

Capacidad Bactericida de Pastas Experimentales Anti-A

Estudio In Vitro

*Luis H. GALVEZ CALLA, Mg. Dr., **Alejandro MENDOZA ROJAS, Mg. Mcblgo

RESUMEN

Todo proceso reparativo implica fortalecimiento de la herida a base de, principalmente, colágeno; la infección es el impedimento más común que retarda este proceso y que puede deberse a invasión bacteriana o a descomposición de tejidos necróticos, los cuales podrían ser resueltos con productos naturales puros o asociados. La pasta anti-A con propiedad antimicrobiana fue establecida luego del presente estudio in vitro realizado con el objetivo de probar dicha propiedad y definir su mejor comportamiento, bajo condiciones puras o asociadas con otros productos naturales.

Se aislaron 8 tipos de bacterias más frecuentes provenientes de frotises gingivales; 7 aeróbicas: Propionibacterium, Actinomyces, Lactobacillus, Staphylococcus, haemolyticus, Streptococcus mitis, Streptococcus salivarius y Eikenella; 1 anaeróbico: Veillonella; las cuales fueron sensibilizadas en un medio de difusión en agar, con 8 diferentes tipos de pastas experimentales, entre puros y asociados. Luego de 72 hs de incubación, la pasta a base de sangre de grado tubo mejor comportamiento antimicrobiano que las otras, tanto mejor si han sido elaborados con extractos puros, produciendo mayor halo de inhibición frente a la Eikenella seguido del Lactobacillus.

Palabras claves: Microbiología Oral, biomateriales

SUMMARY

All reparative process implies invigoration of the wound with the help of, mainly, collagen; the infection is the most common impediment that slows this process, it can be due to bacterial invasion or decomposition of necrotic tissues which could be resolved with pure or associated natural products. It was established, the antimicrobial properties of "anti-A" paste after the present in vitro study carried out to prove this property and to define its best behavior, under pure conditions or associated with other natural products.

8 more frequent types of bacteria coming from gum frotises were isolated; 7 aeróbicas: Propionibacterium, Actinomyces, Lactobacillus, Staphylococcus, haemolyticus, Streptococcus mitis, Streptococcus salivarius and Eikenella; 1 anaeróbico: Veillonella; which were sensitized in a means of diffusion in agar, with 8 different types of experimental pastes, among pure and associates. After 72 incubation hs, the paste based on "sangre de grado" had better antimicrobial behavior than the other ones, so much better if they have been elaborated with pure extracts, producing bigger inhibition halo in front of the Eikenella followed by the Lactobacillus.

Key Words: Oral Microbiology, biomaterials

INTRODUCCION

La curación de la herida es una respuesta fundamental del tejido injuriado que conlleva a la restauración de la integridad del tejido. Este es llevado a cabo principalmente por síntesis de la matriz del tejido conjuntivo. El colágeno es la principal proteína

de la matriz extracelular, y es el componente que finalmente contribuye al fortalecimiento de la herida⁹.

La curación de heridas es una sucesión dinámica y compleja de eventos, siendo una de las principales la síntesis de matriz extracelular. La fase temprana de la curación de heridas es caracterizado por el depósito de una matriz provisional al que sigue la formación del tejido de granulación y síntesis de colágeno y elastina. La matriz provisional que consiste en el crecimiento de sustancias GAG y proteoglicanos, son proteínas conjugadas³⁵.

* Director de la Unidad de Post Grado.F.O.-UNMSM. Profesor Principal del Departamento Académico de Ciencias Básicas - Investigador del Instituto de Investigación Estomatológica.

** Profesor Asociado de Pre y Post Grado, Departamento Académico de Ciencias Básicas - Microbiología - Investigador del Instituto de Investigación Estomatológica.
E-mail: d140026@unmsm.edu.pe

MEDICINA TRADICIONAL:

Varios millones de indígenas y otras poblaciones tradicionales, que forman parte de la biodiversidad amazónica, constituyen grupos socioculturales diversos que por más de quince mil años han desarrollado y refinado el conocimiento sobre su medio ambiente, experimentando posibles usos de su entorno biológico diverso; encontrando, entre otras cosas, plantas con excepcional poder curativo, espiritual, nutritivo, etc., y que además, han sido transmitidos de generación en generación.

ALOE VERA ("SABILA")

Estudios experimentales antibacterianos⁷ demuestran que el extracto acuoso liofilizado tiene ligera actividad contra bacterias (*Corynebacterium*, *Salmonella*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*), aunque en estudios clínicos no se ha demostrado este efecto.

Vázquez B; Avila G; Segura D; Escalante B. (1996)⁸, informaron que los extractos de Aloe vera gel tienen actividad antiinflamatoria y sugestiva acción inhibitoria sobre el ácido araquidónico por la vía de la ciclooxigenasa.

Chithra P; Sajithlal GB; Chandrakasan G.(1998)⁹, reportaron la influencia del Aloe vera en el contenido de colágeno y sus características en la curación de la herida.

Chithra P; Sajithlal GB; Chandrakasan G.(1998)¹⁰, investigaron LA INFLUENCIA DE ALOE VERA EN LA CURACIÓN DE LAS HERIDAS DÉRMICAS EN RATAS DIABÉTICAS. Los resultados indicaron que el tratamiento de heridas con Aloe vera en ratas diabéticas pueden fortalecer el proceso de cicatrización, influenciado por fases como la inflamación, la fibroplasia, la síntesis y maduración de colágeno, y la contracción de la herida. Estos hechos pueden ser debido a los efectos hipoglicémicos informados del gel de Aloe vera.

UNCARIA TOMENTOSA ("UÑA DE GATO")

La *Uncaria tomentosa*, más conocida como "Uña de gato", es una planta comúnmente usada en la medicina tradicional de la Amazonía peruana por su mayor eficacia antiinflamatoria.

Wagner y Cols. (1985)¹¹, demostraron en sus experimentos in vitro el efecto estimulante tanto de los extractos enteros como de los alcaloides aislados de la *Uncaria tomentosa*, sobre la fagocitosis a cargo de neutrófilos y macrófagos de la sangre.

Senatore, A.; Cataldo, A.; Lacarino, F. y Elberti, M. (1989)¹², del Departamento de Química de Sustancias Naturales de la Universidad de Nápoles; confirman, tras estudios preliminares realizados en ratones Wister, el efecto antiinflamatorio moderado de la "Uña de gato".

Aquino, R.; de Simone, F.; Vincieri, F. y Pizza, C. (1990)¹³. Realizaron una investigación conjunta entre la Universidad de Nápoles y la Hungarian Academy of Sciences de Budapest, Hungría., en cuyo estudio aislaron 3 nuevos triterpenos a partir de la corteza de *Uncaria tomentosa* (Will.) DC., realizando simultáneamente bioensayos evaluando su acción antiinflamatoria.

Aquino y Cols. (1991)¹⁴, en relación al efecto antiinflamatorio afirman que los extractos totales de la *Uncaria tomentosa* son inmunoestimulantes más eficaces que los componentes aislados, mostrando evidencias científicas más que suficientes de la acción inmunoestimulante específica de la "Uña de gato".

CROTON ("SANGRE DE GRADO")

En el Perú se conocen el *C. Dracoide* Muell.Arg., *C. Eritrochilus* Muell. Arg., *C. Huitotorum* o *Croizat*; los nativos del amazonas le atribuyen efectos antiinflamatorio, cicatrizante, antitumoral, antioxidante, antimicrobiano y antiviral.

Zapata Cruz, Rosa Elvira(1987)¹⁵, en ensayos experimentales determinó que la "Sangre de grado" tiene actividad antimicrobiana frente a los microorganismos gram positivos, entre ellos a: *S. Aureus* 6538 ATCC, *S. Epidermidis* 12228 ATCC, y a los gram negativos: *Klebsiella* 602 FDA, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Salmonella* y *Pseudomonas*.

Milla Comitre, Marcos Ernesto(1985)¹⁶, con el objetivo de comprobar la acción cicatrizante de la "Sangre de grado", investigó sobre su mecanismo de acción, y encontró que la TASPINA sería su principio activo. Además observó inhibición de la proliferación celular y contracción de heridas, estimulando la migración de fibroblastos.

Caro Medrano, V.(1985)¹⁷, en ratones suizos, examinó la biocompatibilidad de los cementos de obturación a base de "Sangre de grado" y "Bálsamo de Perú" implantados subcutáneamente en la región dorsal; observando con respecto al "Bálsamo de Perú" una reacción inflamatoria mínima y un proceso de

reparación óptima del tejido subcutáneo; mientras que el cemento a base de "Sangre de grado" mostró mediana reacción inflamatoria, constituyéndose en segunda opción preferencial en relación al Tubli Seal que sí produjo una reacción inflamatoria hasta un período de 60 días y una tardía reparación.

Chen Z. P., Cai Y., Phillipson J. D. (1994)¹⁸, cuestionan que las propiedades antiinflamatorias y cicatrizantes de la "Sangre de grado" sea atribuida a su componente clorhidrato de taspina, y proponen como principio activo al lignano de dihidrobenzofurano: 3',4'-O-dimetilcedrusina. No recomienda el uso del látex con alto contenido de taspina para consumo oral, debido a factores citotóxicos.

Zaravia Rojas, M. A. (1985)¹⁹, estudió la biocompatibilidad del cemento de obturación a base de "Sangre de grado" y óxido de zinc en el tejido conjuntivo, promoviendo una reacción antiinflamatoria de reparación, que se evidencia posiblemente por una mayor respuesta de la actividad fibroblástica.

Morales Girbau, M. A. (1985)²⁰, evaluó clínicamente la aplicación tópica de "Sangre de grado" en el curso de la cicatrización alveolar y la sintomatología en la alveolitis seca dolorosa, teniendo como testigo al eugenol. Los resultados indicaron la formación de tejido de granulación en los alvéolos secos; eliminando el dolor y el mal olor reinante a los 4 días.

Pieters L., De Bruyne T., Claeys M., Vlietinck A., Calomme M., vanden Berghe D. (1993)²¹, aislaron a la taspina de la "Sangre de grado" y lo identificaron por medios espectroscópicos, determinando su acción altamente citotóxica a concentraciones de 0.3 µg/ml. No estimuló a células endoteliales a concentraciones no tóxicas. Además afirman que ni la taspina, ni la 3',4'-O-dimetilcedrusina tuvieron actividad antiviral, antibacteriano y antimicótico.

FOSFATO TRICALCICO

Luis H. Gálvez (1992)²², informo que el cemento de Fosfato Tricalcico en los defectos óseos periapicales, tiene un efecto inductor del proceso reparativo, actúa acelerando los mecanismos de proliferación celular, síntesis de colágena y de mineralización de la matriz proteica. A los 45 días el tejido conectivo fue de aspecto mucoso con menos infiltrado inflamatorio, con trabéculas óseas de aspecto celular colagenoso que van en aumento; 75 días después hay ausencia de células inflamatorias y luego de 90 días el defecto óseo periapical se encontró

ampliamente reparado.

PROBLEMA

Continúa siendo una actividad de rutina las extracciones dentarias que trae consigo graves consecuencias en la integridad del hueso alveolar, y frecuentemente de procesos infecciosos; cuyos tratamientos son abordados individualmente. Sería interesante resolver estos problemas con productos naturales asociados, que contribuyan a la temprana solución integral del defecto óseo posexodóncico; lo que implica reunir productos caracterizados para la creación de la pasta anti-A, con propiedades: antiinflamatoria, antimicrobiana, cicatrizante del proceso reparativo, la misma que deberá pasar el examen microbiológico (*in vitro*) y el histopatológico en un modelo experimental en cobayos (*in vivo*), antes de su fase aplicativa. De modo que se consideran tres fases en el presente proceso investigatorio:

Fase *in vitro* : Capacidad bactericida de pastas experimentales anti-A.

Fase *in vivo* : Efecto reparativo de pastas experimentales anti-A.

Fase *aplicativa* : Evaluación clínica de los defectos óseos alveolares posexodóncicos tratados con pasta anti-A.

JUSTIFICACION

El relativo bajo costo de los insumos para la creación de la pasta anti-A, hará posible que esté al alcance de la población de escasos recursos económicos.

Se requiere establecer la capacidad bactericida de la pasta anti-A.

Se requiere preconizar el uso rutinario de la pasta anti-A como terapia posexodóncica para prevenir procesos infecciosos y mantener un adecuado nivel óseo alveolar residual.

OBJETIVOS

FASE EXPERIMENTAL:

1. Comparar tres productos naturales: "Sábila", "Uña de gato" y "Sangre de grado" y entre todas las posibles asociaciones.
2. Probar *in vitro* la propiedad antimicrobiana de cada uno de los extractos líquidos, en su estado natural puro y de las posibles asociaciones, y contribuir con la creación de la pasta anti-A.

METAS ESPECIFICAS

FASE EXPERIMENTAL: Creación de la pasta anti-A con propiedades: antiinflamatoria, antimicrobiana y cicatrizante, debidamente confirmados.

POSIBLE IMPACTO

Los resultados aportaran directamente a la solución de la alveolitis seca dolorosa, como problemática, e indirectamente, su aplicación, tendrá un impacto social por su bajo costo.

HIPOTESIS

FASE EXPERIMENTAL:

In vitro:

1. Los extractos líquidos puros de cada uno de los productos naturales tienen un mejor comportamiento antimicrobiano que los asociados.
2. Los extractos líquidos asociados potencializan su capacidad antimicrobiana y tienen mejor comportamiento que los extractos puros.
3. Los extractos líquidos asociados disminuyen su capacidad antimicrobiana y se comportan negativamente que los extractos puros.
4. Es irrelevante la pureza o la asociación de los extractos líquidos en el comportamiento antimicrobiano.

MATERIALES Y METODO

FASE EXPERIMENTAL *IN VITRO*

POBLACION Y MUESTRA

Se consideró ocho bacterias más frecuentes, encontrados luego de un sembrado de diez frotises gingivales, que constituyeron la totalidad de la población de la fase experimental.

EQUIPOS Y MATERIALES

1. Medios de cultivo para el aislamiento de bacterias aerobias
2. Medios de cultivo para el aislamiento de bacterias anaerobias
3. Medios de cultivo para la prueba de susceptibilidad
 - Agar Mueller Hinton suplementado con sangre de carnero al 5%

4. Reactivos:

- Peróxido de hidrógeno al 30%
- Alfa Naftol 0.5% en ácido acético 5N
- Acido Sulfanílico 0.8% en ácido acético 5N
- Sobres generadores de anaerobiosis ANAEROGEN(OXOID)
- Reactivo de Spot Indol

5. Pastas experimentales:

Extractos líquidos (100% puros):

- Aloe vera ("Sábila")
- Uncaria tomentosa ("Uña de gato")
- Croton draconoide ("Sangre de grado")

Vehículos:

- Fosfato Tricálcico
- Propilene glycol

6. Instrumentos:

- Jarra anaeróbica
- Punzón estéril
- Hisopos estériles
- Espátulas estériles
- Dispensador para insumos en polvo con capacidad de 120 mgr.
- Pipetas de goteo para insumos líquidos, de 0.005 ml.
- Platina de vidrio de superficie lisa
- Espátula para cemento
- Mechero

METODO:

Se realizaron diez frotises en zonas gingivales de la cavidad bucal, adyacentes a remanentes radiculares, sin discriminación regional; los que fueron incluidos, cinco en tubos de ensayos que contenían medios de transporte a base de TSB (tripticosa soya Broth) para aerobios, y cinco en tubos con thioglicolato para anaerobios. Durante el proceso se ha tenido especial cuidado en refrigerarlos y transportados de inmediato al laboratorio microbiológico. De las cuales se aislaron las bacterias aeróbicas y anaeróbicas más frecuentes.

AISLAMIENTO DE BACTERIAS AEROBIAS Y ANAEROBIAS DE CAVIDAD BUCAL

I. AISLAMIENTO DE BACTERIAS AEROBIAS

1. Con los hisopos de los frotises gingivales sumergidos en tubos con caldo tripticosa soya, se sembró usando la técnica de agotamiento en toda la superficie de 2 placas de agar TSA suplementado con sangre de carnero al 5 %. Estas dos placas se incubaron a 37°C por 48

horas, una placa en ambiente microaerófilico con 5-10% de CO₂ en jarra de anaerobiosis y la otra placa en ambiente aerófilico total. Una tercera placa con Agar Mitis Salivarius se sembró usando la técnica de agotamiento y también se incubaron a 37°C por 48 horas en ambiente microaerófilico con 5-10% de CO₂ en jarra de anaerobiosis.

2. Se observó el crecimiento de las colonias y de las que mas predominaron, se procedió a realizar subcultivos, y nuevamente fueron incubados por 48 horas a 37°C.
3. Finalmente se realizaron coloraciones Gram de cada subcultivo y se procedió con las pruebas de identificación correspondiente.
4. Bacterias aisladas:
 - a) *Propionibacterium spp.*
 - b) *Actinomyces spp.*
 - c) *Lactobacillus spp.*
 - d) *Staphylococcus haemolyticus.*
 - e) *Streptococcus mitis.*
 - f) *Streptococcus salivarius*
 - g) *Eikenella spp.*

II. AISLAMIENTO DE BACTERIAS ANAEROBIAS

1. Con los hisopos de los frotises gingivales sumergidos en tubos con Thioglicolato, se sembró en una placa de agar TSA suplementado con sangre de carnero al 5%, se colocó en una jarra anaeróbica con un sobre generador de CO₂ y se incubó a 37°C por 48 horas.
2. Se observó el crecimiento en la placa cultivada y las colonias que predominaron se repican en dos placa de agar TSA suplementado con sangre de carnero al 5%, una placa fue ubicada en la jarra con ambiente de anaerobiosis y la otra quedó en aerobiosis para determinar si son realmente anaerobias estrictas. Ambas placas se incubaron a 37°C por 48 horas
3. Se observó el crecimiento de las colonias en aerobiosis y anaerobiosis y se determinó las colonias estrictamente anaerobias; luego se subcultivaron para su identificación, realizando:

. Coloración Gram

. Prueba de Catalasa, empleando el peróxido de hidrógeno

. Prueba de Indol, usando el reactivo Spot Indol.
. Fermentación de glucosa, usando Medio Cistina con glucosa.
. Fermentación de lactosa, usando Medio Cistina con lactosa.
. Fermentación de Sucrosa, usando Medio Cistina con sucrosa.

4. Bacteria aislada: *Veillonella spp.*

III. PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD

Identificadas las bacterias se procedió con la prueba de susceptibilidad a las diferentes pastas experimentales por el método de difusión en agar.

A. ASPECTOS PRELIMINARES

1. Previamente, en las placas de Mueller Hinton suplementado con sangre de carnero al 5% para la inoculación, se prepararon 8 perforaciones realizadas con punzón estéril diseñado para producir orificios de 6 mm de diámetro y 4 mm de profundidad. Estas perforaciones fueron debidamente codificados del 1 al 8.
2. Se inoculó la superficie del Mueller Hinton suplementado con sangre de carnero al 5% por hisopado en tres direcciones para asegurar una completa distribución del inóculo. Las zonas de inhibición fueron uniformemente circulares y el desarrollo confluyente.

B. TIPOS DE PASTAS EXPERIMENTALES CON EXTRACTOS PUROS Y ASOCIADOS:

1. FT y Aloe vera (FT+AV)
2. FT y Uña de gato (FT+UG)
3. FT y Sangre de grado (FT+SG)
4. FT + Aloe vera + Uña de gato (FT+AV+UG)
5. FT + Aloe vera + Sangre de grado (FT+AV+SG)
6. FT + Uña de gato + Sangre de grado (FT+UG+SG)
7. FT + Aloe vera + Uña de gato + Sangre de grado (FT+AV+UG+SG)
8. FT + Propilene glycol (FT+PG)

C. PREPARACIÓN DE LAS PASTAS EXPERIMENTALES Y APLICACIÓN EN LAS PLACAS INOCULADAS PARA LA PRUEBA DE SUCEPTIBILIDAD (Fig.1)

1. Se preparó sobre una placa de vidrio esterilizado, los diferentes tipos de pastas; dispensando una porción de FT (120 mlg) y 0.005 ml del extracto líquido correspondiente según el tipo de pasta señalado, y se mezcló hasta conseguir una consistencia pastosa; inmediatamente, se relleno las cavidades preparadas en las cajas petri, según como corresponda al tipo de pasta a base de extractos puros, con espátulas estériles, tratando de llenar todo el orificio con la pasta. Las pastas con extractos múltiples asociados se preparó mezclando parte iguales de dichos extractos agregando FT hasta conseguir la consistencia adecuada.

2. Luego se incubaron las placas por 72 hs en anaerobiosis y a 37°C dentro de los 15 minutos posteriores a la colocación de las pastas. Para el caso de los anaerobios estrictos el procedimiento fue de inmediato.

IV. RECOLECCION DE DATOS

Se midieron con una regla milimetrada el diámetro externo de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano, incluyendo la pasta. En los casos con crecimiento bacteriano, sin halo de inhibición, se considero de valor 0 sin inclusión de la pasta.

RESULTADOS

in vitro (Tabla 1)

Luego de 72 h de incubadas las placas inoculadas y aplicadas con pastas experimentales, mostró halos de inhibición de crecimiento bacteriano medido en milímetros según colonia bacteriana siguiente:

a. PROPIONIBACTERIUM (Fig. 2)

Fue susceptible a la pasta experimental:

2. FT+UG = 12 mm de diámetro

3. FT+SG = 16mm

5. FT+AV+SG = 14mm

6. FT+UG+SG = 12mm

7. FT+AV+UG+SG = 11mm

No fue susceptible a las pastas 1, 4, 8

b. ACTINOMYCES (Fig. 3)

Fue susceptible a la pasta experimental:

3. FT+SG = 16mm de diámetro

5. FT+AV+SG = 13mm

6. FT+UG+SG = 12 mm

7. FT+AV+UG+SG = 8 mm

No fue susceptible a las pastas 1, 2, 4, 8

c. LACTOBACILLUS (Fig. 4)

Fue susceptible a la pasta experimental:

2. FT+UG = 15 mm de diámetro

3. FT+SG = 30 mm de diámetro

5. FT+AV+SG = 28mm

6. FT+UG+SG = 25 mm

7. FT+AV+UG+SG = 28mm

No fue susceptible a las pastas 1, 4 y 8

d. STREPTOCOCCUS MITIS (Fig. 5)

Fue susceptible a la pasta experimental:

3. FT+SG = 9 mm de diámetro

5. FT+AV+SG = 10mm

6. FT+UG+SG = 10mm

No fue susceptible a las pastas 1, 2, 4, 7, 8

e. STREPTOCOCCUS SALIVARIUS (Fig. 6)

Fue susceptible a la pasta experimental:

3. FT+SG = 10 mm de diámetro,

5. FT+AV+SG = 8 mm

6. FT+UG+SG = 8 mm

No fue susceptible a las pastas 1, 2, 4, 7 y 8

f. STAPHYLOCOCCUS HAEMOLYTICUS (Fig. 7)

Fue susceptible a la pasta experimental:

3. FT+SG = 14mm de diámetro

5. FT+AV+SG = 11mm

6. FT+UG+SG = 11mm

No fue susceptible a las pastas 1, 2, 4, 7, 8

g. EIKENELLA (Fig. 8)

Fue susceptible a la pasta experimental:

3. FT+SG = 32 mm de diámetro

5. FT+AV+SG = 30mm

6. FT+UG+SG = 30mm

7. FT+AV+UG+SG = 32mm

No fue susceptible a las pastas 1, 2, 4, 8

h. VEILLONELLA (Fig. 9)

Fue susceptible a la pasta experimental:

3. FT+SG = 16mm de diámetro

5. FT+AV+SG = 14mm

6. FT+UG+SG = 12mm

7. FT+AV+UG+SG = 13mm

No fue susceptible a las pastas 1, 2, 4, 8

SENSIBILIDAD BACTERIANA A PASTAS EXPERIMENTALES ANTI-A

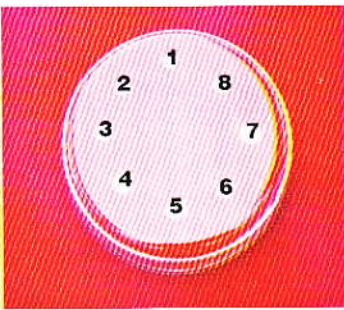


Fig. 1: Distribución de pastas experimentales en los cultivos bacterianos: p-1: Av; p-2: Ug; p-3: Sg; p-4: Av+Ug; p-5: Av+Sg; p-6: Ug+Sg; p-7: Av+Ug+Sg; p-8: Pg.

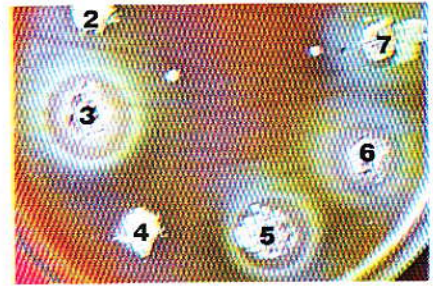


Fig. 2: Sensibilidad de *Propionibacterium* a las pastas experimentales: p-2: Ug, 12 mm; p-3: Sg, 16 mm; p-4: Av+Ug, 00 mm; p-5: Av+Sg, 14 mm; p-6: Ug+Sg, 12 mm; p-7: Av+Ug+Sg, 11 mm.

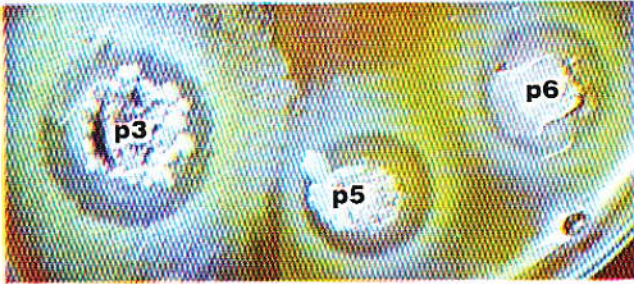


Fig. 3: Sensibilidad de *Actinomyces* a las pastas experimentales: p-3: Sg, 16 mm; p-5: Av+Sg, 13 mm; p-6: Ug+Sg, 12 mm.

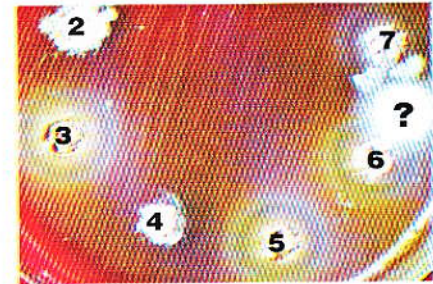


Fig. 4: Sensibilidad de *Lactobacillus* a las pastas experimentales: p-2: Ug, 15 mm; p-3: Sg, 30 mm; p-4: Av+Ug, 00 mm; p-5: Av+Sg, 28 mm; p-6: Ug+Sg, 25 mm; p-7: Av+Ug+Sg, 28 mm; ?: Contaminante.

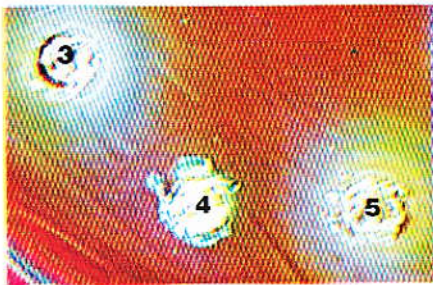


Fig. 5: Sensibilidad de *Streptococcus mitis* a las pastas experimentales: p-3: Sg, 09 mm; p-4: Av+Ug, 00 mm; p-5: Av+Sg, 10 mm.

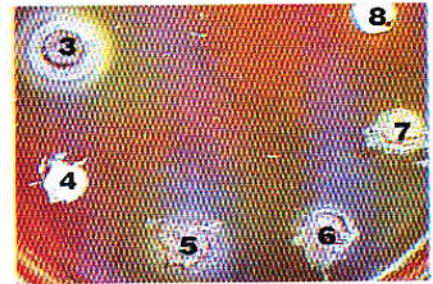


Fig. 6: Sensibilidad de *Streptococcus salivarius* a las pastas experimentales: p-3: Sg, 10 mm; p-4: Av+Ug, 00 mm; p-5: Av+Sg, 08 mm; p-6: Ug+Sg, 08 mm; p-7: Av+Ug+Sg, 00 mm; p-8: Pg, 00 mm.

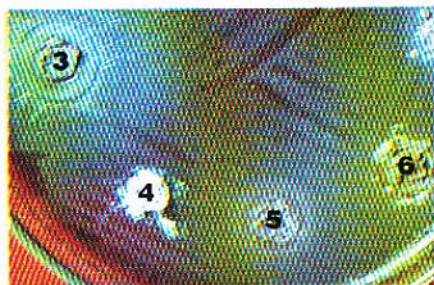


Fig. 7: Sensibilidad de *Staphylococcus haemolyticus* a las pastas experimentales: p-3: Sg, 14 mm; p-4: Av+Ug, 00 mm; p-5: Av+Sg, 11 mm; p-6: Ug+Sg, 11 mm.

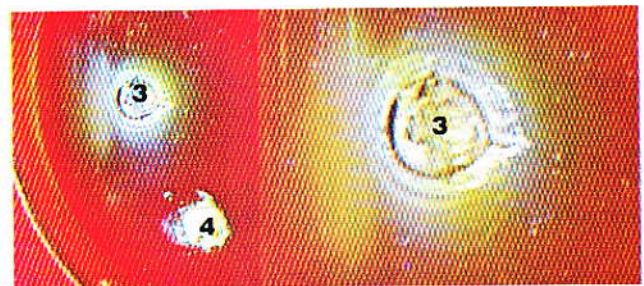


Fig. 8: Sensibilidad de *Eikenella* a las pastas experimentales: p-3: Sg, 32 mm; p-4: Av+Ug, 00 mm.

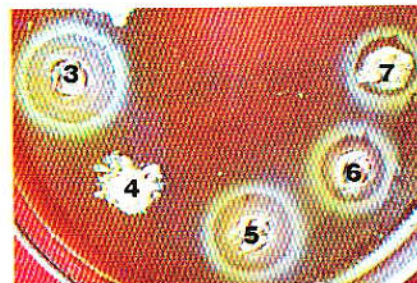


Fig. 9: Sensibilidad de *Veillonella* a las pastas experimentales: p-3: Sg, 16 mm; p-4: Av+Ug, 00 mm; p-5: Av+Sg, 14 mm; p-6: Ug+Sg, 12 mm; p-7: Av+Ug+Sg, 13 mm.

TABLA 1: RESUMEN DE SUSCEPTIBILIDAD DE LA POBLACION DE BACTERIAS SEGÚN TIPOS DE PASTAS EXPERIMENTALES

unidad de medición: Diámetro en mm

Tiempo: 72 h.

BACTERIA	PASTA1 AV mm	PASTA2 UG mm	PASTA3 SG mm	PASTA4 4AV+UG mm	PASTA5 AV+SG mm	PASTA6 UG+SG mm	PASTA7 AV+UG+SG mm	PASTA8 PG mm
Propionibacterium spp	0	12	16	0	14	12	11	0
Actinomyces spp	0	0	16	0	13	12	8	0
Lactobacillus spp	0	15	30	0	28	25	28	0
Streptococcus mitis	0	0	9	0	10	10	0	0
Streptococcus salivarius	0	0	10	0	8	8	0	0
Staphylococcus haemolyticus	0	0	14	0	11	11	0	0
Eikenella spp	0	0	32	0	30	30	32	0
Veillonella spp	0	0	16	0	14	12	13	0

DISCUSION

Se aislaron ocho bacterias orales de mucosa gingival adyacentes a remanentes radiculares, tales como: Propionibacterium, actinomyces, lactobacillus, streptococcus mitis, streptococcus salivarius, staphylococcus hamolyticus, eikenella y veillonella.

Los resultados de la prueba de susceptibilidad, luego de 72 hs, mostraron halos de inhibición de crecimiento bacteriano, de tamaño variado; siendo el de mejor comportamiento la pasta a base de Sangre de grado, logrando mayor susceptibilidad a Eikenellas y Lactobacillus, con 32 y 30 mm de diámetro de inhibición respectivamente. (Figs. 8, 4) El Streptococcus mitis fue el menos sensible del grupo de bacterias aisladas. Los ensayos experimentales de Zapata Cruz, Rosa Elvira (1987)¹⁵, confirman esta condición.

La pasta con Uña de gato solo tuvo acción de inhibición sobre lactobacillus y propionibacterium con 15 y 12 mm de diámetro respectivamente. (Figs. 4, 2)

La pasta con Ale vera no mostro ninguna acción antibacteriana con el grupo de bacterias aisladas, ni asociada con Uña de Gato (Figs. 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

La asociación de la pasta a base de Sangre de grado con extractos líquidos de Uña de gato y Sábila, formaron halos de inhibición de menor tamaño,

indicando reducida acción antibacteriana. (Fig. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9) La triple asociación disminuye aun más el halo de inhibición (Fig. 2, 4, 6, 9).

CONCLUSIONES

Luego de 72 hs de incubadas las placas inoculadas y aplicadas con pastas experimentales, mostraron que: (Tabla 1)

- La pasta a base de Sangre de grado tuvo mejor comportamiento antibacteriano que las pastas a base de Uña de gato y Sábila
- Los extractos líquidos puros de cada uno de los productos naturales tienen un mejor comportamiento antimicrobiano que los asociados.
- Los extractos líquidos asociados disminuyen su capacidad antimicrobiana y se comportan negativamente que los extractos puros. Las pastas a base de Sangre de grado asociado con extractos líquidos de Uña de gato y Sábila, formaron halos de inhibición de menor tamaño, indicando reducida acción antibacteriana

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Waite, Daniel E. (1984): Tratado de cirugía bucal práctica. Edit. Compañía Editorial Continental S.A. DE C.V. México, 2da Edic., Pag. 236-239.
 2. Birn H.(1973): Etiology and pathogenesis of fibrinolytic alveolitis ["dry socket"], *J.Int. J. Oral Surg.*, 2:211-267.
 3. Tisirlis, Anastasios T., Iakovidis, Dimetrios P. y Parssis, Nikolaos A.(1994): Alveolitis seca: frecuencia de presentación tras anestesia intraligamentosa. *Quintessence (ed. esp.)* Volumen 7, 5:305-307.
 4. Klingenstrom P, Westermarck L.(1964): Local tissue-oxygen tension after adrenaline and octapressin in local anesthesia. *Act Anesth Scand*; 8:261-266.
 5. Gader A, DaCosta J, Cach J. D.(1973): A new vasopressin analogue and fibrinolysis. *Lancet*; 1:417-1.418.
 6. Mannucci P.M, Aberg M, Nilsson I.M et al.(1985): Mechanism of plasminogen activator and factor VIII increase after vasoactive drugs. *Br J Haematol*; 30:81-93.
- ALOE VERA "SABILA"
7. Cáceres Armando(1996): Plantas de uso medicinal en Guatemala. Edit. Universitaria. Univ.San Carlos. 1ra Edic.
 8. Vazquez B; Avila G; Segura D; Escalante B. (1996), Antiinflammatory activity of extracts from Aloe vera gel. México. *J Ethnopharmacol*, 55:69-75, Dec.
 9. Chithra P; Sajithlal GB; Chandrakasan G.(1998),Influence of Aloe vera on collagen characteristics in healing dermal wounds in rats. India. *J Mol Cell Biochem*, 181:71-6. Apr.
 10. Chithra P; Sajithlal GB; Chandrakasan G.(1998),Influence of Aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. India. *J Ethnopharmacol*, 59:195-201, Jan.
- UNCARIA TOMENTOSA "UÑA DE GATO"
11. Wagner, H., Kreutzkamp, B., y Jurcic, K.(1985): Die Alkaloide von *Uncaria tomentosa* und ihre Phagozytose-steigernde Wirkung. *Planta Medica*, 419-423.
 12. Senatore, A.; Cataldo, A.; Lacarino, F. y Elberti, M. (1989), Ricerche fitochimiche e biologiche sull' *Uncaria tomentosa*. *Boll. Soc. It. Biol. Sper.* LXV, 575-580.
 13. Aquino, R.; de Simone, F.; Vincieri, F. y Piza, C. (1990). New polyhydroxylated triterpenes from *Uncaria tomentosa*. *J. of Nat. Prod.* may-june. 53(7):559-564
 14. Aquino, R., De Feo, V., De Simone, F., Piza, C., y Cirino, G.(1991): Plant Metabolites, new compounds, and antiinflammatory activity of *Uncaria tomentosa*. *Journal of Natural Products*, 54:453-459.
- CROTON ("SANGRE DE GRADO")
15. Zapata Cruz, Rosa Elvira(1987):Actividad antimicrobiana in vitro de la droga comercializada como "Sangre de grado". Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. UNMSM. Lima-Perú.
 16. Milla Comitre, Marcos Ernesto(1985): Estudio sobre el mecanismo de acción del principio activo de la "Sangre de grado". Tesis para optar el Grado de Bachiller en ciencias con mención en biología. UPCH. Perú.
 17. Caro Medrano, V.(1985): Reacción del tejido subcutáneo a los cementos de obturación a base de Bálsamo de Perú y "Sangre de grado" en ratones Suizos. Tesis para optar el Grado de Bachiller. Facultad de Estomatología. Universidad Particular Cayetano Heredia (UPCH). Lima-Perú. Pp 53.
 18. Chen Z. P., Cai Y., Phillipson J. D. (1994): Studies on the antitumor, anti-bacterial, and Wound-Healing properties of Dragon's Blood. *Planta Médica* Vol 60(6):541-545.
 19. Zaravia Rojas, M. A. (1985): Reacción anti-inflamatoria del tejido conjuntivo al cemento de obturación de conductos a base C. Lechleri ("Sangre de grado") en ratas de cepa Holtzman. Tesis para optar el Grado de Bachiller. Facultad de Estomatología. UPCH. Lima-Perú. Pp. 39
 20. Morales Girbau, M. A. (1985): Estudio clínico de los efectos de C. Draconoide M. Arg. ("Sangre de grado") en el tratamiento de alveolitis seca dolorosa. Tesis de Bachiller. Programa Académico de Estomatología. Universidad Particular Cayetano Heredia (UPCH). Lima-Perú. Pp 62.
 21. Pieters L., De Bruyne T., Claeys M., Vlietinck A., Calomme M., vanden Berghe D. (1993): Isolation of a Dihydrobenzofuran Lignan from South American Dragon's Blood (Croton spp) as an Inhibitor of Cell Proliferation. *Journal of Natural Products*. Vol 56(6):899-906.
- FOSFATO TRICALCICO
22. Gálvez, L. H. (1992): Efecto biológico del FT en los defectos óseos periapicales. IIE. FO. UNMSM. Arch. Personal.