

Universidad Nacional
Federico Villarreal

Profesionales formando profesionales

Vicerrectorado de
INVESTIGACION

Facultad de Odontología

EVALUACION IN VITRO DEL EFECTO DEL CAMELLIA SINENSIS (TE VERDE),
SOBRE CULTIVOS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175)

Línea de Investigación: Genética, bioquímica y biotecnología

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR

Peralta Romero, Eduardo

ASESOR

Mg. Esp. CD. Cesar Félix Cayo Rojas

JURADO

Dr. Sotomayor Mancicidor, Oscar Vicente

Dr. Alvitez Temoche, Daniel

Dr. Mendoza Lupuche, Román

Lima-Perú

2020

Agradecimientos

A mi asesor y a los docentes que integran mi Jurado, por la voluntad, el tiempo y conocimientos
brindado a mi persona.

A mi familia y amigos por su apoyo incondicional en la realización de este estudio.

Dedicatoria

A Dios por estar siempre a mi lado
guiándome en cada paso que doy.

A mis padres Julián y Sabina, por su
sacrificio, cariño y apoyo
incondicional en el logro de mis
metas.

Índice

Resumen	
Abstract	
I. Introducción	1
1.1 Descripción y formulación del problema	2
1.2 Antecedentes	4
1.3 Objetivos	7
- Objetivo General	
- Objetivo Específicos	
1.4 Justificación	8
1.5 Hipótesis	8
II. Marco Teórico	9
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	9
III. Método	18
3.1 Tipo de investigación	18
3.2 Ámbito temporal y espacial	18
3.3 Variables	18
3.4 Población y muestra	18
3.5 Instrumentos	19
3.6 Procedimientos	19
3.7 Análisis de datos	23

3.8 Consideraciones éticas	23
IV. Resultados	24
V. Discusión de resultados	33
VI. Conclusiones	36
VII. Recomendaciones	37
VIII. Referencias	38
IX. Anexos	41

Resumen

El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano in vitro, del extracto hidroalcoholico del té verde en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% sobre cultivos de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en 30 muestras durante el tiempo de 48 horas. El estudio, fue experimental in vitro, prospectivo, transversal y comparativo, se realizó el método de difusión del Agar, para las mediciones de los halos de inhibición se utilizó un calibrador vernier registrándolos en una ficha de recolección de datos, se procesó los datos en el programa estadístico SPSS y se realizó la prueba no paramétricas de Kruskal Wallis, utilizando gráficos descriptivos. Los resultados del estudio muestra que la clorhexidina al 0.12% presento un mayor efecto antibacteriano en todas las muestras, comparado con las del extracto de té verde que solo tuvo mejor efecto en las concentraciones de 100% y 75% , siendo las concentraciones de 25% y 50% las que presentaron bajo efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Concluimos que el extracto de té verde en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% poseen eficacia antibacteriana sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), observándose que a medida que aumenta la concentración, mayor es el nivel inhibición sobre el *Streptococcus*; por lo tanto, el extracto de té verde podría usarse en tratamientos alternativos de enfermedades de tejidos duros y periodontales, en forma de pastas dentales, colutorios los cuales tenga como componentes el extracto de té verde.

Palabras claves: *Camellia sinensis*, *Streptococcus mutans*, caries dental.

Abstract

The objective of the study was to evaluate the antibacterial effect in vitro, of the hydroalcoholic extract of green tea in the concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% on cultures of strains of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), in 30 samples during the 48 hour time.

The study was experimental in vitro, prospective, cross-sectional and comparative, the Agar diffusion method was carried out, for the measurements of the inhibition halos a vernier caliper was used, recording them in a data collection sheet, the data was processed in the SPSS statistical program and the Kruskal Wallis non-parametric test was performed, using descriptive graphics.

The results of the study show that chlorhexidine 0.12% presented a greater antibacterial effect in all samples, compared to those of green tea extract, which only had a better effect in concentrations of 100% and 75%, with concentrations of 25%. and 50% those that showed a low inhibitory effect on the *Streptococcus mutans* strains (ATCC 25175). We conclude that green tea extract in concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% have antibacterial efficacy on *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), observing that as the concentration increases, the greater the inhibition level on *Streptococcus* ; therefore, green tea extract could be used in alternative treatments for hard tissue and periodontal diseases, in the form of toothpastes, mouthwashes which have green tea extract as components.

Key words: *Camellia sinensis*, *Streptococcus mutans*, dental caries.

I. Introducción

Según MINSA el 90% de la población padece de caries dental, esta es una de las patologías más comunes de la cavidad bucal en nuestra población, la presentación básica de la enfermedad implica la desmineralización del componente inorgánico y la posterior descomposición de las partes orgánicas del esmalte y la dentina, así mismo la etiología de la caries dental se asocia con la disolución acida de los componentes minerales del diente por lo tanto, la caries dental es una enfermedad multifactorial que necesita de un huésped susceptible, una microflora cariogénica y un sustrato adecuado que debe estar presente durante un periodo de tiempo suficiente para poder originar la caries dental.

En lo que se refiere al factor microbiológico se encuentran las bacterias como el *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* y *Actinomyces naeslundii* causantes de caries dental, en cuanto al huésped se asocia la falta de higiene o una despreocupación por el mantenimiento y cuidados que se debe tener en la salud bucal para así de esa manera evitar contraer caries dental y en cuanto al sustrato existen alimentos cariogénicos y no cariogénicos dentro de los no cariogénicos podríamos incluir al té verde por los beneficios que brinda en la salud bucal reportados en estudios.

En la actualidad se emplean varios tipos de plantas medicinales para combatir ciertas enfermedades, una de ellas es el té verde, que es utilizado en diversas provincias del país y del mundo, se toma como infusión y también es un poderoso antioxidante que posee propiedades curativas, a las cuales se le atribuyen acción antimicrobiana debido a sus componentes.

Así mismo el té verde presenta en su composición concentraciones de flúor que son las causantes de la reducción de caries dental y una de las maneras más comunes aparte de las infusiones es el uso en forma de extractos hidroalcohólicos de té verde.

Las ventajas del consumo de té verde son diversas, ya que es de fácil acceso, bajo costo y sobre todo tiene pocos efectos colaterales indeseables. La presencia de taninos que presenta en su composición tiene la propiedad de inhibir la síntesis de la dextrosa, así como el flúor que inhibe la acción enzimática, los flavonoides inhiben la adherencia de la placa bacteriana, entre otros, por lo tanto el té verde confiere un efecto inhibitorio en el desarrollo del *Streptococcus mutans*.

Para el desarrollo de esta investigación, se utilizó artículos actualizados, que permitieron sustentar los procedimientos para lograr resultados confiables y alcanzar los objetivos planteados.

La presente investigación fue de tipo experimental in vitro, prospectivo, transversal y comparativo, con cuyo diseño se pudo responder a la interrogante que motivo al estudio.

1.1 Descripción y formulación del problema

El uso de las plantas con fines terapéuticos es de gran utilidad ya que de ellas se obtienen innumerables sustancias químicas de origen vegetal, los efectos farmacológicos proporcionados por dichas plantas proviene de uno o más de sus componentes. Los grupos farmacológicos diferentes de una misma planta pueden originar diversas actividades fitoterapéuticas, la mayoría de los investigadores tienden a utilizar los principios activos de las plantas nativas, sin embargo el uso de estas plantas puede ser efectivo si se utiliza al natural o a través de extractos de sencilla preparación. En las poblaciones de Asia y África es muy común la masticación de diferentes plantas con el fin de controlar enfermedades orales como caries dental, así mismo esto se ve reflejado por su bajo número de caries y enfermedades periodontales que presentan dichos grupos nómades de dichas regiones (Namita, Mukesh & Vijay, 2012).

Los compuestos polifenólicos del té verde (taninos) tienen mucha afinidad a las proteínas, lo que favorece la precipitación e inactivación de las mismas, frente a procesos inflamatorios y

acción antimicrobiana, así como también posee una gran cantidad de fluoruro lo que previene la formación de caries dental y mantiene la integridad de las piezas dentarias en la cavidad bucal.

Así mismo el té verde inhibe la amilasa en la saliva, disminuyendo la liberación de hidratos de carbono como la maltosa, disminuyendo efectivamente el potencial cariogenico del almidón contenido en la comida, siempre y cuando el consumo de té verde sea parte de la dieta diaria que consume dicha persona, en conclusión el té verde ha sido considerado como bebida funcional para la salud oral y es ampliamente recomendada en diferentes presentaciones tales como pastas dentales, colutorios para enjuagues bucales, y geles para aplicación como ungüento (Namita *et al.*, 2012).

La caries es una enfermedad multifactorial que tiene como principal productor a las bacterias *Streptococcus mutans* seguido del *Streptococo sanguis* y *Streptococo salivarius*, es por ello que es muy importante el control de la proliferación de dichos organismos mediante la utilización de sustancias antimicrobianas que inhiban el desarrollo de estas en la cavidad bucal (Ojeda, Oviedo y Salas, 2013).

La clorhexidina es el antiséptico más empleado por ser considerado el colutorio más efectivo y de mayor utilización, debido a que alcanza una reducción de la gingivitis y de la placa dental, mediante la disminución de la formación del biofilm y la alteración del desarrollo bacteriano. Por lo tanto en la búsqueda de un producto más económico y accesible para el control de la caries surge la idea de utilizar el extracto de té verde (Calsina y Serrano, 2005).

En este trabajo realizado se utilizó extracto hidroalcoholico de té verde en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%, en cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y se evaluó su efecto antibacteriano comparando las diferentes concentraciones y con el control positivo (clorhexidina al 0.12%).

Debido a las propiedades antibacterianas que posee el extracto hidroalcohólico de té verde, es que se propone su uso como una alternativa de tratamiento natural frente a los fármacos convencionales en la prevención de las enfermedades bucales, entonces es de esperar que surja la siguiente interrogante:

¿Cuál es la eficacia antibacteriana del extracto hidroalcohólico de té verde frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

1.2 Antecedentes

Anita, Shyam, Madan, Nanda & Sumathi (2015) realizaron un estudio el cual tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto de *C. sinensis* (té verde) sobre *S. mutans* y *L. acidophilus*. El estudio realizado fue experimental in vitro y los extractos acuosos, acetónicos y etanólicos de *C. sinensis* fueron sometidos al análisis antioxidante así mismo el extracto etanólico se utilizó para evaluar las propiedades antimicrobianas utilizando extracto de té verde etanólico a diez concentraciones diferentes y clorhexidina al 0,2% como grupo control. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CIM), la concentración bactericida mínima (MBC) y la zona de inhibición de los grupos de estudio y control contra *S. mutans* y *L. acidophilus*. Se utilizó la Prueba U de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney. Encontrando que la zona media de inhibición para el té verde y control contra *S. mutans* fue de 18,33 mm y 14,67 mm, respectivamente y la zona media de inhibición para el té verde y control contra *L. acidophilus* fue de 12,67 mm y 7,33 mm, respectivamente. Concluyendo que el té verde tiene actividad antibacteriana contra las bacterias cariogénicas predominantes (*S. mutans*, *L. acidophilus*).

Jalayer, Niakan, Kharazi & Zardi (2011) realizaron un estudio, el cual tuvo como objetivo determinar la actividad antimicrobiana del té verde y el té negro contra las cepas del

Streptococcus mutans, en la cual se recolecto el té verde evaluando cinco extractos de diferentes concentraciones (50mg/ml, 100mg/ml, 200mg/ml, 300mg/ml y 400mg/ml) de té verde y negro, usando el agar de dilución, encontrando que el té verde y negro iraní tuvo un efecto antibacterial en las concentraciones de 100 a 400 mg/ml, así mismo la zona de inhibición fue de 9.5mm y 10.9mm para el té verde y negro respectivamente. Los resultados fueron que ambos presentaban efecto anti *Streptococcus mutans* además fue el té verde el que presento mayor actividad inhibitoria.

Alvarado y Moromi (2010) realizaron un estudio en el cual comparo la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólicos de tres plantas medicinales como el Plantago mayor (llantén), *Erythroxylum novograntense* var *truxillense* (coca de Trujillo) y *Camellia sinensis* (té verde) utilizando el método de difusión en agar con discos, sobre cinco cepas de bacterias bucales como *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus*. ATCC 314, *Actinomyces viscosus* ATCC 15987, *Prevotella melaninogenicus* ATCC 25845 y *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. Se obtuvieron extractos procedentes de las hojas secas de las plantas, mediante maceración alcohólica con alcohol etílico al 70 %. Cada extracto se diluyó en las concentraciones de 25 µg/mL y 50 µg/mL. Estas soluciones fueron comparadas con PerioAid® (clorhexidina 0,012 %) como control positivo y con alcohol etílico al 70 %, como control negativo. Los extractos hidroalcohólicos en ambas concentraciones presentaron actividad antibacteriana mayor al alcohol etílico (5,8 mm) y menor que el PerioAid® (22,0 mm) sobre las cinco cepas bacterianas. El mayor efecto fue reportado en el extracto de *Camellia sinensis* a 50 µg/mL y el menor efecto antimicrobiano la presento el extracto de Plantago mayor a 25 µg/mL.

Concluyendo que los tres extractos en las diluciones de 25 y 50 µg/mL presentaron actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Prevotella melaninogenica* y *Fusobacterium nucleatum*.

Moromi, Martínez, Villavicencio, Burga y Ramos (2007) realizaron un estudio, cuyo objetivo fue determinar el efecto antimicrobiano (in vitro) de soluciones de *Camellia sinensis* (té verde) de cuatro marcas comerciales (A, B, C y D), se recolectó saliva no estimulada de 40 estudiantes universitarios y se implanto en el medio de Agar Tripticasa soya, así mismo utilizo el método de difusión por discos para las soluciones de té y los controles positivos (Amoxicilina) y negativo (agua destilada), las placas fueron incubaron a 37 °C /24 horas. El procedimiento se realizó con la cepa de *S. mutans* ATCC 25175, de acuerdo a los resultados las cuatro marcas de té verde produjeron halos de inhibición. El análisis estadístico de las cuatro marcas de té determinó que existían diferencias significativas entre las medias de las muestras, encontrando diferencias significativas a nivel de 0.05 entre pares de marcas AB; AC; BD; CD.

De los resultados se concluye que se ha evidenciado la acción antibacteriana para la cepa de *S. mutans*, así como para la microflora mixta salival, y que además existe diferencia dependiendo de la marca utilizada.

Moromi y Martínez (2006) tuvieron como objetivo determinar el efecto de la infusión del té verde al 10 % en la formación de placa bacteriana ocasionada por *Streptococcus mutans* ATCC 25175; realizó cultivos sucesivos cada 24 horas por 7 días. Los resultados mostraron una falta de adherencia en la formación de la placa bacteriana en el alambre de nichrone en los cultivos con infusión de té verde con relación al grupo control, concluyendo que el té verde (*Camelia sinensis*) podría ser utilizada como una alternativa en la prevención de la proliferación de la placa dentaria.

1.3 Objetivos

Objetivo General

Comparar el efecto antibacteriano in vitro del té verde de 100%, 75%, 50%, 25% y la clorhexidina de 0.12% en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.

Objetivos Específicos

1. Identificar el efecto antibacteriano in vitro del té verde al 100% en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.
2. Identificar el efecto antibacteriano in vitro del té verde al 75% en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.
3. Identificar el efecto antibacteriano in vitro del té verde al 50 % en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.
4. Identificar el efecto antibacteriano in vitro del té verde al 25% en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.
5. Identificar in vitro el efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12% en cepas de *Streptococcus mutans*.
6. Comparar el efecto antibacteriano in vitro del té verde entre las concentraciones al 100%, 75%, 50% y 25%.

1.4 Justificación

En la actualidad se está dando importancia a la medicina tradicional o alternativa, en la cual se utilizan plantas medicinales como el té verde que posee propiedades curativas, por lo que considero que sería importante evaluar la acción que presenta dicha sustancia sobre el *Streptococcus mutans*. La presente investigación podrá brindar una elección de tratamiento natural frente al *Streptococcus mutans* y por consiguiente brindar una alternativa en la prevención del tratamiento de la caries dental.

1.5 Hipótesis

El té verde presentaría efecto antibacteriano in vitro en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.

II. Marco Teórico

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 Te verde

La *Camellia sinensis*, nombre científico del té verde, es la segunda bebida más consumida a nivel mundial, seguida del agua mineral (Namita *et al.*, 2012).

Con respecto a la clasificación científica, es perteneciente al reino: *Plantae*, Orden: *Ericales*, Familia: *Theaceae*, Género: *Camellia*, Especie: *C. Sinensis*, Nombre binomial: *Camellia sinensis* (Cabrera, Artacho & Gimenez, 2006).

Se caracteriza por ser un arbusto o árbol de pequeña estatura, generalmente se poda para limitar su tamaño a menos de dos metros para poder recolectar las hojas del té y así se facilita la cosecha. La raíz es pivotante y fuerte, sus flores son de color amarillo blanco, tiene 2.5 a 4 cm de diámetro, con 7 a 8 pétalos. Las semillas de *Camellia sinensis* y *Oleifera* se puede usar para obtener el aceite del té, sus hojas son de 4 a 15 cm de largo y de 2 a 5 cm de ancho; cuando las hojas son jóvenes tienen un color verde claro, que son preferiblemente cosechados para la producción del té, las hojas más viejas son de otra tonalidad de verde (más oscuro), según las edades de estas, la calidad del té puede variar ya que su composición química es diferente. Por lo general, la punta, conocida también como yema y las dos a tres primeras hojas se cosechan para uso exclusivo de ser procesadas, esta recolección se ejecuta cada dos semanas (Namita *et al.*, 2012).

El té crece de manera extensa en las regiones tropicales, subtropicales y para que el crecimiento sea óptimo, se requiere de suelos bien drenados, ricos en materia orgánica y son acidófilas por lo que se necesita un sustrato con pH ácido. Las condiciones ideales para su cultivo son climas húmedos, con temperatura que oscile entre 14 a 27°C, suelen florecer en primavera y fructifica en verano/otoño, se cultiva con alto éxito, y es capaz de soportar desde el

nivel del mar hasta los 2.200 msnm, se obtiene además producciones de alta calidad en zonas que tienen alturas superiores a 1.200 msnm (Cabrera *et al.*, 2006).

2.1.2 Composición

El té verde contiene más de 600 compuestos químicos que actúan en conjunto sobre el sabor, el gusto, el color, los nutrientes y sobre el efecto terapéutico de esta planta. Las hojas del *Camellia sinensis* contienen un 75 a 80% de agua en su composición y de la infusión de las hojas frescas se extrae un 60% de producto soluble y el 40% de producto insoluble corresponde a las sustancias tales como el almidón, la clorofila, resinas, etc., los productos solubles son los que encontramos en la infusión. También contiene un 4 a 7 % de sales minerales ricas en potasio, manganeso y flúor. Otros compuestos minoritarios que también pueden presentarse en el té son ácidos orgánicos como málico, succínico, oxálico y galoquínico; compuestos glucídicos como inositol, azúcares reductores, gomas y pectinas; e incluso un pequeño porcentaje de lípidos (Ulloa, 2009).

2.1.3 Principios activos

Uno de los principios activos responsables de la actividad terapéutica del té verde destacamos a los compuestos polifenólicos, que son de tres tipos: flavonoides (kenferol, miricetol; catequinas, siendo la epigallocatequina galato EGCG la más potente) catecoles y taninos (Valenzuela, 2004).

Su composición química variada presenta efectos terapéuticos, comprobándose que el té verde presenta acción anticancerígena, siendo capaz de contrarrestar la aparición y evitar el desarrollo de diferentes tipos de cáncer, también ayuda a detener el envejecimiento y el avance de algunas enfermedades degenerativas así mismo actúa como estimulante del sistema nervioso, presenta acción diurética, broncodilatadora y astringente (Valenzuela, 2004).

El té verde contiene una variedad de estos antioxidantes y en gran parte el poder antioxidante del té verde se debe a sus catequinas, de las cuales la epigallocatequina galato (EGCG) representa por sí sola el 32% del potencial antioxidante del té verde (Valenzuela, 2004).

Además, el té verde es hipolipemiante es decir, es capaz de reducir los niveles de colesterol LDL (colesterol malo) y de triglicéridos plasmáticos, a la vez que eleva los niveles de colesterol HDL (colesterol bueno). Gracias a sus propiedades antioxidantes, evita la oxidación del colesterol, disminuyendo los niveles de azúcar en la sangre (Valenzuela, 2004).

En cuanto a las propiedades antimicrobianas se encontraron que los extractos de té verde eran capaces de inhibir y eliminar cepas de *Staphylococcus aureus*, *staphylococcus epidermis*, *salmoneda Typhi* y *Vibro* (Ulloa, 2009).

También destaca un alto contenido en flúor que es importante para la remineralización de las piezas dentarias y la protección contra la caries dental, dentro de las propiedades que tiene el té verde, se encuentra la de prevenir las caries. Así mismo en países como China o Japón, donde el consumo de esta bebida es abundante, la población prácticamente no sufre de caries dental. Esto se debería a las propiedades de las catequinas presentes en el té verde, que eliminan a las bacterias cariogénicas (Taylor, Hamilton-Miller & Stapleton, 2005).

La mayoría de los polifenoles en el té verde son flavonoides, comúnmente conocidos como catequinas. Las principales catequinas presentes son: epicatequina (EC), epigallocatequina (EGC), la epicatequina galato (ECG) y la epigallocatequina galato (EGCG), siendo esta última la catequina más abundante en el té. A estos compuestos se les atribuye un efecto antibiótico especialmente contra bacterias gram positivas y anaerobias facultativas del género *Streptococcus*, que actúan en la microflora oral de la siguiente manera: teniendo un efecto bactericida sobre el *Streptococcus* y la flora bacteriana, impide la adhesión bacteriana, inhibe la enzima

glucosiltransferasa de dichas bacterias. Según estudios se ha podido comprobar una serie de propiedades de estos compuestos polifenólicos que permite combatir agentes patógenos como *Staphylococcus aureus* y otras bacterias bucales como *S. mutans* (Chan, Mera, Saikat & Lynch, 2013; Jalayeri, Niakan, Kharazid & Zardi, 2011).

Las catequinas son bioflavonoides, son moléculas que poseen un alto poder antioxidante, logrando proteger a las células de los radicales libres y el estrés oxidativo. Las catequinas fueron generadas por las plantas en el curso de la evolución, como protección contra los factores ambientales dañinos, como los insectos, los hongos, la radiación, la luz ultravioleta e incluso predadores herbívoros y algunos de estos factores de protección están constituidos por auténticas fitotoxinas, mientras que otros son antioxidantes o alcaloides naturales que presentan antioxidantes, flavonoides, catequinas y polifenoles (García, 2015).

Debido a sus catequinas, el té verde tiene propiedades desinflamatorias y neuroprotectoras que puede ayudar en la regulación del apetito y por su afinidad con los receptores canabinoides puede llegar a disminuir el dolor y la náusea así mismo también pueden funcionar también como calmante (Valenzuela, 2004).

2.1.4 Beneficios para la salud

Los beneficios son múltiples porque actúa como efecto antioxidante y citoprotector, además previene el cáncer y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, combate la ansiedad, inhibe la oxidación de las LDL., estimula la termogénesis del tejido adiposo, facilitando así la disminución de la grasa tisular. También ejercerían efectos hipocolesterolemicos y vasodilatadores, actuando específicamente sobre las enzimas. Los polifenoles del té inhiben la actividad de la enzima xantino oxidasa, esta enzima cataliza la oxidación de la xantina y de la hipoxantina a ácido úrico, al mismo tiempo que reducen el O_2 a O_2^- y a peróxido de hidrogeno

(H₂O₂), ambos poderosos pro oxidantes. Los polifenoles del té presentan una fuerte afinidad por los metales y las proteínas (Valenzuela, 2004).

La efectividad de la *Camellia sinensis* a nivel de la cavidad bucal en la medicina natural, a partir de las plantas y de sus propiedades antimicrobianas, han recibido mucha atención de los científicos, comprobándose una serie de propiedades beneficiosas de sus compuestos como los polifenoles, que permiten combatir a los agentes patógenos como el *Staphylococcus aureus* resistentes y adicionalmente a otras bacterias bucales como *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*. Las ventajas de usarlo son muchas, así como su fácil acceso, bajo costo y sobre todo pocos efectos colaterales que pueden presentar. La presencia de taninos inhibe la síntesis del dextrosa, el flúor inhibe la acción enzimática, así como los flavonoides que inhibe la adherencia de placa bacteriana, además confieren efecto inhibitorio en el desarrollo del *Streptococcus mutans*, como también sobre muchos hongos. En los últimos años se ha incrementado notoriamente los estudios de sustancias naturales, especialmente en el té verde hallándosele una serie de propiedades antimicrobianas y anticancerígenos dichos estudios concluyen que los extractos de té verde inhiben las bacterias y que por tal característica puede ser incluido dentro de las alternativas para el control de la higiene oral (Chan *et al.*, 2013).

2.1.5 Propiedades

El té verde tiene propiedades antioxidantes, estos compuestos de catequinas e isoflavonas retardan los procesos relacionados con el envejecimiento y el aparato cardiovascular, así mismo otros estudios determinaron que reduce la acumulación de grasa en el hígado, el té verde muestra efecto anticancerígeno, esto se debería también a su gran contenido de propiedades antioxidantes, donde el té verde sería el responsable de la baja tasa de cáncer en Asia, así también se indica que es bueno para la próstata y para la prevención de diferentes tipos de

cáncer. El té verde estaría recomendado para aquellas personas que sufren trastornos para dormir y sobre todo para los que padecen de apnea obstructiva del sueño (Taylor *et al.*, 2005).

El té verde también es estimulante, al tener cafeína en su composición, esta bebida también sirve para la concentración y el estímulo mental de una manera mucho más saludable que el de otros brebajes de similares características (Taylor *et al.*, 2005).

Dentro de las propiedades que tiene el té verde, se encuentra la de prevenir las caries dental y resulta que en países como China o Japón, donde el consumo de esta bebida es más que abundante, la población prácticamente no sufre de caries (Taylor *et al.*, 2005).

En lo que respecta a la enfermedad periodontal, los taninos que contiene el té verde y la afinidad que presentan a las proteínas, estas las inactivan precipitándolas en los procesos inflamatorios confirmándose sus propiedades en la mejoría y evolución de la enfermedad periodontal (Funosas *et al.*, 2005).

Así también encontramos que su poder antibacteriano permite inhibir a la *Porphyromonas gingivalis* (Okamoto *et al.*, 2004).

La caries es una enfermedad multifactorial que tiene como principal productor al *Streptococcus mutans* seguido del *Streptococo sanguis y salivarius*, es por ello que es de gran importancia el control de la proliferación de dichos organismos mediante sustancias antimicrobianas que inhiban el desarrollo de estas bacterias en la cavidad bucal (Ojeda *et al.*, 2013).

La clorhexidina es el antiséptico más empleado por ser considerado el agente más efectivo y de mayor utilización sobre bacterias bucales, debido a que alcanza una reducción de la gingivitis y de la placa dental hasta del 60%, mediante una reducción de la formación del biofilm y la alteración del desarrollo bacteriano. Este colutorio se presenta en dos concentraciones, al 0.12%

y 0.2%, siendo aplicado con mayor frecuencia a una concentración del 0.12% debido a que se minimizan los efectos secundarios que provocan y manteniendo su eficacia (Bascones y Morante, 2006; Calsina y Serrano, 2005).

Ante la necesidad de encontrar nuevos métodos preventivos para la salud oral se ha planteado en diversos estudios la actividad antibacteriana del extracto de té verde, comparándolo con diferentes fármacos utilizados para el tratamiento dental, tal como el estudio publicado en la Revista Medicina Preventiva en 2010, donde los investigadores encontraron que el consumo de una o más tazas de té verde al día disminuye notablemente las probabilidades de perder los dientes (Calsina y Serrano, 2005).

El pH de la saliva tiene una alta implicación en la salud bucodental, ya que es un factor protector frente a la caries, los niveles de la saliva deben oscilar su pH entre 6,5 y 7 para que se mantenga el equilibrio de la salud oral. Los alimentos de origen animal, como carnes y lácteos, acidifican nuestro cuerpo, mientras que los alimentos de origen vegetal, como frutas y verduras, lo alcalinizan. La boca al igual que otras partes del organismo, requiere un pH de 7.4 (liguamente alcalino) que es importante para neutralizar los ácidos de los alimentos, mineralizar el esmalte dental y evitar la formación de sarro. Cuando consumimos alimentos azucarados y ácidos con mucha frecuencia el pH salival se desequilibra, haciendo que las bacterias metabolizan los azúcares produciendo ácidos, bajando el pH por debajo de 6,5 aumentando el riesgo de aparición de las caries, periodontitis y la halitosis. Por lo tanto se recomienda el consumo diario de las infusiones de té verde ya que está considerado como una de las plantas más alcalinizantes que existen después del limón, regularizando el pH y evitando las enfermedades periodontales (García, 2015).

El efecto social del té verde como propuesta masiva de este medicamento es proponer en los colegios nacionales y en la población más vulnerable que reciban información para consumir productos naturales, implementándose sesiones educativas acerca del uso y beneficios del té verde, como una alternativa natural contra la prevención de formación de caries, donde los alumnos universitarios en ramas de salud realicen labores sociales para trabajar en conjunto mediante convenios entre las universidades, las instituciones educativas y municipalidades. El efecto social de esta propuesta sería beneficioso ya que aumentaría el consumo de té verde, por su fácil acceso económico y además de su uso más común en forma de infusión ya que así de esta manera contribuye a disminuir la prevalencia de caries en la población (Valenzuela, 2004).

Este estudio realizado es de gran importancia en diferentes ámbitos; primero a nivel teórico, debido a que complementa y aumenta el nivel de conocimientos adquiridos previamente sobre el uso del té verde (*Camellia sinensis*). En cuanto a su efecto antimicrobiano puede ser usado como una solución bactericida, ya que podrá ser recomendada a pacientes con probable éxito, teniendo también un valor social muy elevado; puesto que se buscará el control de la enfermedad más prevalente dentro de la población. En el efecto social económico este tratamiento alternativo preventivo, puede complementar a la del tratamiento clínico, ya que puede ser una opción dentro de la higiene oral, con un valor económico reducido, ocasionando poco o ningún daño al organismo por ser un producto natural (García, 2015).

A pesar de los reiterados esfuerzos de investigadores por encontrar el agente antibacteriano ideal y de los programas de salud bucal para mejorar los elevados índices de patologías bucales presentes en la población peruana, la prevalencia de dichas patologías es aún muy elevada, los que se evidencian principalmente en las poblaciones con menores recursos; posiblemente esta

situación se presenta por la falta de medios económicos y la falta de educación en los temas de prevención (Valenzuela, 2004).

El fin de este estudio es proporcionar a la población una alternativa de su uso en forma de colutorio a base de té verde ya que se acceden a un menor precio y es de fácil adquisición comparado con colutorios comerciales, también puede servir de punto de partida para otros estudios en medicina y farmacología aprovechando sus propiedades antiinflamatorias y bactericidas. De esta manera los resultados de la presente investigación generan una fuente de conocimientos para futuras investigaciones hacia la búsqueda de nuevas sustancias del té verde, contribuyendo a mejores programas preventivos y al control de las patologías bucales más importantes en la población (Valenzuela, 2004).

III. Método

3.1 Tipo de investigación

Experimental in vitro, prospectivo, transversal y comparativo.

3.2 Ámbito temporal y espacial

3.2.1 Ámbito temporal

El tiempo en que se realizó este trabajo de investigación fue entre los meses de diciembre del 2017 a enero del 2018.

3.2.2 Ámbito espacial

Se desarrolló en el laboratorio de Microbiología de la U.N.F.V.

3.3 Variables

Extracto de té verde: Extracto hidroalcoholico a diferentes concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% de té verde y clorhexidina al 0.12%, con propiedades beneficiosas para la salud oral.

Efecto inhibitorio: Capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento de las bacterias debido a la presencia del extracto de té verde.

3.4 Población y muestra

3.4.1 Población

Cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

3.4.2 Muestra

La muestra fue de 30 placas Petri, conteniendo cultivos del Agar Müller Hinton, con cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

3.5 Instrumentos

La ficha de registro utilizada (Anexo 1) fue llenado con los datos recolectados por el investigador. Tuvo las siguientes características: recolectar y registrar todos los datos obtenidos sobre la medida individual de los halos inhibitorios alrededor de cada disco embebido por el extracto hidroalcohólico de té verde, dicha medida se realizó en milímetros utilizando un calibrador vernier, a las 24 horas se observara para un control y luego de 48 horas de haber realizado la siembra se procederá a hacer las lecturas y el llenado de la ficha de recolección, tomando en cuenta la:

- Identificación de la muestra.
- Identificación de la concentración utilizada.
- Medida en milímetros del halo de inhibición formado.

3.6 Procedimientos

Se utilizó las hojas secas de *Camellia sinensis* de la marca “Schagreen” (Alprosur), las cuales provienen del valle Yanayaco, la Convención, Cuzco, Perú.

Para la obtención de principios activos se realizó la técnica de maceración alcohólica: donde las hojas previamente molidas fueron secadas en estufa por 24 h a 60°C, luego se añadió alcohol etílico rectificado de 96%. Se agita el frasco tres veces por día, siendo el tiempo de maceración de 7 días. Después de los 7 días de maceración se filtró con una membrana estéril, luego se procedió a la evaporación del contenido alcohólico de lo filtrado, obteniéndose de esta manera los principios activos totales. Luego se enraza con agua destilada para obtener las concentraciones del extracto hidroalcohólico del té verde al 100%, 75%, 50%, 25%.

El medio de cultivo elegido fue Agar Müller Hinton debido a que es considerado como el más adecuado para realizar pruebas de sensibilidad. Una de sus características más importantes es el

buen desarrollo que presentan en él, las bacterias patógenas, entre ellas el género *Streptococcus*, y la amplia evidencia que avala la realización de pruebas de sensibilidad en este medio.

Se utilizó la cepa bacteriana comercial *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), el cultivo de las cepas se realizó en el laboratorio de microbiología de la UNFV, por el investigador, bajo la supervisión de un microbiólogo antes de realizar el cultivo de las cepas.

Para la preparación del Agar Müller Hinton se pesó en la balanza analítica 25.8 gr del agar Müller Hinton, en un matraz estéril se le agregó 600 ml de agua destilada, luego se vierte en el matraz y se le lleva al calentamiento en agua hervida para la disolución total, se introdujo en el autoclave durante 15 minutos a 121°C (15 p.s.i.), con la finalidad de que el medio salga completamente esterilizado de acuerdo a las recomendaciones que indica el fabricante.

Posteriormente se realizó el sembrado selectivo mediante la técnica del hisopado sobre los medios de cultivo respectivos.

El contenido del Agar Müller Hinton se vertió en las placas Petri de 15 cm de diámetro la cantidad de 20ml por placa, evitando generar burbujas, y se esperó a que el medio solidifique aproximadamente (3 a 5 minutos), realizándose este procedimiento en las 30 placas Petri, para finalmente rotular cada placa antes de iniciar la siembra.

Se utilizó el Método de difusión en disco Kirby – Bauer (CLSI):

- Se preparan los discos de papel wathman de 6mm de diámetro.
- La siembra de la bacteria del S.M. se realizó durante los 15 minutos posteriores a la estandarización con un hisopo estéril por el método de diseminación.
- Se dispersó las bacterias del S.M. por todo el agar realizando una siembra homogénea, dejándolo reposar unos minutos.

- Con la ayuda de una pinza estéril se procedió a colocar en cada placa un disco de papel de filtro embebido: con 10ul (microlitos) de digluconato de clorhexidina al 0.12 % (control positivo).
- En cada disco de papel de filtro se embebió con 10 ul del extracto hidroalcoholico del Té verde, con las diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100%, respectivamente.
- Estos 5 discos de papel con las diferentes concentraciones están a una distancia no menor de 15mm entre ellos y a 1.5 cm del borde de la placa, presionando firmemente sobre la superficie del agar.
- Los discos de papel, embebidos en las distintas concentraciones, fueron colocados en las cajas Petri con ayuda de una pinza estéril. Se dejó reposar las placas por 15 minutos a temperatura ambiente para que el disco absorba el agua del medio de cultivo y así permita la difusión de los agentes utilizados para el respectivo estudio.
- Seguidamente se colocaron todas las placas en la incubadora a la temperatura de 37°C , por un tiempo de 24 horas luego de ese tiempo se observa su desarrollo, siendo este un proceso solo de control, finalmente dejamos otras 24 horas más para su completo desarrollo , siendo un total de 48 horas.
- El microorganismo crece en la superficie de la placa Petri, pero alrededor de los disco se formaran unos halos de inhibición, dependiendo de la mayor o menor sensibilidad de la bacteria a cada concentración de los extractos hidroalcoholicos.
- Transcurrido el tiempo de incubación, los resultados obtenidos fueron leídos mediante los diámetros de los halos de inhibición a las 48 horas de incubación, el diámetro del halo se mide expresado en milímetro con la ayuda de una regla graduada en milímetros y un calibrador

vernier y se registran en las fichas de registro y se correlacionaran los diámetros de sensibilidad.

Evaluación del efecto antibacteriano (Anexo 3)

La evaluación se realizó tanto cuantitativamente por medición numérica de los halos de inhibición, y cualitativamente siguiendo las pautas por Duraffourd.

Muchos microorganismos han desarrollado diferentes grados de resistencia a los quimioterápicos, lo que en algunos casos, con el paso del tiempo causan efectos colaterales; lo que no sucede con el uso de los principios activos de una planta. Duraffourd ha trabajado mucho en fitoterapia clínica, aplicando tratamientos en base de principios activos comparándolos con la actividad de antibióticos, según lo que reportó, el uso de principios activos en humanos no mostró efectos secundarios.

Para demostrar la susceptibilidad que tienen los microorganismos a diversos aceites esenciales Duraffourd realizó un estudio estadístico determinando tablas de actividad antimicrobiana basada en porcentajes.

Estos consideran la actividad de los aceites esenciales en función al diámetro del halo de inhibición de crecimiento bacteriano (HICB):

- Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible = +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible =++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.
- Finalmente para un diámetro superior a 20 mm el microorganismo es sumamente sensible (+++).

3.7 Análisis de datos

El procesamiento de los datos fue realizado en un ordenador Intel Pentium Dual, con sistema operativo Windows 7, el paquete estadístico SPSS versión 21.0 y la base de datos en Excel . Para el análisis de los datos se usó una estadística descriptiva. Se calcularon medidas de frecuencia y de tendencia central. Finalmente se emplearon tablas y figuras para la presentación de los datos.

3.8 Consideraciones éticas

El presente trabajo de investigación respeto todas las normas establecidas para su elaboración, así mismo los datos obtenidos no serán desvirtuados. La información utilizada para el desarrollo de esta investigación fue mediante el uso de referencias bibliográficas.

IV. Resultados

Para el presente estudio, se utilizó extractos hidroalcoholicos de té verde en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, con el fin de evaluar el efecto antibacteriano in vitro sobre cultivos de cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en 30 muestras durante un periodo de 48 horas.

Se comparó el efecto antibacteriano del té verde de 100%, 75%, 50%, 25% y la clorhexidina de 0.12% frente al *Streptococcus mutans* y se encontró que la clorhexidina es el más efectivo, mostrando un promedio de 15.300 mm de halo de inhibición y una desviación estándar de 1.204 mm; seguido por el té verde al 100% y 75% que presentaron un halo inhibitorio promedio de 11 y 11.917 mm respectivamente. Además se observó que el efecto antibacteriano del té verde decae conforme baja la concentración del mismo. Al evaluar estos resultados se observó que estas diferencias eran significativas ($p < 0.05$). (Tabla 1. Figura 1)

El té verde al 100% mostro un halo inhibitorio promedio de 11.917 mm y una desviación estándar de 1.204 mm. (Tabla 2. Figura 2)

El té verde al 75% mostro un halo inhibitorio promedio de 11mm y una desviación estándar de 1.776 mm. (Tabla 3. Figura 3)

El té verde al 50% mostro un halo inhibitorio promedio de 9.550 mm y una desviación estándar de 1.053 mm. (Tabla 4. Figura 4)

El té verde al 25% mostro un halo inhibitorio promedio de 8.317 mm y una desviación estándar de 0.748 mm. (Tabla 5. Figura 5)

Al evaluar la clorhexidina al 0.12% mostro un halo inhibitorio promedio de 15.300 mm y una desviación estándar de 0.466 mm. (Tabla 6. Figura 6)

Analizando las diferencias entre las medianas del tamaño del halo inhibitorio para el té verde en las concentraciones de 25, 50, 75 y 100%, se obtuvo que estas eran estadísticamente significativas ($p < 0.05$). (Tabla 7. Figura 7)

Tabla 1

Comparar el efecto antibacteriano in vitro del té verde de 100%, 75%, 50%, 25%

y la clorhexidina de 0.12% en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.

Grupo	N°	Media	D.S.	Mediana	P25	P75	X ²	P
Té verde 100%	30	11.917	1.204	12.00	11	12		
Té verde 75%	30	11.000	1.776	10.75	10	11	120.654	0.0001
Té verde 50%	30	9.550	1.053	10.00	9	10		
Té verde 25%	30	8.317	0.748	8.00	8	9		
Clorhexidina	30	15.300	0.466	15.00	15	16		

X²: Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, P: Nivel de significancia

Fuente: Elaboración propia del investigador.

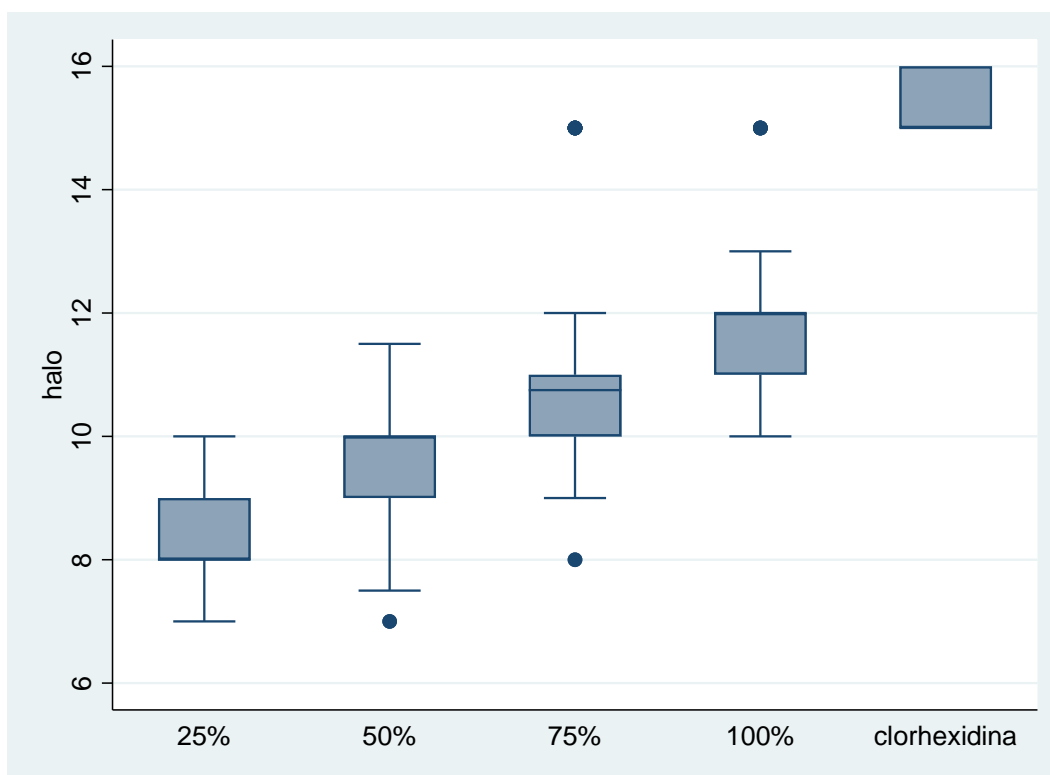


Figura 1. Comparación del efecto antibacteriano in vitro del té verde al 100%, 75%, 50%, 25% y

la clorhexidina al 0.12% en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.

Tabla 2

Identificar el efecto antibacteriano in vitro del té verde al 100% en el crecimiento de cepas del Streptococcus mutans.

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo
Halo	30	11.917	1.204	12	10	15

Fuente: Elaboración propia del investigador.

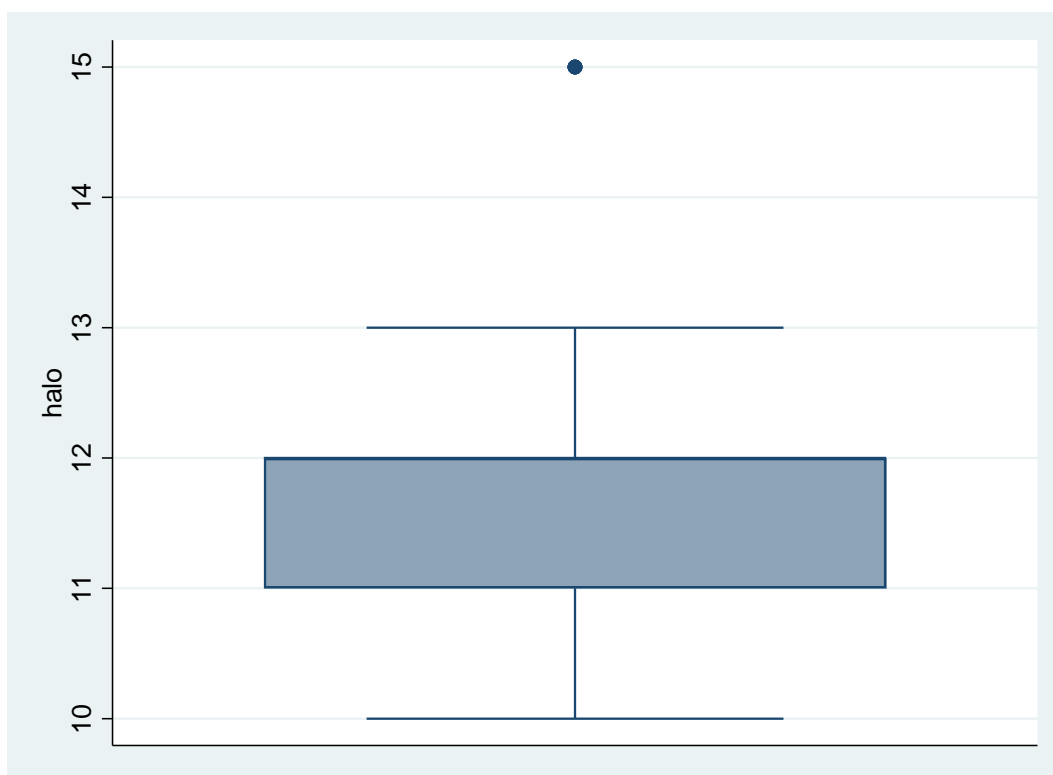


Figura 2. Efecto antibacteriano in vitro del té verde al 100% en el crecimiento de cepas del Streptococcus mutans.

Tabla 3

Identificar el efecto antibacteriano in vitro del té verde al 75% en el crecimiento de cepas del Streptococcus mutans.

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo
Halo	30	11.000	1.776	10.75	8	15

Fuente: Elaboración propia del investigador.

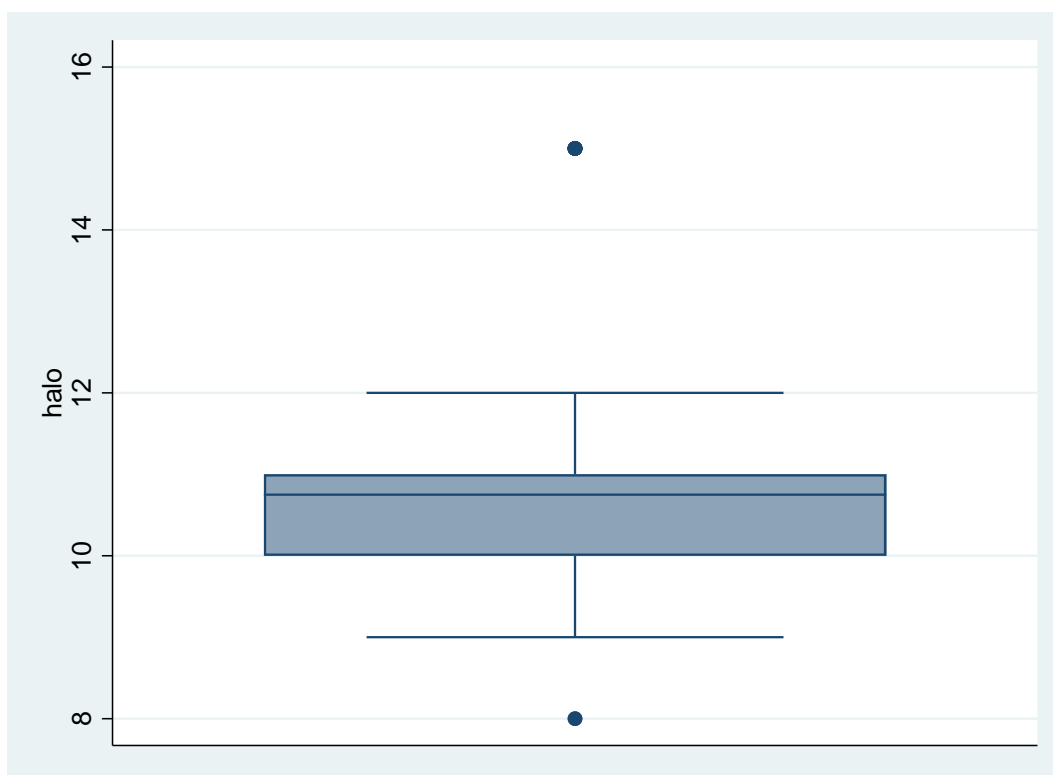


Figura 3. Efecto antibacteriano in vitro del té verde al 75% en el crecimiento de cepas del Streptococcus mutans.

Tabla 4

Identificar el efecto antibacteriano in vitro del Té Verde al 50% en el crecimiento de cepas del Streptococcus mutans.

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo
Halo	30	9.550	1.053	10	7	11.5

Fuente: Elaboración propia del investigador.

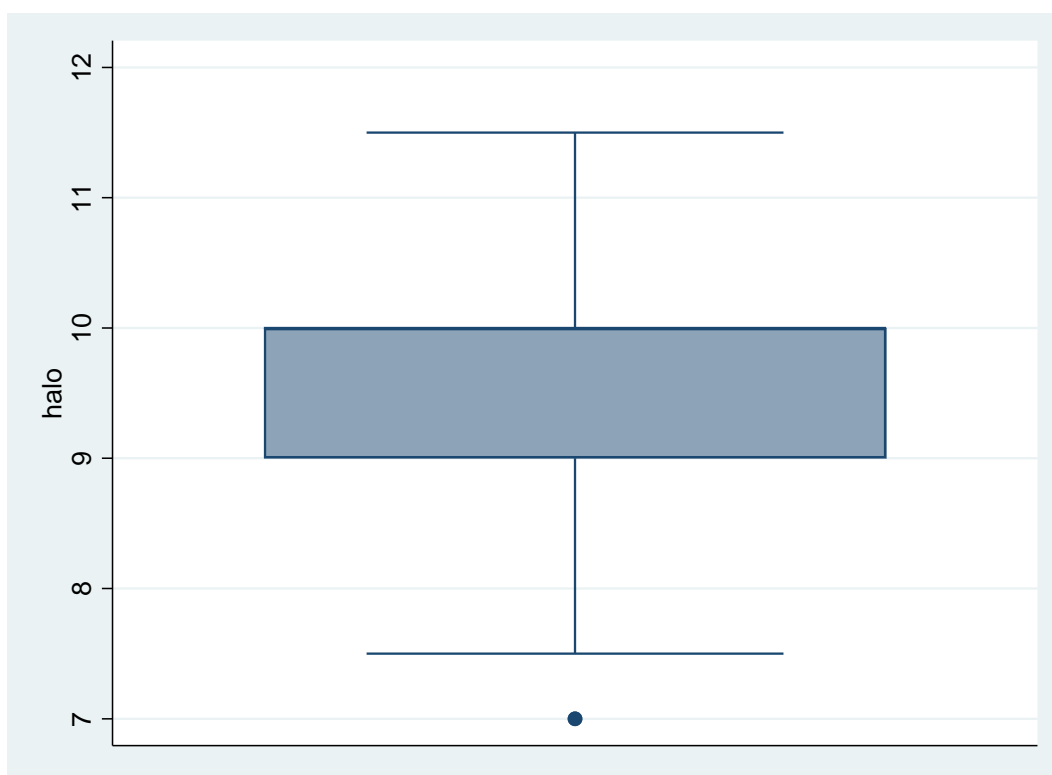


Figura 4. Efecto antibacteriano in vitro del té verde al 50% en el crecimiento de cepas del Streptococcus mutans.

Tabla 5

Identificar el efecto antibacteriano in vitro del té verde al 25% en el crecimiento de cepas del Streptococcus mutans.

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo
Halo	30	8.317	0.748	8	7	10

Fuente: Elaboración propia del investigador.

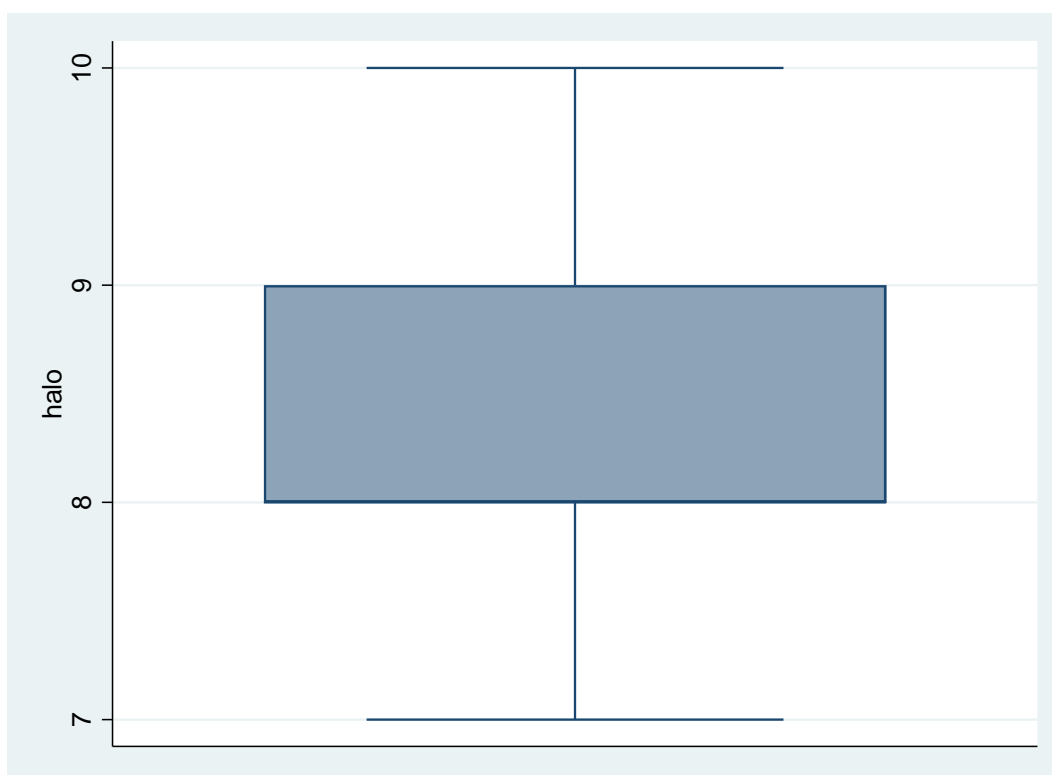


Figura 5. Efecto antibacteriano in vitro del té verde al 25% en el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans.

Tabla 6

Identificar el efecto antibacteriano in vitro de la clorhexidina al 0.12% en cepas de Streptococcus mutans.

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo
Halo	30	15.300	0.466	15	15	16

Fuente: Elaboración propia del investigador.

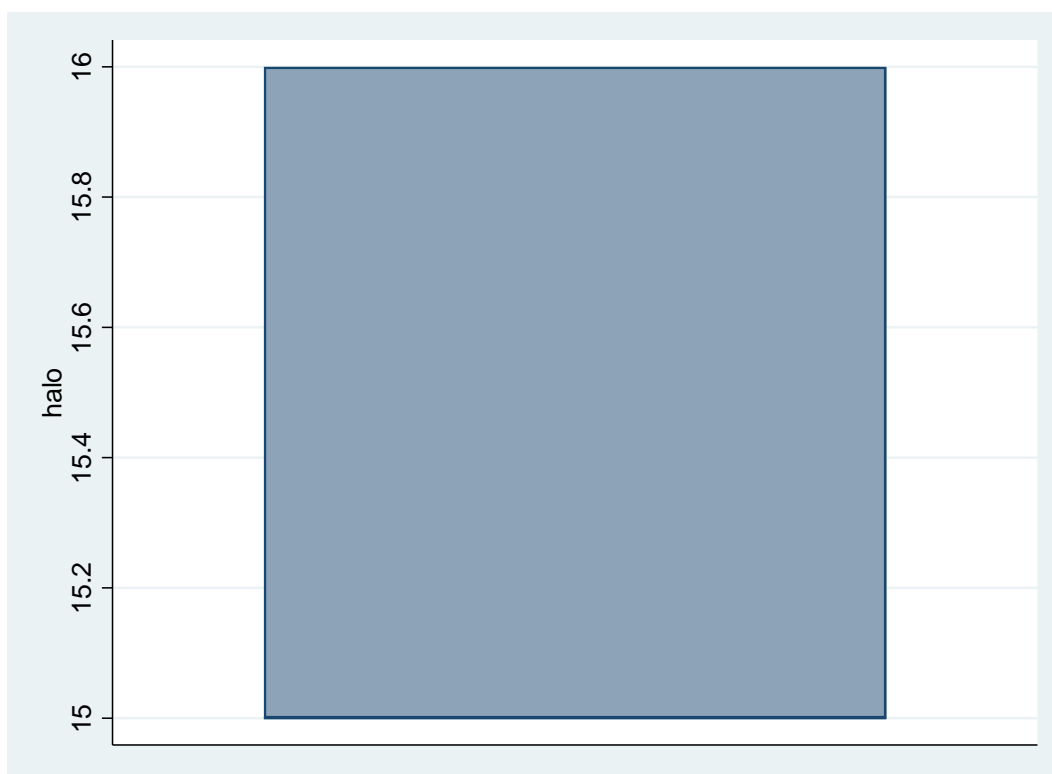


Figura 6. Efecto antibacteriano in vitro de la clorhexidina al 0.12% en cepas de Streptococcus mutans.

Tabla 7

Comparar el efecto antibacteriano in vitro del té verde entre las concentraciones

al 100%, 75%, 50%, 25%.

Concentración	N°	Mediana	P25	P75	X ²	P
100%	30	12.000	11	12	81.0970	0.0001
75%	30	10.75	10	11		
50%	30	10.00	9	10		
25%	30	8.00	8	9		

X²: Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para comparar más de dos medianas.

P: Nivel de significancia estadística.

Fuente: Elaboración propia del investigador.

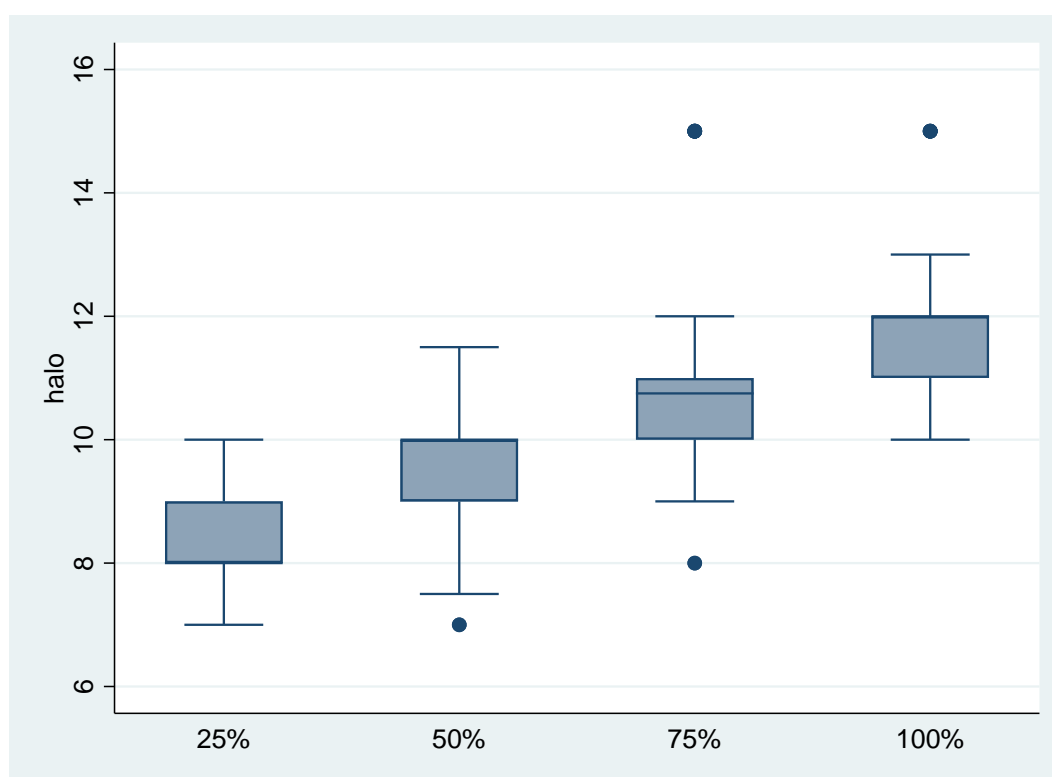


Figura 7. Efecto antibacteriano in vitro del té verde entre las concentraciones al 100%, 75%, 50%, 25%.

V. Discusión de resultados

En los últimos tiempos han aumentados los estudios con plantas naturales, en especial el uso de aquellas plantas que presentan efectos para el control de patógenos o microorganismos, en especial al que se refiere a la acción de los polifenoles presentes en las sustancias como el té verde y por sus propiedades antimicrobianas donde:

Anita *et al.* (2015) reveló que varios fitoquímicos como Taninos, fenoles, alcaloides, flavonoides estaban presentes en el extracto de *Camellia sinensis*, independientemente del disolvente utilizado, los flavonoides que poseen actividad antigluco-silicos que pueden inhibir la adherencia de los microbios, los taninos pueden inhibir la actividad de la glucosiltransferasa (GFT) así como el crecimiento bacteriano por su fuerte capacidad de unión al hierro, los alcaloides interfieren con la división de las células inhibiendo así su crecimiento, los resultados que se evidencian en este estudio son interesantes ya que una de las ventajas del té verde es el fácil acceso su bajo costo y sobre todo porque tiene pocos efectos secundarios. Entre los compuestos presentes en el té verde, las principales catequinas presentes en los polifenoles del té verde son epicatequina EG, epigalocatequina (EGC), galato EGC (EGCG), EGCG. Dado que las bacterias cariogénicas tienen la capacidad de producir ácido láctico que erosiona la superficie del diente y puede fomentar la adherencia de la placa al producir dextrano pegajoso a partir de sacarosa. La GFT es una enzima clave que metaboliza la sacarosa en la dieta. Por lo tanto el té verde tiene actividad antibacteriana contra bacterias cariogénicas predominantes como el *S. mutans* y *L. acidophilus*. Este estudio presenta resultados similares donde se demostró el efecto antibacteriano de la *Camellia sinensis* frente al *Streptococcus mutans*, puede ser usado como complemento a la higiene oral, propiciando su consumo como infusión o en otras presentaciones en beneficio de la población.

Alvarado *et al.* (2010) tuvo resultados similares a mi estudio en el cual comparo la actividad antimicrobiana in vitro de los extractos hidroalcolicos de *Camellia sinensis* en las concentraciones de 25ml y 50ml comparadas con Perioaid (clorexidina 0,12), donde los resultados con mayores valores de actividad antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans* presento en las disoluciones de 50ml. En lo que se refiere al tamaño del halo de inhibición de los extractos del 100%, 75%, 50%, 25%, de *Camellia sinensis* que se utilizaron en este estudio demostraron tener propiedades inhibitorias hacia las cepas de *Streptococcus mutans* pero fueron menores al comparado con el grupo control cuyos resultados son similares.

Moromi *et al.* (2007) los resultados obtenidos evidenciaron la acción antimicrobiana para la cepa de *Streptococcus mutans*, así como también para la microflora mixta salival, donde se recomienda continuar estudios para comprobar sus efectos antimicrobianos in vivo, para su uso como enjuagatorio bucal, identificando los principales componentes activos del té verde para obtener ventajas costo/beneficio y su aceptación entre la población, donde el té verde utilizado como infusión, tiene un impacto beneficioso contra la formación de caries dental debido al flúor natural, inhibiendo el crecimiento bacteriano.

Jalayer *et al.* (2011) ambos concluimos que el té verde y el té negro tiene efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*, aunque fue el té verde el que presento una mayor efectividad antimicrobiana.

Moromi *et al.* (2006) afirman que los cultivos de *Streptococcus mutans* sin adición de té verde mostraron formación de placa bacteriana adherida fuertemente en el alambre utilizado en el laboratorio; en contraste con los cultivos que se le adiciono infusión de té verde mostraron muy poca formación de placa y los residuos formados tenían muy poca adherencia, por lo tanto se concluye que los componentes de té verde en especial los polifenoles inhiben la adherencia

bacteriana a la superficie de los dientes, con lo que hay un efecto inhibitorio en el desarrollo del *Streptococcus mutans*, con similar resultado en mi estudio.

VI. Conclusiones

1. La clorhexidina al 0.12% presento mayor efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans*, seguida del té verde al 100% y disminuyendo el efecto antibacteriano a medida que la concentración disminuye.
2. El Té verde al 100% presento efecto antibacteriano mostrando un halo de inhibición promedio de 11.917mm.
3. El Té verde al 75% presento efecto antibacteriano mostrando un halo de inhibición promedio de 11mm.
4. El Té verde al 50% presento efecto antibacteriano evidenciando un halo de inhibición promedio de 9.550mm.
5. El Té verde al 25% presento efecto antibacteriano en menor proporción con halo de inhibición promedio de 8.317mm.
6. La clorhexidina al 0.12% presento un efecto antibacteriano con halos de inhibición promedio de 15.300mm.
7. Las concentraciones de té verde al 100%, 75%, 50% y 25%, muestra una diferencia significativa con un P valor de 0,0001.

VII. Recomendaciones

- Se recomienda comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de té verde en cepas de diferentes bacterias de interés estomatológico.
- Determinar la CMI (concentración mínima inhibitoria) de diferentes bacterias de interés estomatológico.
- La preparación de productos de uso masivo tales como pastas dentales, colutorios los cuales tenga como componentes el té verde.
- Se recomienda realizar estudios de té verde a concentraciones cercanos al 0.12% como la clorhexidina.

VIII. Referencias

- Alvarado, V. y Moromi, H. (2010). Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. *Odontología Sanmarquina*, 13(2), 21-25.
- Anita, P., Sivasamy, S., Madam, P., Nanda, I. y Ethiraj, S. (2015). In vitro antibacterial activity of *Camellia sinensis* extract against cariogenic microorganisms. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 6(1), 35-39.
- Bascones, A. y Morante, S. (2006). Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 18(1), 11-39.
- Cabrera, C., Artacho, R. y Giménez, R. (2006). Beneficial Effects of Green Tea: A Review. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(2), 79-99.
- Calsina, G. y Serrano, J. (2005). ¿Existen realmente diferencias clínicas entre las distintas concentraciones de clorhexidina? Comparación de colutorios. *RCOE*, 10(4), 457-464.
- Chan, L., Mehra, A., Saikat, S. y Lynch, P. (2013). Human exposure assessment of fluoride from tea (*Camellia sinensis* L.) A UK based issue. *Food Research International*, 51(2), 564–570. Recuperado de www.elsevier.com/locate/foodres
- Funosas, E., Martínez, A., Maestri, L., Aromando, R., Escovich, L. y Hermida, P. (2005). Efectividad del té verde en el tratamiento de periodontitis crónica. *Avances en Odontoestomatología*, 21(3), 159-166.
- García, A. (2015). “Efecto antimicrobiano de una infusión de *camellia sinensis* (té verde) usado como colutorio, sobre placa bacteriana y saliva” (Tesis doctoral). Recuperado de <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2047>

- Jalayer, N., Niakan, M., Kharazi, M. y Zardi, S. (2011). Antibacterial Activity of Iranian Green and Black Tea on Streptococcus Mutans: An In Vitro Study. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*, 8(2), 55-59.
- Moromi, N. y Martínez, C. (2006). Efecto del té verde en la formación de la placa bacteriana por Streptococcus mutans. *Odontología Sanmarquina*, 9(2), 23-24.
- Moromi, N., Martínez, C., Villavicencio, G., Burga, S. y Ramos, P. (2007). Efecto antimicrobiano in vitro de la Camelia sinensis sobre bacterias orales. *Odontología Sanmarquina*, 10(1), 18-20.
- Namita, P., Mukesh, R. y Vijay, K. (2012). Camellia Sinensis (Green Tea): A Review. *Global Journal of Pharmacology*, 6(2), 52-59.
- Ojeda, J., Oviedo, E. y Salas, L. (2013). Streptococcus mutans y caries dental. *Revista CES Odontología*, 26(1), 44-56.
- Okamoto, M., Sugimoto, A., Leung, K., Nakayama, K., Kamaguchi, A. y Maeda, N. (2004). Inhibitory effect of green tea catechins on cysteine proteinases in Porphyromonas gingivalis. *Oral microbiology and immunology*, 19(2), 118-120. doi: org/10.1046/j.0902-0055.2003.00112.x
- Taylor, P., Hamilton-Miller, J. y Stapleton, P. (2005). Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Sci Technol Bull*, 2(1), 71-81. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2763290/>
- Ulloa, T. (2009). *Suceptibilidad in vitro del streptococcus mutans atcc 2652263 frente a tres extractos etanolicos de camellia sinensis "TE VERDE"* (Tesis de maestría). Recuperado de <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/7582>

Valenzuela, B. (2004). El Consumo Te Y La Salud: Características Y Propiedades Benéficas De Esta Bebida Milenaria. *Revista. chil. Nutr*, 31(2), 72-82. doi: org/10.4067/S0717-75182004000200001

ANEXOS

ANEXO N° 1: Ficha de Datos.

Extractos	EXTRACTO ALCOHOLICO DE TE VERDE				
ESPECIE BACTERIANA	<i>Streptococcus mutans</i>				
MEDIO :	Agar Müller Hinton (FORMACION DEL HALO DE INHIBICION)				
Concentraciones de Extracto	100%	75%	50%	25 %	CONTROL POSITIVO (Clorhexidrina 0.12%)
Placa # 1 en (mm)					
Placa # 2					
Placa # 3					
Placa # 4					
Placa # 5					
Placa # 6					
Placa # 7					
Placa # 8					
Placa # 9					
Placa # 10					
Placa # 11					
Placa # 12					
Placa # 13					
Placa # 14					
Placa # 15					
Placa # 16					
Placa # 17					
Placa # 18					
Placa # 19					
Placa # 20					
Placa # 21					
Placa # 22					
Placa # 23					
Placa # 24					
Placa # 25					
Placa # 26					
Placa # 27					
Placa # 28					
Placa # 29					
Placa # 30					

ANEXO N° 2: Solicitud de Materiales y uso de Laboratorio.

Solicito: Materiales y el uso del laboratorio

Jefe de Laboratorio de Microbiología

Dr. Roberto Sierra Garmendia

De nuestra mayor consideración:

Me dirijo a Ud. con el principal motivo de solicitarle tenga a bien proporcionarnos instrumentos de laboratorio - placas petri (un total de 45 por semana en un periodo de 30 días), además del horno eléctrico para cultivo bacteriano y materiales para realizar la preparación de agar Müller Hinton, a partir de la primera semana de diciembre del presente año al

Dicho pedido se basa en un proyecto de investigación para realizar mi tesis y obtener mi título profesional.

Sin otro particular y contando con su aprobación y buena voluntad la saludo muy cordialmente.

Atentamente:

.....

Bach. Eduardo Peralta Romero

UNFV

Lima, Diciembre del 2017

ANEXO N° 3:**Ficha Técnica.**

Nombre: Instrumento de evaluación de inhibición de estreptococos mutans

Autor: Duraffourd

Administración: colectivo.

Tiempo: de 24 a 48 horas de haber realizado la siembra.

Objetivo: Recolectar y registrar los datos sobre la medida individual de los halos en mm, formados en las placas sembradas en Agar Muller Hinton, en cada una de sus concentraciones. Se considera la actividad de los aceites esenciales en función al diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano (HICB):

- Nula (-), para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible = +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible =++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.
- Finalmente para un diámetro superior a 20 mm el microorganismo es sumamente sensible (+++).

Aspectos a Examinar: Este instrumento examinara los siguientes puntos.

1. Identificación de la muestra.
2. Identificación de la concentración utilizada.
3. Medida en milímetros del halo de inhibición formado.
4. Disminución en la Cantidad de UFC.

Campo de Aplicación: Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del *Camellia sinensis* (Té Verde) sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

ANEXO N° 4

Matriz de Consistencia

Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del *Camellia sinensis* (Té Verde) sobre cultivos de *Streptococcus*

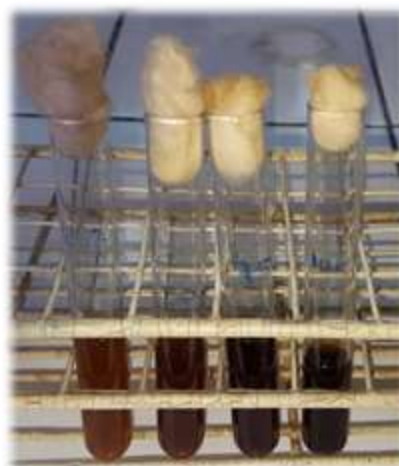
ATCC 25175

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÒTESIS	VARIABLES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICION	TECNICA Y MÈTODO	INSTRUMENTOS
<p>Problema general: ¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del Té verde en cultivos de <i>Streptococcus Mutans</i> (ATCC 25175)?</p>	<p>Objetivo general:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del Té verde 100%,75%, 50%, 25% y la clorhexidina de 0.12% en el crecimiento de cepas del <i>Streptococcus mutans</i>. <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Identificar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del Té verde al 100% en el crecimiento de cepas del <i>Streptococcus mutans</i>. 	<p>Hipòtesis general: El Té verde presentaría efecto antibacteriano <i>in vitro</i> en el crecimiento de cepas del <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	<p>Variable Independiente: Extracto Hidroalcoholico de Té verde.</p> <p>Variable Dependiente: Inhibición de crecimiento de las cepas <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p>	<p>Extracto Té verde</p> <p>100% 75% 50% 25%</p> <p>Clorhexidina al 0.12%</p> <p>Diámetro de halo de inhibición.</p>	<p>Nominal.</p> <p>Razón.</p>	<p>Tipo de Estudio:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Prospectivo. - Transversal - Comparativo. <p>Diseño: -Experimental <i>in vitro</i>.</p> <p>METODO -Observación. -Método estadístico.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Calibrador Vernier.

	<ul style="list-style-type: none">• Identificar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del Té verde al 75% en el crecimiento de cepas del <i>Streptococcus mutans</i>.• Identificar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del Té verde al 50% en el crecimiento de cepas del <i>Streptococcus mutans</i>.• Identificar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del Té verde al 25% en el crecimiento de cepas del <i>Streptococcus mutans</i>.• Identificar <i>in vitro</i> el efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12% en cepas de <i>Streptococcus mutans</i>.• Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del té verde entre las concentraciones al 100%, 75%, 50% y 25%						
--	---	--	--	--	--	--	--

ANEXO N° 5

Obtención del extracto de té verde



ANEXO N° 6

**CIPLAMT**

Centro de Investigación de Plantas Medicinales Aromáticas y Medicina Tradicional

PARTIDA REGISTRAL N° 11000231 - 2000- SUNARP

CERTIFICADO

El Jefe Responsable del Laboratorio del CIPLAMT, CERTIFICA que de la muestra botánica de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, se obtuvieron en nuestro laboratorio los extractos hidroalcohólicos al 100, 75, 50 y 25 % y la especie vegetal corresponde a la siguiente categoría taxonómica de acuerdo al CINB (*Código Internacional de Nomenclatura Botánica*):

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

ORDEN: Ericales

FAMILIA: Theaceae

GÉNERO: Camellia


ESPECIE: *Camellia sinensis* (L.) Kuntze

Nombre vulgar: "té verde"

La especie botánica fue clasificada a petición del **Bachiller Eduardo Peralta Romero**, con DNI: 10623505, para la tesis **Evaluación *in vitro* del efecto del *Camellia sinensis* (Té Verde), sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)**.

Se extiende el presente documento a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.

Lima, 12 de diciembre del 2017.



Dr. Mario Carhuapoma Yance
Jefe del Lab. CIPLAMT
CQFP: 10215

ANEXO N° 7

Obtención de las cepas bacterianas



ANEXO N° 8

Preparación del agar Muller Hinton

Se pesó la cantidad de medio agar por usar (12.9gr.) para 300ml de agua destilada, en este caso se usó 25.8gr. para 600 ml de agua destilada



Agua destilada 300ml con la disolución del agar Muller Hinton



Se introdujo al autoclave por 15

minutos



Preparación de las placas Petri

Se vertió el contenido del agar Muller Hinton en las placas Petri estériles





Realizamos el mismo en todas las placas



Sembrar cada placa de hisopado la cepa

mutans

Petri por el método de streptococcus

Colocar los discos previamente preparados con las concentraciones del te verde (25%, 50%,75%,100%) y control positivo



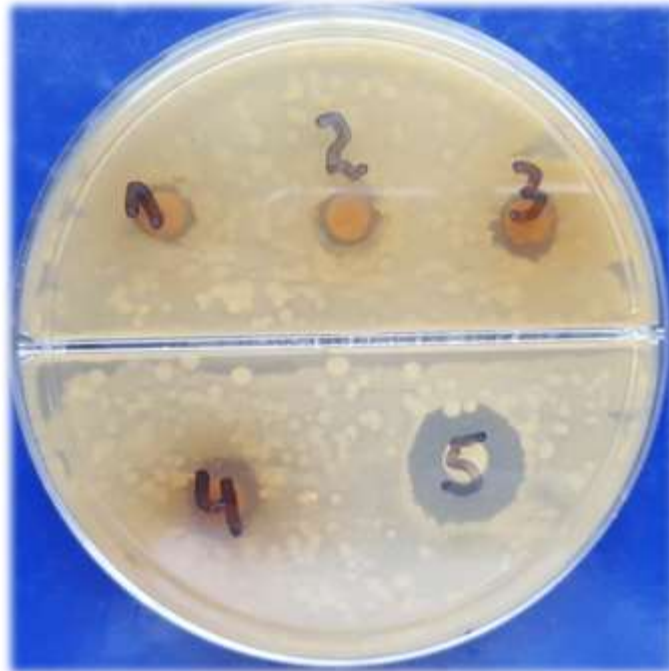
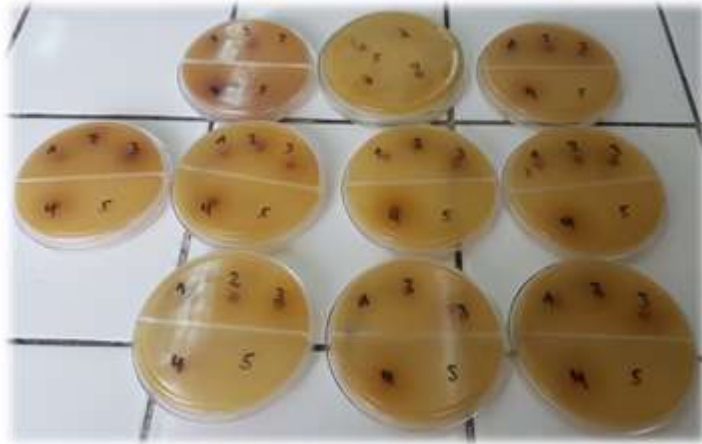
Incubar a 37° por 24 horas, observamos y dejamos otras 24 horas , siendo un total de 48 horas



Después de 48 horas de incubación retiramos las placas



Halos de inhibición del té verde





Medición de los halos de inhibición



ANEXO N° 9



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
Spiritus ubi vult spirat

CONSTANCIA

Quien suscribe hace constar que:

Se han cumplido con todos los protocolos para la reactivación (24/48 horas) del microorganismo *Streptococcus mutans* ATCC® 25175™ la cual será utilizada para cumplir fines de investigación científica por parte del Bach. Eduardo Peralta Romero

Se expende la presente constancia para los fines convenientes.

S.M.P. Lima, enero del 2018



MSc. Maartua Torres Dora
Docente Microbiología – FCF - UPCH
C.B.P. 0776

DI/UPCH
Archivo108

*Av. Honorio Delgado 430, Urb. Ingeniería, S.M.P. Lima – Perú.
Teléfono. (51-1) 310 – 0000 // email. portalweb@upch.pe*