



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto sinérgico antibacteriano in vitro del látex de *Croton lechleri*
combinado con Oxacilina sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Médico Cirujano

AUTORA:

Santa Cruz Obeso, Kathylee Andrea (ORCID: 0000-0002-7620-6262)

ASESORES:

Dra. Chian García, Ana María (ORCID: 0000-0002-0907-5482)

Mg.Polo Gamboa, Jaime Abelardo (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades infecciosas y transmisibles

TRUJILLO - PERÚ

2020

DEDICATORIA

En primera instancia se la dedico a Dios y mis ángeles, que están a mi lado en todo momento, abriendo los caminos para poder llegar a mis objetivos.

Dedico mi tesis a mi familia y mi pareja, por la constancia de llevar mi camino en dirección al logro de mis objetivos y en la realización de mis proyectos.

Un especial sentimiento de gratitud a mis amorosos padres Jaime y Marleny, por ser mi fortaleza y empuje, por su comprensión e infinito amor, por apoyarme en este segundo objetivo en mi vida profesional, y hacer de mí una profesional.

Mis hermanos Nataly, Mireya y José, quienes nunca se apartaron de mi lado y son muy especiales en mi vida. También la dedico a Luis, quien me apoyó durante todo el proceso, por su paciencia, su comprensión y su amor.

Siempre apreciaré todo lo que han hecho por mí.

Kathylee SCO.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, mis bellos padres Jaime y Marleny, por darme la vida, su total apoyo en mi proceso estudiantil, enseñándome valores basados en la veracidad para practicarlo en mi desarrollo profesional y personal.

A mis hermanos, por brindarme constante ánimo en mi etapa universitaria.

A mi pareja Luis, por el amor, comprensión y paciencia.

A la Universidad César Vallejo, por haber sido mi alma mater por 7 años, los cuales culminan con un título universitario.

A los docentes de la Escuela de Medicina, por brindar sus conocimientos.

A la Dra. Ana Chian García y Mg. Blgo. Jaime Abelardo Polo Gamboa por su orientación y asesoría en la ejecución de mi trabajo de investigación.

Kathylee SCO.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	9
II. MARCO TEÓRICO	12
III. METODOLOGÍA	18
3.1. Tipo y diseño de investigación:	18
3.2. Variables y operacionalización:	18
3.3. Población, muestra y muestreo:	19
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:	19
3.5. Procedimientos:	20
3.6. Método de análisis de datos:.....	20
3.7. Aspectos éticos:	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	28
VII. RECOMENDACIONES	29
REFERENCIAS:	30
ANEXOS	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Valores estadísticos descriptivos de la media del efecto sinérgico antibacteriano del látex de <i>Croton lechleri</i> con Oxacilina 1 ug sobre <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	21
Tabla 2 Análisis de varianza de las medias del efecto sinérgico antibacteriano del látex de <i>Croton lechleri</i> con Oxacilina 1 ug sobre <i>S. aureus</i> ATCC 25923.	22
Tabla 3 Comparación de las medias de los halos de inhibición con la prueba de Tukey entre <i>Croton lechleri</i> con Oxacilina 1 ug y la combinación de estos sobre <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Ilustración 1 Diagrama de caja de los halos de inhibición por grupos de estudio.	24
--	----

RESUMEN

En esta investigación el objetivo fue determinar el efecto sinérgico antibacteriano in vitro del látex de *Croton lechleri* en su estado puro combinado con Oxacilina a 1 µg sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. El diseño de investigación realizado fue experimental, in vitro. La población fue una cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La siembra de ésta cepa se realizó mediante la técnica de Kirby-Bauer, con discos embebidos con 15 µ del látex de *Croton lechleri* en su estado puro, disco de Oxacilina 1 µg, la combinación de ambos y control negativo, luego de las 24 horas de incubación se hizo lectura de los halos inhibitorios, los datos se trabajaron en el programa SPSS, comparando los diámetros promedio de los halos inhibitorios, látex de *Croton lechleri*, evidenció efecto antibacteriano sobre *S. aureus* con una media de 17 mm, y una media de 31 mm para Oxacilina, mediante el análisis de varianza encontramos un valor de $F=196,050$ y significación igual a $0,000 < 0,01$, indicando una diferencia altamente significativa entre los promedios de los halos inhibitorios, con la prueba Tukey determinamos la mejor opción terapéutica; la combinación de *Croton lechleri* con Oxacilina no muestra efecto sinérgico antibacteriano.

Palabras clave: *Croton lechleri*, efecto sinérgico antibacteriano, halo inhibitorio

ABSTRACT

In this research the aim was to determine the synergistic antibacterial effect in vitro of *Croton lechleri* latex in its pure state combined with Oxacillin at 1g on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The research design was experimental, in vitro. The population was a strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The seeding of this strain was carried out through Kirby-Bauer's technique, with disks embedded with 15 μ of *Croton lechleri*'s latex in its pure state, Oxacillin disk 1g, the combination of both and negative control, after 24 hours of incubation, it was made reading of the inhibitory halos, the data were worked in the SPSS program, comparing the average diameters of the inhibitory halos, *Croton lechleri*'s latex, evidenced antibacterial effect on *S. aureus* with a mean of 17 mm, and a mean of 31 mm for Oxacillin, through the analysis of variance we found a value of $F=196.050$ and significance equal to $0.000 < 0.01$, indicating a highly significant difference between the averages of the inhibitory halos, with the Tukey test we determined the best therapeutic option; the combination of *Croton lechleri* with Oxacillin does not show a synergistic antibacterial effect.

Keywords: *Croton lechleri*, antibacterial synergistic effect, inhibitory halo

I. INTRODUCCIÓN

El sistema tegumentario es parte esencial del sistema inmune, siendo así el inicio de la barrera protectora contra las infestaciones de microorganismos. Lo que usualmente conlleva a desencadenar una infección de la piel y de los tejidos blandos (SSTI) es el daño o irrupción de esta barrera protectora.¹

Primordialmente nuestra piel y sus anexos forman parte de la barrera de protección del cuerpo contra elementos externos, está constituida de tres importantes capas: en primer lugar, tenemos a la epidermis, la “principal capa protectora”, superficialmente sin aporte sanguíneo; seguidamente encontramos a la dermis e hipodermis, las cuales son muy irrigadas. La piel se encuentra en permanente balance huésped - microorganismo, de tal manera que la alteración o abolición del balance fomentaría el inicio de una infección.²

La piel nos brinda una barrera muy eficaz frente a infestaciones de microorganismos especialmente frente a bacterias, pese a tener bacterias que residen en la piel, pero no generan alguna infección. La infestación bacteriana puede lesionar una mínima parte en la piel o puede afectar una gran superficie; al mismo tiempo puede ser poco agresiva como también potencialmente riesgosas. Por su característica de función protectora externa corporal está expuesta a lesiones y a múltiples infecciones. Frecuentemente, son originadas por un solo microbio, y perjudican desde la epidermis hasta la dermis profunda. Generalmente las infecciones son tratadas de forma ambulatoria, otras infecciones más severas y graves necesitan manejo quirúrgico.³

Las SSTI son un motivo muy común de consulta en los centros de salud; además ocupan la segunda razón más habitual de internalización hospitalaria en los servicios de medicina interna.⁴

El aislamiento de los microorganismos en los SSTI está condicionado por los diagnósticos actualmente disponibles e influenciado por factores del huésped y factores geográficos.⁵ Según algunos datos epidemiológicos de estas infecciones, que paralelamente son escasos; el *S. aureus* y *S. pyogenes* son principalmente los más causantes etiológicos de los SSTI.⁶

S. aureus es una bacteria gram positiva, huésped y patógena; coloniza principalmente las narinas como otras áreas por ejemplo la ingle, entre otros;

más del 30% de las personas se encuentran colonizados. Este proceso de colonización facilita un reservorio por el cual este microorganismo puede penetrar exactamente cuando la protección del individuo está alterada. Personas con infección por *S. aureus* se aísla comúnmente piel y tejidos blandos, entre otras afectaciones como osteomielitis, neumonías y más.⁷ Los betalactámicos son los de primera línea en el tratamiento, gracias a su potencial efecto inhibitorio de toxinas.⁸

Croton es un vegetal integrante de la familia *Euphorbiaceae*; con poco más de 1.300 tipos, repartido en su mayoría en zonas cálidas alrededor de la tierra. Diferentes tipos poseen un rol primordial principalmente como plantas medicinales en América del Sur, Asia hasta en África. El género *Croton* es el más característico siendo *Croton lechleri* “Sangre de grado” (SG), la especie más utilizada y estudiada.⁹

El látex o “sangre de grado” es una de las medicinas tradicionales muy reconocida, siendo más usada en diversas culturas del mundo desde épocas muy antiguas y actualmente se ha demostrado sus propiedades medicinales, posee varios usos terapéuticos: cicatrizante, antiulceroso, antimicrobiano, antifúngico, antiviral, entre otros. La composición química de SG es específica de la especie, por tal razón es probable que sea variable.¹⁰

De la revisión anterior se formula el siguiente problema: ¿El látex de *Croton lechleri* muestra efecto sinérgico antibacteriano combinado con Oxacilina sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, in vitro?

Esto debido a que *S. aureus*, en el desarrollo de la práctica clínica es considerado el más trascendental de todos los microorganismos; además puede provocar diversas enfermedades y el manejo de éstas actualmente se está convirtiendo en algo complejo a causa del brote de cepas de *S. aureus* resistentes y que pueden provocar infecciones en pacientes que no tienen factores de riesgo, acompañado esto de la búsqueda diaria y un gradual uso de recursos naturales en el manejo de éstas infecciones y de generar productos que logren complacer las necesidades de los pacientes, por ello se busca fomentar el uso de métodos naturales como el látex de *Croton lechleri* y así poder tener nuevas opciones terapéuticas efectivas y sin reacciones adversas entre la población.

El objetivo general de esta investigación es evaluar el efecto sinérgico antibacteriano in vitro del látex de *Croton lechleri* en su estado puro en combinación con la Oxacilina a 1µg sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Como objetivos específicos tenemos el determinar el efecto sinérgico antibacteriano in vitro del látex de *Croton lechleri* en su estado puro combinado con Oxacilina a 1µg sobre *S. aureus* ATCC 25923; identificar la eficacia antibacteriana de Oxacilina a 1µg sobre *S. aureus* ATCC 25923 y determinar la eficacia antibacteriana del látex de *Croton lechleri* en su estado puro sobre *S. aureus* ATCC 25923.

Las hipótesis de la investigación son H₁: La combinación del látex de *Croton lechleri* en su estado puro con Oxacilina a 1µg si posee efecto sinérgico antibacteriano sobre *S. aureus* ATCC 25923 en estudio in vitro y H₀: La combinación del látex de *Croton lechleri* en su estado puro con Oxacilina a 1µg no posee efecto sinérgico antibacteriano sobre *S. aureus* ATCC 25923 en estudio in vitro.

II. MARCO TEÓRICO

Segura S¹¹ (Quito, 2018) el propósito de su investigación era evaluar efecto inhibitorio de *Porphyromona gingivalis* por *Croton lechleri* y extracto alcohólico de Uña de Gato, in vitro; encontrando que Sangre de drago diluido al 50% tuvo 9 mm de halo inhibitorio sobre *P. gingivalis*, determinando que esta concentración si inhibe su crecimiento.

Áviles H¹² (Quito, 2017) para su propósito de estudiar *Croton lechleri* su efecto inhibitorio en cepas de *S. mutans*, obtuvieron su muestra de sangre de grado en estado puro de las tierras ecuatorianas y determinaron que las concentraciones al 75% y 100% sí tienen efecto inhibitorio sobre la cepa con halos 8 y 11 mm respectivamente; mientras que al 50% no inhibió el crecimiento bacteriano, con un halo inhibitorio de 6 mm.

Corrales R, et al.¹³ (Cundinamarca, 2013) el objetivo del investigador fue evaluar in vitro la capacidad antibacteriana de *Croton lechleri*, en pacientes internados por úlceras cutáneas trabajó con 7 aislamientos microbianos, en el cual se incluyeron ensayos con cepas de *E. coli* y *S. aureus* que ayudaron al control. En su investigación hallaron que una dilución 1:1 de extracto etanólico de *C. lechleri* tiene efecto antibacteriano sobre todos los aislamientos estudiados, con halos inhibitorios de 14.5 mm para *S. aureus*.

Espinoza C, et al.¹⁴ (Lima, 2018) su propósito en su estudio era determinar sobre *S. aureus* la acción antibacteriana del látex de Sangre de drago “*C. lechleri*”, quienes obtuvieron el látex en la región de Tingo María y estudiaron concentraciones desde 25%, 50%, 75% y 100% del látex además un control positivo utilizando Oxacilina 1 µg con 5 repeticiones por cada grupo, hallaron que *S. aures* es susceptible a todas las concentraciones, obteniendo la media de sus diámetros mayores de 14mm, 20 mm, 25 mm y 29 mm respectivamente y el diámetro del halo para el control positivo es de 31 mm.

Chininin V, et al.¹⁵ (Chimbote, 2018) su objetivo fue evaluar del látex de *Croton lechleri* la acción antibacteriana in vitro sobre *S. aureus* comparándolo con eritromicina. La cosecha de la sangre de grado la realizaron de un árbol del Distrito de Iquitos ubicado entre 106 a 220 m.s.n.m. En su estudio concluyeron que el tratamiento del látex de *C. lechleri* al 100% reporta un halo inhibitorio con

una media de 15.33 mm mostrando efecto in vitro antibacteriano del 54.75 %, y mediante ANOVA halló $F=61,671$ y significación igual a $0,000 < 0,01$, lo cual nos evidencia una diferencia altamente significativa entre los promedios de los halos inhibitorios, pero no supera el efecto antibacteriano de eritromicina evidenciando una media de 28 mm con un efecto antibacteriano in vitro del 100%.

Fura C¹⁶ (Arequipa 2017) su finalidad fue determinar si *Croton Lechleri* presenta efecto antimicrobiano a diferentes concentraciones 50%, 75% y 100%, contra *L. acidophilus*, comparando su efecto con Gluconato de Clorhexidina al 0.12%. El investigador obtuvo la sangre de grado al 100% de empresa de productos naturales Santa Natura, quien luego preparó las diluciones a estudiar. Evidenció que *C. lechleri* al 100% obtuvo mejor resultado, a las 24 y a las 48 horas presentando 18.64 mm y 18.04 mm de halos inhibitorios respectivamente, concluyendo que sí presenta efecto antimicrobiano, pero de igual manera no sobrepasa el efecto antimicrobiano de Gluconato de Clorhexidina al 0.12% el cual evidenció una media de 21.42 mm a las 24 horas y 20.15 mm a las 48 horas.

Cayo C, et al.¹⁷ (Huacho, 2014) su finalidad fue estudiar sobre *S. mutans* (ATCC 25175) la actividad antibacteriana de *Croton lechleri* in vitro al 100%, 75% y 40% concluyendo *C. lechleri* tuvo efecto inhibitorio al 100% con halos de 15 mm, en comparación a una concentración del 75% y 40% que no evidenció inhibición reportando halos por debajo de los 9 mm.

Croton, integrante de Euphorbiaceae (familia), es singular por los diferentes usos a nivel etnobotánico. El producto rojo látex conocido desde la antigüedad con otros nombres “Palo de Grado”, “Sangre de Dragón”, o “Sangre de Grado” (SG) en la medicina tradicional es muy utilizado. Hoy en día la familia de las *Euphorbiaceae* es una de las plantas provistas de flores con más diversidad, en relación a su hábitat. La encontramos en toda América tropical y sub-tropical; en Sudamérica está en Perú, Bolivia, Colombia, Ecuador. *C. lechleri* es la más utilizada y estudiada, este árbol se localiza en 200 hasta 1000 m.s.n.m aproximadamente, en selva tropical. En Perú la encontramos en la selva alta, este árbol es de buen grosor, sus hojas tienen forma triangular, con colores entre amarillas, verdes, rojas y forma muchos racimos.¹⁸

En relación a la tipificación de la planta, es del reino Plantae: división Magnoliophyta; clase Magnoliopsida; orden Malpighiales; familia Euphorbiaceae; género *Croton* y especie *Lechleri*.¹⁹

Croton, es un árbol muy característico, tiene 40 cm de diámetro y entre 5 a 6 metros de alto, llegando a medir 10 a 20 metros; además corteza blanquecina con un espesor de 20-25 mm. *C. lechleri* o también denominado "Sangre de grado" debido a la gran semejanza con la sangre; es un fluido gelatinoso, denso, pastoso de color rojo sangre, es una especie selvática que últimamente aumentado su requerimiento nacional e internacional por sus cualidades medicinales otorgadas por el látex.¹⁸ Actualmente la obtención de la resina látex, surge de los árboles en renovación natural y ágil crecimiento, presentes en bosques amazónicos.²⁰

Para conseguir el látex es ideal hacerlo en épocas de lluvia y en las primeras horas del día, de otra forma su volumen y calidad disminuye; se realizan hendiduras transversales encima de la corteza, por el cual discurre en el extremo final del corte y se recoge en vasijas.²¹ Otra manera es por medio de machetazo, haciendo derribar al árbol, teniendo en consideración que para obtener una mayor cantidad de látex el espesor del árbol debe ser superior a los 30 cm.¹⁸

Dentro de la composición química encontramos: alcaloides, siendo la tapsina el mayor compuesto alcaloide; compuestos fenólicos (lignanós y taninos) y diterpenos; además vitamina A, E y C, grasas, proteínas.¹⁹

El principio activo como antimicrobiano son los compuestos fenólicos (CF). Blanco A, et al ²² (2015), explica que la actividad antibacteriana de los CF está correlacionada de acuerdo a su condensación. La farmacocinética se remite en desintegrar la membrana celular bloqueando los procesos enzimáticos. Es decir, los CF tienen doble acción ya sean bactericidas o bacteriostáticas. Resultando eficaz contra bacterias Gram positivas.²²

Los polifenoles son CF y se considera que su efecto antibacteriano se basa en inhibir el crecimiento de microbios como *S. aureus*, *H. pylori* y *E. coli*.²³ Otro componente antimicrobiano son las proantocianidinas que también se las conoce con el nombre de "taninos condensados", los cuales bloquean la adhesión de la bacteria, siendo ésta otra característica bacteriana.²⁴

El látex de *C. lechleri* es usada en el área de la medicina tradicional desde la antigüedad por los indígenas.²⁵

Se ha logrado verificar la acción antibacteriana de *C. lechleri* sobre gram positivos como: *S. aureus* y *S. epidermidis*; además también sobre gram negativos entre ellos *Pseudomona spp.* y *Klebsiella spp.*²⁶ Además in vitro posee actividad antiviral, entre ellos se evidencia su acción sobre VHS tipos 1 y 2, además VHB y VHA.²⁷

Tradicionalmente en la población rural como urbana, el látex se utiliza en heridas con la finalidad de parar la hemorragia, estimula la cicatrización previniendo secuelas de huellas queloideas, proteger lesiones de la infección, mediante un secado rápido formando una barrera rojiza, generando una "segunda piel".¹⁸

La SG puede utilizarse en diferentes presentaciones: vía oral, se diluye en poca cantidad de agua; por vía tópica directamente sobre erosiones, heridas, etc. y como enjuague bucal, se diluye con un vaso de agua.²⁸

Los estafilococos tienen una pared celular interna y una pared de peptidoglicano (PG) por ello son una gran especie de bacterias Gram positivas; estas paredes fluctúan entre 0.5 y 1.5 micras de diámetro. Este género posee una gran capacidad para adaptarse, afectando a todas las especies; siendo así más fácil de propagarse.²⁹

Staphylococcus aureus, derivado del griego *staphulê* por su forma en racimo de uvas; ha sido siempre y hoy un patógeno importante en las infecciones comunitarias y hospitalarias, además causa muy frecuente de infecciones progresivas de piel y tejidos blandos.³⁰

Se estima a portadores del estafilococo en relación de uno cada tres individuos sanos. *S. aureus* es un patógeno extraordinariamente bien dotado para colonizar e invadir al huésped; también es parte de la microbiota nasofaríngea e intestinal de la persona y también agente causante de múltiples patologías entre las más frecuentes encontramos la infección de piel y tejidos blandos y otros.³¹

Los estafilococos pueden desencadenar una infección al penetrar la piel por medio de una herida como es un corte, una úlcera, o ingresan al organismo por medio de la inserción de un catéter, o un tubo respiratorio, o al colonizar sobre las mucosas que se encuentran en contacto con exterior.²⁹

S. aureus puede ocasionar infecciones locales al coleccionar pus, diseminación y siembra. Por ello con frecuencia se presenta procesos en foco tales como Foliculitis, inflamación con pus en torno al folículo piloso; Forunculosis, aquí el folículo piloso es rebasado por una colección purulenta formando un saco de pus que en su mayoría son dolorosos; Ántrax, área de necrosis tisular; Abscesos, colección purulenta que afecta varios planos tisulares. Celulitis, lesión inflamatoria difusa de piel y tejido celular subcutáneo. Compromiso de planos más profundos según orden como piomiositis, artritis u osteomielitis.³⁰ La patogénesis de infecciones por *S. aureus* está involucrada con múltiples factores de la superficie bacteriana. La patogénesis de esta bacteria se da cuando se unen los factores de virulencia en conjunto con un descenso en el sistema inmune del individuo; esto predispone que *S. aureus* tenga caracteres de virulencia y daños muy singulares.³²

S. aureus presenta una amplia diversidad de factores de virulencia entre ellos los más resaltantes son: 1) proteínas de superficie las cuales favorecen la migración a los tejidos; 2) invasinas o factores de invasión favorecen la propagación de bacterias en el tejido; 3) factor de superficie (proteína A) bloquean la fagocitosis; 4) toxinas destructoras de membranas que producen lisis en las membranas; 5) exotoxinas que dañan los tejidos.³⁰

Su pared celular contiene PG, siendo su función sostener rígida dicha pared, los ácidos teicoicos activan el proceso inflamatorio, la proteína A actúa como factor de virulencia, siendo utilizada también en pruebas de identificación de la bacteria; su cápsula tiene propiedades antifagocitarias, otorgando otro factor de virulencia.³³

Los antimicrobianos son componentes químicos que impiden la proliferación bacteriana o las matan, por ello permiten un manejo etiológico específico en pacientes con procesos infecciosos.³⁴

Los betalactámicos tienen un anillo betalactámico el cual es parte estructural de distintas familias de antibióticos; es un anillo heterocíclico formado por un átomo de nitrógeno y tres de carbono; sus cadenas laterales complementarias están relacionadas con la función antibacteriana y farmacocinética. La farmacodinamia está basada en impedir la formación de la pared bacteriana, bloqueando la elaboración de PG en el punto final de su producción-

transpeptidación- al mismo tiempo activan la autolisina bacteriana cuya función es desintegrar el PG, llevando a la lisis celular; por ello los betalactámicos son bactericidas parciales, sólo ejercen su función en la fase de proliferación, y su eficacia es tiempo dependiente; además su espectro antimicrobiano abarca a cocos grampositivos³⁵.

La oxacilina es un betalactámico de amplio espectro; de elección para la mayoría de enfermedades por estafilococo; la elaboración de PG de la pared celular es inhibida; limitando el cruce de cadenas compuestas por PG, las cuales son necesarias para la rigidez de la bacteria. Su acción bactericida, está definida por la competencia de unirse a proteínas fijadoras de penicilina (PBPs) las cuales promueven la síntesis de la pared bacteriana.³⁶

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación:

Tipo de Investigación: Básico³⁷

Diseño de Investigación: Experimental con repetición múltiple, post prueba.³⁷

RGA	XA	O1
RGB	XB	O2
RGC	XC	O3
RGD	XD	O4

En el que:

RGA-B : Grupos de cepas de *S. aureus* ATCC 25923

XA: látex de *Croton lechleri* en su estado puro más Oxacilina a 1µg

XB: látex de *Croton lechleri* en su estado puro

XC: Tratamiento con Oxacilina 1µg como control positivo

XD: Suero fisiológico como control negativo

O: Efecto antibacteriano a través de las medidas de los halos inhibitorios

3.2. Variables y operacionalización: (Anexo 1)

Independiente: Los agentes antibacterianos para cepas de *S. aureus* ATCC 25923.

- látex de *Croton lechleri* es agente no farmacológico
- 1 µg de Oxacilina es agente farmacológico.

Dependiente: Evaluar el efecto sinérgico antibacteriano

3.3. Población, muestra y muestreo:

Población: Los cultivos con halos inhibitorios medidos frente a *S. aureus* ATCC 25923.

Criterios de selección:

- **C. de inclusión:**
 - *S. aureus* ATCC 25923 debidamente sembradas.
- **C. de exclusión:**
 - *S. aureus* ATCC 25923 sembradas en PP contaminadas.

Muestra: Su obtención estuvo basada en una fórmula que compara 2 promedios, uno correspondiente al halo inhibitorio de oxacilina y otro que corresponde al halo inhibitorio del látex de *Croton lechleri*.³⁸ (Anexo 2) 40 repeticiones.

Muestreo: No probabilístico por conveniencia

Unidad de análisis: Placas Petri (PP) sembradas con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en su totalidad.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Técnica:

Observación in vitro de cada siembra sobre las PP.

Instrumento:

El investigador elaboró una ficha para el recojo de datos (Anexo 3); se tomaron los datos analizados in vitro de los halos inhibitorios en las PP.

Validación y confiabilidad del instrumento

De la Universidad César Vallejo, tres expertos entre ellos un biólogo y dos médicos, validaron la ficha para el recojo de datos, quienes garantizaron que toda información recogida estuvo alineada con los objetivos del estudio.

3.5. Procedimientos:

1. Se obtuvo el látex de *Croton lechleri*. certificado por el laboratorio. (Anexo 4)
2. Se obtuvo la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
3. Se realizó el preparado del Agar Muller-Hinton y luego se sembró la cepa de *S. aureus* ATCC 25923, la sensibilidad se realizó con la técnica de Kirby Bauer.³⁹
4. Se evaluó la susceptibilidad antibacteriana según el CLSI.³⁹

3.6. Método de análisis de datos:

Se hizo uso del programa Excel 2019 para la tabulación de datos recolectados, luego el sistema SSPP versión 25.0 Windows para el análisis de datos. La determinación del efecto sinérgico antibacteriano se realizó por el método ANOVA (análisis de varianza), y se desarrolló pruebas post-ANOVA- y Tukey para la determinación de la mejor opción terapéutica.

3.7. Aspectos éticos:

En este proyecto, dentro del laboratorio se tuvo en consideración medidas de bioseguridad brindadas por parte del Ministerio de Salud.⁴⁰ Se respetó el principio de ética del Colegio Médico del Perú; Cap. 6, art 48.⁴¹

IV. RESULTADOS

Tabla 1 Valores estadísticos descriptivos de la media del efecto sinérgico antibacteriano del látex de *Croton lechleri* con Oxacilina 1 ug sobre *S. Aureus* ATCC 25923.

TRATAMIENTO	N	Media	Desv.	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
CL	10	17	1.494	15.63	17.77	14	19
CL+OXA	10	24.5	2.014	23.06	25.94	20	27
OXA	10	31	1.247	30.11	31.89	29	33

Fuente: Datos recolectados en laboratorio clínico San José.

CL: *Croton lechleri*

CL+OXA: *Croton lechleri* con Oxacilina 1 ug

OXA: Oxacilina 1 ug

Tabla 2 Análisis de varianza de las medias del efecto sinérgico antibacteriano del látex de *Croton lechleri* con Oxacilina 1 ug sobre *S. Aureus* ATCC 25923.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre Grupos	1025.267	2	512.633	196.050	0.000
Dentro de grupos	70.600	27	2.615		
Total	1095.867	29			

Fuente: Datos recolectados en laboratorio clínico San José.

Tabla 3 Comparación de las medias de los halos de inhibición con la prueba de Tukey entre *Croton lechleri*, Oxacilina 1 ug y la combinación de estos sobre *S. aureus* ATCC 25923.

Tukey HSDa				
Tratamiento antibacteriano	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CL	10	16.70		
CL+OXA	10		24.50	
OXA	10			31.00
Sig.		1.000	1.000	1.000

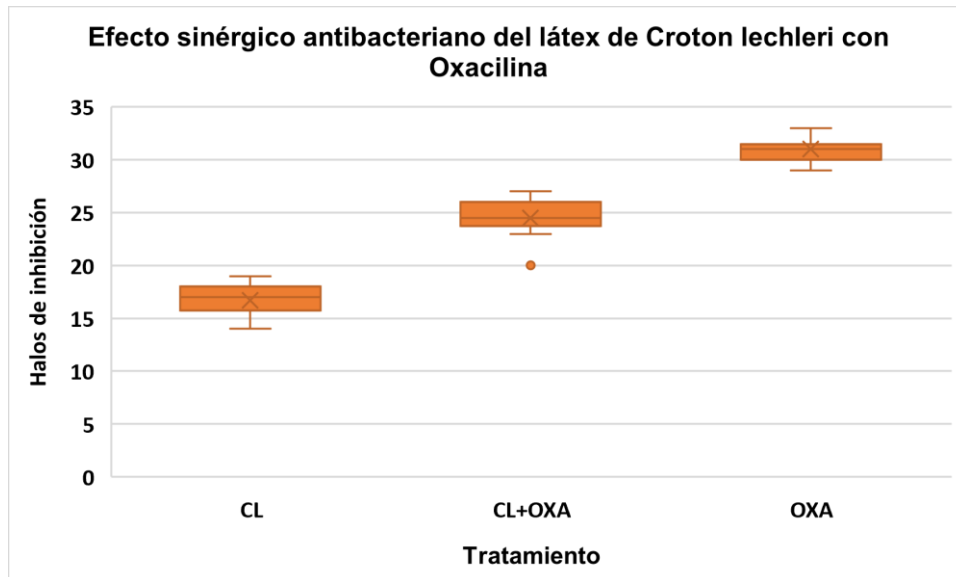
Fuente: Datos recolectados en laboratorio clínico San José.

CL: *Croton lechleri*

CL+OXA: *Croton lechleri* con Oxacilina 1 ug

OXA: Oxacilina 1 ug

Ilustración 1 Diagrama de caja de los halos de inhibición por grupos de estudio.



Fuente: Elaborado por el autor.

V. DISCUSIÓN

En el Perú contamos con un infinito recurso de plantas medicinales, siendo este cada vez más importante en el campo de la investigación.

Actualmente, innumerables investigaciones se vienen desarrollando con el objetivo de buscar modernos compuestos con función biológica a base de origen naturales. Tenemos un cuantioso número de investigaciones encaminados a la evaluación de la actividad antibacteriana, antioxidante o antiinflamatoria a partir de productos de plantas medicinales.

En los últimos años se está haciendo muy común el uso de medicina tradicional como tratamiento y/o manejo de ciertas enfermedades, usándose sin tener una base científica de la efectividad de ello, además de tener un fácil acceso y a una mínima probabilidad de presentar efectos adversos entre la población.

Sólo si realizamos una investigación acerca de cómo funciona la planta y la efectividad de ello podremos confirmar cuán efectivo es el uso de la medicina tradicional en el manejo de ciertas enfermedades.

Son pocas las investigaciones relacionadas netamente a la acción antibacteriana de la Sangre de grado o *Croton lechleri*, entre los encontrados en relación con nuestro estudio, lo presentamos como base científica para nuestros resultados.

Tras estudiar el efecto sinérgico antibacteriano in vitro del látex de *Croton lechleri* en combinación con la Oxacilina a 1 μ g sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se halló lo siguiente:

Los resultados observados en la Tabla 1, nos evidencian la actividad antibacteriana de los tres productos tanto farmacológico y no farmacológico utilizados; en lo que se refiere al efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* en su estado puro, los datos de los halos inhibitorios mostraron una media de 17mm (DS: \pm 1.494, IC 95% 15.63 a 17.77, Rango: 14 – 19mm), con lo cual nos demostró ser eficaz, según lo establecido por el CLSI (\geq 13mm) para *Staphylococcus aureus*; sin embargo, este efecto encontrado en nuestro estudio fue menor al hallado por Espinoza C y Serna Z¹⁴ en Lima, quienes demostraron que *Staphylococcus aureus* es susceptible desde concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% del látex, obteniendo la media de sus diámetros mayores de

14mm, 20 mm, 25 mm y 29 mm respectivamente, esta diferencia de valores podemos atribuirlo al lugar donde se encontraba el árbol al momento de la recolección de la muestra, los investigadores obtuvieron la sangre de grado de un árbol ubicado en la región de Tingo María-Huánuco el cual se encuentra por sobre los 647 m.s.n.m mientras que la muestra de esta investigación según la ficha técnica, fue obtenida en la región des de Tarapoto-San Martín encontrándose a 271 m.s.n.m, tierras con diferentes características en relación a la altura, clima y fertilidad, para la cosecha y siembra de los árboles de *Croton lechleri*, un valor similar reporta Chinini V y Cisneros H¹⁵ en Chimbote, que al estudiar la acción antibacteriana in vitro de *Croton lechleri* hallaron una media de 15.33 mm para la misma cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, la procedencia de nuestro látex con la de Chinini V y Cisneros H se aproximan entre los 220 a 271 m.s.n.m.; además nuestros resultados son similares con los reportes de Fura¹⁶ quien evidencia una media de 18.64 mm contra *Lactibacillus acidophilus* , además Áviles H¹² reporta un halo inhibitorio de 11 mm para *Streptococcus mutans*; que a pesar de ser diferentes bacterias, ambas pertenecen al mismo grupo de Gram positivas las cuales poseen una pared de peptidoglucano, siendo el órgano diana para el mecanismo de acción de *Croton lechleri*.²²

Al mismo tiempo, en la Tabla 1 también encontramos datos de los halos inhibitorios de Oxacilina a 1µg (Media: 31 mm DS: ±1.247, IC 95%: 30.11 a 31.89, Rango: 29 - 33mm), el cual mostró tener mayor efectividad que el propio látex de *Croton lechleri*; estos resultados obtenidos son similares al estudio de Chinini V y Cisneros H¹⁵ en Chimbote en el cual concluyó que el tratamiento del látex de *C. lechleri* reporta un halo inhibitorio sobre *S. aureus* pero a pesar de ello no supera el efecto antibacteriano de eritromicina evidenciando una media de 28 mm con un efecto antibacteriano in vitro; al igual que los resultados de Fura C¹⁶ en Arequipa 2017 evidenció que *C. lechleri* obtuvo halos inhibitorios contra *L. acidophilus*, concluyendo que sí presenta efecto antimicrobiano, pero de igual manera no sobrepasa el efecto antimicrobiano de Gluconato de Clorhexidina al 0.12% .

Mientras que la combinación de ambos agentes, mostraron una media de 24.5mm (DS: ±2.014, IC 95%: 23.06 a 25.94, Rango: 20 - 27mm); este resultado

evidencia que el efecto antibacteriano del látex de *Croton lechleri* en combinación con la Oxacilina fue mayor que el látex solo; sin embargo, fue menor que Oxacilina 1 ug. La combinación de Oxacilina con el látex de *Croton lechleri* disminuyó el efecto antimicrobiano de Oxacilina, a pesar de superar los 13 mm establecidos por el CLSI.⁴⁰

Esto puede deberse a la composición del látex que podrían estar interfiriendo en la actividad antibacteriana de la Oxacilina. No se hallan reportes de componentes del látex que bloqueen la potencialidad de los antibióticos. Sustentándose en los mecanismos de acción, de ambos componentes antibacterianos, en el caso de la Oxacilina, inhibiendo la elaboración de PG de la pared celular; limitando el cruce de cadenas compuestas por PG, las cuales son necesarias para la rigidez de la bacteria, y en el caso del látex de *Croton lechleri*, sus compuestos fenólicos desintegran la membrana celular bloqueando los procesos enzimáticos, además las proantocianidinas bloquean la adhesión bacteriana, de esta manera, las saponinas alteran la permeabilidad de la membrana celular, que al administrarlo en conjunto con otros agentes facilitan el ingreso de éstos al interior de la célula inactivándola o destruyéndola ya sea por su efecto bacteriostático o bactericida respectivamente.^{19, 22, 24,36}

En la Tabla 2, se trabajó el ANOVA en el cual evidenciamos diferencias significativas en los promedios de los halos inhibitorios en los grupos analizados con resultados $F= 196.050$ y $p= 0,000$, estos resultados son similares al de Espinoza C y Serna Z¹⁴ reportando altas diferencias estadísticas muy significativas entre sus grupos de estudio con un nivel de confianza del 95% y a los resultados de Chinin V y Cisneros H quien reportó $F=61,671$ y significación igual a $0,000 < 0,01$, que al igual que Espinoza nos indica altas diferencias estadísticas muy significativas entre sus grupos de estudio.

Con la Tabla 3 y figura 1, se refuerza la diferencia de los promedios de los halos inhibitorios y cuál de los grupos de estudio evidencia mayor eficacia, en este estudio sería sólo Oxacilina. Los resultados nos indican que el tratamiento con Oxacilina sigue siendo de elección para la mayoría de enfermedades por estafilococo.

VI. CONCLUSIONES

- La asociación del látex de *Croton lechleri* con Oxacilina, evidenció tener efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en estudio in vitro. Sin embargo, no supera el efecto antibacteriano de Oxacilina.
- La combinación de Oxacilina con el látex de *Croton lechleri* disminuyó el efecto antimicrobiano de Oxacilina.
- Oxacilina evidenció su efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; considerándose como tratamiento gold estándar.
- El látex de *Croton lechleri* demostró tener efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

VII. RECOMENDACIONES

- Considerar realizar la toma del látex según las características del árbol, en épocas de lluvia y en las primeras horas del día, de otra forma su volumen y calidad disminuye, considerando los factores ambientales en los cuales crecen las plantas.
- Se recomienda evaluar individualmente la actividad antibacteriana de cada compuesto fitoquímico del látex de *Croton lechleri*, con el objetivo de identificar los mecanismos de acción, ya que son muy escasos los trabajos de investigación en relación a ello
- Realizar estudios in vitro del látex de *Croton lechleri* para definir su efecto frente a otros patógenos desencadenantes múltiples infecciones de interés médico, teniendo en cuenta a los antibióticos de primera línea.

REFERENCIAS:

1. Ibrahim F, Khan T, Pujalte GG. Bacterial Skin Infections, Mount Sinai Hospital, Chicago and Mayo Clinic, Florida. Prim Care Clin Office Pract. 2015; 42(4): 485-499.
2. Breuer K, Haussler S, Kapp A, Werfel T. Staphylococcus aureus: colonizing features and influence of an antibacterial treatment in adults with atopic dermatitis. Br J Dermatol. 2002; 147: 55-61.
3. Herrera AV, González MJ, Iglesias QD. Actualización en el manejo de antibióticos en las infecciones superficiales de piel y partes blandas. En Simposio. Acta Med Per. 23(1) 2006.
4. Costa BR. Caracterización demográfica y clínica de las infecciones de partes blandas de los pacientes Ingresados en el servicio de medicina interna"- Hospital Eugenio Espejo. [Tesis para título Médico Cirujana] Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador, 2012. [Citado el 02/02/2020] Acceso en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/5095/T-PUCE-5321.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
5. Crisp JG, Takhar SS, Moran GJ, et al. Inability of polymerase chain reaction, pyrosequencing, and culture of infected and uninfected site skin biopsy specimens to identify the cause of cellulitis. Clin Infect Dis 2015; 61:1679–1687. Acceso en: <https://pdfs.semanticscholar.org/7e52/6d4389902a963f2890e952bb422aedf600e2.pdf>
6. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2014; 59:e10–e52. Acceso en: <https://www.medpagetoday.com/upload/2014/6/19/Clin%20Infect%20Dis.-2014-Stevens-cid-ciu296.pdf>
7. Cervantes GE, García GR, Salazar SM. Community Associated Staphylococcus aureus (CA-MRSA). Rev Latinoam Patol Clin Med Lab 2014; 61 (1): 28-40. [Citado el 02/02/2020] Acceso en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

8. Gil SF, Herranz AM, Durán UG, Zanduetta PL, Gimeno BJ, Bernaola IJ. Clindamycin as an adjuvant therapy in staphylococcal scalded skin syndrome. *An. Sist. Sanit. Navar.* 2014, Vol. 37, N° 3. Acceso en: <http://scielo.isciii.es/pdf/asisna/v37n3/nota3.pdf>
9. Salatino, A; Faria, M; Negri, G. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of Croton species (*Euphorbiaceae*). *Sociedad Brasileira de Química.* 2007; 18(1): 11-33. 5. Acceso en: <http://www.scielo.br/pdf/jbchs/v18n1/01.pdf>
10. Jura MJ, Tulik M. Dragon's blood secretion and its ecological significance. *Chemoecology* (2016) 26:101–105. Acceso en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00049-016-0212-2>
11. Segura SP. Efecto inhibitorio de dilución de Sangre De Drago y extracto hidroalcohólico de Uña de gato frente a *Porphyromona gingivalis*. Estudio in vitro. [Tesis para título profesional Químico farmacéutico] Quito: UCE, 2018. [Citado el 15/02/2020] Acceso en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/16619/1/T-UCE-0015-ODO-042.pdf>
12. Áviles HI. Efecto inhibitorio de *Croton lechleri* sobre cepas de *Streptococcus mutans*, estudio in-vitro. [Tesis para título profesional Odontólogo] Quito: UCE, 2018. [Citado el 08/02/2020] Acceso en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9164/1/T-UCE-0015-527.pdf>
13. Corrales RL, Castillo CA, Melo VA. Evaluación del potencial antibacterial in vitro de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. *NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas - Issn: 1794-2470 - Vol. 11 No. 19 enero - junio de 2013.* [Citado el 08/08/2019] Acceso en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v11n19/v11n19a05.pdf>
14. Espinoza RC, Serna QZ. Efecto antibacteriano in vitro del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. frente a *Staphylococcus aureus*. [Tesis para título profesional Químico farmacéutico] Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, 2018. [Citado el 22/02/2020] Acceso en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2985/Tesis%2>

[0SERNA%20QUISPE%20-%20ESPINOZA%20%20RIVERA.pdf?sequence=3&isAllowed=y](#)

15. Chinin VJ, Cisneros HC. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del látex de *Croton lechleri* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Conocimiento para el desarrollo, 2018, 9(1): 129-136. [Citado el 22/02/2020] Acceso en: <https://revista.usanpedro.edu.pe/index.php/CPD/article/view/302>
16. Fura CY. Efecto antibacteriano in vitro del *Croton lechleri* y Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre el *Lactobacillus acidophilus*. [Título Profesional de Cirujano Dentista] Arequipa: UAP, 2017. [Citado el 25/02/2020] Acceso en: http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/6096/11/T059_47485912_T.pdf
17. Cayo C, Barrera R. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del *Croton lechleri* sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Ciencia y Desarrollo 17 (1), Enero-Junio 2014. 5:10. [Citado el 25/02/2020] Acceso en: <http://dx.doi.org/10.21503/CienciayDesarrollo.2014.v17i1.01>
18. Sangre de grado. Biopat Perú [en línea] Lima: INDECOPI. Rev. Año 1, N° 7 Julio 2015. [Citado el 25/02/20] Acceso en: https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/202940/07.Boletin_N7_SangreGrado.pdf/8265b1eb-f494-4db3-8dc4-ba72fe830155
19. Ramírez G. Sangre de drago (*Croton lechleri* Muell. Arg). Fisioterapia Revisiones Monográficas. Programa Nacional de Medicina Complementaria. Natura Medicatrix 2003; 21(4)-213-217. EsSalud Perú [Citado el 25/02/2020] Acceso en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4956317>
20. Quiliano CA, Torrejón DG. Evaluación de la producción de látex de sangre de grado (*Croton lechleri*). Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina. Ecol. apl. Vol. 9 No 2, pp. 61-69. 2010. Lima – Perú. [Citado el 29/02/2020] Acceso en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v9n2/a01v9n2>
21. Sandoval M, Ayala S, Oré R, Arroyo J. Inducción de la formación de moco gástrico por sangre de grado (*Croton palanostigma*). Anales de la Facultad de Medicina. 2002; 63(4): p. 251-256. [Citado el 02/03/2020] Acceso en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/anales/v63_n4/pdf/inducccion_formacion.pdf

22. Blanco K. Actividad antimicrobiana de los compuestos fenólicos sulfonados en el sistema de conductos radiculares. Revisión Sistemática. Rev CSV 2015; 7 (2): 53-60. [Citado el 02/03/2020] Acceso en: <https://pdfs.semanticscholar.org/869f/04477c56e7db1342d85699f8e9914f518983.pdf>
23. Sotelo DI, Casas FN, Camelo MG. Borojó (*Borojoa patinoi*): Fuente de polifenoles con actividad antimicrobiana. Vitae, vol. 17, núm. 3, 2010, pp. 329-336. Colombia. [Citado el 05/03/2020] Acceso en: <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169815641011.pdf>
24. Díaz. R. Antibacterial effect of gallic acid and catechin on Helicobacter pylori and Escherichia coli [Online] 2012 [Citado el 05/03/2020] Acceso en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/112192>
25. Lock O, Rojas R. Química y farmacología del *Croton lechleri* Muell. Arg., [En línea] Lima: Revista de QUÍMICA del Departamento de Ciencias, Pontificia Universidad Católica del Perú; 2004. [Citado el 05/03/2020]. Obtenido de: <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/18661>
26. Gálvez CL, Roque AM, Villavicencio GJ, Petkova M, Madrid CM. Pasta Terapéutica anti-A. Producto (2da parte). Odontol. Sanmarquina. 2006; 9(2): p. 3-7. [Citado el 05/03/2020]. Obtenido de: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/5343/4569>
27. Azevedo A, Pacheco S, García C. Efeito leishmanicida in vitro do látex de *Croton lechleri*. Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences. 2015; 36(3): p. 413-418. [Citado el 05/03/2020]. Obtenido de: <https://pdfs.semanticscholar.org/5ad0/3e5b2011803305ce47c8177ab40e31179843.pdf>
28. Vega M. Ethnobotany of the Peruvian Amazon. Ecuador. Editorial Abya-Yala. Obtenido de: https://books.google.com.pe/books?id=qj6-Do2Ci_0C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false
29. Harris LG, Foster SJ, Richards RG. An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relations to adhesion to biomaterials: Review. Eur Cells Mater. 2002 jul-dec;

- 4(2): 39-60. [Citado el 08/03/2020]. Obtenido de: <http://www.ecmjournal.org/papers/vol004/pdf/v004a04.pdf>
30. Gomez GA. Staphylococcus: las ramificaciones de un racimo. Asociación colombiana de infectología. Vol. 10 - 3, 2006.
31. Gil M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infec (2000); 17 (2): 145-152. [Citado el 08/03/2020]. Obtenido de: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v17n2/art10.pdf>
32. Borraz OC. Epidemiología de la resistencia a meticilina en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en Hospitales españoles. [Tesis, para obtener el grado de doctor] España: Universidad de Barcelona, 2006. [Citado el 11/03/2020]. Obtenido de: <https://www.tdx.cat/handle/10803/2513#page=1>
33. Arteaga LK, Panduro CV, Trujillo CJ. Oxacilina más clindamicina: ¿es una combinación útil? Rev Perú Med Exp Salud Publica. 2018;35(1): 158-60.
34. Suárez C y Gudiol F. Antibióticos Betalactámicos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009;27(2):116–129. Obtenido de: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X08000323>
35. Gomez J, García VE y Hernández TA. Rev Esp Quimioter 2015;28(1): 1-9. Obtenido de: https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_28_1_gomez.pdf
36. Paredes F, Roca J. Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. OFFARM. Marzo 2004; 23 (3): 116-124. [Citado el 20/03/2020]. Obtenido de: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-accion-los-antibioticos-perspectiva-medicacion-13059414>
37. Sampieri H. Fernández C. Baptista P. Metodología de la investigación. 6° Ed. McGraw Hill. México. D.F. 2016.
38. García GJ. Reding BA. López AJ. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. Inv Ed Med 2013;2(8):217-224. [Citado el 28/03/20]. Obtenido de: http://riem.facmed.unam.mx/sites/all/archivos/V2Num04/07_MIE_CALCULO_DEL_TAMANO.PDF

39. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard–Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015. (Citado: 28/11/2020) Disponible en: <https://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2015-M02-A12-original.pdf>
40. Sistema de Gestión de la Calidad del Pronahebas, Ministerio de Salud (MINSA). Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, 2004. norma técnica N° 015 - MINSA / DGSP - V.01. 2004. Perú. [citado: 22/03/2020]. Obtenido de: <http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>
41. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; 2007. [citado: 25/03/2020]. Obtenido de: http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf
42. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. Lima: OPS; 2019. [Citado el 15/11/20]. Obtenido de: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y

ANEXOS

ANEXO 1

Matriz de Operacionalización de Variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN
<p>V. Independiente:</p> <p>Agente antibacteriano para cepas de <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Agente antibacteriano no farmacológico: Látex de <i>Croton lechleri</i></p> <p>Agente antibacteriano farmacológico: 1 µg de Oxacilina</p>	<p>Compuesto obtenido en forma natural o biosintética, así como los conseguidos totalmente en el laboratorio, se comportan de diversas maneras: como bactericidas y como bacteriostáticos³⁶</p>	<p>Se consideró 4 grupos de experimentación:</p> <p>A. Látex de <i>Croton lechleri</i> al 100% combinado con Oxacilina 1µg</p> <p>B. Látex de <i>Croton lechleri</i> al 100%</p> <p>C. Tratamiento con Oxacilina 1µg</p> <p>D. Control negativo con suero fisiológico</p>	<p>1. RGA</p> <p>2. RGB</p> <p>3. RGC</p> <p>4. RGD</p>	<p>Cualitativa nominal</p>
<p>V. Dependiente:</p> <p>Efecto antibacteriano</p>	<p>Se determinará midiendo el tamaño del Halo inhibitorio, utilizando la técnica de Kirby Bauer.³⁹</p>	<p>Efectivo</p> <p>No efectivo</p>	<p>≥13mm</p> <p><13mm³⁹</p>	<p>Cualitativa nominal</p>

ANEXO 2

Obtención de la Muestra

Se formuló la comparación de dos promedios:³⁸

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

Dónde:

- $Z_{\alpha/2}$: 1,96
- Z_{β} : 0,842
- X_1 : 13 mm. Corresponde al halo inhibitorio de oxacilina.
- X_2 : 17.07 mm. Corresponde al halo inhibitorio del látex de *Croton lechleri*
- σ : 1.46 mm

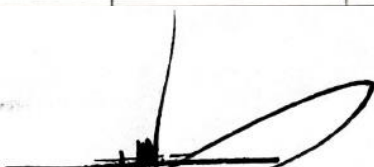
n= 2.0206 redondeado a 10 veces por grupo a estudiar

ANEXO 3



FICHA DE DATOS MEDICIÓN DE HALOS INHIBITORIOS (mm) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus*


PATÓGENO <i>Staphylococcus aureus</i>	Látex de <i>Croton lechleri</i> al 100% combinado con Oxacilina 1µg	Látex de <i>Croton lechleri</i> al 100%	Control Positivo Oxacilina 1µg	Control negativo
	Diámetros de Halos de inhibición (mm)			
Muestra 1				
Muestra 2				
Muestra 3				
Muestra 4				
Muestra 5				
Muestra 6				
Muestra 7				
Muestra 8				
Muestra 9				
Muestra 10				


Dr. José Luis Hernández Sosa
 MEDICO CIRUJANO
 C.M.P. 28069
 Acupuncture - Medicina Natural


Jaime A. Polo Gamboa
 MICROBIOLOGO
 CBP 6951


Dra. Diana Guerra Díaz
 MÉDICO CIRUJANO
 C.M.P. 75963

ANEXO 4

	PROTOCOLO DE ANÁLISIS DE PRODUCTO TERMINADO	Código: F-CC-032
		Versión: 02
		Página: 1 de 1
		Fecha de emisión: 05/01/18

CONTROL DE CALIDAD
Control Físico Químico y Microbiológico

PROTOCOLO DE ANÁLISIS N°: 38

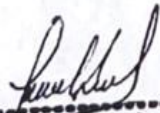
Producto: Sangre de Grado	Presentación: Botella de plástico x 15 mL
N° Lote: 105089	N° de Análisis: RP1100319
Fecha de Fabricación: 05/2019	Cantidad Fabricada: 789
Procedencia: Producción	Fecha de Expiración: 05/2021
Norma Técnica: USP ; Norma Propia	Fecha de Análisis: 15/10/2019
Fecha de Recepción de muestras: 10/10/2019	

PRUEBAS EFECTUADAS	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Aspecto	Líquido más o menos espeso	CONFORME
Color	Entre rojo sangre y rojo marrón	CONFORME
Olor	Característico del Producto	CONFORME
Sabor	Astringente	CONFORME
Humedad	70 – 90 % P/P	78,3 % P/P
pH	3 - 5	3,886
Frotación	Formación de espuma blanca al frotar	CONFORME
Absorción	Al colocar una gota en papel toalla, no forma un halo difuso.	CONFORME
Recuento de microorganismos Aerobios Totales	$<10^3$	8×10^2

Aprobado

Rechazado

Observaciones: Control de Calidad relativo al lote de PT 105089 Conforme


 Lenin Mercedes Huacayo Paucar
 QUÍMICA FARMACÉUTICA
 CQFP:18370


 ANALISTA