

# Actividad antibacteriana de la Sangre de Grado (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*.

TAMARIZ ORTIZ, Jesús Humberto \*, CAPCHA MENDOZA, Roberto\*\*, PALOMINO CADENAS, Edwin Julio\*\*\*, AGUILAR OLANO, José\*\*.

## SUMMARY

Actually it is accepted the pathogenic role of *Helicobacter pylori* in the generation of gastritis and gastric ulcer, as well as the direct relation among the eradication of the bacteria and the absence of complications and subsequent recurrences. Considering the anti-ulcerogenic activity attributed to the “Sangre de grado” (*Croton lechleri*). **Objective:** To determine the antibacterial activity of the “sangre de grado” against the bacteria. **Material and methods:** Our work has been done with 41 strains of *Helicobacter pylori* of clinical origin and four different presentations of “Sangre de grado”. In a first phase the inhibiting effect of the growth was determined in a qualitative way. Subsequently the minimum inhibitory concentration was determined (MIC) as well as the minimum bactericide concentration (CMB) of the “Sangre de grado” against the bacteria. **Results:** The results shown that the “Sangre de grado” in high concentrations inhibits the growth of *Helicobacter pylori*. The antibacterial effect of the concentrated product was determined. **Conclusion:** These results suggest that the healing activity of “Sangre de grado” tested in previous studies and complemented with the antibacterial activity determined in the present study, would be the responsible for the curative capacity of this product in gastric ulcers. (*Rev Med Hered* 2003; 14:81-88 ).

**KEY WORDS :** Sangre de grado, *Helicobacter pylori*, antibacterial activity, minimum inhibitory concentration, minimum bactericide concentration

## RESUMEN

Actualmente ha sido aceptado el rol patogénico de *Helicobacter pylori* en la generación de gastritis y úlcera gástrica, así como la relación directa entre la erradicación de la bacteria y la ausencia de complicaciones y posteriores recurrencias. Considerando la actividad anti ulcerosa atribuida a la “sangre de grado” (*Croton lechleri*). **Objetivo:** Determinar la actividad antibacteriana de la sangre de grado frente a la bacteria. **Material y métodos:** Se trabajó con 41 cepas de *Helicobacter pylori* de origen clínico y cuatro presentaciones de sangre de grado. En una primera etapa se determinó de manera cualitativa el efecto inhibitor del crecimiento, posteriormente se determinó la concentración mínima inhibitoria (CIM) y la concentración mínima bactericida (CMB) de la sangre de grado frente a la bacteria. **Resultados:** Los resultados muestran que la sangre de grado inhibe el crecimiento de *Helicobacter pylori* en concentraciones elevadas, también se determinó el efecto bactericida del producto concentrado. **Conclusión:** Estos resultados sugieren que la actividad cicatrizante de la sangre de grado probada en estudios anteriores y complementada con la actividad antibacteriana determinada en el presente estudio, serían las responsables de la capacidad curativa de este producto frente a las úlceras gástricas. (*Rev Med Hered* 2003; 14:81-88 )

**PALABRAS CLAVE :** Sangre de grado, *Helicobacter pylori*, actividad antibacteriana- concentración mínima inhibitoria, concentración mínima bactericida

---

\* Escuela de Tecnología Médica – Facultad de Medicina - UPCH

\*\* Laboratorio Inmunología – Departamento Microbiología - UPCH

\*\*\* Universidad Santiago Antunez de Mayolo - Ancash

## INTRODUCCIÓN

La gastritis y la úlcera péptica son enfermedades ampliamente difundidas en el mundo (1,2). Desde inicios de siglo se trató de identificar sus factores causales, siendo la contribución más importante al respecto, la de Warren y Marshal que en 1982 describieron un organismo espirilar Gram negativo en estrecha asociación con la presencia de gastritis antral, úlcera gástrica y duodenal, llegando a la conclusión que su erradicación eliminaba las recurrencias. Desde entonces, la úlcera péptica es considerada por algunos investigadores, de etiología infecciosa. Estos mismos autores anotaron que esta relación no existe con la dispepsia no ulcerosa (3,4).

Actualmente se sabe que *Helicobacter pylori* cumple un reconocido rol patogénico en la úlcera duodenal, donde la prevalencia de la infección es de 90 a 95%. De otro lado, también se ha reconocido el rol patogénico de la bacteria en la úlcera gástrica, en la cual la infección ocurre con una prevalencia del 60% a 80%, aunque en este caso prevalecen dos causas (*Helicobacter pylori* y AINEs) y muchos pacientes pueden presentar ambas (3).

Muchos estudios clínicos han demostrado que la erradicación del *Helicobacter pylori* altera la historia natural de la enfermedad ulcerosa y que la recurrencia de la úlcera luego de la erradicación de la bacteria, es rara. Además, se ha observado que su erradicación puede prevenir el sangrado de la úlcera (3,5).

Estudios en la población peruana han demostrado que en nuestro medio la bacteria se presenta en el 91% de los casos de gastritis crónica activa, 73% de pacientes con úlcera gástrica y 87% en casos de úlcera duodenal (5,6).

Por otra parte *Helicobacter pylori* implicado desde su aislamiento, en diversas afecciones gastrointestinales, fue clasificada en 1992 como agente carcinogénico (Agencia Internacional para la investigación del Cáncer IARC - 1994). Esta agencia auspiciada por la OMS, ha categorizado a la infección por *Helicobacter pylori* como un carcinógeno clase I, notificando que la proporción de nuevos casos de cáncer gástrico atribuibles a la bacteria, asciende a más de 300,000 casos al año en todo el mundo. El grupo de estudio Eurogast determinó que la presencia del *Helicobacter pylori* confiere aproximadamente 6 veces más riesgo de cáncer gástrico frente a aquellos que no la presentan (7,8).

Existen dos cánceres asociados con *Helicobacter*

*pylori*: el carcinoma gástrico y el linfoma de la mucosa asociada con tejido linfoide (MALT). En el primer caso, de los dos tipos histológicos existentes de cáncer gástrico (el llamado difuso o anaplásico y el intestinal o adenocarcinoma bien diferenciado), es este último el que presenta una prevalencia en ascenso (epidémico) en el tercer mundo y se encuentra fuertemente asociado al *Helicobacter pylori*; sin embargo ambos tipos tienen mayor prevalencia en personas infectadas con la bacteria (8,9).

En el caso del linfoma de la mucosa asociada con tejido linfoide (MALT) pueden precederse cambios malignos, que más tarde causarían un linfoma gástrico de grado bajo. Estudios biopsicos retrospectivos muestran que el 90% de los linfomas MALT, están asociados con la presencia de *Helicobacter pylori*.

Los estudios de seguimiento sugieren que los mecanismos inmunes del organismo contra *Helicobacter pylori* inducen atrofia gástrica, una lesión avanzada asociada al posterior desarrollo de cáncer de estómago (8). Además, respecto a los mecanismos carcinogénicos, la intensa amonemia resultante de la actividad de la ureasa, puede promover la división celular. De otro lado, la excesiva producción de metabolitos reactivos de oxígeno podrían conducir al daño del DNA y a mutaciones moleculares posteriores (9,10).

Debido a la alta prevalencia de *Helicobacter pylori* a nivel mundial, ésta ha llegado a ocupar el segundo lugar de todas las enfermedades infecciosas que se conocen. Se calcula que en los países en desarrollo afecta a cerca del 20% de las personas menores de 40 años y al 50% de las personas mayores de 60 años de edad.

La presencia de *Helicobacter pylori*, es más frecuente en poblaciones de estrato social bajo y su prevalencia en niños incrementa el riesgo de transmisión a la población adulta, principalmente entre miembros familiares (11). En el Perú se ha encontrado igual prevalencia de la infección en todos los grupos socioeconómicos, con excepción de mujeres de alto nivel socioeconómico (12). Del mismo modo en nuestro país se ha demostrado que la infección en niños se produce en edades más tempranas que en el resto del mundo (6).

Sangre de Grado, (*Croton lechleri*) árbol de gran tamaño (entre 10 a 20 metros) que crece a lo largo de los trópicos y las regiones del Amazonas de América del Sur, contiene una resina roja o "sangre", la cual junto con su corteza tienen una larga historia de uso indígena en América del Sur. La usan las tribus

indígenas en nuestro país internamente y externamente como cicatrizante de heridas, leucorrea, fracturas (13,14,15,16) y también en la medicina folclórica Brasileña, para enfermedades intestinales y úlceras gástricas (15,18).

Otros usos indígenas incluyen baños vaginales antes de la menarquia (16), hemorragias después de las menarquia (17), desórdenes de la piel (18,19), duchas vaginales antisépticas, para las heridas y úlceras en la boca, garganta y estómago (18), así como para los desórdenes superficiales como el eczema (20,22).

Puesto que mucha de la investigación en Sangre de Grado se ha realizado en países en vías de desarrollo, gran parte de ésta no ha sido publicada. Además de ello, la mayoría de los estudios han estado orientados a la determinación de sus componentes y no tanto en relación a sus propiedades, menos aún sobre sus propiedades antibacterianas.

Algunos principios activos de Sangre de Grado han sido identificados, e incluyen proantocianinas (antioxidantes), taninos, un língan de nombre Dimetil cedrusina, y un alcaloide llamado Taspina. El alcaloide Taspina ha sido documentado como cicatrizante, antiinflamatorio, actividad contra el desarrollo de sarcomas y acción antiviral (específicamente contra Herpesvirus) (23). Varios estudios entre 1991 y 1993 también le confieren propiedades antitumorales in vitro (24). Málaga en 1991 demostró el efecto cicatrizante de Taspina en úlceras gástricas agudas inducidas por Indometacina en ratas, sugiriendo que este efecto se debería a la estimulación de la migración de fibroblastos, actividad atribuida al clorhidrato de Taspina (27).

En 1994, se encontraron otros fitoquímicos, incluyendo los compuestos fenólicos, proantocianinas y diterpenos que mostraron actividad antibacteriana potente así como propiedades curativas de heridas (25).

Estudios realizados por Chen y col. en Bélgica revelaron que la resina cruda estimuló la curación de heridas, ayudando a la formación de una cicatriz en el sitio de la herida, acelerando la regeneración de la piel y la formación de nuevo colágeno (26).

En este sentido, tomando en consideración la importancia de *Helicobacter pylori* en la generación de úlceras gástricas y duodenales, y la información existente sobre las propiedades curativas de la Sangre de Grado frente a estas afecciones, y motivado por la necesidad de productos alternativos que contribuyan a la prevención y erradicación de esta enfermedad, se realizó el presente trabajo de investigación que tuvo

como objetivo determinar in vitro, la actividad antibacteriana de la sangre de grado, frente a *Helicobacter pylori*.

## MATERIALES Y METODOS

### MUESTRA BIOLÓGICA

Se emplearon 41 cepas de *Helicobacter pylori* aisladas de muestras clínicas (biopsias gástricas), las mismas que fueron reconstituidas en agar Columbia (Remel Lanexa) con 5% de sangre de carnero mas suplemento Skirrow (Vancomicina 2.0 mg, Polimixina 50 ug, Trimetoprim 1 mg), las placas fueron incubadas en microaerofilia con generadores para tal fin, por un periodo de cuatro a cinco días. Las colonias obtenidas fueron identificadas mediante coloración Gram, prueba oxidasa, catalasa y ureasa, siendo positivas a todas ellas.

### VARIETADES DE SANGRE DE GRADO

Se emplearon cuatro presentaciones diferentes de Sangre de Grado:

- a) Látex libre de solventes brindado por laboratorios Química Suiza código 901200083.
- b) Látex libre de solventes obtenido en la Ciudad de Tarapoto, proporcionado por un alumno de la Escuela de Tecnología Médica – UPCH, oriundo de la zona.
- c) Sangre de grado comercial marca “Dragón” , comprado en un centro naturista de la Av. Tacna en Lima .
- d) Sangre de grado obtenido en un puesto ambulatorio Naturista del Distrito de Breña en Lima .

En todos los casos se empleó la sangre de grado tal y como fue recibida de sus fuentes originales.

### DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

#### MÉTODO DE DIFUSIÓN

Una primera etapa estuvo orientada a la determinación cualitativa de la actividad antibacteriana, para tal fin se empleó el método de difusión de discos, empleando como medio de cultivo agar Columbia con 5% de sangre de carnero (obtenida del Instituto Nacional de Salud), con suplemento adicional de 1% de IsoVitalex (BBLTM – Becton Dickinson and Co.).

Sobre la superficie del medio, se inocularon las cepas

de *Helicobacter pylori* con hisopos estériles a partir de una suspensión en suero fisiológico con turbidez equivalente al tubo N° 0.5 de la escala de Mac Farland ( $1.5 \times 10^8$  UFC/ml), seguidamente se colocaron discos de papel filtro estériles de tamaño estándar, a los que se añadió 10 µL de sangre de grado de cada una de las presentaciones por separado.

Las placas fueron incubadas a 37°C en condiciones de microaerofilia por un periodo de tres a cuatro días, luego de los cuales se midieron los halos de inhibición producidos alrededor del disco.

Se incluyeron controles de crecimiento: discos estériles embebidos en suero fisiológico.

#### DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA

Para la determinación de la concentración inhibitoria mínima, se realizó la prueba de dilución en microplacas, para tal fin se empleó agar Columbia con 5% de sangre de carnero, suplementado con 1% de Isovitalex. A este medio se añadió la sangre de grado de las diversas procedencias en diluciones de: 1:2, 1:4, 1:8, 1:10, 1:25, 1:50, 1:100, considerando en cada caso la cantidad de medio de cultivo para el volumen final.

2 ml del medio fueron vertidos en placas para cultivos celulares de 24 pocillos (6 X 4). Incluyéndose un pocillo con medio de cultivo libre de sangre de grado, como control positivo de crecimiento para cada cepa testada.

Preparado el medio en las condiciones habituales de esterilidad, fue expuesto a luz ultravioleta por dos horas e incubadas a 37°C por 24 horas a fin de descartar contaminación.

El inóculo empleado fue preparado en tubo 13X100 con 4 ml de suero fisiológico estéril, al que se le añadieron colonias de *Helicobacter pylori* hasta alcanzar una turbidez equivalente al tubo N° 0.5 de la escala de Mc Farland (aproximadamente  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml), se realizó una dilución 1:10 de este tubo a partir del cual se extrajo 10 µl de muestra ( $1.5 \times 10^5$  UFC/ml) que fue el inóculo final.

El inóculo final fue depositado sobre la superficie de las placas con el medio de cultivo en concentraciones decrecientes y estas fueron incubadas en microaerofilia a 37 °C por un periodo de tres a cuatro días, luego del cual se extrajeron las placas para observar el crecimiento microbiano en la superficie de las placas. Las colonias fueron sometidas a coloración Gram, prueba de oxidasa y ureasa.

Se consideró como el MIC, la concentración más baja de sangre de grado que inhibió el crecimiento visible de la bacteria.

#### DETERMINACION DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA

Una vez determinada la CIM, se procedió a determinar la concentración mínima bactericida de la Sangre de Grado frente a *Helicobacter pylori*. Se realizaron diluciones decrecientes de sangre de grado en caldo BHI (1:2, 1:4, 1:6), así mismo se empleó un tubo estéril con 2 ml de sangre de grado pura y otro de caldo BHI puro como control de crecimiento.

Se inoculó a cada tubo una misma concentración de *Helicobacter pylori* ( $10^5$  UFC), estos medios fueron incubados en condiciones de microaerofilia a 37 °C por 24 horas. Luego de este tiempo se extrajeron 100 µl del medio de cultivo que fueron sembrados en placas de agar Columbia con 5% de sangre de carnero suplementado con 1% de IsoVitalex, estas placas fueron incubadas hasta por siete días en condiciones de microaerofilia a 37°C.

Luego del período de incubación las placas fueron revisadas para evidenciar crecimiento de la bacteria, se consideró como la CMB a la menor concentración a partir de la cual no se recuperaba a la bacteria.

#### RESULTADOS

##### MÉTODO DE DISCOS DE DIFUSIÓN

Los resultados muestran un efecto inhibitor del crecimiento de *Helicobacter pylori* por las cuatro presentaciones de Sangre de Grado, sin embargo diferentes presentaciones de sangre de grado pueden tener diferente actividad antibacteriana, así tenemos que el halo de inhibición producido por la Sangre de Grado proporcionado por los laboratorios Química Suiza varía entre 12 a 18 mm de diámetro, con un promedio de 15.56 mm, mientras que la Sangre de Grado proveniente de la ciudad de Tarapoto, produjo un halo de inhibición que varía entre 11 a 17 mm de diámetro con una media de 14.98 mm.

En el caso de la sangre de grado comercial (marca Dragón) el halo de inhibición varía entre 11 y 17 mm de diámetro, con un promedio de 14.68 mm, finalmente con la sangre de grado procedente de un puesto naturista del distrito de Breña el halo de inhibición varía entre 11 y 16 mm de diámetro, con promedio de 14.22 mm.

El análisis estadístico de los resultados mostró que

esta diferencia fue altamente significativa entre los resultados obtenidos a partir del producto proporcionado por Laboratorios Química Suiza y el Centro Naturista ( $p < 0.0001$ ), una diferencia significativa entre los resultados de la Sangre de Grado de Química Suiza y la Sangre de Grado marca Dragón ( $p < 0.01$ ), así también una diferencia significativa entre los resultados con la Sangre de Grado proveniente de Tarapoto y del centro naturista ( $p < 0.01$ ).

No se ha encontrado diferencia estadísticamente significativa entre los resultados obtenidos entre el producto de Laboratorios Química Suiza y el Producto proveniente de Tarapoto, entre la Sangre de Grado marca "Dragón" y la del centro naturista, tampoco entre la Sangre de Grado proveniente de Tarapoto con la de marca "Dragón".

#### DETERMINACION DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)

Los resultados obtenidos en las pruebas de determinación de la concentración mínima inhibitoria muestran que el efecto inhibitorio de Sangre de grado frente a *Helicobacter pylori* se da a las mayores concentraciones. La CIM de las diferentes presentaciones de sangre de grado varía entre el producto puro (sin diluir) y la dilución de 1:8. Diluciones iguales o superiores a 1:10 no muestran efecto inhibitorio del crecimiento de la bacteria.

Los resultados obtenidos de acuerdo a la procedencia de la sangre de grado muestran diferencias, al igual que en la determinación cualitativa, así tenemos que para el caso de la sangre de grado proporcionada por Laboratorios Química Suiza, el  $MIC_{90}$  (concentración que inhibe al 90 de cepas testadas) fue el producto puro (concentrado), el  $MIC_{50}$  (concentración que inhibe al 50 de cepas testadas) fue la dilución de 1:2.

Para las otras presentaciones de sangre de grado (proveniente de Tarapoto, comercial de marca Dragón y la de expendio ambulatorio) el  $MIC_{90}$  y  $MIC_{50}$  fue en todos los casos el producto concentrado, como se puede observar en la tabla N° 1.

#### DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)

Los resultados obtenidos muestran un efecto bactericida de la sangre de grado concentrada (producto puro) frente a *Helicobacter pylori*. Estos resultados se repiten de manera similar con todas las presentaciones evaluadas.

Sin embargo se ha determinado que la sangre de grado diluida pierde su efecto bactericida. Los resultados muestran que el producto a partir de la dilución  $\frac{1}{2}$  y las posteriores, no presentan efecto bactericida, estos resultados se repiten para cualquiera de las presentaciones de la sangre de grado evaluadas.

#### DISCUSIÓN

En la actualidad está ampliamente aceptado que *Helicobacter pylori* es el agente etiológico de una infección, que se expresa a través de diferentes formas clínicas: gastritis, enfermedad ulcerosa e inclusive un tipo histológico de cáncer gástrico. Por lo tanto resulta evidente la necesidad de abordar el problema mediante una terapia de erradicación de la bacteria.

Para ello existen diferentes esquemas de tratamiento antimicrobiano, pero la aplicación a gran escala de regímenes de antibióticos es costosa y presenta dificultades relacionadas con la aceptación de los pacientes, efectos colaterales, seguimiento del régimen de tratamiento y también aparición de resistencia a los antibióticos que puede conducir a la disminución a mediano o largo plazo de la efectividad de este enfoque de tratamiento para esta importante afección.

En tal sentido surge la necesidad de alternativas de tratamiento a los antimicrobianos existentes. Una opción a considerar son el uso de productos naturales, que en los últimos tiempos están alcanzando niveles mayores de aceptación, ello debido a su accesibilidad económica, baja tasa de efectos colaterales y la difusión de sus efectos benéficos, ejemplo de ello es la Sangre de Grado, motivo de esta investigación.

Los resultados de este estudio demuestran que la Sangre de grado tiene actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori*, así mismo se ha demostrado que para el producto concentrado, este efecto es de tipo bactericida y no solo bacteriostático. Así también, los resultados indican que el efecto antibacteriano se da a concentraciones elevadas del producto y que no la hemos evidenciado a diluciones de 1/10 o mayores.

Estudios anteriores han mostrado que la sangre de grado tiene efecto positivo en el tratamiento de las úlceras gástricas y la gastritis (13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24). La actividad curativa estaría relacionada con el efecto cicatrizante del Clorhidrato de Taspina, producto de la estimulación en la migración de los fibroblastos, como ha sido probada por Málaga y Vaisverg respectivamente (27).

Esta propiedad cicatrizante de la sangre de grado podría ser complementada con la actividad antibacteriana que

conllevaría a la disminución o erradicación de *Helicobacter pylori*, con lo que se eliminaría la alteración producida a nivel de la mucosa gástrica por la colonización de la bacteria.

Algunos estudios han mostrado que la sangre de grado a concentraciones mayores de 1:300, tienen efecto citotóxico sobre las células de la mucosa gástrica (22,24). La dosis usual en los nativos de la amazonia es bastante diluida (aproximadamente tres gotas en un vaso de agua o una cucharada pequeña en un litro de agua) obviamente mucho mas diluida que la concentración que inhibe el crecimiento de *Helicobacter pylori*, según lo muestran nuestros resultados. Aparentemente ello nos conduce a una discrepancia entre la actividad antibacteriana de sangre de grado y sus efectos terapéuticos en gastritis y úlcera gástrica.

Al respecto Miller y col. (24) realizaron un estudio *in vivo* en el que experimentalmente produjeron úlceras en estomago de ratas y luego las trataron con diluciones de 1:1000 y 1:10,000 de sangre de grado (equivalente a las empleadas por los nativos amazónicos). Sus resultados evidenciaron disminución de la flora bacteriana estadísticamente diferente a los controles no tratado con sangre de grado, en este estudio se consideró únicamente enterobacterias y no *Helicobacter pylori*. El mismo estudio mostró que la sangre de grado además de su potente actividad antibacteriana *in vivo*, reduce la actividad de la enzima Mieloperoxidasa, así como reducción en el tamaño de la úlcera gástrica, y la disminución de la expresión de genes proinflamatorios: factor de necrosis tumoral-  $\alpha$ , Oxido nítrico sintetasa inducible (iNOS), Interleukina 1 $\beta$ , Interleukina-6 y Ciclooxygenasa-2, principalmente iNOS e IL-6. Comparando esta actividad *in vivo* frente a los resultados obtenidos con Ampicilina, sus resultados muestran que la dilución de sangre de grado 1:1000, es más efectiva que los resultados obtenidos con Ampicilina en la dosis terapéutica, además que el efecto antibacteriano de sangre de grado esta acompañado por una disminución de la inflamación, lo que no ocurre con la Ampicilina.

Por otra parte, Elliot y col. (25) realizando un estudio *in vitro*, encontraron que la sangre de grado tiene un efecto inhibitor del crecimiento de *Escherichia coli*, hasta en una dilución de 1:10, y que a 1:100, el efecto inhibitor no se manifiesta. Resultados similares a los nuestros con *Helicobacter pylori*, que nos llevaría a postular que la actividad antibacteriana se potencia notablemente *in vivo*, acompañado por factores inmunológicos que posibilitarían tal efecto. Ello se ratifica por la descripción de Elliot y col. de un factor "epidermal" de crecimiento y la evidencia de los

cambios en la absorbancia UV, cuando la sangre de grado es mezclada con la secreción gástrica, lo que sugiere una interacción que alteraría el microambiente gástrico transformándolo en un medio incompatible con el crecimiento de la bacteria (26).

El efecto antibacteriano, a concentraciones elevadas de sangre de grado frente a *Helicobacter pylori*, no disminuye la importancia de este producto natural en el tratamiento efectivo de las afecciones causadas por esta bacteria, como es explicado en los párrafos anteriores. Al respecto se debe considerar también que, la sangre de grado está compuesta por diversos componentes: proantocianinas (antioxidantes), taninos, un lignan de nombre dimetil cedrusina, y un alcaloide llamado Taspina, entre otros. Uno o más de los cuales presentaría un efecto antibacteriano, pero que su actividad se encuentra disminuida por su dilución entre los demás componentes de la sangre de grado.

El estudio que presentamos, tiene como ventaja frente a los anteriores que se trabajó directamente con *Helicobacter pylori*, agente etiológico de la gastritis y úlcera, así mismo la metodología empleada (métodos de referencia para evidenciar efecto antibacteriano), nos permitió determinar la concentración mínima inhibitoria y la actividad bactericida de la sangre de grado.

Los resultados obtenidos, atribuyen efecto inhibitor del crecimiento a las distintas presentaciones de sangre de grado incluidas en el presente estudio, sin embargo existen diferencias notables en la actividad antibacteriana entre estos productos, observándose la mayor diferencia entre el producto proveniente de Laboratorios Química Suiza y el obtenido de un centro naturista, tal como se muestra en los resultados.

Asumimos que estas diferencias se podrían deber a la pureza del producto, y su origen, pues se sabe que existen diversas especies del género *Croton* y las propiedades curativas son atribuidas a la especie *Croton lechleri*, para el caso de la sangre de grado donada por Química Suiza y la proveniente de la ciudad de Tarapoto, su pureza y origen se encuentran garantizadas, y los resultados analíticos muestran que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antibacteriano de estas dos presentaciones.

La menor actividad inhibitora de la sangre de grado marca Dragón y la obtenida del centro naturista, respondería a que en estos casos el producto pudo haber sido suspendido en algún solvente, lo cual disminuiría su actividad antibacteriana o provenga de otra especie del género.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, estimulan a continuar las investigaciones sobre diversos aspectos todavía desconocidos: actividad antibacteriana de los componentes de la sangre de grado frente a *Helicobacter pylori*, estudios *in vivo* con el modelo animal adecuado que permitan dilucidar la incógnita existente sobre los factores y mecanismos involucrados en la diferencia entre la actividad *in vitro* e *in vivo*, además de su actividad frente a otras especies bacterianas.

Estudios de esta naturaleza permitirán mejorar el tratamiento, estandarizarlo con el soporte de evidencia científica y difundirlo; posibilitando con ello ampliar la cantidad de beneficiados, con un producto de bajo costo, sin efectos adversos, elevada efectividad y ampliamente difundido en nuestro territorio, inclusive fuera de la amazonia.

Agradecimientos: Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología - CONCYTEC, por haber financiado el estudio.

Al Dr. Raul Leon Barua por su invaluable apoyo profesional brindado para la presentación de este trabajo

### Correspondencia:

Jesús Tamariz Ortiz  
 Facultad de Medicina "Alberto Hurtado"  
 Universidad Peruana Cayetano Heredia  
 Av. Honorio Delgado s/n Urb Ingeniería  
 San Martín de Porres Lima Peru

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Feldman M. *Helicobacter pylori* and the Etiology of Duodenal Ulcer: Necessary but Not Sufficient. *Am J Med* 1991;91:563-5.
- Novartis Biosciences Perú S.A Enfermedad Ácido Péptica (Monografía Zurcal®) 1997; 27-33.
- Labenz J, Guillenburg B. Long term consequences of *Helicobacter pylori* eradication: clinical aspects. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996; 215 : 111-115.
- Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 173.
- Ramírez-Ramos, León-Barúa R, Gilman RH, et al. *Helicobacter pylori* and gastritis in Peruvian patients : relationship to socioeconomic level, age and sex. *Am J Gastroenterol* 1990; 85(7) : 819-23.
- Klein P. The Gastrointestinal Physiology Working Group of Cayetano Heredia and the Johns Hopkins Universities, Graham D, et al High prevalence of *Campylobacter pylori* (CP) infection in poor and rich Peruvian children determined by 13C-urea breath test (13C-UBT). *Gastroenterology* 1989; 96 : A260.
- EUROGAST Study Group. An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Lancet* 1994; 341: 1359-62.
- Forman D. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Scand J Gastroenterol* 1996; 215: 48-51.
- Forman D, Newell DG, Fullerton F et al. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence of a prospective investigation. *Br Med J* 1991; 302:1302-5.
- Brener T Sudhop T. Prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Germany. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996 ; 89 (1) : 47-52.
- Ramírez Ramos A, Gilman RH, Recaverren S, et al. Detección del *Campylobacter pilorico* en pacientes con enfermedades gastroduodenales. *Acta Gastroent Latin American* 1986; 16 : 9-22.
- Ramírez Ramos A, Gilman RH, Recavarren S, et al . *Campylobacter pylori*, gastritis crónica, duodenitis crónica úlcera gástrica y úlcera duodenal . *Arq Gastroent Sao Paulo* 1987 ; 24 : 10-5.
- Vasquez, M. R., *Useful Plants of Amazonian Perú*. Second Draft. Filed with USDA's National Agricultural Library. U, 1990.
- Piles Rutter, R.A. *Catalogo de Plantas Utiles de la Amazonia Peruana*. Instituto Linguistico de Verano. Yarinacocha, Perú.(5) 1990.
- Duke, James & Vasquez, Rudolfo, *Amazonian Ethnobotanical Dictionary*, CRC Press Inc.: Boca Raton, FL, 1994.
- Maxwell, Nicole, *Witch Doctor's Apprentice, Hunting for Medicinal Plants in the Amazon*, 3<sup>rd</sup> Edition, Citadel Press: New York, NY. 1990.
- Rios, Marlene Dubkin de, *Amazon Healer, The Life and Times of an Urban Shaman*. Avery Publishing Group, Carden City Park, NY 1992; (268).
- Phillipson JD. A matter of some sensitivity. *Phytochemistry*, 1995.
- Kember Mejia and Elsa Reng, *Plantas medicinales de uso popular en la Amazonia Peruana*. AECI and IIAP, Lima, Perú.(75). 1995.
- Vlietinck, A.J. and Dommissie, R.A. eds. *Advances in Medicinal Plant Research*. Wiss. Verlag; Stuttgart, Germany.
- Itokawa H, et al. 1991. A cytotoxic substance from Sangre de Grado. *Chem Pharm Bull* (Tokyo) 1985; 39(4): 1041-1042.
- Chen ZP, et al. Studies on the anti-tumour, anti-bacterial, and wound-healing properties of dragon's blood. *Planta Med*, 1994 Dec.
- Tieters L, et al. Isolation of a dihydrobenzofuran lignan from South American dragon's blood (*Croton p.*) as an inhibitor of cell proliferation. *J Nat Prod*, 1993 Jun.
- Mieller Mark, Naughton W., Xiao-Jing Zhang, Thompsom, J., Charbonet R., Bobrowski P., Lao J., Trentacosti A. Treatment of gastric ulcers and diarrhea with the Amazonian herbal medicine sangre de grado. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: 192-200
- Elliot SN, Buret A, McKnight W, Miller MJS, Wallace JL. Bacteria rapidly colonize and delay the healing of

- gastric ulcers in rats. Am. J Physiol Gastrointest Liver Physiol 1998; 275: 424-432.
26. Elliot SN, Wallace JL, Mc Knight W, Gall DG, Harding JA, Olson M, Buret A. Bacterial colonization and healing of gastric ulcers: the effects of epidermal growth factor. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000, 278: 105-112.
27. Malaga Trillo G. Efecto del clorhidrato de Taspina sobre la curación de úlcera gástrica inducida en ratas, Tesis para optar el grado de bachiller en Ciencias con mención en Biología. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima 1991.