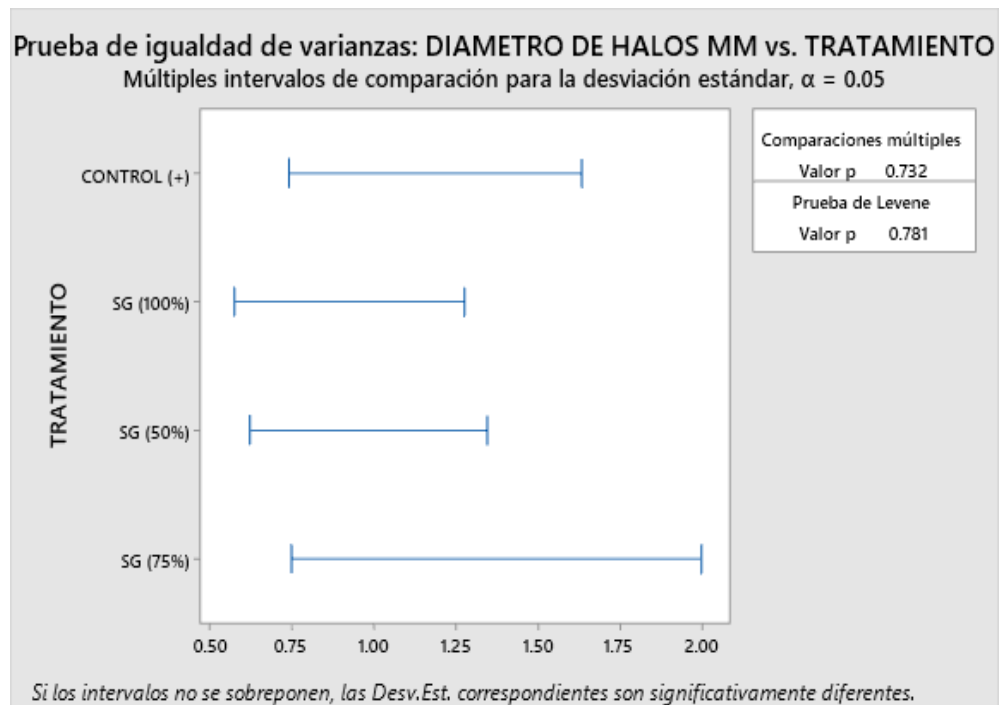
Hipótesis:

H0: Las varianzas entre las cantidades de sangre grado y los grupos control en conjunto son iguales.

H1: Las varianzas entre las cantidades de sangre grado y los grupos control en conjunto son diferentes.

Nivel de significancia:

$$\alpha = 0,05$$



Fuente: ING. Carlos Carrera

Conclusión

El examen de igualdad de diferencias de Levene concluye que las varianzas entre las concentraciones de látex de sangre de grado y el grupo control Clorhexidina (+) son iguales aceptando la hipótesis nula con un valor p de 0.781, siendo este valor mayor al nivel de significancia $\alpha = 0.05$. El grupo control (-) tiene varianza cero.

3.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La era de la modernidad llegó a nuestras vidas con más auge, y con más ímpetu en la rama de la odontología, que cada vez se da más prioridad a la utilización de algún artefacto tecnológico para dar un diagnóstico eficaz y certero. Para los profesionales de la salud esta ayuda es de vital importancia ya que con mayor frecuencia se presentan diferentes patologías bucodentales en consulta odontológica, con mayor incidencia universalmente destaca la caries seguido de las enfermedades periodontales. Por tales razones se han realizado varios estudios en donde se utilizan sustancias de tipo naturales para ayudar a contrarrestar estas afecciones bucales por el principal microorganismo presente en boca como el *Streptococcus Mutans*, tal es la razón de esta investigación.

Corrales F. 2016, llegó a efectuar y demostrar que la sangre de grado (*Croton Lechleri*) presenta capacidad bacteriostática frente a microorganismos gram positivos de tipo anaerobios facultativos que con mayor frecuencia siempre están presentes en la boca, estos son *S. Lactiae*, *S. Uberis*, *S. Sanguis* y *Staphylococcus Aureus*. Teniendo en cuenta que *S. Mutans* es una bacteria microbiana, Gram positiva y anaerobia facultativa característica de la cavidad oral, esta encuesta clasifica los resultados mostrados.

En este estudio se manejó sangre de grado (*Croton lechleri*) en tres diferentes concentraciones: 100, 75 y 50 % haciendo crecer halos inhibitorios en el laboratorio de la UNPRG. Con máximos de 8mm, 10mm y 16mm proporcionalmente sobre las cepas de *S Mutans*. Estas deducciones corroboran con los expuestos por Cayo C. en el 2014, cuya investigación se llevó a cabo con

diferentes porcentajes de sangre de grado (*Croton lechleri*), nativa de nuestra país, alcanzando como resultados efecto inhibitorio in vitro sobre las cepas del Mutans.

Las concentraciones de sangre de grado fueron descifrados de acuerdo a la graduación de Duraffourd y Lapraz. Por los resultados mostrados se logró saber que la sangre de grado si tiene acción bactericida frente a las cepas del Mutans 25175, la concentración al 50% y 75% respectivamente tiene lecturas promedio en los halos de inhibición de 8.2 mm y 12 mm, situándose ambas concentraciones en un grado aceptable de sensibilidad (+), para *Streptococcus*. Para la concentración de 100% se dio lectura a un diámetro no menor de 17.1 mm colocándola en un grado más aceptable de susceptibilidad (++) para el Mutans. Sin embargo el que produjo mayor efecto de inhibición fue la Clorhexidina al 0,12%.

Las características curativas de la corteza del árbol de este producto milenario natural están considerablemente argumentadas en la bibliografía de diferentes investigaciones, pero a pesar de ello, preexiste un fuertemente un disminuido convencimiento científico de su acción antimicrobiana en la cavidad bucal. Por lo cual, cabe señalar que hubieron restricciones de varias literaturas correspondiente al desinterés por encontrar convicción y certeza científica preexistentes en este ámbito, estando este estudio en uno de los primeros en llevarse a cabo en la ciudad de Chiclayo para evaluar la acción de inhibición de la sangre de grado.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

a. CONCLUSIONES

Según las concentraciones de látex de sangre de grado se pudo comprobar que la concentración del 50% tuvo una medida de entre 8.2 mm de efecto inhibitorio lo cual es considerada poco sensible a comparación de las concentraciones de 75 y 100% que presentaron medidas de entre 12 y 17.1 mm lo cual según nuestro estudio estadístico es considerado sensible para

acción inhibitoria frente a Streptococcus Mutans.

De acuerdo al análisis del grupo control utilizado en esta investigación la Clorhexidina 0,12% presenta diámetros de 20.7 mm considerada sumamente sensible a comparación del agua estéril que no tiene efecto inhibitorio. Por ende la Clorhexidina tiene mayor efecto de inhibición frente al Mutans incluso utilizando las concentraciones de látex de 75 y 100%.

Al evaluar las tres concentraciones de látex de sangre de grado se pudo verificar el efecto inhibitorio de cada uno de ellas de acuerdo al porcentaje de concentración, siendo el más efectivo el de 100%. Sin embargo la Clorhexidina utilizado para prueba control sigue teniendo mayor medida en cuanto a los halos de inhibición.

4.2. RECOMENDACIONES

Analizar la acción inhibitoria de la sangre de grado con otro tipo de microorganismos causantes de enfermedades periodontales.

Ejecutar investigaciones experimentales que aprecien el proceder de la sangre de grado (Croton lechleri) y las posibles secuelas que puede dejar después de su utilización, en los tejidos orales.

Averiguar la utilidad de este agente natural como medio antiviral y cicatrizante para poder beneficiar a los pacientes que lo necesitan con esas propiedades del látex en la cavidad oral.

Si se realizan estudios posteriores de sangre de grado evitar utilizar la concentración de 50 % ya que se ha demostrado que tiene muy poco efecto inhibitorio frente al Streptococcus Mutans.

Realizar estudios in vitro utilizando este producto. Para verificar si tiene efecto bactericida o bacteriostático frente a otras cepas de microorganismos capaces de generar un sinnúmero de afecciones de importancia clínica en la cavidad oral.

Realizar investigaciones para determinar el poder cicatrizante del Croton

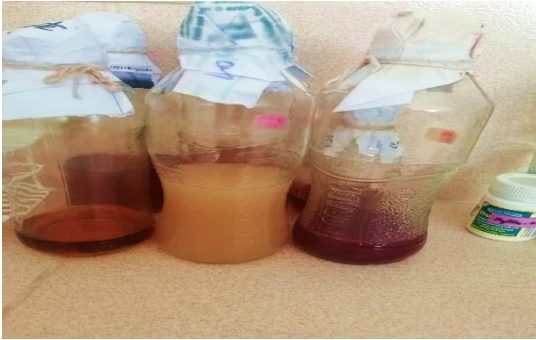
Lechleri cuando existe una lesión en los tejidos orales.

REFERENCIAS

1. Le Gales K. The World Oral Disease Problem de la Organización Mundial de la Salud. 2. Oficina de Epidemiología y Dirección General de Salud Pública del Ministerio de Salud del Perú. Caries dental nacional, prevalencia de fluorosis dental y urgencia de tratamiento
2. Jefe de Servicio de Odontología, Hospital La Torre E. Las Mercedes. Lambayek, Chiclayo 2016.
3. Efecto inhibitorio de Avilés H. Sangre de Drago (Croton lechleri) sobre cepas de Streptococcus mutans, estudio in vitro. Quito marzo 2017.
4. Choquehuanca Y. Efectos antibacterianos in vitro del croton (sangre de grado) y el gluconato de clorhexidina al 0,12% contra Lactobacillus acidophilus. Arequipa - 2016
5. Efecto antibacteriano in vitro del látex de Espinoza R. Serna Q. Zulma D. croton lechleri müll. parámetro. (sangre de grado) contra Staphylococcus aureus. Lima-Perú 2018
6. Aguilar A. Katya. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de cinco plantas altoandinas contra Streptococcus mutans. Cusco Perú 2018.
7. Estudio in vitro de los efectos antimicrobianos de los aceites esenciales de Moromi H. Ramos P. Copaifera reticulata Oleresina y Origanum majoricum contra Streptococcus mutans y Enterococcus faecalis de importancia en patología bucal Perú (2018)
8. Aguilera M, Romano E, Ramos N, Rojas L. Sensibilidad de Streptococcus mutans a tres colutorios comerciales. Científico apestoso. 2011;12(1):7-12.
9. Rojas S, Echeverría S. Caries dental en niños pequeños: ¿una enfermedad infecciosa? Rev Med Clin Condes. 2014;25(3):581-587. Gonzáles S, Pedroso L, Rivero M, Reyes O.
10. Epidemiología de la caries dental en la población venezolana menor de 19 años. Pastor Cienc Méd La Habana. 2014;20(2):208-218.

11. MSP. Programa Nacional de Salud Bucal. [Consultado el 21 de enero de 2018]. Disponible en: <https://applications.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnn/archivos/PLAN%20NACIONAL%20DE%20SALUD%20BUCAL.pdf>.
12. MSP. Caries dental: una guía de práctica clínica. [citado el 8 de diciembre de 2015]. Disponible en: <http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2014/05/CARIES.pdf>.
13. Nuñez P, García L. Bioquímica de la caries dental. *Pastor Habanera Cienc Med.* 2010;9(2):156-166.
14. Fejerskov O, Kidd E. Caries dental y su manejo clínico. Redactor de la segunda edición. Singapur: Blackwell Monksgard; 2008.
15. Identificación y Caracterización Microbiológica, Fenotípica y Genotípica de Gamboa F. *Streptococcus mutans: Experiencia en Investigación. Odontólogo Universitario.* 2014;33(71):65-63.
16. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans y caries dental. Pastor Ces Odont.* 2013;26(1):44-56.
17. Moye Z, Zeng L, Burne R. Promoción de procesos de caries: metabolismo de carbohidratos y regulación génica en *Streptococcus mutans*. *Revista de Microbiología Oral.* 2014;6. doi: 10.3402/jom.v6.24878.
18. Organización Panamericana de la Salud. Salud oral en niños de bajos recursos: un procedimiento de terapia restaurativa no invasiva (PRAT). informe resumido. Washington, DC: OPS/OMS. [Consultado el 20 de abril de 2018]. Disponible en: http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2009/OH-PRAT_mar2009.pdf
19. Plaza D, Peña R, JF. G. El concepto de caries dental: Hacia un tratamiento no invasivo. *Revista de publicidad.* 2013;70(2):54-60.
20. Flores M, Vízques J, Rodríguez J. Efectividad de fteo-broma cacao en el desarrollo de biopelículas dentales. *Rev Cient Odontol.* 2016;12(1):8-13.
21. Azevedo A, Pacheco S, García C. Muerte leishmánica in vitro del látex de *Croton lechleri* (Euphorbiaceae). Aplicación básica *Rev Cienc Farm.*

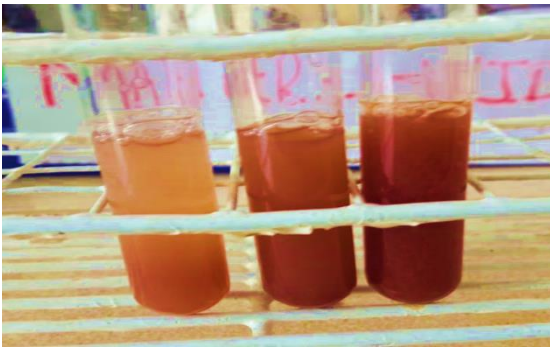
ANEXO 3. FOTOGRAFIAS DEL PROCEDIMIENTOS



2. Preparación de medios de cultivo para la reactivación de las cepas



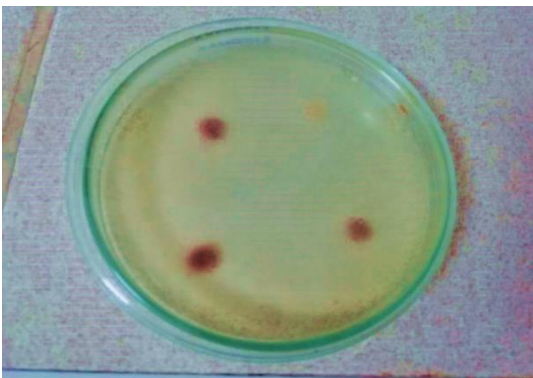
1. Solución salina con sangre de grado para hacer las diluciones



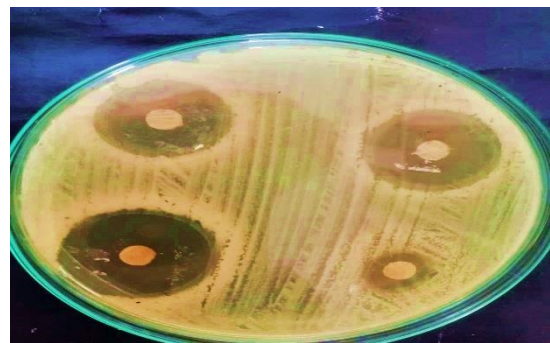
4. Diluciones de sangre de grado 50% 75% y 100%



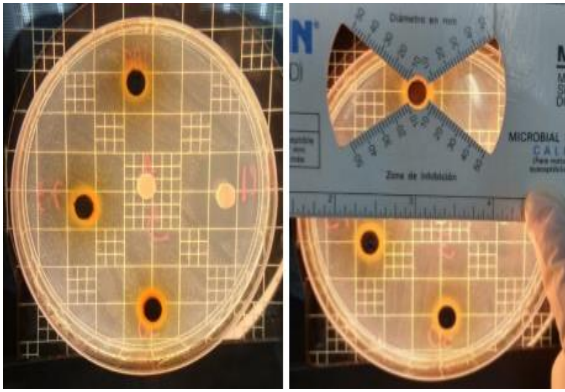
3. Placas para sembrar con medio MULLER HINTONG



5. 15 min de espera para la difusión de la sangre de grado



6. Halos de inhibición al 50%, 75% y 100% más el control de clorehexidina



7. Lectura de los halos de inhibición

ANEXO 4. CERTIFICADO DE ESTERILIZACION DE INSTRUMENTOS



Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología



CERTIFICADO

El laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, certifica que todo el material utilizado para el estudio de tesis con el tema EFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DE LATEX DE SANGRE DE GRADO (croton lechleri) SOBRE CEPAS DE streptococcus mutans ATCC 25175, CHICLAYO 2019, es sometido a proceso de esterilización previo a su uso.

Chiclayo, 13 de junio del 2019




Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdera
EGRESADO DE LA UNPGR

GABRIEL ESTEBAN ZUÑIGA VALDERA

ANEXO 5. FICHA DE RECOLECCION DE DATOS



Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo
 Facultad de Ciencias Biológicas
 Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología



CLIENTE: KATIA MEDALÍ GUEVARA CASTRO
 MUESTRA: SANGRE DE GRADO
 FECHA DE ANALISIS: 13/06/2019

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DE LATEX DE SANGRE DE GRADO (*croton lechleri*) SOBRE CEPAS DE *streptococcus mutans* ATCC 25175, CHICLAYO 2019

CEPA DE ESTUDIO: STREPTOCOCCUS MUTANS
 ATCC: 25175

REPETICION	LATEX DE SANGRE DE GRADO			CLORHEXIDINA (control positivo)	AGUA DESTILADA (control negativo)
	HALOS DE INHIBICION				
	50%	75%	100%	0, 12%	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					



Gabriel Esteban Zuñiga Valdera
 Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdera
 EGRESADO DE LA UNPGR

GABRIEL ESTEBAN ZUÑIGA VALDERA

ANEXO 6. CERTIFICACIÓN PARA LA REALIZACION DE PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS



Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología



CERTIFICADO

Certifico que Doña Katia Medalí Guevara Castro identificado con DNI N° 72912243, realizo las pruebas diagnósticas, bacteriológicas en el laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, para el estudio de su tesis con el tema EFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DE LATEX DE SANGRE DE GRADO (*croton lechleri*) SOBRE CEPAS DE *streptococcus mutans* ATCC 25175, CHICLAYO 2019. Dicho estudio fue establecido con las normas de calidad establecidas.

La mencionada puede hacer uso de este documento como crea por conveniente a sus intereses.

Chiclayo, 13 de junio del 2019




Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdeza
EGRESADO DE LA UNPRG

GABRIEL ESTEBAN ZUÑIGA VALDERA

ANEXO 7. AUTORIZACION PARA EL USO DE INSTALACIONES DE DESECHO.



Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología



AUTORIZACIÓN

Se autorizó el uso de instalaciones del depósito de desechos infecciosos del laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, para descartar material contaminado que fueron utilizados en el proyecto de investigación EFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DE LATEX DE SANGRE DE GRADO (croton lechleri) SOBRE CEPAS DE streptococcus mutans ATCC 25175, CHICLAYO 2019. Realizado por doña. Katia Medalí Guevara Castro.

Chiclayo, 13 de junio del 2019




Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdera
EGRESADO DE LA UNPRG

GABRIEL ESTEBAN ZUÑIGA VALDERA

ANEXO 8. CONSTANCIA DE CALIBRACION



Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología



CONSTANCIA DE CALIBRACIÓN

Yo Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdera, doy fe y certeza de haber realizado la capacitación a la alumna Guevara Castro Katia Medali, calibrándonos con un índice de confiabilidad muy bueno, lo cual servirá para la recolección de datos mediante el uso el método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano, para la realización de su investigación que lleva como nombre “ Efecto antibacteriano del tres concentraciones delatex (crotón lechleri) sobre el Streptococos mutans ATCC 25175.

Chiclayo, 20 de junio del 2019.




Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdera
EGRESADO DE LA UNPRG

GABRIEL ESTEBAN ZUÑIGA VALDERA

ANEXO 9. CONSTANCIA DE PRESTACION DE SERVICIOS PARA ANALISIS
ESTADISTICO

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
FACULTAD DE CIENCIAS FISICAS Y MATEMATICA
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTADISTICA



CONSTANCIA DE PRESTACIÓN DE SERVICIOS

Hago constancia de que mi persona, Mostacero Carrera Carlos Alexander, profesional en Estadística de la Universidad Nacional de Trujillo, identificado con DNI N° 72085394, presté mis servicios como estadístico a la Srta. Guevara Castro Katia Mendali para el desarrollo de resultados concerniente a su proyecto de investigación titulado "Efecto antibacteriano de tres concentraciones de látex de sangre de grado (*crotón lechleri*) sobre cepas de *streptococcus mutans* ATCC 25175".

Trujillo, 11 de noviembre del 2020

Una firma manuscrita en tinta azul que parece decir "Carlos Alexander Mostacero Carrera".

Carlos Alexander Mostacero Carrera

Bach. Ciencias Estadísticas