

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LA
Camellia sinensis (TÉ VERDE) SOBRE *Streptococcus
mutans* (ATCC 25175) CHIMBOTE, AÑO 2019**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL
GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN
ESTOMATOLOGÍA**

AUTORA

PINEDO CORALES, ELENA

ORCID: 0000-0002-5678-1139

ASESOR

REYES VARGAS, AUGUSTO ENRIQUE

ORCID: 0000-0001-5360-4981

CHIMBOTE – PERÚ

2021

1. TÍTULO DE LA TESIS

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LA *Camellia sinensis*
(TÉ VERDE) SOBRE *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)
CHIMBOTE, AÑO 2019.

2. EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Pinedo Corales, Elena

ORCID: 0000-0002-5678-1139

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú

ASESOR

Reyes Vargas, Augusto Enrique

ORCID: 0000-0001-5360-4981

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de la
Salud, Escuela Profesional de Odontología, Chimbote, Perú

JURADO

San Miguel Arce, Adolfo Rafael

ORCID: 0000-0002-3451-4195

Canchis Manrique, Walter Enrique

ORCID: 0000-0002-0140-8548

Zelada Silva, Wilson Nicolas

ORCID: 0000-0002-6002-7796

3. HOJA DE FIRMA DEL JURADO Y ASESOR

Mgtr. San Miguel Arce Adolfo Rafael

Presidente

Mgtr. Canchis Manrique Walter Enrique

Miembro

Mgtr. Zelada Silva, Wilson Nicolas

Miembro

Mgtr. Reyes Vargas, Augusto Enrique

Asesor

4. AGRADECIMIENTO Y DEDICATORIA

Agradecimiento

Un agradecimiento especial a las personas que más han influenciado en mi vida, dándome los mejores consejos, guiándome y haciéndome una persona de bien.

A DIOS en primer lugar por darme la vida, la salud y múltiples bendiciones.

A MIS PADRES: Constante por brindarme a lo largo de mi vida su amor, apoyo, cuidado, y por velar siempre por mis necesidades.

A MIS HERMANOS: Dante, Elza, Revelino, Raúl, Roció y Yuli por ser parte fundamental en mi vida personal y profesional.

Dedicatoria

Dedico el presente trabajo a mis padres y hermanos, quienes han estado conmigo en cada paso que he dado, cuidándome y dándome fortaleza para continuar con mis estudios y depositándome su entera confianza en cada reto que se me presentó. Gracias a ellos estoy aquí, los quiero mucho.

5. RESUMEN Y ABSTRACT

Resumen

La investigación tuvo por **objetivo**: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Metodología: Investigación de tipo cuantitativo, experimental, prospectivo, transversal y analítico. Se evaluó el efecto antibacteriano in vitro, del extracto hidroalcohólico del té verde en las concentraciones de 25%, 50% y 75 de dos marcas comerciales (dos grupos) sobre cultivos de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en 32 muestras (16 en cada grupo) durante el tiempo de 48 horas. 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 estadística ANOVA para la contratación de la hipótesis. **Resultados**: Se observó la formación de halos de inhibición en ambas marcas del *Camellia sinensis* y en sus distintas concentraciones, en dónde la mayor formación fue en la marca Renacer® 75% con una media de 14,133 mm, seguida por Eco valle® 75% con una media de 12,328 mm. Se tuvo una significancia estadística $p=0,001<0,05$ lo que permite rechazar la hipótesis nula. **Conclusión**: Si existe efecto antibacteriano in vitro de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019, observándose que a medida que aumenta su concentración, mayor es el nivel de inhibición.

Palabras clave: *Camellia sinensis*, efecto antibacteriano, *Streptococcus mutans*.

Abstract

The **objective** of the research was: To evaluate the in vitro antibacterial effect of *Camellia sinensis* (green tea) on *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Methodology: Quantitative, experimental, prospective, cross-sectional and analytical research. The in vitro antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of green tea at concentrations of 25%, 50% and 75 of two commercial brands (two groups) on cultures of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) strains was evaluated in 32 samples (16 in each group) during 48 hours. The Agar diffusion method was performed, a vernier caliper was used to measure the inhibition halos, recording them in a data collection card, the data were processed in the SPSS statistical program and the ANOVA statistical test was performed to test the hypothesis. **Results:** The formation of inhibition halos was observed in both brands of *Camellia sinensis* and in their different concentrations, where the highest formation was in the Renacer® 75% brand with a mean of 14.133 mm, followed by Eco valley® 75% with a mean of 12.328 mm. There was a statistical significance $p=0.001<0.05$ which allows rejecting the null hypothesis. **Conclusion:** There is an in vitro antibacterial effect of *Camellia sinensis* (green tea) on *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, year 2019, observing that the higher the concentration, the higher the level of inhibition.

Keywords: Antibacterial effect, *Camellia sinensis*, *Streptococcus mutans*.

6. CONTENIDO

1. Título de la tesis.....	i
2. Equipo de Trabajo.....	ii
3. Hoja de firma del jurado y asesor.....	iii
4. Hoja de agradecimiento y dedicatoria.....	iv
5. Resumen y abstract.....	vi
6. Contenido.....	viii
7. Índice de tablas y gráficos.....	x
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura.....	6
2.1 Antecedentes.....	6
2.2 Bases teóricas.....	17
2.2.1 Té verde (<i>camellia sinensis</i>).....	17
2.2.2 Característica del género de <i>Camellia</i>	17
2.2.3 Principios activos del té verde (<i>Camellia sinensis</i>).....	18
2.2.4 Usos y Aplicaciones del té verde para la salud bucal	19
2.2.5 Placa bacteriana	19
2.2.6 Clasificación de la Placa Bacteriana.....	19
2.2.7 Formación, crecimiento y proliferación de la Placa Bacteriana.....	20
2.2.8 Streptococcus mutans	21
2.2.9 Morfología del Streptococos mutans.....	23
2.2.10 Capacidad de adherencia y formación a la biopelícula	23
2.2.11 Efectos antimicrobianos sobre el Streptococos mutans	24
III. Hipótesis.....	26
IV. Metodología.....	27

4.1	Diseño de la investigación.....	27
4.2	Población y muestra.....	29
4.3.	Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	32
4.4	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	33
4.5	Plan de análisis.....	37
4.6	Matriz de consistencia.....	37
4.7	Principios éticos.....	39
V.	Resultados.....	40
5.1	Resultados.....	40
5.2	Análisis de resultados.....	43
VI.	Conclusiones.....	46
	Aspectos complementarios.....	47
	Referencias bibliográficas.....	48
	Anexos.....	54

7. ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

Índice de tablas

Tabla 1.- Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de la <i>Camellia sinensis</i> (té verde) sobre <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.....	40
Tabla 2.- Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de la <i>Camellia sinensis</i> (té verde) de la marca Renacer® al 25%, 50% y 75% sobre <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12%.....	41
Tabla 3.- Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de la <i>Camellia sinensis</i> (té verde) de la marca Eco valle® al 25%, 50% y 75% sobre <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12%.....	42

Índice de gráficos

Gráfico 1.- Efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.....40

Gráfico 2.- Efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) de la marca Renacer® al 25%, 50% y 75% sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12%.....41

Gráfico 3.- Efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) de la marca Eco valle® al 25%, 50% y 75% sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12%.....42

I. INTRODUCCIÓN

La cavidad oral está hecha de numerosas superficies que están aseguradas por una gran cantidad de organismos microscópicos, de los cuales, muchos de ellos, han estado en la cavidad bucal, al menos de manera incidental. La ciencia subatómica ha permitido percibir alrededor de 700 distintas especies de microorganismos en el medio bucal, considerándose así, una microbiota muy variada y compleja, que puede llegar a ser altamente patógena, si se produce un desequilibrio en su ecosistema. La patogenicidad de ciertos microorganismos en este medio, puede producir dolencias orales y enfermedades bucodentales, tales como la caries dental, enfermedad periodontal, entre otras patologías infecciosas.(1)

La caries dental, es la enfermedad bucal más prevalente, la misma que tiene entre sus factores de riesgo al *Streptococcus mutans* como agente principal. Diversos estudios han permitido conocer más a este microorganismo, así como también su inhibición para prevenir la caries dental. Actualmente, existen diversos compuestos farmacológicos que tienen acción sobre este microorganismo, uno de ellos es el colutorio de gluconato de clorhexidina, pero con el tiempo se ha visto en tendencia y aumento el uso de medicamentos fitoterapéuticos, productos medicinales cuyas sustancias activas provienen de plantas medicinales o asociaciones de estas.(1, 2)

La fitoterapia es una ciencia genealógica que realiza estudios de plantas con fines útiles y terapéuticos, ya sea para la acción desinflamante o para el tratamiento de ciertas infecciones. De esta manera, la exploración en este campo

está actualmente en curso para afirmar si el impacto es real o no, tal es el caso, de la acción antibacteriana de ciertas plantas sobre la el *Streptococcus mutans*.(3)

En la nación hay una biodiversidad extraordinaria de plantas con propiedades medicinales, las cuales nos demuestran su uso como alternativa ante el control de ciertos microorganismos. La planta de té (*Camellia sinensis*), es una de ellas, cuyo punto de procedencia es el sur de China asiático y que actualmente se cultiva en distintas partes del mundo, una de ellas, el Perú. La acción antiviral y antibacteriana de esta planta, aún sigue en estudio, aunque muchos de ellos ya lo han determinado, es conveniente seguir evaluando su acción específica sobre el *S. mutans*.(4)

La presencia del *Streptococcus mutans* dentro de la microbiota oral, representa una problemática constante en la salud pública a nivel mundial, y esto lo vemos representado por las altas tasas de prevalencia de caries dental. De acuerdo con la OMS (Organización Mundial de la Salud), la caries dental es la patología a nivel bucal más prevalente en todo el mundo, con mayor prevalencia en países asiáticos y latinoamericanos, afectando hasta un 90% de la población.(5)

Es por ello que, investigadores a nivel internacional, han realizado diversos estudios del uso alternativo de extractos de plantas para la inhibición del *Streptococcus mutans*. El té verde, el cuál es adquirido de la planta *Camellia sinensis* (hojas), se le atribuye una actividad antibacteriana controlada, por ello es que, una investigación *in vivo* en India, realizado por Abdelkhalek S, EzzEldin N, Gaber G y Abdelnasser M, corrobora que el extracto de té verde es

efectivo contra el *Streptococcus mutans*.(6) Otro estudio también en India, elaborado por Kaur H, Jain S y Kaur A, respalda la eficacia del enjuague bucal con té verde al 0,25% como agente antiplaca.(7)

A nivel nacional, se han elaborado también estudios in vivo para observar el té verde como agente antiplaca, demostrando también efectos positivos; sin embargo, se han realizado otros estudios en el país, buscado determinar *in vitro* la acción antibacteriana sobre el *Streptococcus mutans*, y saber además desde qué concentraciones pueden ser útiles. Tal lo indica la investigación realizada por Peralta E, quien encontró que el té verde en extracto en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% poseen acción antibacteriana sobre el *Streptococcus mutans*, determinando que a medida que aumenta la concentración del extracto, mayor es el nivel inhibitorio.(8)

Pese a que el efecto antibacteriano de la planta *Camellia sinensis* ha sido probada por diversos estudios, la viabilidad que tienen las personas en adquirir esta especie de manera certificada es limitable, ya que la muchos de los estudios realizados del tema no han previsto el evaluar los extractos del té verde que están al alcance de la población en general, tales como los productos comerciales de té verde de las marcas Renacer® y Eco valle®.

Por ello se estableció el siguiente enunciado: ¿Existe efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, 2019?, así mismo se planteó como objetivo general: Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019. Por otro lado, los

objetivos específicos planteados fueron: Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) de la marca Renacer® y Eco valle® al 25%, 50% y 75% sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12%.

La presente investigación se justifica en la búsqueda de disminuir el problema anteriormente descrito con productos naturales de fácil acceso a la población, así también de seguir aportando conocimiento con datos reales sobre la efectividad antibacteriana *Camellia sinensis* (té verde) frente *Streptococcus mutans* y contribuir a futuras investigaciones en seguir evidenciando la utilidad y empleo de la medicina natural. Este estudio no solo abarca el utilitarismo, sino también hace de conocimiento a la población odontológica, la importancia de la realización del uso de la medicina natural en las bases odontológicas. Por lo tanto, se espera que a través de esta investigación se pueda incentivar a la población universitaria sobre la importancia de seguir investigando sobre fármacos naturales, contribuyendo así a la prevención de la enfermedad bucodental más prevalentes como es la caries dental. Por último, a nivel local no existe información científica sobre la efectividad antibacteriana *in vitro* de la *Camellia sinensis* sobre *S. mutans*, por lo que estos datos contribuyen a la estadística distrital y servirá como antecedente a investigaciones locales futuras.

La investigación se realizó en los laboratorios de Biología y Microbiología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Sede Central, en el año 2019, dónde se evaluó el efecto antibacteriano *in vitro*, del extracto del té verde en las concentraciones de 25%, 50% y 75 de dos marcas comerciales sobre cultivos de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en 32 placas Petri (16 para cada

marca) durante el tiempo de 48 horas. Se realizó el método de difusión del Agar, para lo cual, los halos de inhibición se midieron con un calibrador vernier, para luego registrarlo en una ficha de recolección de datos. Los datos fueron procesados en el programa estadístico SPSS, aplicando la prueba estadística ANOVA para la contratación de la hipótesis. En los resultados se obtuvo que hubo mayor formación de halos de inhibición en la marca Renacer® 75% con una media de 14,133 mm, seguida por Eco valle® 75% con una media de 12,328 mm, concluyendo que, si existe efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

El estudio consta de seis capítulos: La Introducción, que incluye la realidad y contextualización del problema, el enunciado del problema, los objetivos y la justificación; la Revisión de la literatura, constituida por los antecedentes y bases teóricas; la Hipótesis de la investigación; la Metodología, en donde se especifica el diseño del estudio, la población y muestra, la técnica, el instrumento, procedimiento y principios éticos aplicados; los Resultados, presentados en tablas y gráficos; y por último las Conclusiones del estudio.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

Internacionales:

Abdelkhalek S, EzzEldin N, Gaber G, Abdelnasser M. (Egipto, 2018).

“Comparación de la eficacia de los enjuagues bucales de extracto de *Camellia sinensis*, extracto de hojas de guayaba y solución de fluoruro de sodio, en *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* en niños (un estudio in vivo)”. **Objetivo:** Evaluar y comparar intraoralmente la eficacia de extracto de *Camellia sinensis* al 0,5%, extracto de hojas de guayaba al 0,5%, solución de fluoruro de sodio al 0,2% sobre el número de *Streptococcus mutans* y *Lactobacilli spp.* en la cavidad bucal. **Metodología:** Se realizó un estudio prospectivo y experimental, aplicado a 44 niños sanos del grupo de edad de 7 a 12 años. Los sujetos fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos: (A) extracto de *Camellia sinensis* 0,5%, (B) extracto de hojas de guayaba 0,5%, (C) fluoruro de sodio 0,2% y (D) enjuague bucal salino, con 11 sujetos por grupo. Se tomaron muestras de placa y se evaluó el recuento bacteriano de *Streptococcus mutans* antes y después de usar los enjuagues bucales. Se tomaron muestras de saliva y se evaluó el recuento bacteriano antes y después de usar los enjuagues bucales. **Resultados:** La prueba de pares emparejados de Wilcoxon y la prueba U de Mann-Whitney mostraron que el fluoruro, el té verde y el extracto de guayaba redujeron significativamente los recuentos de colonias de *Streptococcus mutans* en la placa en comparación con la solución salina. **Conclusión:** El extracto de té

verde fue más efectivo que el extracto de guayaba en *Streptococcus mutans* en placa en comparación con el fluoruro.(6)

Figuroa A, Figuroa M, Torres F, Obando G. (Ecuador, 2017).
“Estudio de las propiedades antimicrobianas de la *Camellia sinensis* en un modelo microbiano oral”. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Camellia sinensis* (té verde) sobre un modelo de microflora oral. **Metodología:** Estudio prospectivo y experimental, en donde se utilizaron dos extractos etanólicos de té verde de diferente procedencia (Perú y China), en concentraciones de 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 y 0,25 mg/ml. Se evaluaron la concentración mínima y máxima inhibitoria sobre cepas de *S. mutans*, *S. mitis*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *S. aureus*, *F. nucleatum*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *C. glabrata* y *E. faecalis*. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente utilizando la prueba estadística Kruskal Wallis con un nivel de significancia de 5%. **Resultados:** Los resultados mostraron que tanto el té verde peruano como el chino, no muestran diferencias inhibitorias en el modelo de microflora utilizado. La *Camellia Sinensis* no poseen características antimicrobianas contra las bacterias *S. mitis*, *S. aureus*, *F. nucleatum*, *L. rhamnosus* y *E. faecalis*. Fue observada una respuesta bacteriostática a la concentración de 16mg/ml sobre el *S. mutans*. Además, mostró acción fungiestático para *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. (p<0.05) **Conclusión:** El extracto etanólico de 16mg/ml de *Camellia Sinensis* presenta efecto inhibitorio sobre cepas de *S. mutans*, *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*.(9)

Kaur H, Jain S, Kaur A. (India, 2014). “Evaluación comparativa de la eficacia antiplaca del enjuague bucal de catequina de té verde con gluconato de clorhexidina”. **Objetivo:** Comparar la eficacia antiplaca del enjuague bucal de catequina de té verde con el enjuague bucal de gluconato de clorhexidina. **Metodología:** Se realizó un estudio prospectivo, comparativo, cruzado a simple ciego entre 30 participantes en el grupo de edad de 18 a 25 años, los cuales fueron divididos aleatoriamente en dos grupos de 15 cada uno. Las muestras de enjuague bucal para el estudio fueron previamente etiquetadas con las letras: A (0,25% de té verde) y B (0,12% de clorhexidina). En la fase I, se administró el enjuague bucal “A” a un grupo y el enjuague bucal “B” al otro grupo por 07 días. En la fase II, a ambos grupos se les administró el otro enjuague bucal también por 07 días, registrando al final de cada fase la puntuación de placa utilizando el índice de Turesky. **Resultados:** La diferencia entre las puntuaciones de placa no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$). Los resultados mostraron que tanto los grupos que son enjuague bucal de catequina de té verde (0,25%) como enjuague bucal de clorhexidina (0,12%) tienen resultados comparables en la reducción de placa bacteriana. **Conclusión:** El estudio respalda la eficacia del enjuague bucal con catequina de té verde al 0,25% como agente antiplaca.(7)

Nacionales:

Cayo C, Cervantes L. (Lima, Perú, 2020). “La actividad antibacteriana de *Camellia sinensis* comparada con propóleo frente al *Streptococcus mutans*”.

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico

del té verde (*Camellia sinensis*) al 10 % y 20 % comparado con extracto etanólico de propóleo al 10 % y 20 %, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). **Metodología:** Estudio experimental *in vitro*, longitudinal, prospectivo y comparativo. El universo estuvo constituido por 90 discos de difusión y la muestra por 15 discos embebidos en té verde (*Camellia sinensis*) o propóleo a diferentes concentraciones, clorhexidina acuosa al 0,12 % y agua destilada. Se colocaron los discos de difusión embebidos en las sustancias sobre agar Mueller Hinton, sembrado con *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), haciendo medición del ancho de los halos inhibitorios a las 24 y 48 horas. Se aplicaron pruebas de comparación no paramétricas de Kruskal Wallis y la prueba rangos de Wilcoxon. **Resultados:** El máximo ancho de halo inhibitorio logrado por clorhexidina acuosa al 0,12 %, extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 20 % y extracto etanólico de propóleo al 20 % fue a las 24 h con valores de 10,64 mm \pm 0,924 mm, 6,82 mm \pm 0,982 mm y 8,36 mm \pm 1,286 mm, respectivamente. El extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 20 %, presentó diferencias estadísticamente significativas respecto al extracto etanólico de propóleo al 20 %, tanto a las 24 h (p= 0,013), como a las 48 h (p= 0,011). **Conclusión:** Frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans*, el extracto etanólico de propóleo al 20 % presenta mayor actividad antibacteriana respecto al extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 10 % y 20 %, actividad que disminuye con el paso del tiempo.(10)

Peralta E. (Lima, Perú, 2020). “Evaluación in vitro del efecto del *Camellia sinensis* (té verde), sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)”.

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro, del extracto hidroalcohólico del té verde en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% sobre cultivos de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Metodología: Estudio 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 y se realizó la prueba no paramétrica de

Kruskall Wallis. **Resultados:** La clorhexidina al 0,12% presentó 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*. La clorhexidina 0,12% mostró 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 11,91 y 11 mm (desviación estándar de 1.776 mm) respectivamente. El té verde al 50% mostró un halo inhibitorio promedio de 9,550 mm (desviación estándar de 1,053 mm) y al 25% mostro un halo inhibitorio promedio de 8,317 mm (desviación estándar de 0,748 mm). **Conclusión:** El extracto de té verde en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% poseen eficacia antibacteriana sobre el *Streptococcus mutans*, observándose que a medida que aumenta la concentración, mayor es el nivel de inhibición.(8)

Portillo M. (Puno, Perú, 2017). “Efectividad de un colutorio de *Camelia sinensis* (té verde) sobre *Streptococos mutans* en placa bacteriana de niños de 6 – 9 años de un Albergue infantil Puno 2016-2017”. **Objetivo:** Determinar el efecto de la *Camelia Sinensis* (té verde) en forma de colutorio sobre la cantidad de unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* en la placa bacteriana durante los meses de diciembre 2016 a febrero 2017. **Metodología:** Investigación de tipo prospectivo, longitudinal y analítico, cuya muestra fue conformada por 16 niños de 6 a 9 años de edad del Albergue Infantil Virgen de la Candelaria de Puno, dentro de los criterios de inclusión se consideró que no recibieran antibióticos durante el mes precedente y que tuvieran caries activas. Al grupo experimental se le aplicó el colutorio de *Camelia sinensis* a 10% y al grupo control agua destilada. Se sembró en agar Sangre y agar Trypticasa, se utilizó el método bacteriológico para el aislamiento de la especie y el recuento de Unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans* por ml. (UFC/ml). **Resultados:** En la fase de pre intervención se observó una amplia contaminación por *Streptococos mutans* en su totalidad de los pacientes tanto del grupo control y del experimental con un promedio de crecimiento de $6,21 \times 10^4$ UFC/ml. En la fase de post intervención, a la primera semana la *Camelia sinensis* evidenció un efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* con un promedio de reducción de 57,87 %, y hasta la tercera semana un promedio de reducción del 66,8% en comparación con el grupo control en el cual los niveles de *Streptococcus mutans* se mantuvieron sin diferencias estadísticamente significativas. **Conclusión:** El efecto

antibacteriano del colutorio de *Camellia sinensis* al 10% produjo una disminución significativa de UFC de *Streptococcus mutans*.(11)

García K. (Trujillo, Perú, 2015). “Efecto antibacteriano de una infusión de *Camellia sinensis* (té verde) usada como colutorio, sobre placa bacteriana y saliva”. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano de una infusión de *Camellia sinensis* (té verde) usada como colutorio, sobre placa bacteriana y saliva. **Metodología:** El estudio fue de tipo prospectivo, experimental, el cual consistió en preparar la infusión de *Camellia sinensis* al 20 % a 90 °C, siendo aplicada a 84 alumnos de nivel secundario (grupo experimental). Otros 84 alumnos constituyeron el grupo control (enjuague con solución salina). El efecto antibacteriano fue determinado mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) en cultivos de placa dental y saliva; tomadas tanto antes de la aplicación de la infusión, inmediatamente después y a los 10 minutos. **Resultados:** Se observó disminución en el conteo de UFC tanto en placa bacteriana como en saliva ($p < 0,01$); además el efecto se prolongó hasta 10 minutos después de la aplicación de la infusión. ($p < 0,01$). **Conclusiones:** Existió efecto antibacteriano de la infusión sobre placa bacteriana y saliva tanto inmediatamente después como a los 10 minutos de su aplicación.(12)

Pumacajia Y. (Puno, Perú, 2015). “Efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* en cepillos dentales de estudiantes de I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015”. **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* (Té

verde) al 20% sobre *Streptococcus mutans* en cepillos dentales usados por estudiantes de la Institución Educativa Secundaria (I.E.S.) San Antonio de Padua de Puno. **Metodología:** Estudio experimental, prospectivo y longitudinal; cuya muestra estuvo constituida por 36 cepillos dentales. Se entregó un cepillo y pasta dental nuevos a cada estudiante, se supervisó el cepillado durante cinco días, se recogieron los cepillos y se transportaron al laboratorio microbiológico para proceder con el cultivo en agar Mitis Salivarius y terminar con el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus mutans*. En una segunda fase, se entregaron otros cepillos dentales nuevos, se supervisó el cepillado por cinco días, después de cada cepillado se aplicó la infusión de *Camellia sinensis* 20% en aerosol; se escogieron al azar 03 cepillos para aplicar clorhexidina al 0,12% en aerosol y 03 cepillos para el agua potable. Se realizó el procesamiento de muestras al igual que en la primera fase. Se terminó por comparar la cantidad de UFC antes de la aplicación de las soluciones de estudio. **Resultados:** En la fase de pre intervención se observó una amplia variación en el grado de contaminación de los cepillos por *Streptococcus mutans* con un promedio de 42,3 UFC/ml. En la fase de post intervención, la infusión de *Camellia sinensis* evidenció efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* con un promedio de reducción del 74,5% UFC, la clorhexidina 0,12% presentó un promedio de reducción del 92,4% UFC, y el agua potable mostró el menor efecto antibacteriano con un promedio de reducción de 12,2% de UFC. **Conclusión:** El efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% es similar al efecto antibacteriano de la

clorhexidina 0,12% ya que produjeron disminución significativa de UFC de *Streptococcus mutans*.(13)

Rivera B. (Arequipa, Perú, 2015). “Efecto de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólicos a base de llantén (*Plantago mayor*) y té verde (*Camellia sinensis*), a la concentración del 25%, 50% y 100% sobre *Streptococcus mutans*, Universidad Católica de Santa María, Arequipa 2015”. **Objetivo:** Evaluar y comparar la actividad antibacteriana que poseen los extractos hidroalcohólicos hechos a base de *Plantago mayor* y *Camellia sinensis*, a concentraciones de 25%, 50% y 100%, sobre *Streptococcus mutans*, realizando pruebas *In vitro*. **Metodología:** Estudio experimental, cuya muestra estuvo constituida por 18 Placas Petri, las cuales se dividieron en tres grupos de 6 cada uno, correspondientes al Llantén, té verde y amoxicilina. El sembrado en Placas Petri de las cepas certificadas de *Streptococcus mutans*, se realizó con el Agar Mitis salivarius con una incubación a 37°C por 48 horas. Finalmente se procedió a efectuar la prueba de difusión (Kirby – Bauer) con discos en Agar Mitis salivarius, para comparar la acción antibacteriana de los extractos mediante la medición de los halos de inhibición a las 24 y 48 horas, comparándolos con un control (Amoxicilina). **Resultados:** El Llantén y Té Verde poseen mayor efecto antibacteriano a una concentración del 100% ($p < 0.05$), frente a la del 50% y 25% las cuales no tienen diferencia estadística significativa entre sí. Se encontró además que el Té verde en sus diferentes concentraciones ejerce una capacidad antimicrobiana mayor que el Llantén a las mismas concentraciones ($p < 0.05$). No se encontró diferencia estadística significativa

en los halos de inhibición a las 24 y 48 horas en las placas que contenían Té verde ($p > 0.05$). El té verde a una concentración de 25% hizo un halo de inhibición promedio de 9,26 mm, con una inhibición mínima de 8 mm y máxima de 12 mm; mientras que en una concentración de 50%, hizo un halo de inhibición promedio de 9,63 mm, con una inhibición mínima de 8,8 mm y máxima de 13 mm. **Conclusión:** Ambas plantas tienen capacidad antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans*, siendo el Té verde más efectivo que el Llantén.(14)

López G. (Lima, Perú, 2014). “Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de la *Camellia sinensis* (té verde) frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y al *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556)”.

Objetivo: Evaluar in vitro el efecto antibacteriano de la *Camellia sinensis* (té verde) frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y al *Streptococcus sanguinis* (ATCC10556). **Metodología:** Investigación de tipo prospectivo y experimental, en el cual, se probaron dos extractos de té verde, uno comercial y otro a granel. Se utilizaron 24 discos para el primer extracto (Comercial) y la misma cantidad para el segundo extracto metanólico (Granel), se dividieron en grupos de 12 discos para cada bacteria, con un total de 4 placas petri por cada uno. Además, cada placa contenía 3 discos embebidos de té y 1 disco con Clorhexidina al 0,12% como grupo control. Estas muestras fueron analizadas con el método de difusión en agar con discos y los halos de inhibición se midieron a las 72 horas. **Resultados:** Se encontró efecto antibacteriano para ambos extractos probados. El promedio del halo de inhibición para el extracto de té verde comercial fue de 19,72

mm y para el extracto de té verde a granel fue de 18,1 mm frente al *Streptococcus mutans*. Con respecto a la Concentración mínima inhibitoria (CMI), para el caso de *Streptococcus mutans* se determinó una CMI de 0,08 gr/ml para el extracto comercial y al extracto a granel. **Conclusión:** Ambos extractos metanólicos de té verde presentaron efecto antibacteriano contra las cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC10556). El té verde comercial fue el que presentó mayor efecto antibacteriano que el extracto a granel.(15)

Ulloa T. (Trujillo, Perú, 2009). “Susceptibilidad in vitro del *Streptococcus mutans* ATCC 2652263 frente a tres extractos etanólicos de *Camellia sinensis* “té verde””. **Objetivo:** Conocer la susceptibilidad in vitro del *Streptococcus mutans* ATCC 2652263 frente a tres extractos etanólicos de *Camellia sinensis* “té verde”. **Metodología:** Investigación de tipo experimental, aplicada y explicativa. Se midió la susceptibilidad del *Streptococcus mutans* frente a tres extractos de *Camellia sinensis* “té verde” al 5%, 10% y 20% sin diluir; así como en diluciones de 25%, 50% y 75% de cada uno; obteniendo así 12 subgrupos y uno control correspondiente al etanol, utilizando el método de Difusión en discos de papel. **Resultados:** En todos los casos, el valor más alto del halo corresponde al 100% (sin diluir); siendo mayor en el extracto de 20% (promedio de halo 8,64 mm). Así mismo, se demuestra estadísticamente que a una dilución de 50% del extracto, el halo promedio obtenido es igual al halo obtenido con dilución de 75%. **Conclusión:** El *Streptococcus mutans* es susceptible a la *Camellia sinensis* 5%, 10%, 20%, y la susceptibilidad aumenta a medida que la

concentración de los extractos y sus respectivas diluciones van en aumento.(16)

2.2. Bases teóricas de la investigación

2.1.1. Té verde (*Camellia sinensis*)

Esta planta procede del sur de China y actualmente es cultivado en distintas partes del mundo, es un extracto de té muy conocido de nombre *Camellia sinensis* y su elaboración consiste en presionar las hojas, luego se procede al enrollado, aplastado y finalmente son dejados a secar. Este té es el cuarto mayor elaborado en todo el mundo, en donde sus máximos productores están en China, Japón y Vietnam.

Esta planta tiene pocas carencias de fermentación y posee múltiples variedades elevadas de antioxidantes, regulando la cantidad de insulina en la sangre y nivelando los valores de colesterol y triglicéridos.(3)

2.2.2 Característica del género de *Camellia*.

Es un árbol que llega a medir hasta 4 metros de altura y crece en zonas de humedecimiento y de temperaturas no extremas. Hasta inicios del siglo XIX, Asia era el único continente que producía este té, con el tiempo, su producción se extendió a África, Oceanía, y América del Sur.(17)

Muchas investigaciones determinan que el té verde tiene acción antioxidante y anticancerígeno, previene la hipertensión y al riesgo de enfermedad cardiovascular. Contiene proteínas, lípidos y vitaminas (B, C, E) y elementos químicos como calcio, zinc, magnesio, potasio y sodio.(3)

2.2.3. Principios activos del té verde (*Camellia sinensis*)

Posee sales minerales como níquel, sodio y potasio, cobre y hierro, calcio, silicio, aluminio, magnesio y fósforo. El elemento más importante del té es el flúor, el mismo que actúa como protector de los tejidos duros de los dientes. Él te posee un olor fuerte y contiene aceite esencial de color amarillo, el cual origina el aroma característico del té. A continuación, se detalla sus compuestos:(18)

- a) **Polifenoles:** Son compuestos antioxidantes, los cuales actúan a nivel celular, convirtiéndole en una sustancia protectora contra la senectud de la piel. La producción de catequina, el cual es un antioxidante que procede de las plantas y está presente en esta también, varía la noradrenalina, incrementando la velocidad de combustión de calorías.
- b) **Alcaloides:** Su alta densidad de cafeína y teína son de gran importancia para la exclusión de las grasas, aunque su potencia estimulante pueda dar efectos secundarios.
- c) **Aminoácidos y minerales:** El té verde posee minerales como aluminio, calcio, cobalto, cobre.
- d) **Taninos:** Origina el característico aroma del té y en parte el sabor amargo. Se resalta una de sus virtudes que tiene como son el antioxidante y astringentes.
- e) **Cafeína:** Este té comprende de poca cantidad de cafeína, que adecuadamente es propio el café en sí, pero que se puede encontrar de manera sumamente reducida.(3, 18)

2.2.4. Usos y Aplicaciones del té verde en la salud bucal

El té verde es estudiado hasta la actualidad por sus beneficios en la salud oral. Dentro de sus compuestos, están los polifenoles, responsables de combatir a los agentes patógenos como el *Staphylococcus aureus* y además a otras bacterias de la cavidad bucal como el *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*. Su uso y aplicación en la salud bucal es muy beneficioso, además de su bajo costo y por sus pocos efectos colaterales que pueden presentar. La presencia de taninos inhibe la síntesis de la dextrosa, el flúor inhibe la acción enzimática, así como los flavonoides que inhiben la adherencia de la placa bacteriana, además confieren efecto inhibitorio sobre muchos hongos.(19)

2.2.5. Placa bacteriana

Es una capa o película pegajosa e incolora formada por azúcares (mucopolisacáridos) y bacterias de la cavidad bucal, sostenido por una red de mucoproteínas, que además de unir a las bacterias entre sí, sirve también para alimentarlas. La placa bacteriana o biofilm está adherida firmemente a la superficie dental y no basta con el uso de colutorios para eliminarla, sino que será necesario el uso de hilo y cepillo dental para poder removerla.(20)

2.2.6. Clasificación de la Placa Bacteriana

El biofilm o placa bacteriana se puede clasificar:

a) Placa supragingival. El borde gingival es trascendente para esta clasificación, la cual divide en dos dimensiones: la coronaria y la placa del borde. La placa en este nivel la compone microorganismos en un 70 a 80%, mientras que el porcentaje restante está compuesto por células epiteliales,

leucocitos, macrófagos, polisacáridos, proteínas y lípidos. Estos componentes se refieren a los resultados extracelulares de los organismos microscópicos, su citoplasma y las películas de células sobrantes, la acumulación de nutrientes y los subordinados de las glicoproteínas salivales. La placa supragingival está constituida predominantemente por una flora bacteriana sacarolítica gram positiva, en las cuales se encuentran microorganismos cariogénicos como el *Streptococcus mutans*.(20)

b) Placa subgingival. La placa bacteriana que se encuentra en la superficie dental, se adhiere al surco gingival. La placa en este nivel está compuesta generalmente por bacilos y cocos gram positivos, y por pocos gramnegativos. Entre los gram positivos, vemos bacterias tales como *S. sanguis*, *S. gordinii*, *S. oralis*, *A. viscosus*, *A. naeslundii*, y especies de *Eubacterium*. A medida la placa se dirige hacia zonas más profundas, predominan los anaerobios facultativos, tales como *Actinomyces*, bacilos anaerobios gramnegativos como *Eikenella corrodens* y también bacterias anaerobias estrictas como *Eubacterium* y *Veillonella*.(20)

2.2.7. Formación, crecimiento y proliferación de la Placa Bacteriana

La película adquirida, que está formada por los aminoácidos de las glicoproteínas de saliva, se adhiere a la superficie dental y una hora después de esto, se obtienen ya, importantes proporciones de microorganismos en el margen gingival de la superficie que se había limpiado. Después de ello, se incorporarán colonias de bacterias a la película adquirida de la siguiente forma:(21)

- a) En los dos primeros días, los microorganismos aerobios gram positivos proliferan a partir de la flora normal, tal es el caso del *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguis*.
- b) Posteriormente, se empieza una transición hacia especies facultativas gram positivas.
- c) Al desarrollarse la placa bacteriana en un medio privado de oxígeno, se manifiestan los microorganismos anaerobios gramnegativos.
- d) Finalmente, aparecen colonizadores secundarios. Estos, no podrán adherirse a la superficie del diente o la película, pero sí podrá adherirse a otras especies bacterianas existentes en las primeras capas del biofilm.(21)

Cabe mencionar que el desarrollo dinámico del biofilm, se clasifica en 3 momentos: Adhesión, Crecimiento, y Separación o desprendimiento. En esta última fase de las 3, la biopelícula alcanza la madurez, se independizan de la matriz para invadir nuevas superficies que cierran la fase de formación y desarrollo. Se puede concluir que las bacterias liberadas pueden volver a su fenotipo planctónico.(20, 21)

2.2.8. Streptococcus mutans

La boca ofrece condiciones favorables para el desarrollo de diversos microorganismos, estas condiciones son la temperatura, la humedad, las sustancias orgánicas de la superficie dental, el pH de la cavidad bucal, la oscuridad, la inestabilidad del oxígeno y anhídrido carbónico.

De todos los microorganismos presentes en la boca, el género más implicado con el desarrollo de la caries dental, es el *Streptococcus*. La

especie *Streptococcus mutans* viene a ser el microorganismo patógeno más habitual y principal de la caries, y junto a él, el *Lactobacillus*.(22)

El *Streptococcus mutans* es una bacteria Gram positiva, anaeróbica facultativa, que generalmente se encuentra en la cavidad oral humana, en una parte de la placa dental o en el biofilm dental. Se identifica con el inicio y el avance de la caries dental. Es neutrófilo, ya que vive en un medio con pH no partidista, acidogénico para procesar azúcares en ácidos corrosivos. Utiliza sacarosa para crear polisacáridos extracelulares (sustancia libre que estimula su agarre a las esencias libres de los dientes) e intracelular (digestión de vitalidad). En estado de bienestar, una inclusión de estos microbios en la boca será inferior a 100.000 UFC.(23)

Streptococcus mutans es un tipo de microorganismos reunidos en cadena, que para tener la opción de desarrollar y crear "in vitro" Se necesitan medios ricos y un dominio con baja presión de oxígeno. Varios tipos de estreptococos pueden sujetar rápidamente varios segmentos de la macromolécula salival equivalente. Esta asociación de los segmentos salivales aclararía, hasta cierto punto, la particularidad observada en el enlace bacteriano a la película. Un enfoque estimado en UFC/ml de salivación habla del peligro de caries: valores menores a 10^5 UFC/ml de saliva, el peligro de generación de caries es bajo; entre 10^5 a 10^6 UFC/ml de saliva, el peligro es moderado; y mayor a 10^6 UFC/ml de saliva el riesgo es alto.(22)

Dentro de sus principales características, tenemos que:

- Son representados por ser anaerobios facultativos, lo que implica que pueden vivir en la cercanía o no de oxígeno.
- Requieren de 5 a 10% de CO₂ para desarrollarse, razón por la cual se les llama microerófilas.
- Son microorganismos verdaderamente vulnerables a los cambios naturales, por lo que no duran mucho tiempo fuera del cuerpo.(22, 23)

2.2.9. Morfología del *Streptococos mutans*

- Los *Streptococos mutans* son células redondas, por lo que se le denominan cocos.
- Se ubican orquestados en cadenas.
- No enmarcan esporas y no son portátiles. Cuando se recoloran con la estrategia de cambio de color de Gram, se vuelven de color púrpura, es decir, son Gram positivos.
- Tienen un divisor bacteriano gram positivo común. Contiene un peptidoglicano grueso de 80 nm de espesor, en el que se ata el corrosivo teicoico, mientras que el corrosivo lipoteicoico se fija a la capa celular.
- No tienen almidón en su divisor celular.(22)

2.2.10. Capacidad de adherencia y formación a la biopelícula

S. mutans puede adherirse a la película dental, que es una capa natural mineralizada, fisiológica y ligera del exterior de los dientes, hecha de proteínas y glicoproteínas. Cuando están conectados a la película dental, estos microorganismos tienen la propiedad de aferrarse a otros microorganismos, a través de la disposición de polímeros de glucanos

extracelulares, actuando como una pasta que mantiene unida toda la placa.(20)

S. mutans, una vez introducido en la placa dental, utiliza los monosacáridos y disacáridos presentes en la dieta del día a día, por ejemplo, glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa y maltosa, es ahí donde este microorganismo realiza la glucólisis bacteriana, dando como resultado la creación de ácidos, entre ellos el ácido láctico, ácido propiónico y el ácido fórmico.(21)

Posteriormente, el *S. mutans* puede combinar polisacáridos intracelulares que se procesan para suministrar ácidos sin almidones exógenos fermentables. Por lo tanto, este microorganismo puede reducir el pH bucal a 4,2, causando la desmineralización del diente y posterior desarrollo de la caries dental. Esto habla del principio cariogénico de esta bacteria.(24)

2.2.11. Efectos antimicrobianos sobre el *Streptococos mutans*

Existen compuestos que tienen efectos antimicrobianos sobre esta bacteria, la principal y considerada como Gold estándar en el presente estudio es el Gluconato de clorhexidina. Estudios han demostrado que el gluconato de clorhexidina al 0,12% reduce de forma significativa las colonias de *S. mutans*, esto debido a que este compuesto actúa bloqueando los grupos ácidos libres, tales como los sulfatos, carboxilos y fosfatos de las glucoproteínas salivales. Esa acción ocasiona una disminución de la adherencia proteica sobre la superficie de la pieza dental, evitando y retardando la formación del biofilm. Así mismo, el gluconato de

clorhexidina a esta concentración, bloquea la adhesión y coagregación de las bacterias a la película adquirida.(2, 25)

Con respecto a la acción o efecto del té verde (*Camellia sinensis*) sobre el *Streptococcus mutans*, se debe precisar que la amilasa salival hidroliza el almidón de los alimentos azucarados, tales como la glucosa y maltosa, y justamente son estos alimentos azucarados los fermentados por enzimas bacterianas, permitiendo así la producción de ácidos sobre la superficie dental. En este punto, el té verde inhibe la amilasa salival, por lo que, al no permitir la degradación de los alimentos azucarados, los *S. mutans* no podrían metabolizar la glucosa y producir así el ácido láctico.(10, 26)

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis de investigación:

Existe efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.

3.2. Hipótesis estadísticas:

Hipótesis nula:

H₀: No existe efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.

Hipótesis alternativa:

H₁: Si existe efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

Tipo de investigación

De acuerdo al enfoque: Cuantitativo

Según Supo J, en su libro sobre los tipos de investigación, considera que un estudio es cuantitativo cuando el investigador obtendrá resultados finales numéricos y porcentuales.(27)

De acuerdo a la intervención: Experimental

Según Supo J, considera que un estudio es experimental cuando el investigador realiza una intervención que pueda modificar los eventos naturales.(27)

De acuerdo a la planificación: Prospectivo

Según Supo J, en su libro sobre los tipos de investigación, considera que un estudio es prospectivo, cuando los datos son recogidos a propósito de la investigación (primarios) y no son tomados por datos pasados (secundarios).(27)

De acuerdo al número de ocasiones: Transversal

Según Supo J, en su libro sobre los tipos de investigación, considera que un estudio es transversal cuando la medición de las variables se realiza en una sola fecha.(27)

De acuerdo al número de variables a estudiar: Analítico

Según Domínguez J, considera que un estudio es analítico cuando se tiene dos a más variables de estudio a medir.(28)

Nivel de la investigación

Explicativo

Según Hernández R. Fernández C. Baptista M. (2014), consideran que un estudio es de nivel explicativo cuando la finalidad del mismo es poder explicar el comportamiento de una variable en función a otra(s).(29)

Diseño de la investigación

Experimental, experimento puro (experimental verdadero)

Según Hernández R. Fernández C. Baptista M, consideran que un estudio es de diseño experimental cuando se manipulan deliberadamente una o más variables, vinculadas a las causas, para medir el efecto que tienen en otra variable de interés; diseño con grupo control sólo después (post-test).(29)

- Esquema de investigación:

<p>GE: A - X - O₁ ----- GC: A - O₂</p>	<p>Donde: GE = Grupo experimental GC = Grupo control X = Variable experimental O₁ O₂ = Mediciones de cada grupo A = Aleatorización</p>
--	--

4.2. Población y muestra

Población

Estuvo conformada por las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)

Criterios de inclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) activadas
- Tejido vegetal (*Camellia sinensis*) de las marcas Renacer® y Eco valle® con sus compuestos químicos estables para su análisis.

Criterios de exclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) no activadas durante su cultivo.
- Placas Petri que conteniendo los cultivos del Agar Müller Hinton con cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), presentaron algún defecto en su estructura después de sacarlas de la incubadora.

Muestra:

Estuvo conformada por 32 placas Petri conteniendo cultivos del Agar Müller Hinton, con cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Dicho proceso fue realizado en un estudio similar por Cadena K.(30), quien consideró:

- Nivel de Potencia ($1-\beta$) de 90%
- Error máximo permitido $\Delta=0.8$ (80% de una desviación estándar de los datos)

A partir de ello, se consignó para la presenta investigación una confiabilidad del 95%:

- Nivel de confiabilidad (1-a) del 95%, a = 5%
- k = 3 (para tres concentraciones de la muestra)

A partir de los parámetros especificados se obtiene el valor de λ para satisfacer

el nivel de potencia especificada (90%) en la siguiente tabla:

λ Values Satisfying $\chi_{k-1}^2(\chi_{\alpha, k-1}^2 \lambda) = \beta$				
k	1 - β = 0.80		1 - β = 0.90	
	$\alpha = 0.01$	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$	$\alpha = 0.05$
2	11.68	7.85	14.88	10.51
3	13.89	9.64	17.43	12.66
4	15.46	10.91	19.25	14.18
5	16.75	11.94	20.74	15.41
6	17.87	12.83	22.03	16.47
7	18.88	13.63	23.19	17.42
8	19.79	14.36	24.24	18.29
9	20.64	15.03	25.22	19.09
10	21.43	15.65	26.13	19.83
11	22.18	16.25	26.99	20.54
12	22.89	16.81	27.80	21.20
13	23.57	17.34	28.58	21.84
14	24.22	17.85	29.32	22.44
15	24.84	18.34	30.04	23.03
16	25.44	18.82	30.73	23.59
17	26.02	19.27	31.39	24.13
18	26.58	19.71	32.04	24.65
19	27.12	20.14	32.66	25.16
20	27.65	20.56	33.27	25.66

ILUSTRACIÓN 1.- Tabla Values Satisfying

Fuente: Chow S, Shao J, Wang H.(31)

Según la ilustración 1, el valor de $\lambda=14.18$. Reemplazando en la fórmula los valores obtenidos:

$$n = \frac{\lambda}{\Delta} = \frac{12,66}{0,8} = 15,82 \sim 16$$

El tamaño de la muestra resulta 16, pero teniendo en cuenta que son dos marcas a evaluar (uno con té verde marca Renacer® y el otro con marca Eco valle®), se tiene:

$$n = 16 \times 2 = 32$$

Se tiene que la muestra se conformó por un total de 32 unidades (placas Petri).

4.3. Definición y Operacionalización de variables e indicadores

Variable	Definición conceptual	Dimensión	Tipo	Escala de medición	Indicadores	Valores finales
Independiente: <i>Camellia sinensis</i> (Té verde)	Especie de planta de procedencia asiática, cuyas hojas y brotes se utilizan para elaborar el té, usada como infusión o directamente como una medicina natural.(30)	Té verde Renacer® Té verde Eco valle®	Cuantitativa Cuantitativa	Razón Razón	Concentración de la solución (Renacer®) Concentración de la solución (Eco valle®)	25% 50% 75% 25% 50% 75%
Dependiente: Efecto Antibacteriano	Es la acción de un fármaco o recurso natural que tiene sobre un microorganismo (bacteria), ocasionando su muerte o deteniendo su crecimiento.(31)	-	Cuantitativa	Razón	Diámetro del Halo de inhibición	Efectivo (≥ 8 mm.) No efectivo (<8mm.)

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica: La técnica fue experimental, a través de la medición de los halos de inhibición en las placas Petri.

Instrumento: Ficha de recolección de datos, la cual sirvió para registrar las medidas de los halos de inhibición de manera individual, dicha medida se realizó en milímetros utilizando un calibrador vernier. La ficha elaborada por la investigadora y su aplicación fue de fácil uso.

Procedimiento:

- Se solicitó la autorización y permisos respectivos al jefe de los laboratorios de Biología y Microbiología de la Uladech Católica, Mg. Q.F. Edwin Vásquez Corales, mediante una carta de presentación emitida por el director de Escuela de Odontología.
- Se utilizó cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), obtenidas de manera comercial (GenLab del Perú S.A.C).
- La obtención de las hojas secas de *Camellia Sinensis* fueron adquiridas comercialmente. Se compró la marca Renacer® (28gr. que contiene 100% hojas de té verde) y la marca Eco valle ® (150gr. que contiene 100% hojas de té verde)
- El cultivo de las cepas y todo el procedimiento experimental, se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad Católica los Ángeles Chimbote, Sede Central, por el investigador y bajo la

supervisión y asesoramiento del microbiólogo Dr. Luis Alberto Sanchez Angulo.

- 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 agitó 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, y se procedió a la evaporación del contenido alcohólico de lo filtrado, obteniéndose de esta manera los principios activos totales. Luego se enrazó con agua destilada para obtener las concentraciones del extracto hidroalcohólico del té verde al 75%, 50% y 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.
- Para la preparación del Agar Müller Hinton, se pesó en la balanza analítica 25,8 gr del agar, y en un matraz estéril se le agregó 600 ml de agua destilada, para luego vertido llevado al calentamiento en agua hervida para la disolución total. Se introdujo en la autoclave durante 15 minutos a 121°C, con la finalidad de que el medio salga completamente estéril 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, se esperó a que el medio solidifique aproximadamente 3 a 5 minutos, realizándose este procedimiento en las 32 placas Petri, para finalmente rotular cada placa antes de iniciar la siembra.
- Se utilizó el Método de difusión en disco Kirby – Bauer (CLSI), el cual señala en principio, preparar los discos de papel wathman de 6mm de diámetro; sembrar la bacteria *S. mutans* durante 15 minutos posteriores a la estandarización con un hisopo estéril por el método de disseminación; y dispersar las bacterias por todo el agar, realizando una siembra homogénea y 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 gluconato de clorhexidina al 0,12 % (control positivo), un disco de papel de filtro embebido con 10 ul de extracto hidroalcohólico del Té verde a la concentración del 25%, otro al 50%, y otro más a 75%. Un quinto disco fue colocado en la placa, el cual fue embebido con agua destilada (control negativo).
- Estos 5 discos de papel con las diferentes concentraciones se colocaron 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 y dejándolos reposar por 15 minutos a temperatura ambiente, con la intención 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 48 horas. El microorganismo creció en la superficie de la placa Petri, pero alrededor de los discos se formaron unos halos de inhibición, dependiendo de la mayor o menor sensibilidad de la bacteria.
- 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 midió en milímetro con la ayuda de una regla graduada en milímetros y un calibrador vernier, registrando a la vez, los datos en las fichas de recolección.

Evaluación del efecto antibacteriano

- 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. Esto no sucede con el uso de los principios activos de una planta.
- Duraffourd trabajó mucho en fitoterapia clínica para demostrar la susceptibilidad que tienen los microorganismos a diversos aceites esenciales. Este investigador Duraffourd estableció la siguiente clasificación de acuerdo a las medidas 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 a 20 mm, y Alto (extremadamente sensible ++++) para un diámetro superior a 20 mm.(26)

4.5. Plan de análisis

La información registrada en la ficha de recolección se ingresó en una base de datos en el programa ofimático Excel 2013. Se empleó el software estadístico IBM SPSS versión 24 para el procesamiento de resultados. Los resultados se presentaron mediante medidas de tendencia central para el diámetro del halo de inhibición (en milímetros) obtenido en cada una de las concentraciones de *Camellia Sinensis*, con lo cual se buscó determinar la existencia de diferencias estadísticas entre las medias de los ensayos utilizando el análisis de varianza (ANOVA), donde el nivel de significancia considerado para la prueba fue de 5%, por ello un valor $p < 0.05$ se consideró significativo.

El análisis se realizó acorde a los objetivos planteados; mediante la confrontación de los resultados con los antecedentes y las bases teóricas; finalmente se formularon las conclusiones adecuadas.

4.6. Matriz de consistencia

Título: Efecto antibacteriano in vitro de la <i>Camellia sinensis</i> (té verde) sobre <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.				
Enunciado del problema	Objetivos de la investigación	VARIABLES	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
<p>¿Existe efecto antibacteriano in vitro de la <i>Camellia sinensis</i> (té verde) sobre <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) Chimbote, 2019?</p>	<p>General: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro de la <i>Camellia sinensis</i> (té verde) sobre <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) Chimbote, año 2019</p> <p>Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la <i>Camellia sinensis</i> (té verde) de la marca Renacer® al 25%, 50% y 75% sobre <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12% Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la <i>Camellia sinensis</i> (té verde) de la marca Eco valle® al 25%, 50% y 75% sobre <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12% 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) Efecto Antibacteriano 	<p>H₀: No existe efecto antibacteriano in vitro de la <i>Camellia sinensis</i> (té verde) sobre <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.</p> <p>H₁: Si existe efecto antibacteriano in vitro de la <i>Camellia sinensis</i> (té verde) sobre <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.</p>	<p>Tipo, Nivel y Diseño: Tipo cuantitativo, transversal, prospectivo, analítico, de nivel explicativo y de diseño experimental.</p> <p>Población y muestra La población estuvo conformada por las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) y la Muestra por 32 placas Petri conteniendo cultivos del Agar Müller Hinton, con cepas de <i>S. mutans</i> (ATCC 25175).</p>

4.7. Principios éticos

La investigación tomó en cuenta los principios éticos estipulados por la Uladech Católica en su Código de Ética para la Investigación – Versión 004.(32)

Protección a las personas.- Se respetó la dignidad humana, la identidad, la diversidad, la confidencialidad y la privacidad.

Beneficencia y no maleficencia.- Se aseguró el bienestar de las personas y/o especies que fueron parte de la investigación. La conducta del investigador respondió a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios.

Justicia.- El investigador ejerció un juicio razonable y ponderable, tomó las precauciones necesarias para otorgar equidad y justicia a todos los involucrados en la investigación, teniendo así mismo el derecho de acceder a sus resultados.

Integridad científica.- La integridad del investigador resultó especialmente relevante cuando en función de las normas deontológicas de su profesión, se evaluaron y declararon los daños, riesgos y beneficios potenciales que pudieron afectar a quienes participaron en la investigación.

Cuidado del medio ambiente y respeto a la biodiversidad.- Se respetó la dignidad de los animales, el cuidado del medio ambiente y las plantas, por encima de los fines científicos; y se tomaron medidas para evitar daños y planificación de acciones para disminuir los efectos adversos.(32)

V. RESULTADOS

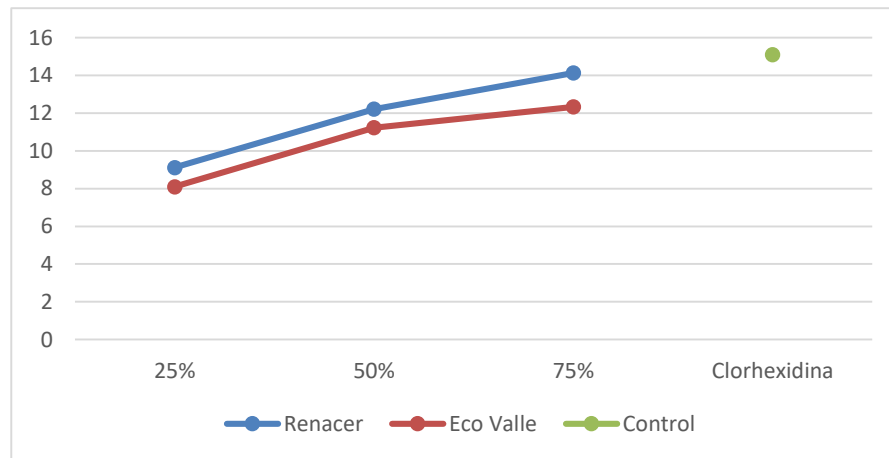
5.1. Resultados

Tabla 1.- Efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019

Concentración de <i>Camellia</i> <i>sinensis</i>	N	Halos de inhibición (mm.)			D.S.
		Media	Mínimo	Máximo	
Renacer® 25%	16	9,121	8	10	0,942
Renacer® 50%	16	12,211	11	13	0,742
Renacer® 75%	16	14,133	14	15	0,741
Eco valle® 25%	16	8,100	7	9	0,825
Eco valle® 50%	16	11,230	10	12	0,934
Eco valle® 75%	16	12,328	12	13	0,729
Clorhexidina 0,12% (Control)	16	15,100	15	16	0,655

$p = 0,001$

Fuente: Ficha de recolección de datos.



Fuente: Datos de la tabla 1.

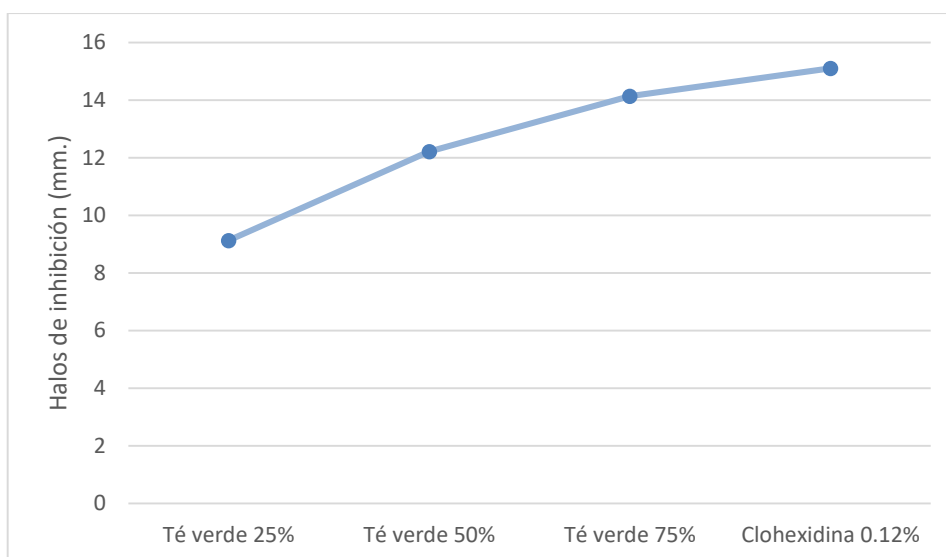
Gráfico 1.- Efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019

Interpretación: Se observa la formación de halos de inhibición en ambas marcas del *Camellia sinensis* y en sus distintas concentraciones, en donde la mayor formación fue en la marca Renacer® 75% con una media de 14,133 mm, seguida por Eco valle® 75% con una media de 12,328 mm. La prueba estadística ANOVA muestra significancia estadística $p=0,001 < 0,05$ lo que permite rechazar la hipótesis nula.

Tabla 2.- Efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) de la marca Renacer® al 25%, 50% y 75% sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12%

Concentración de <i>Camellia sinensis</i>	N	Subconjunto para alfa 0,05	
		1	2
Renacer® 25%	16	9,121 mm	
Renacer® 50%	16	12,211 mm	
Renacer® 75%	16	14,133 mm	
Clorhexidina 0,12%	16		15,100 mm
Sig		0,001	0,000

Fuente: Ficha de recolección de datos.



Fuente: Datos de la tabla 2.

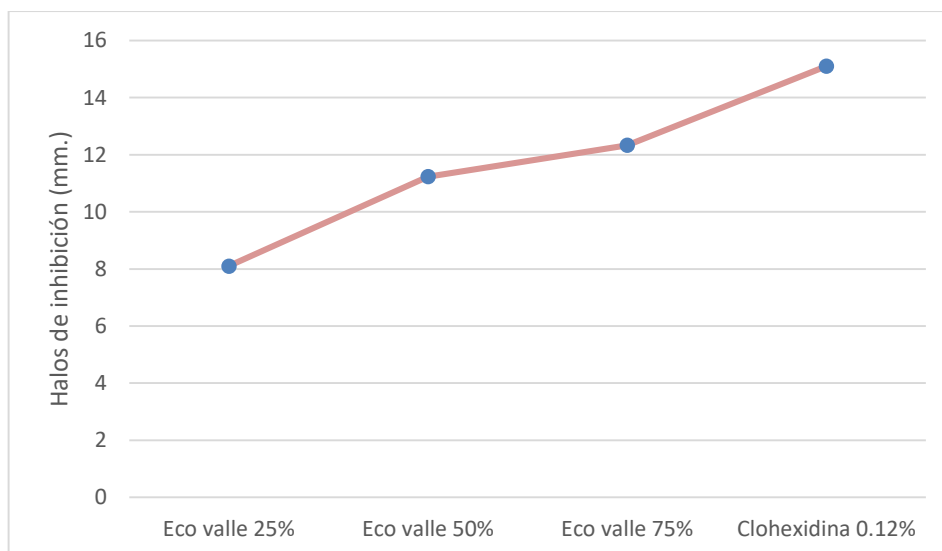
Gráfico 2.- Efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) de la marca Renacer® al 25%, 50% y 75% sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12%

Interpretación: Se observa la mayor formación de halos de inhibición la presenta el grupo de la clorhexidina 0,12% (subconjunto 2) con 15,1 mm. La significancia estadística de la clorhexidina 0,12% fue $p=0,00<0,05$, y la del grupo del *Camellia sinensis* (subconjunto 1) fue $p=0,001<0,05$, por lo que ambos subgrupos son de igual de efectivos.

Tabla 3.- Efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) de la marca Eco valle® al 25%, 50% y 75% sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12%

Concentración de <i>Camellia sinensis</i>	N	Subconjunto para alfa 0,05	
		1	2
Eco valle® 25%	16	8,100 mm	
Eco valle® 50%	16	11,230 mm	
Eco valle® 75%	16	12,328 mm	
Clorhexidina 0,12%	16		15,100 mm
Sig		0,001	0,000

Fuente: Ficha de recolección de datos.



Fuente: Datos de la tabla 3.

Gráfico 3.- Efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) de la marca Eco valle® al 25%, 50% y 75% sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación al gluconato de clorhexidina al 0,12%

Interpretación: Se observa la mayor formación de halos de inhibición la presenta el grupo de la clorhexidina 0,12% (subconjunto 2) con 15,1 mm. La significancia estadística de la clorhexidina 0,12% fue $p=0,00 < 0,05$, y la del grupo del *Camellia sinensis* (subconjunto 1) fue $p=0,001 < 0,05$, por lo que ambos subgrupos son de igual de efectivos.

5.2. Análisis de resultados

Los resultados nos develan la formación de halos de inhibición en ambas marcas del *Camellia sinensis* y en sus distintas concentraciones, en dónde la mayor formación fue en la marca Renacer® 75% con una media de 14,133 mm, seguida por Eco valle® 75% con una media de 12,328 mm, con una significancia estadística $p=0,001$ ($p<0,05$) indicando que si existe efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Estos resultados coinciden con el estudio internacional de Figueroa A, Figueroa M, Torres F, Obando G.(9) en Ecuador, quienes también encontraron una significancia estadística ($p<0,05$) en su estudio *in vitro* del extracto de *Camellia sinensis* (té verde) sobre un modelo de microflora oral, concluyendo que esta especie vegetal tiene efecto inhibitorio no solo sobre cepas de *S. mutans*, sino también de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. Estudios a nivel nacional, también coinciden con la efectividad de esta planta, Rivera B.(14) por ejemplo, halló etambién fecto antibacteriano ($p<0.05$), concluyendo que el *Camellia sinensis* tiene capacidad antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans*, siendo incluso más efectivo que el Llantén. Otro estudio nacional, como el de López G.(15), obtuvo los mismos resultados, con la diferencia que en esta investigación utilizó el té verde comercial y el té verde a granel, obteniendo mayor formación de halos de inhbiación en el comercial con halo de inhibición de 19,72 mm, siendo así, superior a la formación de halos que el presente estudio, en el cuál también se utilizó *Camellia sinensis* comercial, en donde la mayor formación de halos de inhibición fue el de la

marca Renacer® al 75% con 14,133 mm; finalmente, López G.(15) concluyó que el té verde comercial fue el que presentó mayor efecto antibacteriano que el extracto a granel.

En el presente estudio también se encontró mayor formación de halos de inhibición en el grupo de la clorhexidina 0,12% con 15,1 mm, siendo valores muy similares al té verde de la marca Renacer® al 75% con 14,133 mm. A pesar que en la concentración mínima utilizada de esta marca (25%), hubo una menor formación de halos de inhibición con 9,121 mm, éste valor fue suficiente para determinar su acción inhibitoria ante el *Streptococcus mutans*, ya que teóricamente se sabe que una formación de halos de inhibición igual o a mayor a 8 mm, es suficiente para causar sensibilidad a la bacteria.(26) Ante estos resultados, se evidenció que la clorhexidina al 0,12% y el té verde de la marca Renacer® en sus distintas concentraciones (25%, 50%, 75%) son efectivos contra el *Streptococcus mutans*. Al comparar estos resultados, con los de Rivera B.(14), encontramos una gran similitud, ya que él evidenció que el té verde a una concentración de 25% hizo un halo de inhibición promedio de 9,26 mm, mientras que en nuestro estudio, como ya se hizo mención, hubo una formación de 9,121 mm al 25% de concentración, por lo que Rivera B.(14) también concluyó que el té verde es efectivo desde una concentración al 25%.

Por último, al evaluar la marca de té verde Eco valle®, también encontramos la formación de halos superior a 8 mm. desde una concentración al 25% (8,10 mm.) y al igual que la marca anteriormente

analizada, estos halos de inhibición van en aumento conforme se incrementa la concentración de *Camellia sinensis*, teniendo así una formación de 12,32 mm. a la concentración del 75%. Ante estos resultados, se evidenció que la clorhexidina al 0,12% y el té verde de la marca Eco valle® en sus distintas concentraciones (25%, 50%, 75%) son efectivos contra el *Streptococcus mutans*. Datos muy similares se evidenció en el estudio nacional de Peralta E.(8), quien también encontró mayor efecto antibacteriano en la clorhexidina 0,12% con un promedio de 15,300 mm de halo de inhibición, seguido por el té verde al 75% que presentó un halo inhibitorio promedio de 11 mm. Al compararlos, vemos en nuestros resultados que con la clorhexidina al 0,12% hubo una formación de 15,10 mm. de halo inhibitorio, seguido también por el té verde de la marca Eco valle® 75% con una formación de 12,32 mm. Finalmente observamos que en el estudio de Peralta E.(8), el té verde al 25% mostró un halo inhibitorio promedio de 8,317 mm , mientras que en nuestra investigación el té verde de la marca Eco valle® al 25% mostró un halo de 8,100 mm, por lo que en ambos estudios se concluyen que el té verde es efectivo desde una concentración al 25%.

VI. CONCLUSIONES

1. Si existe efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019, en donde a mayor concentración de la *Camellia sinensis*, mayor efecto antibacteriano.
2. La clorhexidina al 0,12% y la *Camellia sinensis* (té verde) al 25%, 50% y 75% de la marca Renacer® son igual de efectivos sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
3. La clorhexidina al 0,12% y la *Camellia sinensis* (té verde) al 25%, 50% y 75% de la marca Eco valle® son igual de efectivos sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

Recomendaciones:

- Se recomienda a las autoridades sanitarias públicas, así como también a las autoridades universitarias de las Escuelas de Odontología y Farmacia, el producir extractos de té verde, así como también el promover su uso como alternativa de colutorios para la inhibición de la placa bacteriana.
- Se recomienda a los futuros investigadores, seguir realizando estudios de fitoterapia relacionados a la odontología, ya que será de mucha utilidad el comprobar y verificar la acción de diversas especies ante la preservación de la salud bucal de la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bascones A, Morante S. Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*. 2016; 18(1): 11-39.
2. Calsina G, Serrano J. ¿Existen realmente diferencias clínicas entre las distintas concentraciones de clorhexidina? Comparación de colutorios. *RCOE*. 2015; 10(4): 457-464.
3. Arteché A, Vanaclocha B, Güenechea J. *Fitoterapia. Vademécum De Prescripción. Plantas Medicinales*. 3.^a Ed. Barcelona: Masson, 1998.
4. Alvarado V, Moromi H. Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxyllum novogranatense*, *Plowman* var *truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. *Rev Odontología Sanmarquina*. 2010; 13(2): 21-25.
5. Organización Mundial de la Salud. Informe sobre el problema mundial de las enfermedades bucodentales. 2004; Disponible en:
<http://www.who.int/media centre/news/releases/2004/pr15/es>
6. Abdelkhalek S, EzzEldin N, Gaber G, Abdelnasser M. Comparison of the efficacy of mouth rinses camellia sinensis extract, guava leaves extract and sodium fluoride solution, on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* in children (an in vivo study). *Future Dental Journal* [Internet]. 2018 [consultado el 10 de mayo del 2021]; 9(1). Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2314718018300417>
7. Kaur H, Jain S, Kaur A. Comparative evaluation of the antiplaque effectiveness of green tea catechin mouthwash with chlorhexidine gluconate.

J Indian Soc Periodontol [Internet]. 2014 [Consultado el 10 de mayo del 2021]; 18(2): 178-182. Disponible en:

<https://www.jisponline.com/article.asp?issn=0972->

[124X;year=2014;volume=18;issue=2;spage=178;epage=182;aulast=Kaur](https://www.jisponline.com/article.asp?issn=0972-124X;year=2014;volume=18;issue=2;spage=178;epage=182;aulast=Kaur)

8. Peralta E. Evaluación in vitro del efecto del *Camellia sinensis* (té verde), sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) [Tesis para optar el título profesional]. Lima, Perú: Universidad Nacional Federico Villarreal; 2020.
9. Figueroa A, Figueroa M, Torres F, Obando G. Estudio de las propiedades antimicrobianas de la *Camellia sinensis* en un modelo microbiano oral. Rev Odontología [Internet]. 2017 [consultado el 10 de mayo del 2021]; 19(1): 33-41. Disponible en:
<https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/1099>
10. Cayo C, Cervantes L. La actividad antibacteriana de *Camellia sinensis* comparada con propóleo frente al *Streptococcus mutans*. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2020 [consultado el 10 de mayo del 2021]; 57(1). Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072020000100009
11. Portillo M. Efectividad de un colutorio de *Camelia sinsesis* (té verde) sobre *Streptococos mutans* en placa bacteriana de niños de 6 – 9 años de un Albergue infantil Puno 2016-2017 [Tesis para optar el título profesional]. Puno, Perú: Universidad Nacional Del Altiplano; 2017.

12. García K. Efecto antibacteriano de una infusión de *Camellia sinensis* (té verde) usada como colutorio, sobre placa bacteriana y saliva [Tesis para optar el grado académico de Doctor]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2015.
13. Pumacajia Y. Efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* en cepillos dentales de estudiantes de I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015 [Tesis para optar el título profesional]. Puno, Perú: Universidad Nacional del Altiplano; 2015.
14. Rivera B. Efecto de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólicos a base de llantén (*Plantago mayor*) y té verde (*Camellia sinensis*), a la concentración del 25%, 50% y 100% sobre *Streptococcus mutans*, Universidad Católica de Santa María, Arequipa 2015 [Tesis para optar el título profesional]. Arequipa, Perú: Universidad Católica de Santa María; 2015.
15. López G. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de la *Camellia sinensis* (té verde) frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y al *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) [Tesis para optar el título profesional]. Lima, Perú: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2014.
16. Ulloa T. Susceptibilidad in vitro del *Streptococcus mutans* ATCC 2652263 frente a tres extractos etanólicos de *Camellia sinensis* “té verde” [Tesis para optar el grado Magister]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2009.
17. Pascual M. Té Verde: Historia, Diferentes Variedades Y Su Composición. [Internet] 2017 [consultado el 10 de mayo del 2021]. Disponible en:

<http://www.lanutricionortomolecular.com/Te-Verde-Introduccion/>

18. Moromi H, Martínez E, Villavicencio J, Burga J, Ramos D. Efecto antimicrobiano in vitro de la *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. *Odontología Sanmarquina* [Internet]. 2007 [consultado el 08 de octubre del 2019]; 10(1): 18–20. Disponible en:
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/2898>
19. Pimentel E y col. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Rev. Estomatol. Herediana* [Internet]. 2015 [consultado el 10 de mayo del 2021]; 25(3): 268-277. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552015000400004
20. Pérez A. La Biopelícula: Una nueva visión de la placa dental. *Rev Estomatol Herediana* [Internet]. 2005 [consultado el 10 de mayo del 2021]; 15(1): 82-85. Disponible en:
<https://revistas.upch.edu.pe/index.php/REH/article/view/1984>
21. Caridad C. El Ph, flujo salival y capacidad buffer en relacion a la formación de la placa dental. *Odous Científica* [Internet]. 2008 [consultado el 10 de mayo del 2021]; 9(1): 25-32. Disponible en:
<https://biblat.unam.mx/es/revista/odous-cientifica/articulo/el-ph-flujo-salival-y-capacidad-buffer-en-relacion-a-la-formacion-de-la-placa-dental>
22. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans* y caries dental. *Revista CES Odontología*. 2013; 26(1): 44-56.

23. Naderi N, Niakan M, Fard M, Zardi S. Antibacterial activity of Iranian green and black tea on *Streptococcus mutans*: An in vitro study. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*. 2011; 8(2): 55-59
24. Núñez D, García L. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 2010; 9(2): 156–166.
25. Hegde R, Kamath, S. Comparison of the *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* colony count changes in saliva following chlorhexidine (0.12%) mouth rinse, combination mouth rinse, and green tea extract (0.5%) mouth rinse in children. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry [Internet]*. 2017 [consultado el 10 de mayo del 2021]; 35(2), 150-155. Disponible en:
https://doi.org/10.4103/JISPPD.JISPPD_13_17
26. Arévalo A, Gómez, P. Efectividad antibacteriana de productos naturales frente a microorganismos patógenos de la flora oral. In *Crescendo Ciencias de la salud*. 2016; 2(2): 530–537.
27. Supo J. *Seminarios de Investigación Científica*; 2014. Disponible en:
<http://seminariosdeinvestigacion.com>
28. Domínguez J. *Manual de metodología de la investigación científica (MIMI)*. 3th ed. Chimbote: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; 2015.
29. Hernández R, Fernández C, Baptista M. *Metodología de la investigación científica*. 6ª ed. México: Mc Graw Hill; 2014.
30. Chow S, Shao J, Wang H. *Sample Size Calculations in Clinical Research*. New York: Marcel Dekker Inc; 2015.

31. Cadena K. Efecto antimicótico del extracto de Uncaria tomentosa (uña de gato) contra *Candida albicans*. Estudio in vitro. [Tesis para optar el título profesional]. Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2017.
32. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Código de ética para la investigación. Chimbote: Universidad Católica Los Ángeles; 2021.

ANEXOS

ANEXO 1: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**Efecto antibacteriano in vitro de la *camellia sinensis* (té verde) sobre
streptococcus mutans (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.**

Autora: Pinedo Corales, Elena

	Diluciones en % de extracto Te Verde Renacer				Control positivo
Placa de Petri	75%	50%	25%	0%	Clorhexidina 0,12 %
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					

Placa de Petri	Diluciones en % de extracto Te Verde Eco Valle				Control positivo
	75%	50%	25%	0%	Clorhexidina 0,12 %
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					

ANEXO 2: EVIDENCIA FOTOGRÁFICA

Fig. 1. Cepas bacterianas adquirida de manera comercial
(GenLab del Perú S.A.C)



Adquisición de las muestras:

Fig. 2. Producto comercial: Té verde Renacer ®



Fig. 3. Producto comercial: Té verde Eco Valle ®



Preparación del extracto metanólico de *Camellia sinensis*:



Fig. 4. Se pesó 57 gramos de *Camellia sinensis* y se trituro las hojas de *Camellia sinensis* y se agregó en un frasco ámbar limpio y estéril

Fig. 6. Se agregó en el frasco 57 gramos de *Camellia sinensis* y 250 ml de metanol puro (Merck peruana) para macerar la muestra.

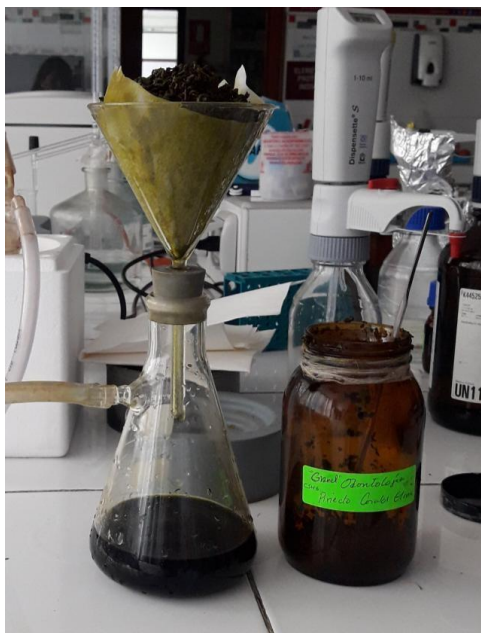


Fig. 8. Extracto de té verde

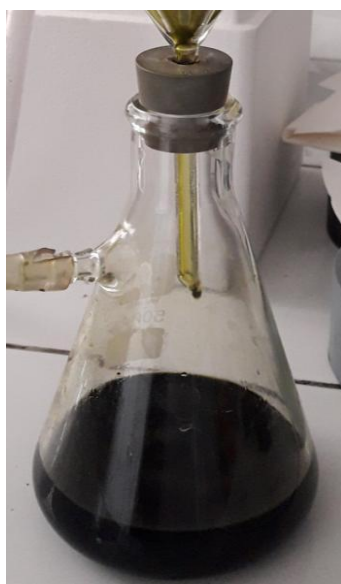


Fig.9. Volatilización del metanol a 45° de temperatura en 40 minutos por cada muestra.



Fig.10. Obtención de las muestras de *Camellia sinensis*



Preparación del medio de cultivo:

Fig. 11. Agar Mueller –Hinton

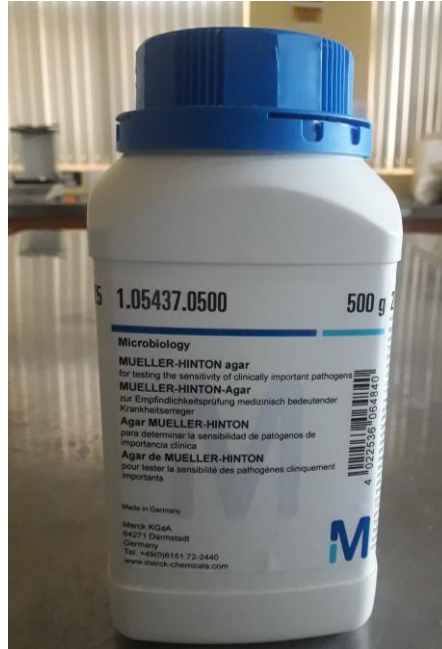


Fig. 12. Pesar la cantidad del Agar Mueller –Hinton por usar (10gramos)

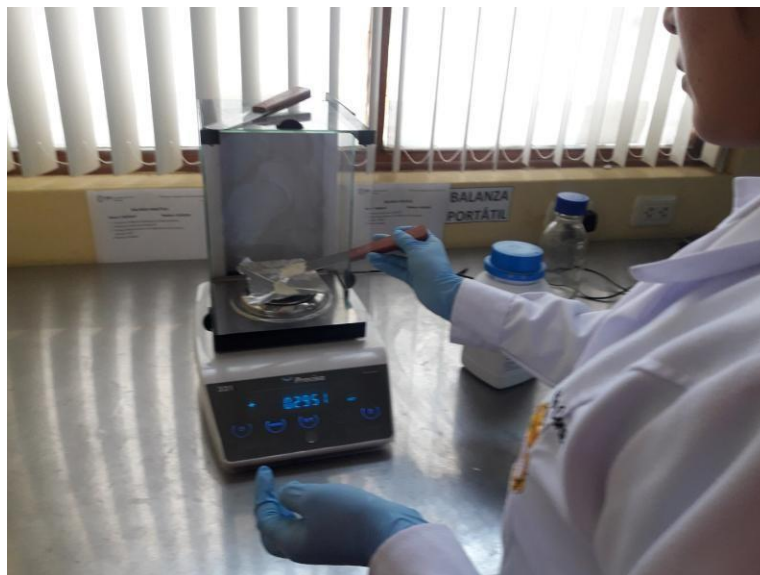


Fig. 13. Agregamos 10gramos de Agar Mueller –Hinton al frasco



Fig. 14. Mezclamos 200 ml de agua destilada en el frasco donde se agregó 10 gramos de Agar Mueller – Hinton



Fig. 15. Homogenizamos la muestra en la Cocina



Fig. 16. Autoclave 121°C por 15 minutos



Fig. 17. Agregar en las placas (solidifica en temperatura ambiente aprox. 50 centigrados)

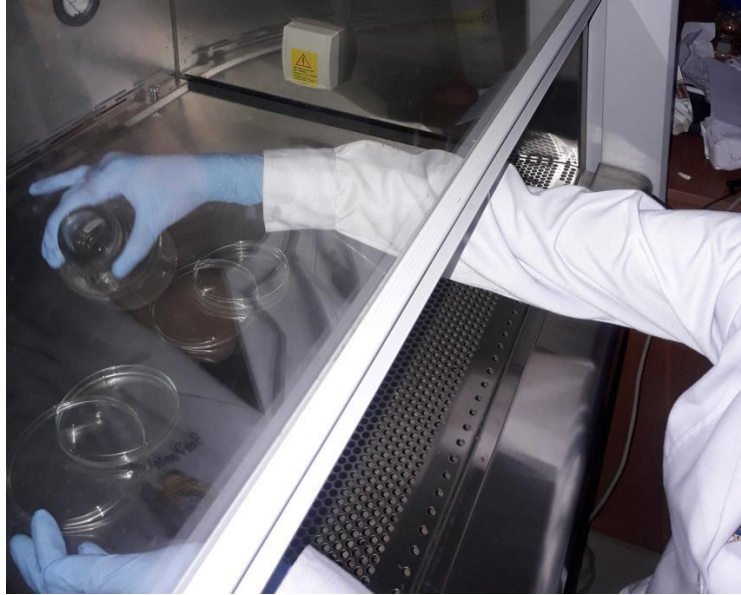


Fig.18. Se realiza los hoyos.

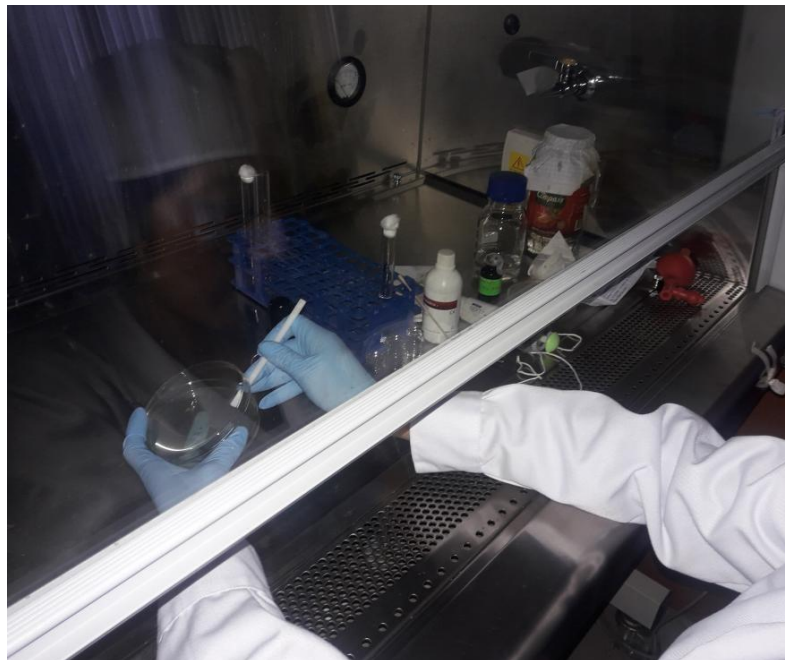


Fig.19.Distribucion del extracto (N°1) comercial té verde Renacer® (*Camellia sinensis*) en %: 75% ,50%, 25,0% y Solución de control Clorhexidina 0.12%.



Fig.20. Distribución del extracto (N°2) comercial té verde “Eco valle ® (*Camellia sinensis*) en % : 75% ,50%, 25,0% y Solución de control Clorhexidina 0.12%.



Fig.21. Pipetear 200 μ l de cada las disoluciones

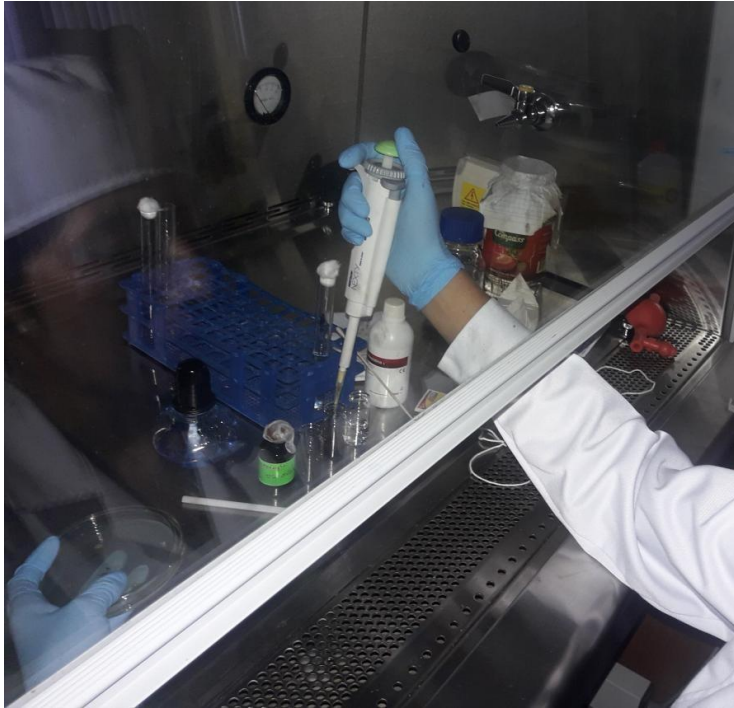


Fig.22. Agregamos 200 μ l de cada disolución y vertimos en cada hoyo de las placas.



Fig.24. Quemar hisopo de la utilización del sembrado

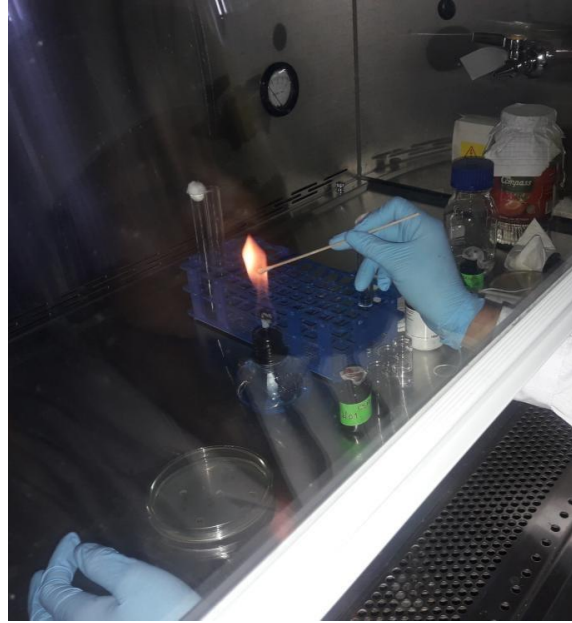


Fig.25. Rotulado de las placas Petri

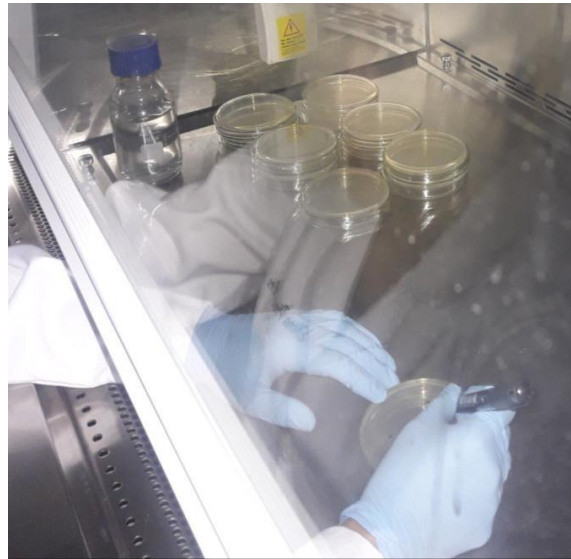
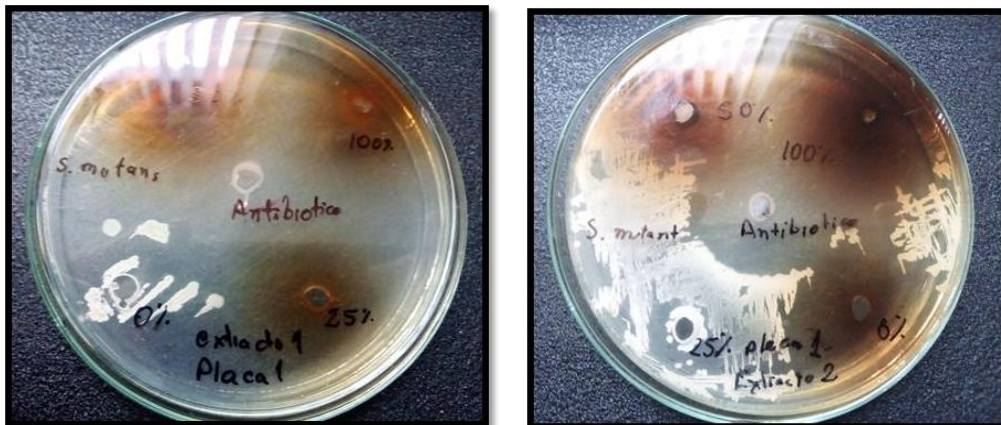


Fig. 26. Se lleva todas las placas Petri a la Incubadora a 27c° por 3 días.



Fig. 26.

Lectura de los Halos de Inhibición del extracto metanólico de té verde comercial de la marca té verde —Renacer® (*Camellia sinensis*) Frente al *S. mutans* (ATCC 25175)



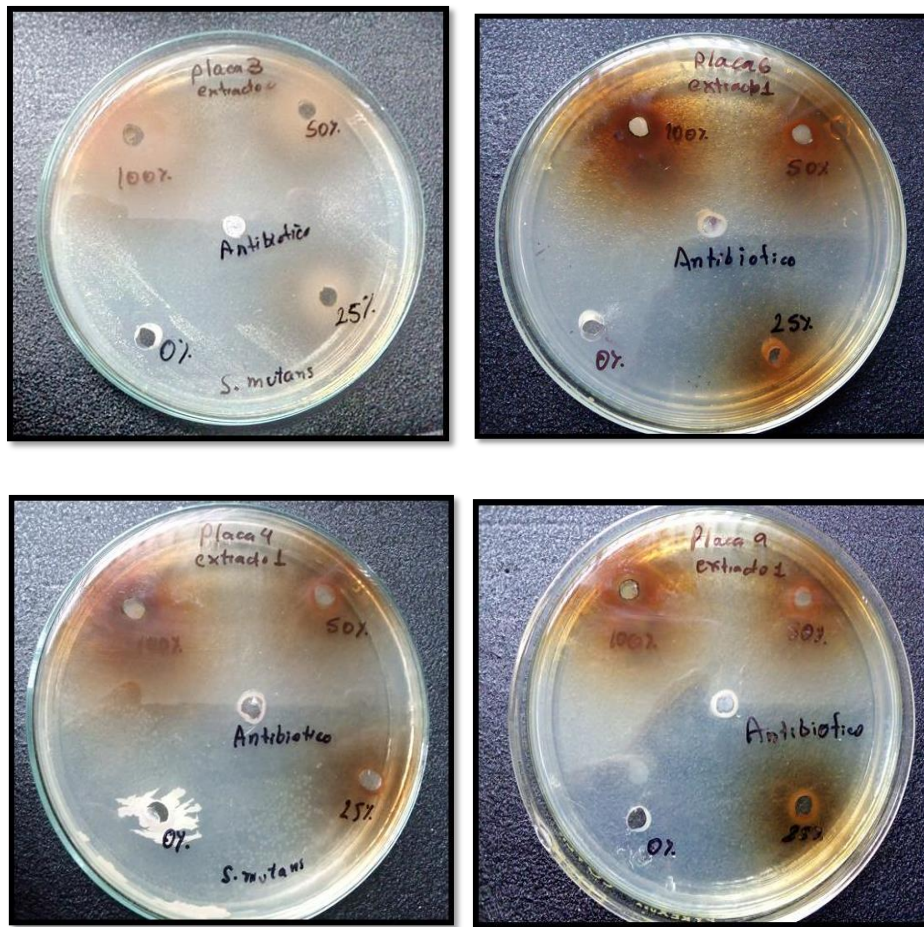
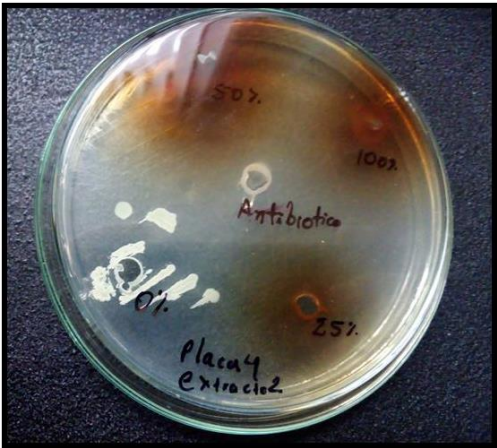


Fig. 27.

Lectura de los Halos de Inbicion del extracto metanólico de té verde comercial de la marca té verde —Eco Valle ® (*Camellia sinensis*) Frente al *S. mutans* (ATCC 25175





ANEXO 3: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

➤ **Criterio para determinar Normalidad:**

- **P-valor $\geq \alpha$ Aceptar H_0** = Los datos provienen de una distribución normal.
- **P-valor $< \alpha$ Aceptar H_i** = Los datos no provienen de una distribución normal.

Tabla 1.- Prueba de normalidad para Efecto antibacteriano in vitro de la *camellia sinensis* (té verde) sobre *streptococcus mutans* (ATCC 25175)

Prueba de Shapiro - Wilk para una muestra		Té verde	Grupo control
N		32	32
Parámetros normales ^{a,b}	Media	11,187	15,100
	Desviación estándar	,8188	,6554
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,091	,123
	Positivo	,091	,104
	Negativo	-,087	-,123
Estadístico de prueba		,091	,123
Sig. asintótica (bilateral)		,078^c	,061^c

a. La distribución de prueba es normal.

b. Se calcula a partir de datos.

c. Corrección de significación de Lilliefors.

Fuente: Análisis de SPSS

Los resultados de la prueba Shapiro-Wilk, expone que ambos grupos muestran un valor Sig. $\alpha > 0,05$, lo que permite aceptar H_0 , dando a conocer que la muestra proviene de una distribución normal; por ello se aplica la prueba paramétrica ANOVA y t-Student.

Se observa que los grupos de estudio de Clorhexidina no presentan datos consignados, por ello se omiten en la prueba estadística.

Tabla 2.- Prueba t-Student para grupos de estudio y control

	Valor de prueba = 0					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza	
					Inferior	Superior
Control Clorhexidina	28.534	17	.000	15,100	15	16

Fuente: Análisis en SPSS.

La prueba t-Student muestra una significancia estadística $p=,000$ para el grupo de control Clorhexidina; indicando que si presenta efecto antimicótico. Se observa que los grupos de estudio no presentan datos consignados, por ello se omiten en la prueba estadística.

➤ **Contrastación de Hipótesis:**

1. Planteamiento de hipótesis

- ✓ **H_i:** Si existe efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.
- ✓ **H₀:** No existe efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Chimbote, año 2019.

2. Nivel de confianza

- Nivel de confianza = 95%
- Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$ (5%)

3. Establecimiento de los criterios de decisión:

- Si el valor de significancia $p > 0.05$ se acepta H₀ se rechaza H_i.
- Si el valor de significancia $p < 0.05$ se acepta H_i se rechaza H₀.

PH	ANOVA				
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	17,720	2	11,187	11,496	,001
Dentro de grupos	43,930	57	,771		
Total	61,650	59			

Fuente: SPSS *Valor de significancia p = 0,001 < 0,05*

4. Decisión:

Se rechaza la hipótesis la hipótesis nula, se acepta la hipótesis de investigación.

La prueba estadística de ANOVA confirma que existe efecto antibacteriano *in vitro* de la *Camellia sinensis* (té verde) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

ANEXO 4: DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Chimbote, 03 de junio de 2021

Respecto a la presente investigación denominada: **"EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LA *Camellia sinensis* (TÉ VERDE) SOBRE *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) CHIMBOTE, AÑO 2019"** declaro que NO ha sido financiada, total o parcialmente, por ninguna empresa, marca comercial u otro organismo institucional con intereses económicos en sus productos, equipos o similares citados en la misma.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "E. Pinedo", is written over a light gray rectangular background.

Autor(a): Elena Pinedo Corales

ORCID: 0000-0002-5678-1139

DNI N° 48114057

Turnitin Informe_Pinedo

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

INDICE DE SIMILITUD

14%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1 docplayer.es Fuente de Internet 4%

2 repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet 3%

3 www.coursehero.com Fuente de Internet 1%

4 repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet 1%

5 tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet 1%

6 Hilda Moromi, Elba Martinez Cadillo, Donald Ramos Perfecto. "Antibacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos", Odontología Sanmarquina, 2014
Publicación <1%

7 repositorio.uwiener.edu.pe Fuente de Internet <1%

8

Hilda Moromi Nakata, Elba Martínez Cadillo,
Jorge Villavicencio Gastelú, Jonny Burga
Sánchez, Donald Ramos Perfecto. "Efecto
antimicrobiano in vitro de la Camellia sinensis
sobre bacterias orales", Odontología
Sanmarquina, 2014

Publicación

<1 %

9

repositorio.unh.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

10

1library.co

Fuente de Internet

<1 %

11

www.mind-surf.net

Fuente de Internet

<1 %

12

www.saludymedicinas.com

Fuente de Internet

<1 %

13

cybertesis.unmsm.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

14

repositorio.unheval.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

15

www.tiwebsite.com

Fuente de Internet

<1 %

16

www.uladech.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

17

profmarksa.co.za

Fuente de Internet

<1 %

18

www.webdelacole.com

Fuente de Internet

<1 %

19

archive.org

Fuente de Internet

<1 %

20

repositorio.ucv.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

Apagado

Excluir bibliografía

Activo