



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

**TESIS**

**EFFECTO *IN VITRO* DE LA INFUSIÓN DE *CAMELLIA SINENSIS* (TÉ VERDE) EN LA FORMACIÓN Y ADHERENCIA DE PLACA BACTERIANA POR *STREPTOCOCCUS SANGUIS***

**AUTORA:**

TRINIDAD AGUILAR, Fiorella del Carmen

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
CIRUJANO DENTISTA**

ICA-PERU

2018

## **DEDICATORIA**

*A mis padres por ser siempre mi fortaleza en los buenos y malos momentos, a mi hermana por sus sabios consejos.*

*A todos quienes formaron parte de mi proceso de formación académica y lo hicieron de manera incondicional.*

## **AGRADECIMIENTO**

*Agradecer a Dios por guiarme en este camino, a la Universidad “Alas Peruanas” por darme la posibilidad de culminar mis estudios de pregrado y permitirme en esta oportunidad mostrar mi línea de investigación a la Comunidad Científica con el expreso propósito de aportar en el bienestar común de todos nuestros pacientes.*

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar qué efectos produce la adición de 1 ml de *Camellia Sinensis* en concentración definida *in vitro* en la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio de nivel explicativo tipo experimental, prospectivo, longitudinal, analítico con diseño comparativo controlado. La muestra fue dos alambres de Nichrone estéril. Se recuperó la cepa *S. Sanguis* ATCC 10556 en agar BHI y en caldo BHI, incubándose a 37 °C por 24 horas, en condiciones anaerobias, utilizando una jarra de anaerobiosis con 10% CO<sub>2</sub>. El instrumento utilizado fue el espectrofotómetro de absorbencia a 550nm. **Resultados:** La formación de placa bacteriana según la absorbancia fue mayor en el grupo experimental (0,887) y menor en el grupo control (0,712) lo que indica que la mayor formación de bacterias se encuentra en el alambre Nichrone del grupo control. La adherencia de placa bacteriana según el recuento de colonias fue mayor en el Agar del grupo experimental 24 600 UFC/ml y 5 200 UFC/ml en el grupo control; lo que indica que la mayor adherencia de bacterias se encuentra en el alambre Nichrone del grupo control. **Conclusión:** Con un p-valor=0,000 podemos concluir que la infusión de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% *in vitro* disminuye significativamente la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone en comparación con el grupo control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018.

**Palabras claves:** Alambre Nichrone, placa bacteriana, *Streptococcus Sanguis*

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the effects produced by the addition of 1 ml of *Camellia Sinensis* in a defined concentration in vitro in the formation and adhesion of bacterial plaque in the Nichrone wire from cultures of *Streptococcus Sanguis* in 2018. **Materials and methods:** an experimental, prospective, longitudinal, analytical type explanatory level study with controlled comparative design. The sample was two sterile Nichrone wires. The *S. Sanguis* ATCC 10556 strain was recovered on BHI agar and in BHI broth, being incubated at 37 ° C for 24 hours, under anaerobic conditions, using a jar of anaerobiosis with 10% CO<sub>2</sub>. The instrument used was the absorbance spectrophotometer at 550nm. **Results:** Bacterial plaque formation according to absorbance was higher in the experimental group (0.887) and lower in the control group (0.712), which indicates that the highest bacteria formation is found in the Nichrone wire of the control group. Adherence of bacterial plaque according to the colony count was higher in the Agar of the experimental group 24 600 CFU / ml and 5 200 CFU / ml in the control group; which indicates that the highest adhesion of bacteria is found in the Nichrone wire of the control group. **Conclusion:** With a p-value = 0.000 we can conclude that the infusion of 1 ml of *Camellia Sinensis* to 50.0% in vitro significantly decreases the formation and adhesion of bacterial plaque in the Nichrone wire compared to the control group from cultures of *Streptococcus Sanguis* in the year 2018.

**Key Words:** Nichrone wire, bacterial plaque, *Streptococcus Sanguis*

## INDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
INDICE	vi
INDICE DE TABLAS	ix
INDICE DE GRÁFICOS	x
INTRODUCCIÓN	xi
<b>CAPITULO I: PLANEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>12</b>
1.1.Descripción de la realidad problemática	12
1.2.Formulación del problema	12
1.2.1. Problema general	12
1.2.2. Problemas específicos	12
1.3.Objetivos de la investigación	13
1.3.1. Objetivo general	13
1.3.2. Objetivos específicos	13
1.4.Justificación de la investigación	13
1.4.1. Importancia de la investigación	13
1.4.2. Viabilidad de la investigación	14
1.5.Limitaciones	14
1.5.1. Limitaciones metodológicas	14
1.5.2. Limitaciones operativas	14
<b>CAPITULO II: MARCO TEORICO</b>	<b>15</b>
2.1. Antecedentes de la investigación	15
2.1.1. Internacionales	15
2.1.2. Nacionales	20
2.2. Bases teóricas	22
2.3. Definición de términos básicos	32
<b>CAPITULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN</b>	<b>33</b>

3.1. Formulación de la hipótesis principal y derivada	33
3.1.1. Hipótesis general	33
3.1.2. Hipótesis específica	34
3.2. Variables; definición conceptual y operacional	34
3.2.1. Identificación de las variables	36
3.2.2. Operacionalización de las variables	37
<b>CAPITULO IV: METODOLOGIA</b>	<b>37</b>
4.1. Diseño metodológico	37
4.1.1. Tipo de investigación	37
4.1.2. Nivel de investigación	38
4.1.3. Diseño de investigación	38
4.2. Diseño muestral	38
4.2.1. Población universo	38
4.2.1.1. Criterios de inclusión	38
4.2.1.2. Criterios de exclusión	38
4.2.2. Determinación del tamaño muestral	39
4.2.3. Selección de los miembros de la muestra	39
4.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	39
4.3.1. Técnicas	40
4.3.2. Instrumento	40
4.3.3. Validez del instrumento	40
4.3.3.1. Validación cualitativa	40
4.3.3.2. Validación cuantitativa	40
4.4. Técnicas de procesamiento de la información:	40
4.4.1. Ordenar	40
4.4.2. Clasificar	40
4.4.3. Codificar	40
4.4.4. Tabulación de datos	41
4.5. Técnicas estadísticas utilizadas en el análisis de la información	41
4.5.1. Estadística descriptiva	42

4.5.2. Estadística inferencial	42
4.5.3. Estadística probabilística	42
<b>CAPITULO V: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN</b>	<b>43</b>
5.1. Análisis descriptivo, tablas de frecuencia, gráficos, dibujos	43
5.2. Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas	47
5.3. Discusión	50
CONCLUSIONES	52
RECOMENDACIONES	53
FUENTES DE INFORMACIÓN	54
ANEXOS	56



## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla N° 1:</b> Efecto de la adición de 1 ml de <i>Camellia Sinensis</i> al 50,0% <i>in vitro</i> en la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018.....	43
<b>Tabla N° 2:</b> Efecto de la adición de 1 ml <i>Camellia Sinensis</i> al 50,0% <i>in vitro</i> en la <b>formación</b> de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018.....	45
<b>Tabla N° 3:</b> Efecto de la adición de 1 ml <i>Camellia Sinensis</i> al 50,0% <i>in vitro</i> en la <b>adherencia</b> de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018.....	46
<b>Tabla N° 4:</b> T Student ponderado para muestras independientes de la hipótesis general.....	48

## INDICE DE GRAFICOS

- Figura N° 1:** Características de Absorbancia en los grupos **A.** Se utilizó el espectrofotómetro para medir la absorbancia. **B.** Grado turbidez (BHI PURO=0,000. **C.** Grado de turbidez (0,887) en el grupo con adición de 1 ml de *Camelia Sinensis*. **D.** Grado de turbidez (0,712) en el grupo sin adición de 1 ml de *Camelia Sinensis*..... 44
- Figura N° 2:** Vista microscópica de los grupos **A.** Vista microscópica del grupo experimental (adición de 1 ml de *Camelia Sinensis*); mayor presencia de bacterias en el Agar y menor cantidad en el alambre Nichrone **B.** Vista microscópica del grupo control menor presencia de bacterias en el Agar y mayor cantidad en el alambre Nichrone..... 45
- Figura N° 3:** Recuento de colonias en el AGAR del grupo experimental y control lo que indica menor adherencia de bacterias en el alambre Nichrone en el grupo experimental y mayor adherencia de bacterias en el alambre Nichrone en el grupo control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018..... 47
- Figura N° 4:** Recuento de colonias *in vitro* en el grupo experimental y control a partir de cultivos de *de Streptococcus Sanguis* en el año 2018..... 49

## INTRODUCCIÓN

La placa bacteriana en la actualidad se constituye en el génesis de la mayor parte de la patología que se instaura en la cavidad oral; por lo que las medidas de control que se instauren al respecto beneficiaran directamente a toda la comunidad. Es sabido las constantes campañas de prevención que realizan los estudiantes de pregrado, serumistas, odontólogos nombrados, etc. Por lo que con el presente estudio se pretende aportar información valiosa adicional que permita a nuestros pacientes el control de la placa bacteriana en cavidad oral recurriendo a los beneficios antibacterianos de la infusión de *Camellia Sinensis* al 50,0% a partir del cultivo de *Streptococos Sanguis*.

La elección del microorganismo para el análisis en el presente estudio estuvo supeditado a la referencia de los hallazgos de Lindhe que en el año 2011 menciona que la colonización primaria está dominada principalmente por cocos grampositivos anaerobios facultativos; a la recolección de la muestra de las superficies cubiertas por la película poco tiempo después de la limpieza mecánica; se encontró que a las 24 horas de cultivo estuvo compuesta principalmente por estreptococos *sanguis*.

Es importante los hallazgos del presente estudio ya que no existen investigaciones similares en nuestra localidad; además, los resultados serán muy útiles para el control de placa bacteriana en nuestros pacientes, para la prevención de patologías en boca y por ende la salud oral de ellos.

Por lo que de aquí en adelante asumí como línea de investigación verificar y/o determinar qué efectos produce la adición de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% (te verde) in vitro en la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018; para lo cual se diseñó un estudio experimental con grupo tratamiento (formación y adherencia positiva de placa bacteriana) cuyo contraste con el grupo control, se verificará los beneficios que este producto podría aportar para el control de la placa bacteriana que redunde en la salud oral de nuestra población.

## CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Descripción de la situación problemática

El *Streptococcus Sanguis* es el principal de los *Streptococcus* en colonizar dentro de las 24 horas después de realizarse la limpieza mecánica, por su capacidad de adherencia a la biopelícula que se forma, por ende los principales estudios buscaron ver el efecto antibacteriano de la *Camellia Sinensis* cuyos factores asociados con el contenido de polifenoles dieron como resultado su efectividad antibacteriana, pero también observaron que tenía la capacidad de inhibir la adherencia de placa bacteriana.

Por todo lo mencionado, asumimos como propósito del presente estudio determinar el efecto *in vitro* de la infusión de la *Camellia Sinensis* en concentración definida en la formación y adherencia de la placa bacteriana en el alambre de Nichrone en cultivos por *Streptococcus Sanguis* en el año 2018.

### 1.2. Formulación del problema

#### 1.2.1. Problema general

¿Qué efectos produce la adición de 1 ml de *Camellia Sinensis* en concentración definida *in vitro* en la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018?

#### 1.2.2. Problemas específicos

##### Problema específico 1:

¿Qué efectos produce la adición de 1 ml *Camellia Sinensis* al 50,0% *in vitro* en la formación de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018?

##### Problema específico 2:

¿Qué efectos produce la adición de 1 ml *Camellia Sinensis* al 50,0% *in vitro* en la adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018?

### **1.3. Objetivos de la investigación**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar qué efectos produce la adición de 1 ml de *Camellia Sinensis* en concentración definida in vitro en la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

1. Evaluar el efecto que produce la adición de 1 ml *Camellia Sinensis* al 50,0% in vitro en la formación de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018.
2. Evaluar el efecto que produce la adición de 1 ml *Camellia Sinensis* al 50,0% in vitro en la adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

### **1.4. Importancia y Justificación de la investigación**

#### **1.4.1. Importancia de la investigación**

Se realizó el estudio con fines de conocimiento para el cirujano dentista y el paciente sobre el efecto de la *Camellia Sinensis* ya que en la actualidad son más los pacientes que acuden a consulta con enfermedad periodontal porque descuidan su higiene por factores de tiempo y como ya antes mencionado se busca comprobar el impacto de la infusión de la *Camellia Sinensis* como bebida de tiempo para prevenir la adherencia de placa bacteriana, en un estudio in vitro donde se realizaron dos grupos comparativos, utilizando el *Streptococcus Sanguis*, en el cual un grupo A estuvo sumergido en la infusión y otro grupo B que no contó con este. El beneficio institucional del presente trabajo se basa en que las principales investigaciones se enfocan en la capacidad antibacteriana y no realizan investigaciones sobre su efectividad sobre la placa bacteriana.

El presente trabajo buscó dar a conocer a la población sobre las propiedades de la infusión de *Camellia Sinensis* y sus ventajas sobre la placa

bacteriana. El trabajo de investigación constituye un aporte sobre la infusión de la *Camellia Sinensis* sobre la adherencia de placa bacteriana, específicamente sobre el *Streptococcus Sanguis*, lo que permitirá seguir investigando respecto a esta línea de investigación.

#### **1.4.2. Viabilidad de la investigación**

El estudio fue viable por cuanto se contó con los recursos económicos para su ejecución.

### **1.5. Limitaciones**

#### **1.5.1. Limitaciones metodológicas:**

El diseño de la presente investigación solo me permitió obtener validez interna por cuanto se trata de un estudio “in vitro” por lo que sus resultados solo deberán ser considerados como referenciales para la clínica; además otra limitación es que se recurrió al muestreo no probabilístico intencionado en número de 2 fundamentado, grupo tratamiento y grupo control, por los gastos operativos que implica los cultivos de los *estreptococos Sanguis* que metodológicamente fueron cambiados cada 24 horas a un medio fresco de caldo BHI, repitiendo este proceso por cuatro días.

#### **1.5.2. Limitaciones operativas**

El diseño de la presente investigación solo me permitió obtener validez interna por cuanto se trata de un estudio “in vitro” por lo que sus resultados solo deberán ser considerados como referenciales para la clínica; además otra limitación es que se recurrió al muestreo no probabilístico intencionado en número de 2 fundamentado, grupo tratamiento y grupo control, por los gastos operativos que implica los cultivos de los *estreptococos Sanguis* que metodológicamente fueron cambiados cada 24 horas a un medio fresco de caldo BHI, repitiendo este proceso por cuatro días.

## CAPITULO II: MARCO TEORICO

### 2.1. Antecedentes de la investigación

#### 2.1.1. Internacionales

- **Jenabian N. et al.** Desarrollaron el estudio titulado “*El efecto de Camellia Sinensis (té verde) enjuague bucal en gingivitis inducida por placa: un ensayo clínico controlado y aleatorizado ciego-single.2012*” El propósito del estudio fue evaluar la eficacia de enjuague bucal de té verde sobre la gingivitis inducida por placa como la forma más común de enfermedad periodontal. Hemos diseñado un solo ciego con placebo ensayo clínico controlado. estudiantes de sexo femenino de secundaria con gingivitis inducida por placa generalizada crónica se distribuyeron para recibir ya sea 5 ml de té verde 5% dos veces / día o solución salina normal con la misma dosis. índice gingival (Loe y Sillness), índice de placa (Sillness y LOE) y el índice de sangrado (Barnett) se registraron al inicio del estudio y cinco semanas consecutivas. Se realizaron comparaciones por un modelo lineal general, repetido ANOVA medida y una prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples aplicado. Resultados: Veinticinco estudiantes fueron reclutados en cada brazo del estudio. Se observó una mejora significativa en todos los índices periodontales durante el estudio ( $P < 0,001$ ). Dos grupos fueron contrastadas por cambio de los patrones de alteración de los índices ( $P < 0,05$ ). Aunque cantidad total de mejoría fue mayor en el grupo enjuague bucal, las diferencias no alcanzaron un nivel estadísticamente significativo ( $P > 0,05$ , observado potencia para GI: 0,09, PI: 0,11 y BI: 0,07). Conclusion: enjuague bucal té verde puede ser un tratamiento adjunto seguro y factible para las enfermedades periodontales inflamatorias. Un futuro estudio a mayor escala se justifica para una mejor evaluación del efecto del té verde.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Jenabian N. et al. The effect of Camellia Sinensis (green tea) mouthwash on plaque-induced gingivitis: a single-blinded randomized controlled clinical trial. PubMed [Revista en internet].2012 [acceso 04 Abril del 2017]; 20:39 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23351842>

- **Kaur H. et al.** Desarrollaron el estudio titulado “*Evaluación comparativa de la eficacia antiplaca de la catequina de té verde enjuague bucal con gluconato de clorhexidina . 2014*”. El propósito del estudio fue comparar la eficacia antiplaca de enjuague bucal verde catequina de té con enjuague bucal gluconato de clorhexidina. Un estudio cruzado simple ciego se llevó a cabo entre los 30 participantes en el grupo de edad de 18-25 años. Las muestras de enjuague bucal para el estudio se marcaron previamente la asignación de las letras: A (0,25% de té enjuague bucal catequina verde) y B (0,12% de enjuague bucal de clorhexidina). Los sujetos del estudio fueron divididos aleatoriamente en dos grupos de 15 cada uno y el estudio se dividió en dos fases. En la fase I, el enjuague bucal A dieron a un grupo y otro grupo se le dio enjuague bucal B. Después de un período de lavado de 15 días, en la fase II, ambos grupos se les dio otro enjuague bucal. Al final de cada fase de 1 semana, el índice de placa se registró mediante el uso de la modificación Turesky del índice de placa Quigley-Hein. Resultados: Las puntuaciones de placa se compararon y la diferencia entre la catequina de té y clorhexidina verde enjuague bucal se determinó mediante la prueba t. La diferencia entre las puntuaciones de placa no fueron estadísticamente significativas ( $P > 0,05$ ). Los resultados mostraron que tanto los grupos que es verde enjuague bucal catequina de té (0,25%) y enjuague bucal de clorhexidina (0,12%) tienen resultados comparables en la reducción de la placa. Conclusion: Este estudio apoya la eficacia de enjuague bucal verde catequina de té como agente antiplaca. Debe ser explorada como una solución rentable, enjuague antiplaca a largo plazo con beneficios profilácticos.<sup>2</sup>

---

<sup>2</sup> Kaur H. et al. Comparative evaluation of the antiplaque effectiveness of green tea catechin mouthwash with chlorhexidine gluconate. PubMed [Revista en internet].2014 [acceso 29 Marzo del 2017]; 18:178-82. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24872625>



- **Chaitali U. Hambire et al.** Desarrollaron el estudio titulado “*Comparación de la eficacia antiplaca de 0,5% Camellia sinensis extracto, fluoruro de sodio al 0,05%, y 0,2% de clorhexidina gluconato de enjuague bucal en los niños.2015*”. El propósito del estudio fue comparar la eficacia antiplaca de 0,5% de extracto de C. sinensis, fluoruro de sodio 0,05%, y 0,2% de clorhexidina gluconato enjuague bucal en los niños. Un ensayo controlado aleatorizado ciego con 60 niños sanos de edades de 9-14 años se llevó a cabo. Los sujetos fueron asignados aleatoriamente a tres grupos, es decir, grupo A - 0,2% de gluconato de clorhexidina, el grupo B - fluoruro de sodio 0,05%, y el grupo C - 0,5% de extracto de C. sinensis, con 20 sujetos por grupo. La acumulación de placa y el estado gingival se registraron usando índice de placa y el índice gingival. La higiene oral fue evaluada por índice de higiene oral simplificado (Ohis). Salival pH se evaluó mediante tiras indikrom de pH. La placa, gingival, y anota simplificados OHI así como el pH salival se registraron en la línea base, inmediatamente después de primer enjuague, después de 1 semana, y en la semana 2. Resultados: La media de las puntuaciones de placa y gingivales se redujeron durante el período de prueba de 2 semanas en los grupos experimentales. Se observó eficacia antiplaca en todos los grupos, el ser más alto en el grupo C (P <0,05). El gluconato de clorhexidina y el té mostraron efectividad comparativa en encía mejor que el fluoruro de sodio (P <0,05). El aumento del pH salival fue sostenido y significativo en los grupos B y C en comparación con la mejora A. Higiene oral grupo se aprecia mejor en los grupos A y C. Conclusiones: La eficacia de 0.5% de extracto de C. sinensis se más en comparación con 0,05% de fluoruro de sodio y 0,2% de gluconato de clorhexidina boca enjuagues.<sup>3</sup>

---

<sup>3</sup> Hambire CU. et al. Comparing the antiplaque efficacy of 0.5% Camellia sinensis extract, 0.05% sodium fluoride, and 0.2% chlorhexidine gluconate mouthwash in children..PubMed [Revista en internet]. 2015 [acceso 29 Marzo del 2017]; 5: 218-26. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26236682>

- **Sarin S. et al.** Desarrollaron el estudio titulado “*La evidencia clínica preliminar de la antiplaca, antigingivitis Eficacia de un 2% del té verde enjuague bucal con - un ensayo clínico aleatorizado*”. 2015”. El propósito del estudio fue evaluar la eficacia de un enjuague bucal que contiene el té verde 2% en comparación con un enjuague bucal placebo para el control de la placa y la gingivitis. Un ensayo clínico aleatorizado y controlado se realizó en 110 sujetos varones de 18-60 años de edad. Los criterios de inclusión estaban teniendo un mínimo de 20 dientes naturales de sonido, un índice de placa (PI) de al menos 1,5 y un índice gingival (GI) de al menos 1,0. Los sujetos fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos paralelos, de prueba y control. Los sujetos en el grupo de grupo de prueba y control fueron instruidos para enjuagar dos veces al día durante 1 min con 10 ml de prueba (enjuague bucal que contiene el té verde 2%) y enjuague bucal placebo, respectivamente. Después de 28 días de uso del enjuague bucal, se analizaron las diferencias inter e intra-grupo de índice de placa media y puntuaciones del índice gingival. Resultado: Hubo una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) en las puntuaciones medias GI y PI entre el grupo de prueba desde el inicio hasta 28 días, mientras que no fue significativa en el grupo de control. A estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) la reducción se encontró en la diferencia media en las puntuaciones de GI en el grupo de prueba ( $0,67 \pm 0,22$ ) en comparación con el grupo control ( $0,05 \pm 0,11$ ) y se observó la reducción de una diferencia estadísticamente significativa ( $0,05 p <$ ) en la diferencia media en las puntuaciones de PI en el grupo de prueba ( $1,65 \pm 0,68$ ) en comparación con el grupo control ( $0,45 \pm 0,99$ ). Conclusión: Los resultados mostraron que el enjuague bucal té verde fue eficaz en la reducción de las puntuaciones de placa y la gingivitis.<sup>4</sup>

---

<sup>4</sup> Sarin S. et al. Preliminary Clinical Evidence of the Antiplaque, Antigingivitis Efficacy of a Mouthwash Containing 2% Green Tea - A Randomised Clinical Trial. PubMed [Revista en internet].2015 [acceso 7 abril del 2017]; 13:197-203 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25610918>

- **B. Meena Priya. Et al.** Desarrollaron el estudio titulado “*Eficacia de clorhexidina y enjuagues bucales de té verde en la gestión de dental gingivitis inducida por placa: Un estudio clínico comparativo.*” 2015. El propósito del estudio fue comparar la eficacia del enjuague bucal que contiene el té verde y clorhexidina en la gestión de dental gingivitis inducida por placa. Treinta pacientes que participaron en el estudio se dividieron aleatoriamente en dos grupos, cada grupo de 15 pacientes se le prescribió, ya sea con clorhexidina o enjuague bucal de té verde. modificación Turesky del índice de Quigley-Hein placa, Löe y Silness índice gingival, Ainamo y Bay índice de sangrado, manchas dentales, y de la mancha lengua (TS) se registraron al inicio del estudio, 15 días, y 1 mes. Se pidió a los sujetos para reportar cualquier molestia o alteración en el sabor. Resultados: Hubo una disminución significativa en el índice de placa, índice gingival, y el índice de sangrado en ambos grupos. Sin embargo, enjuague bucal té verde resultó en una disminución estadísticamente significativa en el índice de sangrado en comparación con grupo de clorhexidina. No hubo diferencia significativa en manchas dentales y TS en ambos grupos. Conclusion: El enjuague bucal que contiene té verde es igualmente eficaz en la reducción de la inflamación gingival y la placa a la clorhexidina.<sup>5</sup>
- **Abdulbaqi HR. Et al.** Desarrollaron el estudio titulado “*Evaluación de *Salvadora persica L.* y té verde efecto anti-placa: un ensayo clínico cruzado controlado aleatorio.2016*”. El propósito del estudio fue exhibir significativos efectos sinérgicos anti-bacteriana y anti-adherencia contra primaria colonizadores placa biofilm. A 24 h placa re-crecimiento, doble ciego, ensayo cruzado aleatorizado se llevó a cabo. Los participantes (n = 14) se enjuaga al

---

<sup>5</sup> B. Meena Priya. et al. Efficacy of chlorhexidine and green tea mouthwashes in the management of dental plaque-induced gingivitis: A comparative clinical study. PubMed [Revista en internet].2015 [acceso 7 abril del 2017]; 6: 505–9 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4678549/>

azar con formulación de ensayo, 0,12% de clorhexidina (control) y enjuagues bucales que el placebo para 24 h. Una semana antes de la prueba, todos los participantes recibieron escalado, el pulido y la educación en higiene oral. En el día de prueba, los participantes recibieron pulido al inicio del estudio y se enjuagó con 15 ml de enjuague bucal asignado al azar dos veces al día y sin medidas de higiene oral. Después de 24 h, índice de placa se anotó y luego los participantes entraron en un período de 6 días de lavado con medidas de higiene oral regulares. El mismo protocolo se repitió para los próximos 2 enjuagues bucales. Resultados: se expresaron como la media ( $\pm$  SD) índice de placa. El enjuague bucal de prueba ( $0,931 \pm 0,372$ ) redujo significativamente la acumulación de placa en comparación con placebo ( $1,440 \pm 0,498$ ,  $p < 0,0167$ ) y clorhexidina ( $1,317 \pm 0,344$ ,  $p < 0,0167$ ) enjuagues bucales. No se encontró diferencia significativa entre la clorhexidina y placebo ( $p > 0,0167$ ). Conclusion: El enjuague bucal de prueba tiene un efecto anti-placa para un período de 24 h. Los estudios clínicos a largo plazo se les anima a investigar su efecto anti-placa por períodos más largos.<sup>6</sup>

### 2.1.2. Nacionales

- **Hilda Moromi Nakata y Elba Martinez Cadillo** Desarrollaron el estudio titulado “*Efecto del té verde en la formación de placa bacteriana por Streptococcus mutans*”. 2006 El propósito del estudio fue determinar el efecto de la infusión del té verde en la formación de la placa bacteriana in vitro, a partir del cultivo de *S.mutans*. Infusión del té verde. Se usó el té verde comercial en una infusión al 10% w/v. Preparación del inóculo. Se sembró la cepa en CTS, a 37 °C por 24 horas, en aerobiosis. A partir del cultivo de 24 horas, se sembró 1 mL en 2 tubos con 9 mL de Caldo Sacarosa al 5%, conteniendo cada uno un alambre de nichrone estéril. Al primer tubo se le

---

<sup>6</sup> Abdulbaqi HR. et al. Evaluation of *Salvadora persica* L. and green tea anti-plaque effect: a randomized controlled crossover clinical trial. PubMed [Revista en internet].2016 [acceso 04 Abril del 2017]; 16:493 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27903262>

añadió 1 mL de la infusión de té verde; mientras que el segundo sirvió como control positivo. La incubación se realizó a 37 °C y cada 24 horas se transfirió el alambre de nichrome y 1 mL del cultivo a medios de cultivos frescos, reincubándose hasta 7 días después. Resultados: los cultivos de *S. mutans* sin adición de té verde mostraron formación de placa bacteriana adherida fuertemente en el alambre; en tanto que los cultivos con adición de infusión de té verde mostraron muy poca formación de placa, y los residuos formados tenían muy poca adherencia, con desprendimiento rápido. Estos hallazgos deben ser una evidencia más, de las propiedades del té verde, como antitumoral, antimicrobiano, antimicótico. Los polifenoles del Té, se consideran como inhibidores de la adherencia bacteriana por reducción de la hidrofobicidad del *S. mutans*, y el extracto puede inhibir la actividad de los microorganismos cariogénicos por la reducción de la producción de ácidos. Conclusión: el té verde puede ser utilizada como una alternativa en la prevención de la formación de la placa dental.<sup>7</sup>

- **Kathia Roxana García Padilla** desarrolló el estudio titulado “*Efecto antibacteriano de una infusión de Camellia Sinensis (té verde) usada como colutorio sobre placa bacteriana y saliva. 2013*”. El propósito del estudio fue determinar el efecto antibacteriano de una infusión de *Camellia sinensis* (té verde) usada como colutorio sobre placa bacteriana y saliva. La infusión fue preparada al 20 % w/v a 90 °C, siendo aplicada a 84 alumnos de nivel secundario (grupo experimental); a otros 84 alumnos se les aplicó solución salina (grupo control). El efecto antibacteriano fue determinado mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) en cultivos de muestras de placa bacteriana y saliva; tomadas tanto antes de la aplicación de la infusión, inmediatamente después y a los 10 minutos. Resultados: Se encontró efecto

---

<sup>7</sup> Moromi NH y Martínez CE. Efecto del té verde en la formación de placa bacteriana por *Streptococcus mutans*. *Odontol Sanmarquina*.2006; 9;23-4

antibacteriano de la infusión tanto en placa bacteriana como en saliva ( $p < 0.01$ ). El efecto se prolongó hasta 10 minutos después de la aplicación ( $p < 0.01$ ). Conclusiones: existió efecto antibacteriano de la infusión sobre placa bacteriana y saliva tanto inmediatamente después como a los 10 minutos de su aplicación.<sup>8</sup>

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Placa dental**

#### **2.2.1.1. Definición de placa dental**

La placa dental es el principal agente etiológico de la iniciación de la gingivitis. La enfermedad gingival puede progresar a periodontitis, que, si no se trata, finalmente, puede poner en peligro todo el periodonto, control de la placa regular ayuda a controlar la progresión de las enfermedades gingivales.

El control mecánico de la placa sigue siendo el estándar de oro de la terapia periodontal. Sin embargo, el control mecánico de la placa por medio de cepillado de dientes y limpieza con hilo dental no siempre es completamente eficaz, ya que se basa en la destreza y el nivel de motivación de individual. Por otra parte, las bacterias presentes en los tejidos blandos pueden volver a colonizar las superficies de los dientes, incluso después del control mecánico de la placa, el uso concomitante de agentes de control químico de la placa había demostrado una mayor eficacia en el control de la placa y la inflamación gingival.<sup>6</sup>

La placa dental es una biopelícula relacionada con el huésped. En años recientes se reconoció la relevancia del ambiente de la biopelícula, toda vez que este es capaz por sí mismo de alterar las propiedades de los microorganismos.

---

<sup>8</sup> García-Padilla KR. Efecto antibacteriano de una infusión de *Camellia Sinensis* (té verde) usada como colutorio sobre placa bacteriana y saliva .Pueblo Cont [Revista en internet]. 2013 [acceso 27 abril del 2017]; 24:349-56.Disponible en: <file:///C:/Users/Master/Downloads/51-205-1-PB.pdf>

La comunidad de la biopelícula se forma en un principio por interacciones bacterianas con el diente y luego mediante interacciones físicas y fisiológicas, entre especies diferentes en la masa microbiana. Más aun, factores ambientales externos que podría mediar el huésped tiene mucha influencia sobre las bacterias presentes en la placa.<sup>9</sup>

Se demostró que esta masa bacteriana, denominada placa, producía numerosos elementos irritantes, como ácidos, endotoxinas y antígenos, que con el tiempo invariablemente disolvían los dientes y destruían los tejidos de sostén.<sup>10</sup>

### **2.2.1.2 Formación de la placa**

Al cabo de uno a dos días de no realizar la higiene bucal, se observa, con facilidad la placa sobre los dientes. Su color es blanco, grisáceo o amarillo y tiene aspecto globular. El desplazamiento de los tejidos y los alimentos sobre dientes causa la eliminación mecánica de la placa.

Esa remoción es muy eficaz en los dos tercios coronarios de la superficie dentaria. En consecuencia, lo característico es observar la placa en el tercio gingival de la superficie dental, donde se acumula sin desorganizarse por el movimiento de los alimentos y tejidos sobre la superficie dental en el transcurso de la masticación.<sup>9</sup>

La formación de la película dental sobre la superficie dentaria es la etapa inicial del desarrollo de la placa. Todas las zonas de la boca, entre ellas las superficies de los tejidos blandos, así como las dentales y las de restauraciones fijas y removibles, están cubiertas por una película de glucoproteína.

Esta se constituye de componentes salivales y del líquido gingival, así como de desechos y productos bacterianos y de células de los tejidos del huésped.

---

<sup>9</sup> Lindhe J, Lang NP, Karring T. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Volumen 1. 5 Ed. España: Editorial Medica Panamericana; 2009.

<sup>10</sup> Chatterjee A, Saluja M, et al. Green tea: A boon for periodontal and general health. J india Soc Periodontology [Internet]. 2012[acceso 11 Mayo del 2017] ; 16 : 161-7 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3459493/>

Es variable la composición de los integrantes específicos de las películas que se hallan en distintas superficies. Estudios de las películas adamantinas inicial (dos horas) revelan que su contenido de aminoácidos es diferente de la saliva, lo que indica que la adsorción selectiva de macromoléculas ambientales forma la película. Los mecanismos que intervienen en la formación de la película del esmalte incluyen fuerzas electrostáticas, de van der Waals e hidrófobas.

La superficie de hidroxiapatita tiene un predominio de grupos fosfato con carga negativa que interactúa directa o indirecta con elementos de macromoléculas salivales y del líquido crevicular con carga positiva. Las películas operan como barreras de protección, lubrican las superficies e impiden la desecación del tejido. Sin embargo, también aportan un sustrato al cual se fijan las bacterias.<sup>9</sup>

### **2.2.1.3 Colonización**

La colonización primaria está dominada por cocos grampositivos anaerobios facultativos. Estos se adsorben sobre las superficies cubiertas por la película poco tiempo después de la limpieza mecánica.

La placa recolectada a las 24 horas está compuesta principalmente por estreptococos; *S. sanguis* es el más destacado. En la fase siguiente los bacilos grampositivos, presentes al principio en muy bajo número, aumentan gradualmente y en ocasiones superan a los estreptococos. Los filamentos grampositivos, sobre todo las especies de *Actinomyces*, predominan en esta etapa de formación de la placa. Los receptores de superficie de los cocos y los bacilos grampositivos depositados permiten la adherencia ulterior de los microorganismos gramnegativos con menor capacidad de adherencia directa a la película.<sup>10</sup>

Los colonizadores secundarios son los microorganismos que no colonizaron en un principio superficies dentales limpias, entre ellos *Prevotella intermedia*, *Prevotella loescheii*, especies de *Capnocytophaga*, *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*. Dichos patógenos se adhieren a las células de bacterias ya presentes en la masa de la placa. Extensos estudios de



laboratorio documentan la capacidad de diferentes especies y géneros de microorganismo de la placa para adherirse entre sí, en el mecanismo conocido como coagregación.

Este fenómeno sucede de forma primaria mediante la interacción estereoquímica muy específica de moléculas de proteínas y carbohidratos localizados en las superficies de la célula bacteriana, además de interacciones menos específicas provenientes de fuerzas hidrófobas, electrostáticas y de Vander Waals.

Estudios de formación de biopelícula in vitro, así como estudios sobre modelo animal, han registrado la importancia de la coagregación en la colonización bucal. Interacciones bien definidas de colonizadores secundarios con agentes tempranos incluyen la coagregación de *F. nucleatum* con *S. sanguis*, *P. loescheii* con *A. viscosus* y *Capnocytophaga ochracea* con *A. viscosus*.

La mayor parte de los estudios sobre la coagregación enfoca las interacciones entre diferentes especies grampositivas y especies gramnegativas. En las últimas fases de la formación de la placa es probable que predomine la coagregación entre distintas especies gramnegativas. Son ejemplos de esta clase de interacción la coagregación de *F. nucleatum* con *P. gingivalis* o *Treponema denticola*.<sup>9</sup>

#### **2.2.1.4. Placa dental como biopelícula**

El término biopelícula describe la comunidad microbiana relativamente indefinible asociada con una superficie dentaria o con cualquier material duro no desmenuzable (Wilderer y Charaklis, 1989). En las zonas más profundas de la mayoría de las biopelículas se concentra una capa densa de microorganismos que conforman una matriz de polisacáridos con otros materiales orgánicos e inorgánicos.

La parte superior de esta capa es más desorganizada, a menudo de aspecto muy irregular y puede extenderse al medio circundante. La capa líquida que bordea la biopelícula puede poseer una subcapa “estacionaria” y

una capa líquida en movimiento. Los nutrientes pueden penetrar en este medio líquido por difusión molecular.

En las regiones más profundas y más compactas de la biopelícula hay gradientes de difusión importantes, sobre todo para el oxígeno. La ubicuidad con que se detectan las especies anaerobias en estas áreas de las biopelículas es una prueba de esos gradientes. La acumulación de bacterias sobre superficies sólidas no es un fenómeno exclusivo de los dientes.

La biopelícula es ubicua; se forman en casi todas las superficies inmersas en medios acuosos naturales y lo hacen con particular rapidez en medios líquidos donde las bacterias reciben un suministro regular de nutrientes.

La formación rápida de capas visibles de microorganismos debido al amplio desarrollo bacteriano acompañado por la excreción de cantidades copiosas de polímeros extracelulares es típica de las biopelículas, que protegen a las bacterias de los agentes antimicrobianos.

El tratamiento con sustancias antimicrobianas suele ser inútil a menos que los depósitos sean eliminados en forma mecánica.<sup>10</sup>

## **2.2.2 *Streptococcus Sanguis* (Sanguinis)**

### **2.2.2.1. Definición**

Con nombre científico de ATCC 10556, es una bacteria Gram-positiva anaerobia importante en la colonización de la cavidad oral. “Produce alfa-hemólisis en placas de agar-sangre, una característica ligada a la habilidad de los estreptococos viridans de oxidar la hemoglobina dentro de los eritrocitos por la secreción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>”. En medio de infusión cerebro corazón (BHI) se forma colonias de forma circular de bordes uniformes color blanco, *S. sanguinis* se une directamente a los dientes humectados con saliva. Una vez adherida, *S. sanguinis* sirve de soporte para la adhesión de otros microorganismos orales que colonizaran la superficie del diente formando la placa bacteriana y contribuyendo al desarrollo de enfermedades periodontales. “Pero no sólo su patogenicidad está limitada a la cavidad oral ya que los *Streptococcus viridans* son la causa más común de endocarditis valvular

nativa, y en esta enfermedad *S. sanguinis* es el *Streptococcus viridans* más comúnmente implicado en esta afección”.<sup>15</sup>

### 2.2.2.2 Ciclo de Crecimiento

- **“Fase de adaptación:** Etapa en la que los microorganismos adaptan su metabolismo a las nuevas condiciones ambientales (de abundancia de nutrientes) para poder iniciar el crecimiento exponencial de 0 a 4 horas.
- **Fase exponencial:** Etapa en la que la velocidad de crecimiento es máxima y el tiempo de generación es mínimo. Durante esta fase las bacterias consumen los nutrientes del medio a velocidad máxima. Esta fase corresponde a la de infección y multiplicación dentro del organismo del agente infeccioso de 4 a 8 horas.
- **Fase estacionaria:** Durante esta etapa no se incrementa el número de bacterias (ni la masa u otros parámetros del cultivo). Las células en fase estacionaria desarrollan un metabolismo diferente al de la fase exponencial y durante ella se produce una acumulación y liberación de metabolitos secundarios que pueden tener importancia en el curso de las infecciones o intoxicaciones producidas por bacterias. Los microorganismos pueden entrar en fase estacionaria por varias razones:
  - Debido a la falta de nutrientes esenciales en el medio.
  - Porque los productos de desecho que han liberado durante la fase de crecimiento exponencial hacen que el medio sea inhóspito para el crecimiento microbiano.
  - Por la presencia de competidores u otras células que limiten su crecimiento.
  - Tiempo de cultivo de 8 a 24 horas.
- **Fase de muerte:** Etapa final donde se reduce un considerablemente el número de bacterias viables del cultivo. 24 a 72 horas”.<sup>15</sup>

### 2.2.2.3 Medida de crecimiento bacteriano

- **“Medida de la masa de células:** el sistema se basa en que las células en suspensión dispersan la luz causando la turbidez del cultivo, la cual depende de la masa en suspensión y por lo tanto midiendo la turbidez, utilizando un espectrofotómetro a 550 nm.
- **Recuento de viables:** consiste en sembrar un volumen determinado de cultivo o muestra sobre el medio de cultivo sólido adecuado para estimar el número de viables contando el número de colonias que se forman puesto que cada una de estas deriva de una UFC (Unidad Formadora de Colonias)”<sup>15</sup>

### 2.2.3 Medicina Complementaria

La medicina complementaria recibió una gran atención durante las últimas décadas que recomienda la suplementación con varios ingredientes.

Diversos modos de suministro, incluyendo masticar caramelos, chicles, dentífricos y tiras de administración de fármacos locales se introducen, y, en particular, el té verde se encuentra entre las bebidas más populares, que consuman diariamente en Asia y especialmente en Irán.

Varias propiedades antioxidantes incluyendo, anticaries, antibacteriano, antiviral, antidiabéticos, anti-mutagénica y las propiedades antitumoral están dirigidas para el té verde.

El té verde, *Camellia Sinensis* de la familia de *Thea* se cultiva principalmente en las costas del mar Caspio en el norte de Irán. Sus efectos correctores están asociados con el contenido de polifenoles que comprenden catequina (C), epicatequina (EC), galocatequina (GC), epigalocatequina (EGC), epicatequina galato (ECG) y galato de epigalocatequina (EGCG).

Los dos últimos se encuentran principalmente en el té verde en lugar de el té negro y están entre la mayoría de los posibles contenidos para ser revisado para terapias adjuntas periodontales en términos de su actividad anti-colagenasa especial.

Además, se sugiere que el EGCG inhibe el crecimiento y la adhesión celular de los patógenos periodontales.<sup>2</sup>

## **2.2.4 *Camellia Sinensis***

### **2.2.4.1 Origen**

Se cree que la planta del té que se originó en la masa de tierra que abarca el Tíbet, China occidental y el norte de la India. Según una antigua leyenda china, el té fue descubierto por el emperador chino Shen Nung-en 2737 aC, cuando las hojas de un arbusto de té silvestre accidentalmente cayeron en una olla de agua que estaba hirviendo.

El nombre de la bebida deriva del dialecto palabra china Amoy “t’e,” pronunciado “Tay”, que se ha convertido en un arte. Hoy en día, “cha” significa té en chino. Como esta palabra se trasladó hacia el oeste en los idiomas de Oriente Medio, que a veces se convirtió alterado para “chai”.

La India atribuye el descubrimiento del té para el monje budista Siddhartha en el 6 ° siglo. Inspirado por la intervención divina, cogió y lo masticó las hojas de un árbol cercano, descubriendo, para su deleite, un gran sentido de alerta y el bienestar.

El árbol cuya salud que da propiedades que le permitió mantener su voto fue, por supuesto, *la camelia sinensis*.<sup>11</sup>

### **2.2.4.2 ¿Cómo crece el té verde?**

El té verde se extrae de las hojas de *Camellia sinensis*. *Camellia sinensis* es parecida a un arbusto y se cultiva en un medio semi tropical en las plantaciones en el sudeste asiático. Se requiere fuertes lluvias de 3000-7000 pies de altitud.

Se clona o cultivado de semillas a partir de esquejes obtenidos de la zarza madre y arraigados y cultivadas en un vivero para 1 o 2 años. El té verde se cultiva en hileras o en terrazas.

---

<sup>11</sup> Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Clinical Periodontology. 9 Ed. Mexico: Editorial Mc Graw Hill Interamericana; 2003

Las hojas son generalmente recogidas a mano. Las hojas se cuecen al vapor, laminación y se secan inmediatamente y completamente. Entonces, estos son envasados en cofres de aluminio forrado, lo que impide la absorción de olores desagradables y también evita la pérdida de aroma. Sirva caliente, pero no caliente, para mantener el valor medicinal intacta.<sup>11</sup>

#### **2.2.4.3 Componentes del té verde**

Los compuestos activos en el té verde son de un grupo de polifenoles llamados catequinas. Cuatro catequinas presentes en el té verde son: galato de epicatequina (ECG), epicatequina, epigalocatequina y galato de epigalocatequina (EGCG).

El té verde también contiene carotenoides, tocoferoles, ácido ascórbico y minerales como el cromo, magnesio, selenio y zinc. El té verde también contiene cafeína, aunque la mitad de la que se encuentra en el café.

La cantidad de cafeína en una taza de té verde variará en función de la cantidad de té utilizado, la cantidad de tiempo que las hojas se infunden y si una persona bebe la primera o segunda infusión. La mayor parte de la cafeína en el té verde se extrae en el agua la primera vez que se infunde el té.

Dos componentes beneficiosos en el té verde, es decir, las catequinas y aminoácido L-teanina, disminuir el impacto de su cafeína. Cuando se elabora el té verde, cafeína se combina con su catequinas en el agua, lo que reduce la actividad de la cafeína en comparación con el de café o cacao.

Además, la L-teanina, que sólo se encuentra en las plantas de té y algunos hongos, estimula directamente la producción de ondas cerebrales alfa, calmar el cuerpo, mientras que la promoción de un estado de conciencia relajada.<sup>11</sup>

#### **2.2.4.4 Uso del té verde en la enfermedad periodontal**

Varios autores han estudiado los efectos inhibitorios de la catequina contenidas en el té verde sobre los patógenos periodontales, que pueden proporcionar la base para el efecto beneficioso de la ingesta diaria de té verde sobre la salud periodontal.

Catequina de té verde inhibe el crecimiento de *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Prevotella nigrescens* y adherencia de *P. gingivalis* en las células epiteliales bucales humanos.

Catequinas de té verde con estructuras estéricas de radical 3-galoilo, EGCG, ECG y galato de galocatequina, que son los principales polifenoles del té, inhiben la producción de metabolitos finales tóxicos de *P. gingivalis*. Un estudio demostró que el té verde catequina, EGCG y ECG inhiben la actividad de *P. gingivalis* derivada de colagenasa.

Catequina del té verde mostró un efecto bactericida contra negro pigmentado, bacilos anaerobios Gram-negativas, *Porphyromonas gingivalis* especies de *Prevotella* y, y el uso combinado de tratamiento mecánico y la aplicación de catequina de té verde usando un sistema de entrega local de liberación lenta era eficaz en la mejora el estado periodontal.<sup>11</sup>

#### **2.2.4.5 Preparación y dosificación**

El té verde debe ser manejado con ternura, al igual que lo haría con frescos vegetales de hoja verde. El agua de manantial es la elección ideal para la elaboración de té, seguido de agua filtrada. El agua destilada no debe usarse nunca; la cerveza que produce será plana como los minerales extraídos de ella son esenciales para llevar a cabo el sabor del té. Utilice 4 g de té a 15 centilitro de agua. Aunque el agua de buena gana hirviendo se utiliza para preparar el té negro y oolong, té verde necesita temperaturas mucho más bajas (160-170 ° F; 79-85 ° C). Deje que el agua apenas alcanza el punto de ebullición para liberar el oxígeno, y luego deje que se enfríe un poco antes de verter el té. El consumo recomendado es de tres a cuatro tazas de té al día. La taza normal de té verde contiene alrededor de 50-150 mg de polifenoles. Sin embargo, algunas investigaciones sugieren que se necesita hasta 10 tazas al día para recibir suficientes polifenoles a notar un marcado aumento en la salud.<sup>11</sup>

### 2.3. Definición de términos básicos

- **Adherencia de placa bacteriana:** La capacidad de adherencia a las superficies es una propiedad general de casi todas las bacterias y la placa recolectada a las 24 horas está compuesta principalmente por estreptococos; *S. Sanguis* es el más destacado. En el presente estudio se utilizó cepa *S. Sanguis* en Caldo BHI
- **Alambre Nichron:** Nichron es un nombre patentado por Albert Leroy Marsh en 1906, es una aleación donde se encuentra el 80% de níquel y el 20% de cromo cuya principal ventaja es su capacidad de resistencia a la corrosión y oxidación.
- **Camellia Sinensis:** Es parecida a un arbusto y se cultiva en un medio semi tropical, las catequinas presentes inhibe el crecimiento de *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Prevotella Nigrescens* y adherencia de *P. gingivalis* en las células epiteliales bucales humanos. En el presente estudio se utilizará el té verde comercial en una concentración de 50% con 2,70g de té verde (hojas envasado comercialmente) en 200 ml de agua filtrada, a la temperatura de 90 °C aproximadamente.
- **Formación de placa bacteriana:** La formación de placa bacteriana se forma principalmente en el tercio superior de la pieza dentaria donde los movimientos de la masticación no logran aplazarla y empieza con la formación de la biopelícula que se encuentra también en los tejidos blandos.
- **Placa bacteriana:** La placa dental es una biopelícula relacionada con el huésped, capaz por sí mismo de alterar las propiedades de los microorganismos.



## CAPITULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

### 3.1. Formulación de la hipótesis principal y derivada

#### 3.1.1. Hipótesis general

**H<sub>0</sub>**= La infusión de 1 ml de *Camellia Sinensis* en concentración definida in vitro no disminuye la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

**H<sub>1</sub>**= La infusión de 1 ml de *Camellia Sinensis* en concentración definida in vitro disminuye significativamente la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

#### 3.1.2. Hipótesis específica

##### Hipótesis específica 1:

**H<sub>0</sub>**= La adición de 1 ml *Camellia Sinensis* al 50,0% in vitro no disminuye la formación de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

**H<sub>1</sub>**= La adición de 1 ml *Camellia Sinensis* al 50,0% in vitro disminuye significativamente la formación de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

##### Hipótesis específica 2:

**H<sub>0</sub>**= La adición de 1 ml *Camellia Sinensis* al 50,0% in vitro no disminuye la adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

**H<sub>1</sub>**= La adición de 1 ml *Camellia Sinensis* al 50,0% in vitro disminuye significativamente la adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

## **3.2. Variables; definición conceptual y operacional**

### **3.2.1. Identificación de las variables**

#### **Variable Independiente**

**X<sub>1</sub>: *Camellia sinensis* al 50,0%**

#### **Definición conceptual:**

Es parecida a un arbusto y se cultiva en un medio semi tropical, las catequinas presentes inhibe el crecimiento de *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Prevotella Nigrescens* y adherencia de *P. gingivalis* en las células epiteliales bucales humanos.

En el presente estudio se utilizó el té verde comercial en una concentración de 50% con 2,70g de té verde (hojas envasado comercialmente) en 200 ml de agua filtrada, a la temperatura de 90 °C aproximadamente.

#### **Definición operacional:**

En la *camellia Sinansis* se utilizo el indicador adición de 1ml del mismo y la no adición. La cual las mediciones se hizo en medio biológico. En formación de placa bacteriana, el indicador Si representa cuando está presente y No, cuando está ausente y fue por espectrofotometría, midiendo la absorbencia del medio. En adherencia de placa bacteriana el indicador, fue la unidad formadora de colonias (UFC/ml) recuento en la muestra biológica.

#### **Variable dependiente**

**X<sub>2</sub>: Formación y adherencia de placa bacteriana**

#### **Formación de placa bacteriana:**

La formación de placa bacteriana se forma principalmente en el tercio superior de la pieza dentaria donde los movimientos de la masticación no logran aplazarla y empieza con la formación de la biopelicula que se encentra también en los tejidos blandos.

#### **Adeherencia de placa bacteriana:**

La capacidad de adherencia a las superficies es una propiedad general de casi todas las bacterias y la placa recolectada a las 24 horas está compuesta principalmente por *estreptococos*; *S. Sanguis* es el más destacado. En el presente estudio se utilizó cepa *S. Sanguis* en Caldo BHI

### **3.2.2. Operacionalización de las variables**

## OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

**TITULO:** EFECTO *IN VITRO* DE LA INFUSIÓN DE *CAMELLIA SINENSIS* (TÉ VERDE) EN LA FORMACIÓN Y ADHERENCIA DE PLACA BACTERIANA POR *STREPTOCOCCUS SANGUIS*

<b>Variable independiente</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Indicador</b>	<b>Valor final</b>	<b>Escala</b>	<b>Técnica</b>
<i>Camelia sinensis</i> al 50,0%	1 ml <i>camelia sinensis</i> al 50,0%	Adición de 1 ml de <i>camelia sinensis</i> No adición de <i>camelia sinensis</i>	Si No	Nominal dicotómico	Mediciones biológicas "Cultivo"
<b>Variable dependiente</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Indicador</b>	<b>Valor final</b>	<b>Escala</b>	<b>Técnica</b>
Formación y adherencia de placa bacteriana	Formación de placa bacteriana	Absorbancia	Turbidez (%)	Razón	Mediciones biológicas Instrumento mecánico "Espectrofotómetro"
	Adherencia de placa bacteriana	(UFC/ml) unidad de bacterias por mililitro	Día 1: UFC/ml Día 2: UFC/ml Día 3: UFC/ml Día 4: UFC/ml	Razón	

## CAPITULO IV: METODOLOGIA

### 4.1. Diseño metodológico

#### 4.1.1. Tipo de investigación

Para los fines de la investigación se tomó en cuenta la clasificación operativa del Dr. Altams Douglas y la Dra. Canales la misma que es de carácter exhaustivo y excluyente como se indican a continuación<sup>12</sup>

- **Según la manipulación de la variable**

*Experimental:*

Porque se crearon las condiciones necesarias para buscar qué efecto tuvo la adición o no adición de 1 ml de *camelia sinensis* en la formación y adherencia de la placa bacteriana en el alambre de nichrome a partir de cultivos de *Streptococcus sanguis*, en el año 2018; por lo que mis resultados fueron el producto de la manipulación de la variable independiente.

- **Según la fuente de toma de datos**

*Prospectivo:*

La fuente de recolección de datos fue directa, bajo ninguna circunstancia se recurrió a una fuente secundaria.

- **Según el número de mediciones**

*Longitudinal:*

Se realizo mediciones en el 1° día; 2° día; 3° día y 4° día.

- **Según el número de variables o analizar**

*Analítica:*

Porque se realizo el análisis de más de una variable de estudio.

#### 4.1.2. Nivel de investigación: Explicativo.<sup>13</sup>

---

<sup>12</sup> Argimon- Pallás J, Jimenez -Villa J. Bases metodológicas de la investigación clínica y epidemiológica. 4ta Ed. Elsevier. España. 2015. 30 p

<sup>13</sup> Carrasco S. Metodología de la investigación Científica. 2da Ed. Editorial San Martin E.I.R.L. Lima Perú. 2017. 42 p

### 4.1.3. Diseño de investigación

Se diseñó un estudio experimental con grupo control (control externo); que se representa en el siguiente gráfico:



**GE:** Grupo experimental (adición de 1 ml *camelia sinensis*)

**GC:** Grupo control (sin adición de 1 ml *camelia sinensis*).

**O<sub>1</sub>:** Formación y adherencia de placa bacteriana en el grupo experimental

**O<sub>2</sub>:** Formación y adherencia de placa bacteriana en el grupo control.

## 4.2. Diseño muestral

### 4.2.1. Población universo

La unidad de análisis para el presente estudio fueron dos alambres de Nichrone expuestos a cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018.

#### 4.2.1.1. Criterios de inclusión

- Tubos de ensayo con medio fresco de caldo BHI.
- Alambres de Nichrone expuestos a caldo de BHI cada 24 horas y por cuatro días consecutivos.

#### 4.2.1.2. Criterios de exclusión

- Tubos de ensayo con caldo BHI mayor a 24 horas.
- Alambres de Nichrone expuestos a caldo de BHI en tiempo de exposición menor al tiempo definido en el presente estudio (c/24 horas x 4 días).

### 4.2.2. Determinación del tamaño muestral

Para fines del presente estudio no se aplicó algoritmo matemático para la determinación del tamaño de la muestra, por cuanto se recurrió al muestreo no probabilístico intencionado siendo finalmente la muestra dos alambres de Nichrone expuestos a cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018.

#### **4.2.3. Selección de los miembros de la muestra**

Se distribuyeron en dos grupos:

**Grupo A:** Constituido por 1 alambre de nichrone expuestos a 1 ml de *camelia sinensis*.

**Grupo B:** Formado por 1 alambre de nichrone no expuestos a 1 ml de *camellia sinensis*.

#### **4.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad**

##### **4.3.1. Técnicas**

Se aplicó la técnica de las mediciones biológicas cuyo procedimiento para la preparación del inóculo fue como a continuación se detalla:

Se recuperó la cepa *S. Sanguis* ATCC 10556 en agar BHI y en caldo BHI, incubándose a 37 °C por 24 horas, en condiciones anaerobias, utilizando una jarra de anaerobiosis con 10%CO<sub>2</sub>. Se realizó la criogenización de la cepa con 70ul del cultivo y 30ul de glicerol en un criovial repetido 6 veces a -20 °C por 2 horas, después a -85°C. Del cultivo de 24 horas se sembró 100ul en 2 tubos con 9 ml de caldo BHI por 8 horas, a partir del cultivo de 8 horas que es cuando el crecimiento bacteriano se encuentra en la fase exponencial, se pasó a sembrar 100ul en 2 tubos con 9 ml de caldo BHI conteniendo cada uno un alambre de Nichrone estéril. Al primer tubo se le añadió 1 ml de la infusión de té verde; mientras que el segundo fue utilizado como control positivo. (Formados y alta adherencia de la placa bacteriana).

La incubación se realizó a 37 °C y cada 24 horas se transfirió el alambre de Nichrone a un nuevo tubo con medio fresco de caldo de BHI, repitiéndose este procedimiento hasta por cuatro días consecutivos. Todo procedimiento fue previo vortex.

Se midió con el espectrofotómetro la absorbencia a 550nm: Muestra 0, BHI puro 0.000%, se pasó a medir el grupo A (tratamiento) y grupo B (control), me permitió ver la turbidez del medio.

Para verificar que el crecimiento era *S. Sanguis* puro se pasó a realizar la técnica de Coloración Gram tanto a las colonias en agar BHI como en el medio

de caldo BHI, tomando con el asa de siembra una muestra respectiva de cada medio y llevándola a laminas, se uso Cristal violeta x 60s, estabilizante x 60s, decolorante x 3s y Safrina x 30s, se lavo con agua destilada en cada proceso y se paso a secar, posteriormente se observo en el microscopio.

#### **4.3.2. Instrumento**

Se aplicó una ficha de recolección de datos para recoger información sobre si se produce o no la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone.

#### **4.3.3. Validez del instrumento**

**4.3.3.1. Validación cualitativa:** Dado que el instrumento que se utilizó fue “MECANICO” (espectrofotómetro con absorbencia a 550nm) no es posible someter a los criterios cualitativos de validez racional, validez de respuesta que son imperativos para instrumentos documentales; sin embargo se acudió a tres juicios de expertos en la línea de investigación con el propósito de conocer su opinión con respecto a la relevancia, coherencia, suficiencia y claridad de la ficha donde se consignaron los datos proporcionados por el perito (**ver anexo N° 3**).

**4.3.3.2. Validación cuantitativa:** A fecha de las mediciones se verificó la vigencia de “CALIBRACIÓN” del instrumento mecánico (espectrofotómetro con absorbencia a 550nm), además que los procedimientos del flujograma fueron verificados por un microbiólogo (**ver anexo N° 5 y 6**).

#### **4.4. Técnicas de procesamiento de la información:**

El recuento en UFC/ml de los grupos que se compararon se sometieron a los requerimientos de ordenar los datos, clasificarlos, codificarlos y finalmente tabularlos en el paquete estadístico IBM SPSS Statistics versión 22, en donde las variables se consignaron en columnas y los eventos en filas.



## 4.5. Técnicas estadísticas utilizadas en el análisis de la información

### 4.5.1. Estadística descriptiva:

#### Medidas de localización o tendencia central:

**Media aritmética:** Se calculó sumando el recuento en UFC/ml de todas las observaciones y se dividió sobre el total por el número de observaciones; además se determinó el intervalo de confianza al 95,0% para lo cual se utilizó el siguiente algoritmo matemático:

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n}{n} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

**Intervalo mínimo=** media – 1.96 (error típico de la media)

**Intervalo máximo=** Media + 1.96 (error típico de la media)

**Mediana:** Se procedió hallar el recuento UFC/ml que divide al conjunto de datos obtenidos en dos partes iguales, es decir el 50,0% de los datos será menor que ella y el 50% de los datos mayor y que para fines del análisis se utilizó el siguiente algoritmo matemático:

$$Md = \frac{n+1}{2}$$

**Moda:** Se procedió hallar el recuento en UFC/ml que se presentó con mayor frecuencia.

#### Medidas de dispersión o variabilidad

**Rango o recorrido:** Diferencia entre el valor máximo y el mínimo del recuento de *S. Sanguis* en UFC/ml en una serie.

**Error típico:** Es la media de las desviaciones respecto a la media aritmética.

**Desviación típica o estándar:** Para conocer como se distribuye los valores alrededor de la media.

**Rango intercuartílico:** Para hallar la diferencia entre el percentil 75 y el 25 para cuantificar la dispersión de la media.

#### 4.5.2. Estadística inferencial

Se realizó el análisis inferencial para determinar diferencias entre los grupos que se comparan para lo cual se siguió el sistema de ritual de significancia estadística planteado por Ronald Fisher que son:

##### Validación de Hipótesis:

##### – Formulación de la hipótesis estadística

**H<sub>0</sub>: A = B** La infusión de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% in vitro no disminuye la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone en comparación con el grupo control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

**H<sub>1</sub>: A ≠ B** La infusión de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% in vitro disminuye significativamente la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone en comparación con el grupo control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

– **Nivel de significancia:** 0.05 = 5%

– **Elección de la prueba estadística:** T de Student para muestras independientes previamente se procedió a ponderar la base de datos.

– **Toma de decisión:**

– **Interpretación del p- valor (p<0.05):**

Si el p-valor es menor al nivel de significancia se rechazará la hipótesis nula y se procederá a la validación de la hipótesis alterna; sin embargo si el p-valor es mayor al nivel de significancia no se podrá rechazar la hipótesis nula por lo que se procederá a su validación.

#### 4.5.3. Estadística probabilística

Se trabajó el intervalo de confianza al 95,0% (IC<sub>95%</sub>) de la media para conocer las probabilidades de encontrar los mismos resultados en otro tiempo y espacio.

## CAPITULO V: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Análisis descriptivo, tablas de frecuencias, gráficos, dibujos

**Tabla N° 1:** Efecto de la adición de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% *in vitro* en la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

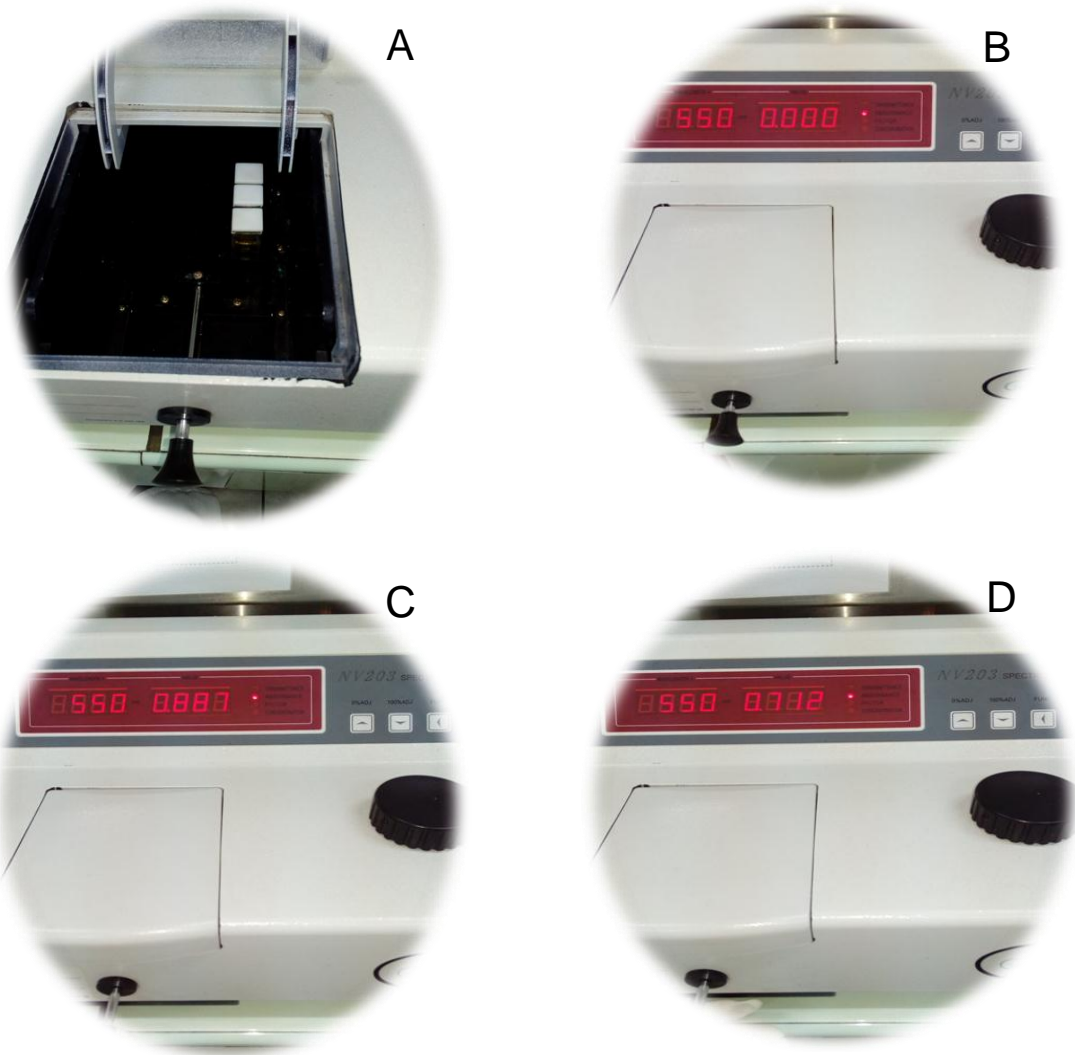
Formación y adherencia de placa bacteriana al cuarto día	Grupo experimental (Adición 1 ml de Camelia Sinensis al 50,0%)	Grupo control	Diferencia
Formación (%)*	0,887	0,712	0,175
Adherencia(UFC/ml)**	246000	52000	194,000

\*Grado de turbidez en el medio (Absorbancia)

\*\*Recuento de colonias formadoras en el agar

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos a los cuatro días de aplicación de 1 ml de *Camelia Sinensis* al 50,0% en cultivos de *Streptococcus Sanguis* encontrándose mayor turbidez en el medio del grupo experimental (0,887) por ende la cantidad de bacterias fue menor en el alambre Nichrone; mientras que en el grupo control la turbidez en el medio fue menor (0,712) por lo que la cantidad de bacterias es mayor en el alambre; de lo que podemos deducir que la **FORMACIÓN DE PLACA BACTERIANA** en el alambre de Nichrone es mayor en el grupo sin adición de 1 ml de *Camelia Sinensis* al 50,0% **ver figura N° 1**

En cuanto a la adherencia el recuento en la décima dilución (UFC/ml) a los cuatro días se encontró mayor cantidad de colonias formadoras en el agar en el grupo experimental (246 000 UFC/ml) por ende se deduce menor cantidad de bacterias en el alambre Nichrone; mientras que en el grupo control se encontró menor cantidad de colonias formadoras en el agar (52 000) por lo que podemos deducir que la **ADHERENCIA DE PLACA BACTERIANA** en el alambre es mayor en el grupo sin adición de 1 ml de *Camelia Sinensis* al 50,0%.



**Figura N° 1:** Características de Absorbancia en los grupos A. Se utilizó el espectrofotómetro para medir la absorbancia. **B.** Grado turbidez (BHI PURO=0,000. **C.** Grado de turbidez (0,887) en el grupo con adición de 1 ml de *Camelia Sinensis*. **D.** Grado de turbidez (0,712) en el grupo sin adición de 1 ml de *Camelia Sinensis*.

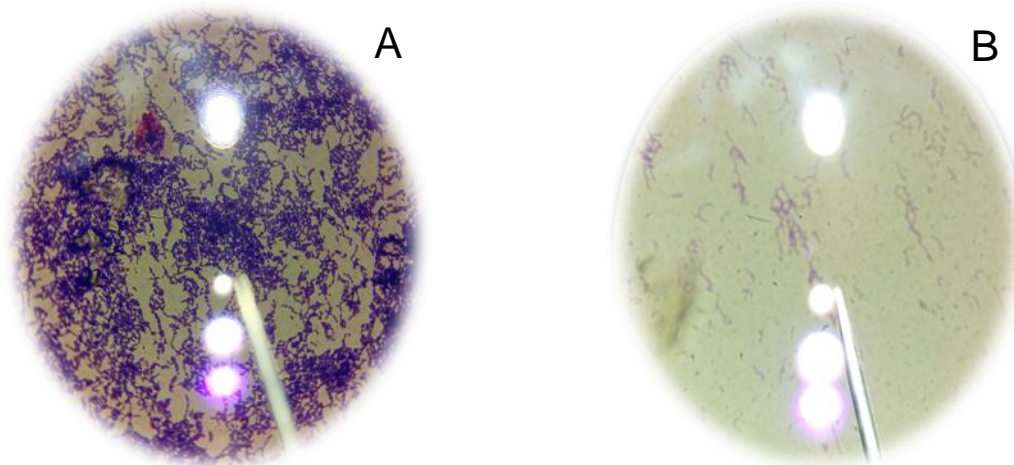
**Tabla N° 2:** Efecto de la adición de 1 ml *Camellia Sinensis* al 50,0% *in vitro* en la **formación** de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018.

<b>Grupo experimental</b> (Adición 1 ml de Camelia Sinensis al 50,0%)	<b>Grupo control</b>	<b>Diferencia</b>
0,887	0,712	0,175

**Fuente:** Espectrofotómetro

En la tabla 2 se muestra los resultados obtenidos de la formación de placa bacteriana a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* encontrándose una mayor absorbancia (0,887) en el grupo experimental (adición 1 ml de *Camellia Sinensis*) lo que indica mayor grado de turbidez en el medio reflejando mayor cantidad de bacterias en este; por ende menor cantidad de bacterias en el alambre Nichrone. Mientras que en el grupo control la absorbancia (Turbidez) en el medio fue menor (0,712) lo que indica menor grado de turbidez reflejando menor cantidad de bacterias en este, por ende mayor cantidad de bacterias en el alambre Nichrone.

Los resultados Gram, mostraron que las muestras se encontraban puras y solo se había reproducido *Streptococcus Sanguis* (**ver figura N° 2**)



**Figura N° 2:** Vista microscópica de los grupos **A.** Vista microscópica del grupo experimental (adición de 1 ml de *Camellia Sinensis*); mayor presencia de bacterias en el medio y menor cantidad en el alambre Nichrone **B.** Vista microscópica del grupo control menor presencia de bacterias en el medio y mayor cantidad en el alambre Nichrone

**Tabla N° 3:** Efecto de la adición de 1 ml *Camellia Sinensis* al 50,0% in vitro en la **adherencia** de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

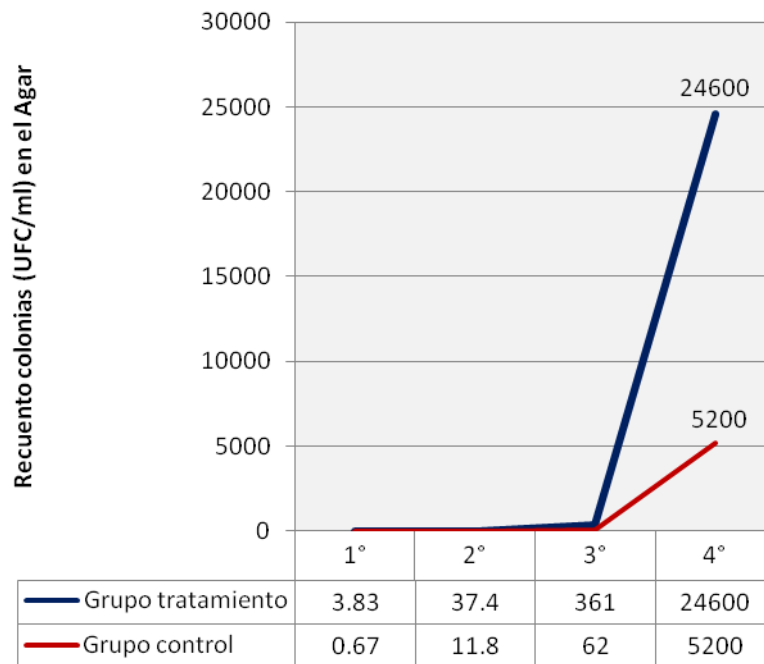
Días	Tratamiento	Control
1°	3,83	0,67
2°	37,4	11,8
3°	361	62
4°	24600	5200

**Fuente:** Recuento de colonias

La tabla N° 3 se muestra los resultados del recuento de colonias (UFC/ml) de los grupos de estudio; encontrándose mayor cantidad de colonia en el Agar del grupo experimental incrementándose desde el primer día desde 3,83 UFC/ml hasta el cuarto día 24 600 UFC/ml lo que indica mayor cantidad de bacterias en el Agar; por ende menor cantidad de adherencia de bacterias en el alambre Nichrone.

En el grupo control el conteo de colonias en el Agar fue menor desde el primer día 0,67 UFC/ml hasta el cuarto día 5 200 UFC/ml lo que indica menor cantidad de bacterias en el Agar y por ende mayor cantidad de adherencia de bacterias en el alambre Nichrone.

Se corroboró los resultados en un Gram, mostrando que las muestras se encontraban puras y solo se había reproducido *Streptococcus Sanguis*



**Figura N° 3:** Recuento de colonias en el AGAR del grupo experimental y control lo que indica menor adherencia de bacterias en el alambre Nichrone en el grupo experimental y mayor adherencia de bacterias en el alambre Nichrone en el grupo control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

## 5.2. Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas

### HIPOTESIS GENERAL

#### a. Hipótesis estadística:

**Ho: A = B** La infusión de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% **in vitro** no disminuye la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone en comparación con el grupo control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

**H1: A ≠ B** La infusión de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% **in vitro** disminuye significativamente la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone en comparación con el grupo control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018

**b. Nivel de significación:**  $\alpha = 0.05$

**c. Estadística de prueba:** Dado que; la formación y adherencia son de naturaleza numérica con el objetivo estadístico comparar dos grupos independientes; se eligió para la contrastación empírica de la hipótesis a la prueba paramétrica T de Student ponderado para muestras independientes para ello se construyó la siguiente tabla:

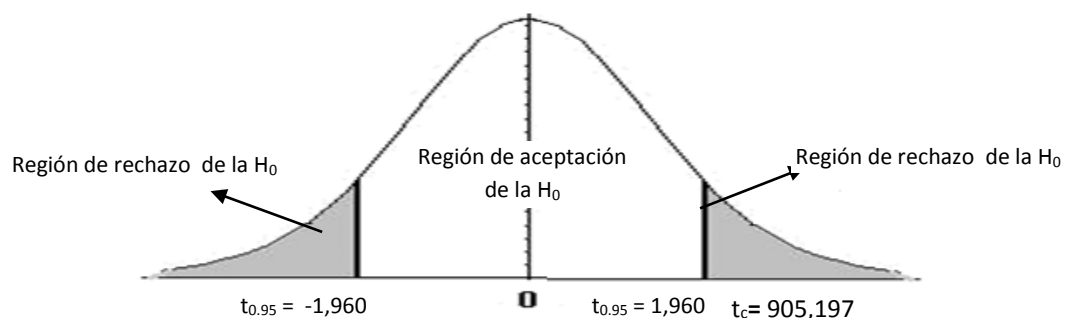
**Tabla Nº 4:** T Student ponderado para muestras independientes de la hipótesis general

Placa bacteriana al cuarto día	Grupo experimental (Adición 1 ml de Camelia Sinensis al 50,0%)	Grupo control	Diferencia
Formación (%)*	0,887	0,712	0,175
	3,83	0,67	3,16
Adherencia(UFC/ml)**	37,4	11,8	25,6
	361	62	299
	24600	5200	19400
T Student =905,197 gl=30226 p=0,000			

\*Grado de turbidez en el medio (Absorbancia)

\*\*Recuento de colonias formadoras en el agar

**a. Regla de decisión:** El valor del T de la tabla, con grado de libertad 30226 y con un nivel de significancia de 0.05 es  $\pm 1,960$

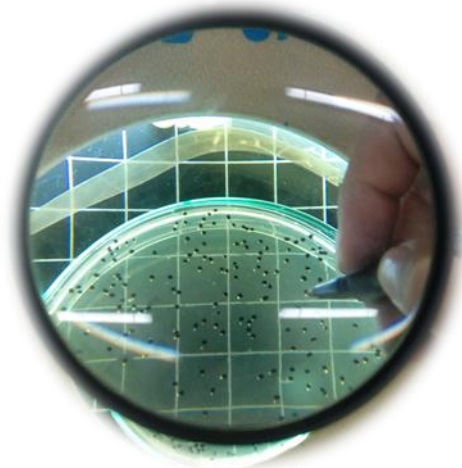


**d. Toma de decisión:**

Como el valor calculado del T (905,197) es mayor que el valor crítico de la tabla (1,960) y con un error de 0,000 se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y se procede a validar la hipótesis alterna ( $H_1$ ): "La infusión de 1 ml de *Camellia*



*Sinensis* al 50,0% *in vitro* disminuye significativamente la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone en comparación con el grupo control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018”.



**Figura N° 4:** Recuento de colonias *in vitro* en el grupo experimental y control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018.

### 5.3. Discusión

Para fines de la contrastación de los resultados no se han encontrado estudios similares al nuestro con excepción de los hallazgos reportados en el estudio publicado por la Universidad Mayor de San Marcos de Lima; por lo que en adelante procedo a detallar lo que a continuación se indica:

Se observó la formación de placa bacteriana mediante el espectrofotómetro (**tabla N° 1**) dando como resultado que el grupo tratamiento (con adición de té verde) fue 0.887% y el grupo control 0.712% con una diferencia de 0.175%. En cuanto a la adherencia de placa bacteriana el recuento bacteriano a los cuatro días dio como resultado en el grupo tratamiento (con adición de té verde) 24600 UFC/ml y el grupo control fue 5200 UFC/ml con una diferencia de 19400 UFC/ml. Estas diferencias numéricas alcanzaron una diferencia estadística por lo que un  $p\text{-valor}=0,000$  se demostró que la adición de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% *in vitro* disminuyó significativamente la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone en comparación con el grupo control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018. Nuestros resultados fueron similares al estudio publicado por Donald Ramos y colaboradores en el artículo titulado “*Efecto del té verde en la formación de la placa bacteriana por Streptococcus mutans*” en la que se observó fotográficamente la formación de placa bacteriana, nosotros lo observamos mediante espectrofotometría dando como resultados grupo tratamiento 0.887% y grupo control 0.712% donde a mayor porcentaje de absorbancia mayor porcentaje de colonias en el medio por ende menor cantidad de colonias en el alambre Nichrone , y a menor porcentaje de colonias en el medio mayor cantidad de colonias adheridas al alambre Nichrone. Sin embargo fue parcialmente coincidente con los hallazgos de Abdulbaqi HR. donde pone a prueba un colutorio de té verde en seres humanos mediante un índice que resultó  $(0,931 \pm 0,372)$  reduciendo significativamente la acumulación de placa bacteriana, en nuestro caso comparamos la adherencia de la misma

forma es decir por conteo UFC/ml dando como resultado al grupo tratamiento (con adición de té verde) 24600 UFC/ml y el grupo control fue 5200 UFC/ml donde se observa mayor cantidad de colonias en el agar menor cantidad de colonias adheridas al alambre y a menos cantidad de colonias en el agar mayor cantidad de colonias adheridas al alambre Nichrone y finalmente fue parcialmente coincidente con los hallazgos reportados por Kathia Roxana García Padilladon que cuantificó el efecto antibacteriano de la infusión tanto en placa bacteriana como en saliva ( $p < 0.01$ ) en la que concluyen que el efecto de la infusión de la *camellia sinensis* reduce la formación y adherencia de placa bacteriana; por lo que a los hallazgos reportados podemos afirmar que la adición y no adición del té verde tiene efecto significativo en la formación y adherencia de placa bacteriana; sin embargo dado que el estudio fue diseñado in vitro se sugiere que se realicen próximas investigaciones en pacientes de tal manera que se controle otras variables como el pH salival, índice de higiene oral, caries dental, características socio demográficas como el sexo, la edad, etc.

## CONCLUSIONES

1. Podemos concluir que la infusión de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% *in vitro* disminuye significativamente la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone en comparación con el grupo control a partir de cultivos de *Streptococcus Sanguis* en el año 2018 ( $p=0,000$ ).
2. Podemos concluir que la infusión de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% en cultivos de *Streptococcus Sanguis* produce menor formación de bacterias en el alambre Nichrone en comparación al grupo control que presentó mayor formación de bacterias en el alambre Nichrone.
3. Podemos concluir que la infusión de 1 ml de *Camellia Sinensis* al 50,0% en cultivos de *Streptococcus Sanguis* produce menor adherencia de bacterias en el alambre Nichrone en comparación al grupo control que presentó mayor adherencia de bacterias en el alambre Nichrone.

## RECOMENDACIONES

1. Diseñar estudios longitudinales de por lo menos una semana para fines de evidenciar la presencia o ausencia de placa bacteriana adherida al alambre Nichrone.
2. Equipar con materiales y equipos un laboratorio de microbiología en la universidad, para poder realizar estos estudios.
3. Tener mayor acceso a un cepario con las cepas bacterianas principales para odontología para que a partir de ahí poder realizar estudios
4. Se recomienda que en un próximo estudio se pueda evaluar mediante es microscopio de fluorescencia la formación de placa bacteriana a partir del primer día hasta terminar el estudio
5. Estudiar más a fondo las propiedades de la camellia sinensis y su relación con el biofilim.
6. Realizar el estudio en pacientes que acuden a consulta para demostrar de manera clínica la eficacia del te vede
7. Recomendar a la población el uso de la infusión de camellia sinensis como bebida de tiempo ya que es una bebida accesible y no tiene contraindicaciones.

## FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Jenabian N. et al. The effect of Camellia Sinensis (green tea) mouthwash on plaque-induced gingivitis: a single-blinded randomized controlled clinical trial. PubMed [Revista en internet].2012 [acceso 04 Abril del 2017]; 20:39 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23351842>
2. Kaur H. et al. Comparative evaluation of the antiplaque effectiveness of green tea catechin mouthwash with chlorhexidine gluconate. PubMed [Revista en internet].2014 [acceso 29 Marzo del 2017]; 18:178-82. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24872625>
3. Hambire CU. et al. Comparing the antiplaque efficacy of 0.5% Camellia sinensis extract, 0.05% sodium fluoride, and 0.2% chlorhexidine gluconate mouthwash in children..PubMed [Revista en internet]. 2015 [acceso 29 Marzo del 2017]; 5: 218-26. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26236682>
4. Sarin S. et al. Preliminary Clinical Evidence of the Antiplaque, Antigingivitis Efficacy of a Mouthwash Containing 2% Green Tea - A Randomised Clinical Trial. PubMed [Revista en internet].2015 [acceso 7 abril del 2017]; 13:197-203 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25610918>
5. B. Meena Priya. et al. Efficacy of chlorhexidine and green tea mouthwashes in the management of dental plaque-induced gingivitis: A comparative clinical study. PubMed [Revista en internet].2015 [acceso 7 abril del 2017]; 6: 505–9 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4678549/>
6. Abdulbaqi HR. et al. Evaluation of Salvadora persica L. and green tea anti-plaque effect: a randomized controlled crossover clinical trial. PubMed [Revista en internet].2016 [acceso 04 Abril del 2017]; 16:493 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27903262>
7. Moromi NH y Martinez CE. Efecto del té verde en la formación de placa bacteriana por Streptococcus mutans. Odontol Sanmarquina.2006; 9;23-4

8. García-Padilla KR. Efecto antibacteriano de una infusión de *Camellia Sinensis* (té verde) usada como colutorio sobre placa bacteriana y saliva .Pueblo Cont [Revista en internet]. 2013 [acceso 27 abril del 2017]; 24:349-56.Disponible en: <file:///C:/Users/Master/Downloads/51-205-1-PB.pdf>
9. Lindhe J, Lang NP, Karring T. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Volumen 1. 5 edición. España: Editorial Medica Panamericana; 2009.
10. Chatterjee A, Saluja M, et al. Green tea: A boon for periodontal and general health. J india Soc Periodontology [Internet]. 2012[acceso 11 Mayo del 2017] ;16 : 161-7 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3459493/>
11. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Clinical Periodontology. 9na Edi. Mexico: Editorial Mc Graw Hill Interamericana. Lima (Perú); 2003
12. Argimon- Pallás J, Jimenez -Villa J. Bases metodológicas de la investigación clínica y epidemiológica. 4ta Ed. Elsevier. España. 2015. 30 p
13. Carrasco S. Metodología de la investigación Científica. 2da Ed. Editorial San Martin E.I.R.L. Lima Perú. 2017. 42 p
14. Figueroa I, Huamán L, et al. Aleaciones especiales: EL NICROM. [UNDAC]: Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión; 2015
15. Rodríguez AG. Estudio de la interacción de bacterias implicadas en la formación de placa dento-bacteriana con superficies de titanio comercialmente puro in vitro y su asociación con la peri-implantitis. Universidad Politécnica de Catalunya. Barcelona (España); 2009

# **ANEXOS**



**ANEXO N° 01: MATRIZ DE CONSISTENCIA**

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES				METODOLOGIA
			Variables	Indicador	Valor	Escala	
<p><b>GENERAL</b>  <b>PG:</b> ¿Qué efectos produce la adición de 1 ml de <i>Camellia Sinensis</i> en concentración definida in vitro en la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018?</p> <p><b>ESPECIFICOS</b>  <b>PE 01:</b> ¿Qué efectos produce la adición de 1 ml <i>Camellia Sinensis</i> al 50,0% in vitro en la formación de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018?</p>	<p><b>GENERAL</b>  <b>OG:</b> Determinar qué efectos produce la adición de 1 ml de <i>Camellia Sinensis</i> en concentración definida in vitro en la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018</p> <p><b>ESPECIFICOS</b>  <b>OE 01:</b> Evaluar el efecto que produce la adición de 1 ml <i>Camellia Sinensis</i> al 50,0% in vitro en la formación de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018</p>	<p><b>GENERAL</b>                      La infusión de 1 ml de <i>Camellia Sinensis</i> en concentración definida in vitro disminuye significativamente la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018</p>	<p><b>Variable independiente</b>  <b>X<sub>1</sub>:</b> <i>Camellia sinensis</i> al 50,0%</p>	<p>Adición de 1 ml de <i>camelia sinensis</i></p> <p>No adición de <i>camelia sinensis</i></p>	<p>Si No</p>	<p>Nominal dictómico</p>	<p><b>TIPO DE ESTUDIO</b>                      Experimental, prospectivo, longitudinal, Analítico</p>
			<p><b>Variable dependiente</b>  <b>X<sub>2</sub>:</b> Formación de placa bacteriana</p> <p><b>X<sub>3</sub>:</b>                      Adherencia de placa bacteriana</p>	<p>Absorvancia</p> <p>unidad de bacterias por mililitro</p>	<p>Turbidez (%)</p> <p>1 día: UFC/ml</p> <p>2 día: UFC/ml</p> <p>3 día: UFC/ml</p> <p>4 día: UFC/ml</p>		<p>Razón</p> <p>Razón</p>
						<p><b>TECNICA</b>                      Mediciones biológicas.</p>	<p><b>INSTRUMENTO</b>  <b>Instrumento mecánico</b></p> <p>Espectrofotómetro la absorbencia a 550nm</p>

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES				METODOLOGIA
			Variables	Indicador	Valor	Escala	
<b>ESPECIFICOS</b>  <b>PE 02:</b> ¿Qué efectos produce la adición de 1 ml <i>Camellia Sinensis</i> al 50,0% in vitro en la adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018?	<b>ESPECIFICOS</b>  <b>OE 02:</b> Evaluar el efecto que produce la adición de 1 ml <i>Camellia Sinensis</i> al 50,0% in vitro en la adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018	<b>GENERAL</b>  La infusión de 1 ml de <i>Camellia Sinensis</i> en concentración definida in vitro disminuye significativamente la formación y adherencia de placa bacteriana en el alambre de Nichrone a partir de cultivos de <i>Streptococcus Sanguis</i> en el año 2018	<b>Variable independiente</b> <b>X<sub>1</sub>:</b> <i>Camellia sinensis</i> al 50,0%	Adición de 1 ml de <i>camelia sinensis</i>  No adición de <i>camelia sinensis</i>	Si No	Nominal dictómico  Razón	<b>TIPO DE ESTUDIO</b> Experimental, prospectivo, longitudinal, Analítico
			<b>Variable dependiente</b> <b>X<sub>2</sub>:</b> Formación de placa bacteriana  <b>X<sub>3</sub>:</b> Adherencia de placa bacteriana	Absorvancia  unidad de bacterias por mililitro	Turbidez (%)  1 día: UFC/ml 2 día: UFC/ml 3 día: UFC/ml 4 día: UFC/ml		Razón  Razón
						<b>TECNICA</b> Mediciones biológicas.	<b>INSTRUMENTO</b> <b>Instrumento mecánico</b>  Espectrofotómetro la absorbencia a 550nm

## ANEXO N° 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS FILIAL ICA  
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA

**Título:** EFECTO IN VITRO DE INFUSIÓN DE CAMELLIA SINENSIS (TÉ VERDE) EN LA FORMACIÓN Y ADHERENCIA DE PLACA BACTERIANA POR STREPTOCOCCUS SANGUIS

**TOTAL DE MUESTRAS:**

### FORMACIÓN DE PLACA BACTERIANA MEDIANTE EL USO DE ESPECTROFOTÓMETRO

#### ABSORBANCIA

BHI PURO

TRATAMIENTO (Adición de 1 ml de Camelia Sinensis)

MUESTRA A FINAL (4días)

CONTROL (Sin adición de 1 ml de Camelia Sinensis)

MUESTRA B FINAL (4días)

**LECTURA:**

## ADHERENCIA DE PLACA BACTERIANA MEDIANTE EL CONTEO DE COLONIAS

Unidad Formadoras de colonias (UFC/ml)

### DIA 1

TRATAMIENTO (Adición de 1 ml de Camelia Sinensis)

MUESTRA A

CONTROL (Sin adición de 1 ml de Camelia Sinensis)

MUESTRA B

### DIA 2

TRATAMIENTO

MUESTRA A

CONTROL

MUESTRA B

### DIA 3

TRATAMIENTO

MUESTRA A

CONTROL

MUESTRA B

### DIA 4

TRATAMIENTO

MUESTRA A

CONTROL

MUESTRA B

DIAS	TRATAMIENTO	CONTROL
1		
2		
3		
4		

LECTURA:

### ANEXO N° 3: JUICIO DE EXPERTOS

#### VALIDACIÓN POR JUECES

**Hoja de respuestas:** Colocar el número 1,2,3 y/o 4 según su apreciación



VARIABLE	Indicador	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA*	CLARIDAD
FORMACIÓN DE PLACA BACTERIANA	Absorbancia : Lectura de turbidez al cuarto día (%) Espectrofotómetro	4	4	4	4
ADHERENCIA DE PLACA BACTERIANA	Día 1: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4	4	4
	Día 2: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4		4
	Día 3: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4		4
	Día 4: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4		4
INFUSIÓN DE <i>Camellia Sinensis</i>	Adición: 1 ml <i>Camellia Sinensis</i>	4	4	4	4
	No adición: 1 ml <i>Camellia Sinensis</i>	4	4		4

4

¿Hay alguna dimensión que hace parte del constructo y no fue evaluada?

\_\_\_\_\_

¿Cuál? \_\_\_\_\_


**UNIVERSIDAD RICARDO PALMA**  
 Facultad de Ciencias Biológicas  
 E.A.P. de Ciencias Veterinarias  
  
 M.V. Msc. GUILLERMO LEGUA PUENTE  
 DIRECTOR

**VALIDACIÓN POR JUECES**

**Hoja de respuestas:** Colocar el número 1,2,3 y/o 4 según su apreciación

VARIABLE	Indicador	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA*	CLARIDAD
FORMACIÓN DE PLACA BACTERIANA	Absorbancia : Lectura de turbidez al cuarto día (%) Espectofotómetro	4	4	4	4
ADHERENCIA DE PLACA BACTERIANA	Día 1: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4	4	4
	Día 2: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4		4
	Día 3: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4		4
	Día 4: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4		4
INFUSIÓN DE <i>Camellia Sinensis</i>	Adición: 1 ml <i>Camellia Sinensis</i>	4	4	4	4
	No adición: 1 ml <i>Camellia Sinensis</i>	4	4		4

**4**

¿Hay alguna dimensión que hace parte del constructo y no fue evaluada?

¿Cuál? \_\_\_\_\_



**UNIVERSIDAD RICARDO PALMA**  
Facultad de Ciencias Biológicas

**Bigo. ALCIDES GUERRA SANTA CRUZ**  
CENTRO DE ABASTECIMIENTO DE MATERIALES Y REACTIVOS  
JEFE

**VALIDACIÓN POR JUECES**

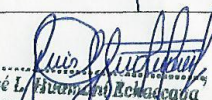
**Hoja de respuestas:** Colocar el número 1,2,3 y/o 4 según su apreciación

VARIABLE	Indicador	RELEVANCIA	COHERENCIA	SUFICIENCIA*	CLARIDAD
FORMACIÓN DE PLACA BACTERIANA	Absorbancia : Lectura de turbidez al cuarto día (%) Espectofotómetro	4	4	4	4
ADHERENCIA DE PLACA BACTERIANA	Día 1: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4	4	4
	Día 2: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4		4
	Día 3: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4		4
	Día 4: Unidad formado de colonias: UFC/ml:	4	4		4
INFUSIÓN DE <i>Camellia Sinensis</i>	Adición: 1 ml <i>Camellia Sinensis</i>	4	4	4	4
	No adición: 1 ml <i>Camellia Sinensis</i>	4	4		4

4

¿Hay alguna dimensión que hace parte del constructo y no fue evaluada?

¿Cuál? \_\_\_\_\_

  
 José L. Ramírez Escobar  
 INVESTIGADOR CIENTÍFICO  
 EN CIENCIAS DE LA SALUD  
 C.O.P. 8712

ANEXO N° 4: TRÁMITE ADMINISTRATIVO



Pueblo Libre, 17 de Noviembre del 2017

Doctor  
TOMAS AGURTO SÁENZ  
Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Ricardo Palma

De mi consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted para expresarle mi respetuoso saludo y al mismo tiempo presentarle a la egresada **TRINIDAD AGUILAR, FIORELLA DEL CARMEN**, con código **2011120586**, de la Escuela Profesional de Estomatología - Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud - Universidad Alas Peruanas, quien necesita recabar información en el área que usted dirige para el desarrollo del trabajo de investigación (tesis).

**TÍTULO: "EFECTO IN VITRO DE LA INFUSIÓN DE CAMELLIA SINENSIS (TE VERDE) EN LA FORMACIÓN Y ADHERENCIA DE PLACA BACTERIANA POR STREPTOCOCCUS SANGUIS"**

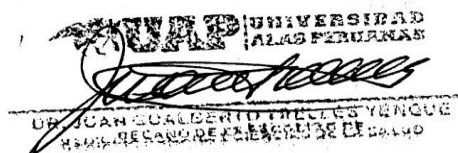
A efectos de que tenga usted a bien brindarle las facilidades del caso.

Anticipo a usted mi profundo agradecimiento por la generosa atención que brinde a la presente.

Atentamente,



Dra. MIRIAM DEL ROSARIO VÁSQUEZ SEGURA  
DIRECTORA  
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA



TELE DECANATO BIOL  
7080032





**UNIVERSIDAD RICARDO PALMA**

"Formamos seres humanos para una cultura de Paz"

## Facultad de Ciencias Biológicas

OFICIO N° 0164-2017-FCB-SA.

**COPIA**

Lima, 19 de diciembre del 2017.

Señor Biólogo  
**ALCIDES GUERRA SANTA CRUZ**  
Jefe del Laboratorio de Microbiología  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Presente.-

**Asunto: Pedido de la Escuela de Estomatología de la Universidad Alas Peruanas para realizar tesis en el Lab. de Microbiología URP**

De mi consideración:

Es grato dirigirme a usted para comunicarle que el Consejo de Facultad en sesión realizada el **15 de diciembre** del 2017, acordó por unanimidad:

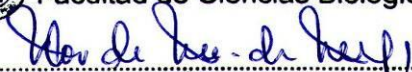
### **ACUERDO N° 388-2017**

"Modificar el **ACUERDO N° 373-2017** y autorizar al Jefe del Laboratorio de Microbiología dar las facilidades de uso del Laboratorio durante quince días a favor de la señorita Fiorella del Carmen TRINIDAD AGUILAR, alumna de la Universidad Alas Peruanas, quien dejara un cepario al término de su actividad".

Lo que pongo en su conocimiento para los fines pertinentes.

Atentamente,

 UNIVERSIDAD RICARDO PALMA  
Facultad de Ciencias Biológicas

  
Lic. FLOR DE MARÍA MADRID DE MEJÍA  
SECRETARIA ACADÉMICA

cc. archivo  
Srta. Fiorella Trinidad



## ANEXO N° 5: FLUJOGRAMA (Recuperación y criogenización)

### ① Preparación de Material

Agar BHI 10 platos 200ml (2 frescos)  
Caldo BHI 10 tubos tapa rosca 10ml/tubo  
Glicerol 20 ml.

Autoclavar  
121°C  
x 15 minutos

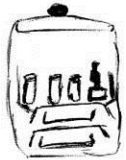
DIA 1

CONTROL DE CALIDAD

Incubación  
x 24h a 37°C

### ② Recuperación de la Cepa.

Instrucciones Kwik-Stik (anexo 04)



10% CO<sub>2</sub>

a 37°C por 24h.

Lectura → DIA 3.

### ③ Criogenización de la Cepa

70ul  
Glicerol  
30ul

Criovial

↓  
-20°C

↓  
-85°C

DIA 4







## ANEXO N° 6: INSTRUCCIONES DE MANEJO DE LA CEPA ATCC 10556


### KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ PLUS


#### INSTRUCCIONES ILUSTRADAS


Las preparaciones de microorganismos KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus contienen un sedimento liofilizado de una única cepa de microorganismos.


- 


1 Deje la bolsa sin abrir de KWIK-STIK™ para que se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa por la muesca y retire la unidad de KWIK-STIK™.
- 


2 Tire de la lengüeta de la etiqueta y colóquela en la placa del cultivo principal o el registro de control de calidad. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
- 


3 Apriete (una sola vez) la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK™ (justo por debajo del menisco de líquido de la ampolla) situado en la tapa para liberar el líquido hidratante.
- 


4 Sujete en posición vertical y golpee sobre una superficie dura para facilitar el flujo de líquido a través del eje hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento. Deje que el líquido hidratante fluya a través del eje del hisopo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento.
- 

5 Apretando en la parte inferior de la unidad, triture el sedimento en el líquido hasta que la suspensión del sedimento sea homogénea.
- 

6 **DE INMEDIATO**, sature bien el hisopo en el material hidratado y transfiera a un medio de cultivo con agar.
- 

7 Inocule la placa del cultivo principal haciendo rodar el hisopo con suavidad sobre un tercio de la placa.
- 

8 Con un asa estéril, cree vetas para facilitar el aislamiento de colonias.
- 

9 Utilice un método de desecho de riesgo biológico adecuado para desechar KWIK-STIK™.
- 

10 **DE INMEDIATO**, incube la placa del cultivo principal inoculado a la temperatura y las condiciones adecuadas para los microorganismos.

 **Microbiologics**®

A safer, healthier world.

## ANEXO N° 7: FOTOGRAFÍAS

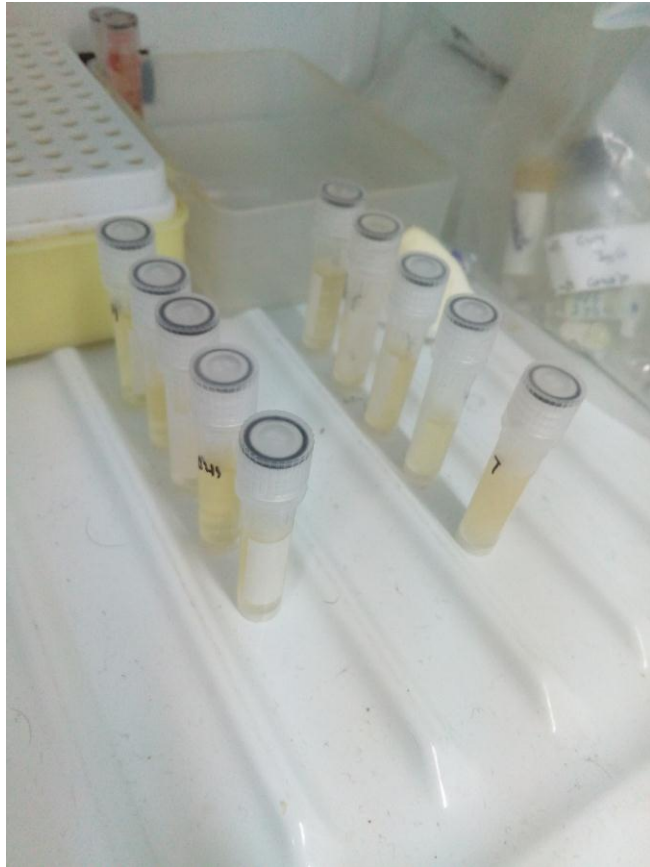


Fotografía N° 1: Se recupero la cepa según el anexo 5



Fotografía N° 2: Se incubo en una jarra de anaerobiosis a 37° por 24 horas.





**Fotografía N° 3:** Se criogenizo la cepa de *S. sanguis* a  $-80^{\circ}$



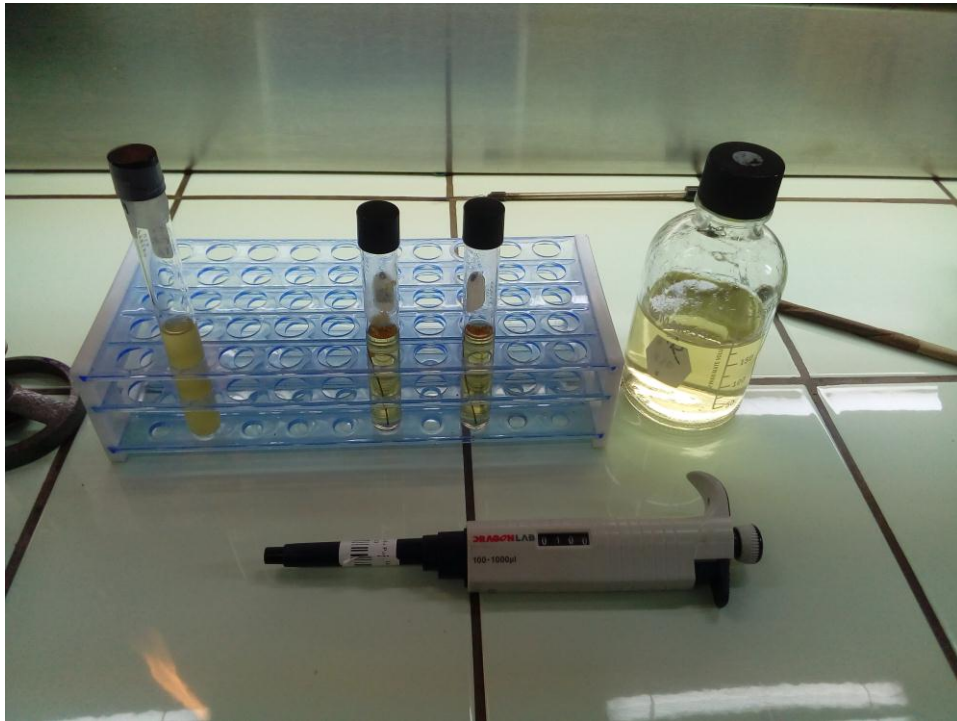
**Fotografía N° 4:** Se preparo un cultivo de 8h a partir del de 24h



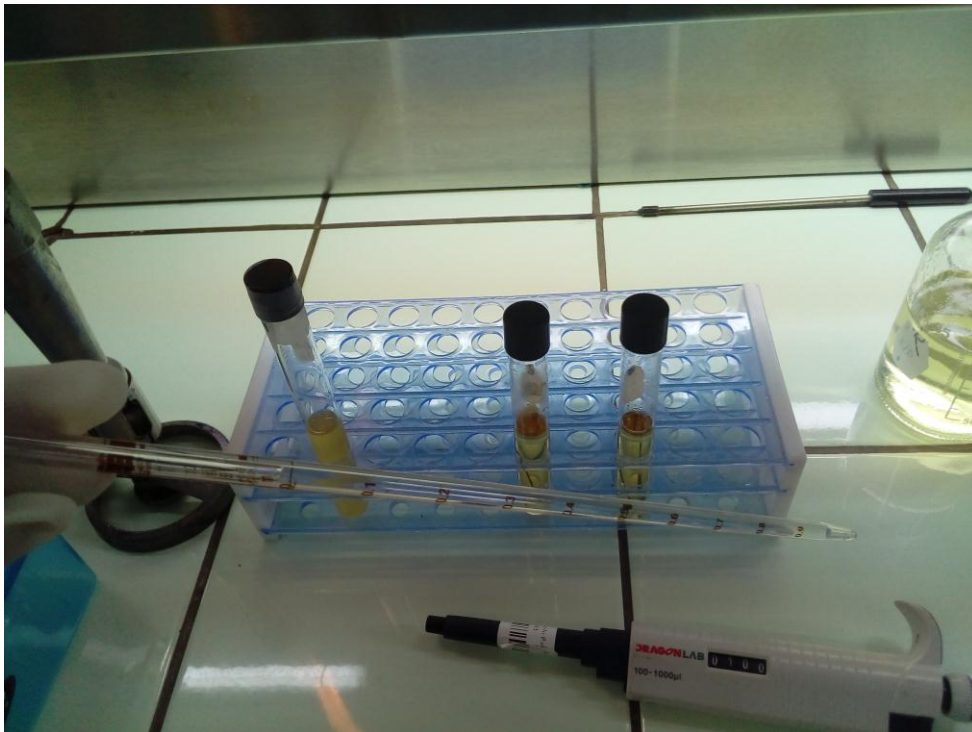
**Fotografía N° 5:** Preparación del material e insumos a utilizar.



**Fotografía N° 6:** Se preparo la infusión de *Camellia Sinensis* (te verde) al 50%

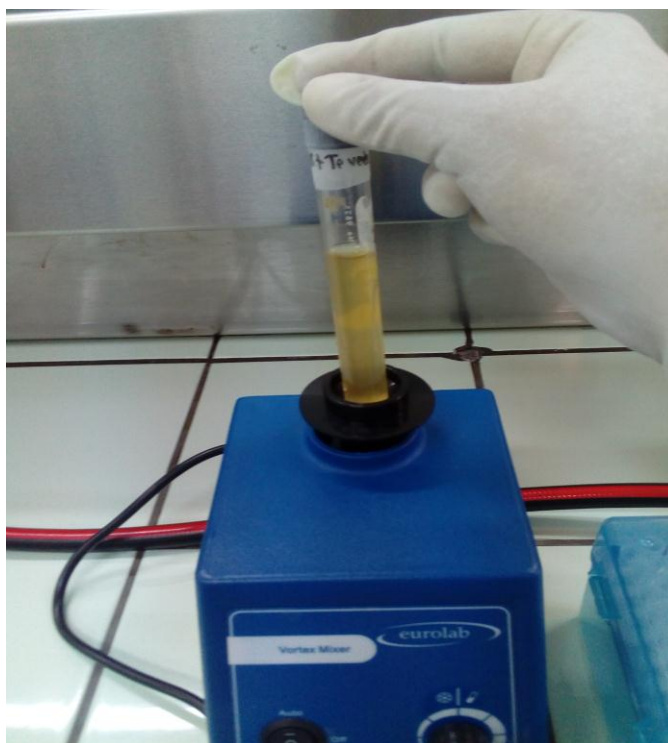


**Fotografía N° 7:** Se añadió 100ul de cultivo de 8h de *S. Sanguis* a cada tubo de ensayo con alambre Nichrone.



**Fotografía N° 8:** Se añadió al tubo de ensayo tratamiento 1ml de la Infusión de *Camellia Sinensis* y el otro tubo de ensayo fue control

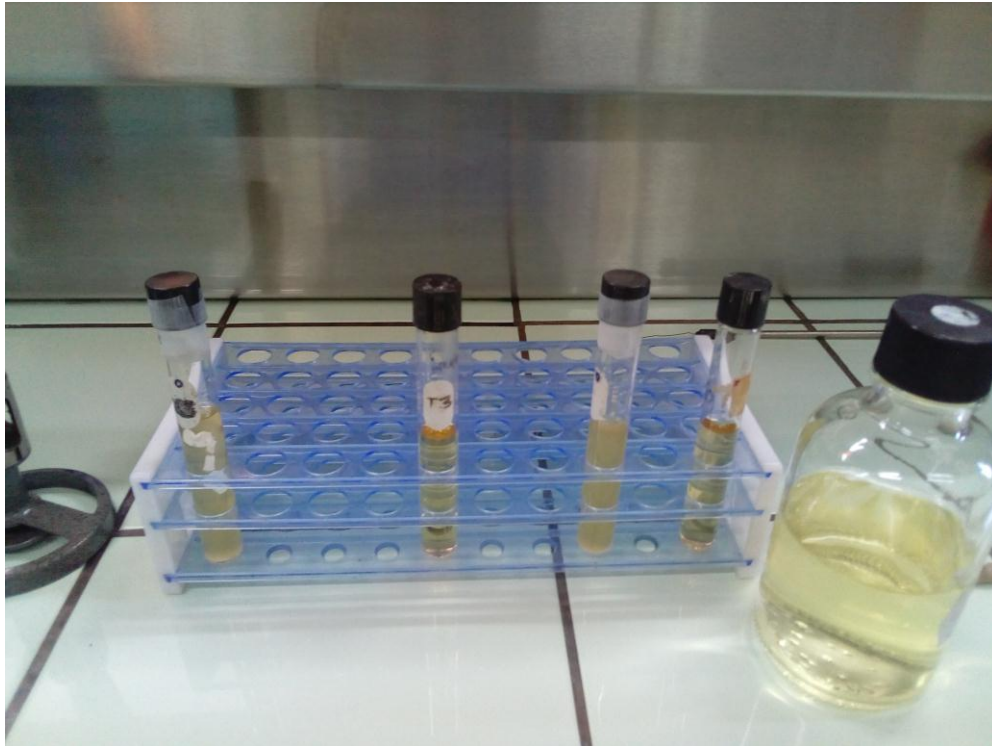




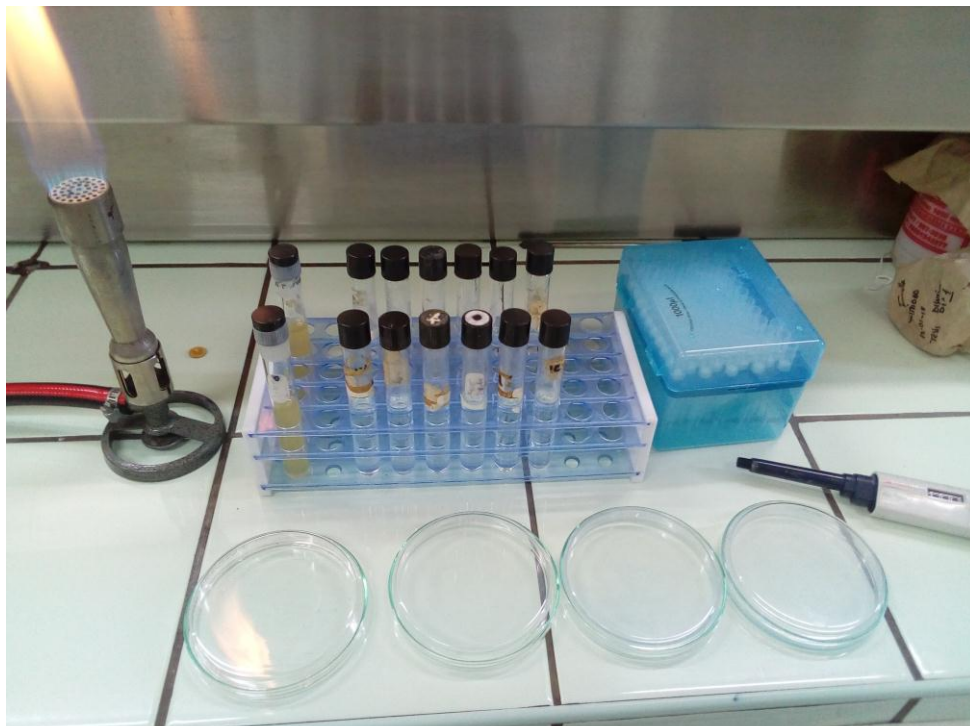
**Fotografía N° 9:** Se hizo vortex por 60s.a cada tubo de ensayo



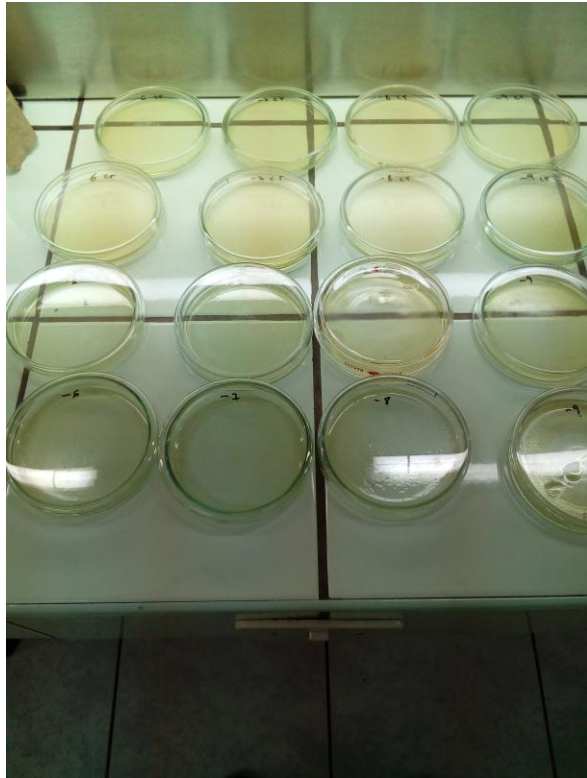
**Fotografía N° 10:** Se encubo a 37°por 24 horas.



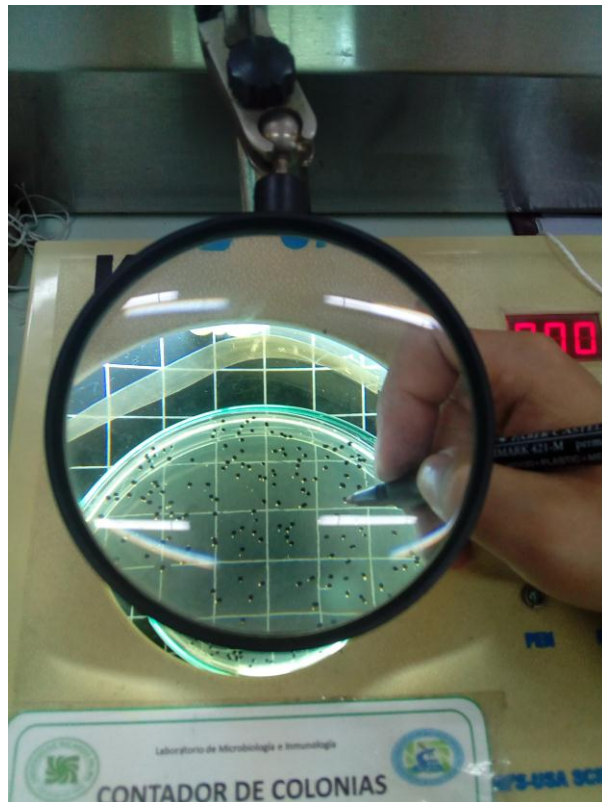
**Fotografía N° 11:** Se hizo el cambio pasado las 24 horas a nuevos tubos de ensayo repitiendo el procedimiento



**Fotografía N° 12:** Se hizo las diluciones previo vortex de cada muestra y el recuento con el método de vertido.



**Fotografía N° 13:** Se encubo por 24 horas a 37 °



**Fotografía N° 14:** Se hizo recuento de colonias con ayuda del contador de colonias





**Fotografía N° 15:** Se utilizo el espectrofotómetro para medir la absorbancia.



**Fotografía N° 16:** Resultado de absorbancia muestra de BHI puro



Fotografía N° 17: Resultado de absorbancia muestra tratamiento



Fotografía N° 18: Resultado de absorbancia muestra control

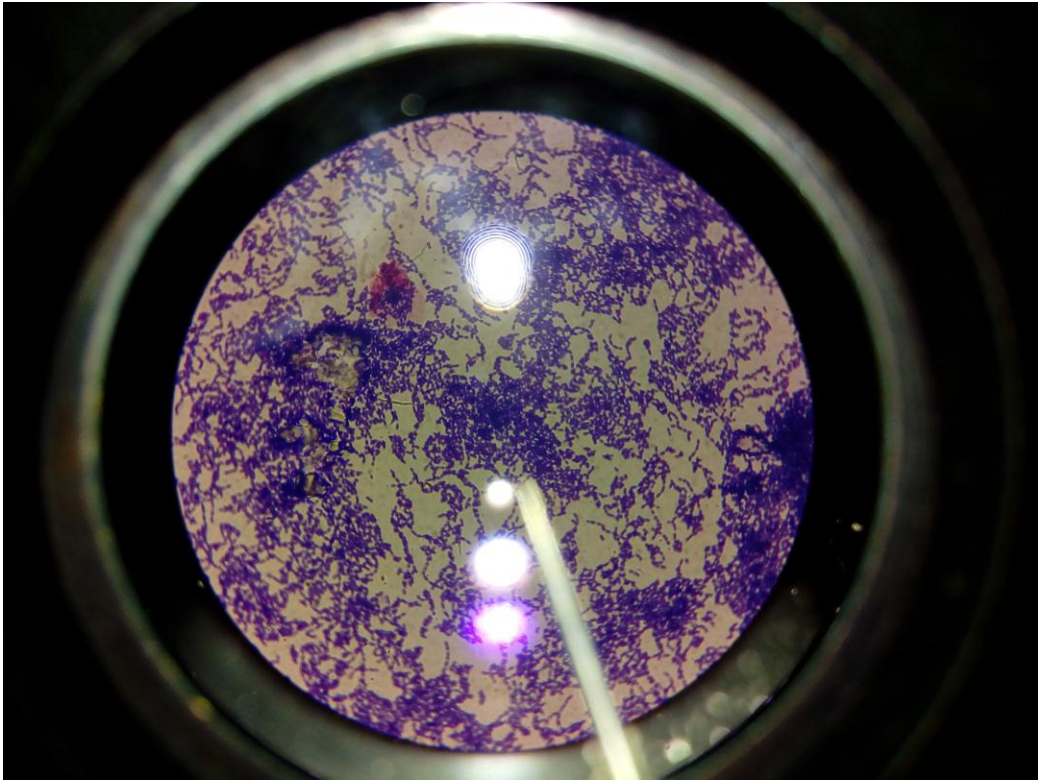


Fotografía N° 19: Se hizo coloración Gram

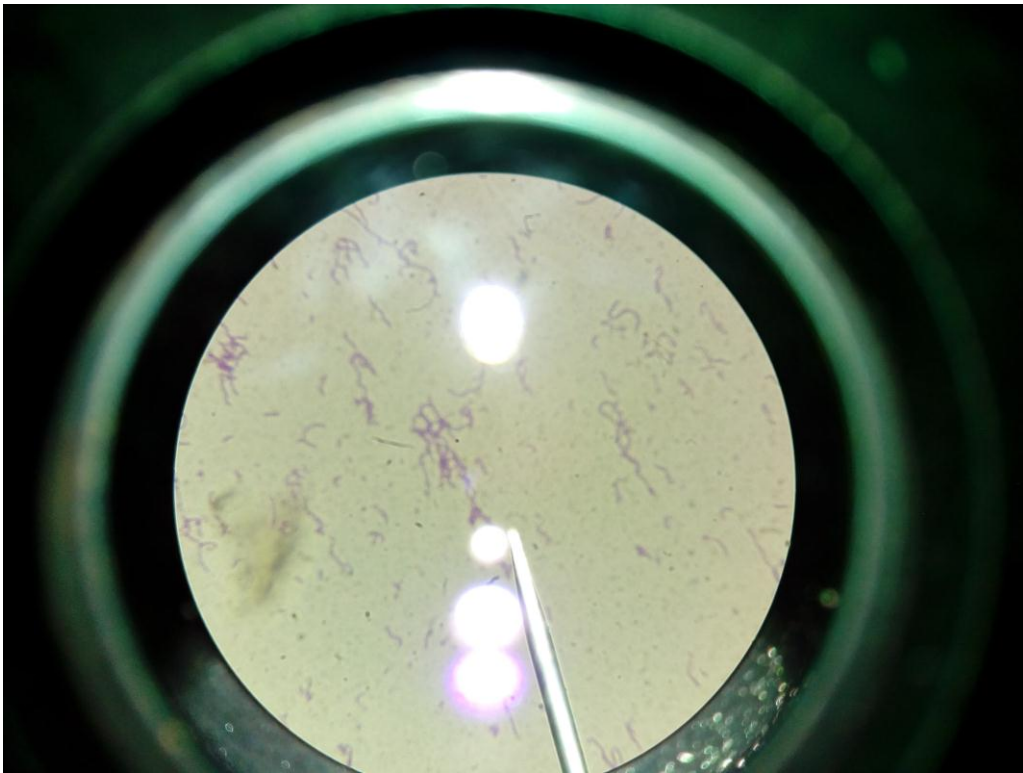


Fotografía N° 20: Coloración de tubo de ensayo tratamiento y control.





**Fotografía N° 21:** Mirada microscópica de muestra tratamiento.



**Fotografía N° 22:** Mirada microscópica de muestra control