



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA

**EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO
ANTIBACTERIANO DEL CAMELLIA SINENSIS (TÉ
VERDE), EN COMPARACIÓN A LA EFICACIA DE LA
CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CULTIVOS DE
STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175), HUACHO -
2017.**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

PRESENTADO POR:

Bachiller: MINAYA PANTOJA KARINA EVELYN

Tutor: MG. ESP. CÉSAR FÉLIX CAYO ROJAS

HUACHO PERÚ

2018

**EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO
ANTIBACTERIANO DEL *Camellia sinensis* (TÉ VERDE),
EN COMPARACIÓN A LA EFICACIA DE LA
CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CULTIVOS DE
STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175), HUACHO -
2017.**

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

Bachiller:

Minaya Pantoja, Karina Evelyn

Tutor:

MG. ESP. César Félix Cayo Rojas

HUACHO PERU

2018

DEDICATORIA

Mi tesis es dedicada a mis padres Gavina, Agustín, a mis abuelos Fausto, Leonarda y a mi hermana Gabriela por todo el sacrificio hecho al apoyarme en todo momento en el transcurso de mi carrera: tanto como emocionalmente y como económicamente por haber confiado en mi persona.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi asesor metodológico Mg. Esp. Cesar Félix Cayo Rojas y Mg. Fermín Arévalo Ortiz que me ayudo a la preparación de las concentraciones del Té verde. Con la contribución de sus conocimientos y haber brindado el apoyo y facilidades.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del *Camellia sinensis* (Té verde) en comparación con la Clorhexidina al 0,12% sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). **Materiales y métodos:** Se utilizaron 30 placas Petri, con agar Müller Hinton y se hizo el sembrado de *Streptococcus mutans*, luego se colocaron discos con concentraciones etanólico del *Camellia Sinensis* 2.5%, 5%, 10% y 20%; Clorhexidina al 0.12% y agua destilada y se hizo la medición del halo de inhibición, a las 24 y 48 horas a temperatura de 37° C. Luego fueron procesados en el programa SPSS 24.0. Para el contraste de hipótesis se aplicó la prueba no paramétrica U de Mann Whitney para muestras independientes. Para realizar el contraste de hipótesis de diferencia entre todos los grupos, se realizaron la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, con un nivel de confianza del 95% aceptando un error tipo 1 de 5%. Para el análisis de normalidad de utilizó la prueba de Kolmogorov - Smirnov. **Resultados:** A las 24 horas, el té verde 2.5% presentó halo de inhibición (3.77 mm \pm 0.77 mm) y el grupo de Clorhexidina (9.23 mm \pm 1.52 mm); a las 48 horas, presentó 3.47mm \pm 0.57mm, mientras que la clorhexidina (8.40 mm \pm 1.67 mm). A las 24 horas el grupo té verde 5% presentó 4.33 mm \pm 0.71 mm, mientras que el grupo Clorhexidina 9.23 mm \pm 1.52 mm; las 48 horas presento 3.77 mm \pm 0.82 mm y la Clorhexidina que presentó 8.40 mm \pm 1.67 mm. El té verde 10% a las 24 horas presenta 4.90 mm \pm 0.61 mm, en contraste con el grupo Clorhexidina (9.23 mm \pm 1.52 mm); las 48 horas el té verde presenta 4.50 mm \pm 0.63 mm y la clorhexidina 8.40 mm \pm 1.67mm. El té verde 20% a las 24 horas presentó 6.63 mm \pm 1.38 mm y la Clorhexidina presentó 9.23 mm \pm 1.52 mm; a las 48 horas el té verde al 20% presentó 5.83 mm \pm 1.23 mm, mientras que la Clorhexidina presentó 8.40 mm \pm 1.67 mm. **Conclusiones:** El té verde al 2.5%, 5% y 10% presentó menor efecto bactericida comparado con la Clorhexidina al 0.12%. El té verde al 20% presentó similar efecto bactericida que la Clorhexidina al 0.12%.

Palabra clave: *Camellia sinensis*, Clorhexidina, Halos de inhibición, Agar Müller Hinton.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the in vitro antibacterial effect of *Camellia sinensis* (Green Tea) compared to 0.12% Chlorhexidine on *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Materials and methods: 30 Petri dishes were used, with Müller Hinton agar and *Streptococcus mutans* was planted, then disks with ethanolic concentrations of *Camellia Sinensis* 2.5%, 5%, 10% and 20% were placed; 0.12% chlorhexidine and distilled water and measurement of the inhibition halo was made, at 24 and 48 hours at a temperature of 37 ° C. They were then processed in the SPSS 24.0 program. For the hypothesis test, the nonparametric Mann Whitney U test was applied for independent samples. To perform the difference hypothesis contrast between all the groups, the non-parametric Kruskal Wallis test was performed, with a confidence level of 95% accepting a type 1 error of 5%. For the normality analysis we used the Kolmogorov-Smirnov test. **Results:** At 24 hours, green tea 2.5% presented inhibition halo (3.77mm ± 0.77mm) and the chlorhexidine group (9.23mm ± 1.52mm); at 48 hours, presented 3.47mm ± 0.57mm, while chlorhexidine (8.40mm ± 1.67mm). At 24 hours the green tea group 5% presented 4.33mm ± 0.71mm, while the chlorhexidine group 9.23mm ± 1.52mm; the 48 hours I present 3.77mm ± 0.82mm. and chlorhexidine that presented 8.40mm ± 1.67mm. 10% green tea at 24 hours has 4.90mm ± 0.61mm, in contrast to the chlorhexidine group (9.23mm ± 1.52mm); 48 hours green tea has 4.50mm ± 0.63mm. and chlorhexidine 8.40mm ± 1.67mm. The green tea 20% at 24 hours presented 6.63mm ± 1.38mm and the chlorhexidine presented 9.23mm ± 1.52mm; at 48 hours the green tea at 20% presented 5.83mm ± 1.23mm, while the chlorhexidine presented 8.40mm ± 1.67mm. **Conclusions:** 2.5%, 5% and 10% green tea had a lower bactericidal effect compared to 0.12% Chlorhexidine. 20% green tea had a similar bactericidal effect than chlorhexidine at 0.12%.

Keyword: *Camellia sinensis*, *Chlorhexidine*, *Halos of inhibition*, *Agar Müller Hinton*.

INDICE

	Pags
DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTO.....	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INDICE.....	7
INTRODUCCIÓN	13
CAPITULO I:	15
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
1.1 Descripción de la realidad problemática	15
1.2 Formulación del problema	16
1.2.1 Problema principal	16
1.2.2 Problemas específicos.....	16
1.3 Objetivos de la investigación	17
1.3.1 Objetivo principal	17
1.3.2 Objetivos específicos	17
1.4 Justificación de la investigación.....	18
1.4.1 Importancia de la investigación	18
1.4.2 Viabilidad de la investigación	18
1.5 Limitaciones del estudio	19
CAPÍTULO II:	20

MARCO TEÓRICO.....	20
2.1 Antecedentes del estudio	20
2.1.1 Antecedentes Internacionales.....	20
2.2 Base teórica	23
2.2.1 Caries dental.....	23
2.2.2 <i>Streptococcus mutans</i>	26
2.2.3 Té Verde.....	31
2.2.4 Clorhexidina.....	38
2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	43
CAPITULO III:	45
HIPOTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACION	45
3.1 Formulación de hipótesis principal y derivadas.....	45
3.1.1. Hipótesis principal.....	45
3.1.2 Hipótesis derivadas.....	45
3.2 Variables; definición conceptual y operacional	46
3.2.1 Definición Conceptual.....	46
CAPITULO IV:.....	49
METODOLOGÍA Y DISEÑO METODOLÓGICO	49
4.1. Diseño de la investigación	49
4.2 Diseño muestral	56
4.3 Técnica de recolección de datos	57
4.4 Técnica estadística para el procesamiento de la información	57
4.5 Aspectos éticos	58

CAPITULO V:.....	59
ANALISIS Y DISCUSIÓN	59
5.1 Análisis descriptivo.....	59
5.2 Análisis inferencial.....	60
DISCUSIÓN	69
CONCLUSIONES	70
RECOMENDACIONES	71
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	72

ANEXOS

Anexo 1: Análisis de normalidad de los datos entre grupos de estudio.

Anexo 2: Matriz de consistencia.

Anexo 3: Ficha de Recolección de Datos N° 1.

Anexo 4: Ficha De Recolección de Datos N° 2.

Anexo 5: Solicitud de permiso para el uso de Materiales de Laboratorio de la Universidad Alas Peruanas – Filial Huacho.

Anexo 6: Constancia de reactivación a las 24/48 horas del microorganismo ATCC 25175 de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Anexo 7: Constancia Taxonómica del *Camellia sinensis* (Té verde) del Herbario de la Universidad Nacional Federico Villareal.

Anexo 8: Constancia de la preparación de del *Camellia sinensis* (Té verde) en concentraciones del 2.5 %, 5%, 10%, 20% por un Químico Farmacéutico habilitado.

Anexo 9: Fotografías.

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	62
Tabla 2	63
Tabla 3	64
Tabla 4	65
Tabla 5	67

INDICE DE GRAFICOS

Grafico 1	63
Grafico 2	64
Grafico 3	65
Grafico 4	66

INTRODUCCIÓN

Debido a estudios realizados se ha observado en los últimos años el aumento significativo de la caries dental, por la cual se han creado diversas propuestas en base a experimentos in vitro, buscando la mejor opción para poder reducir el incremento de esta enfermedad.

En los tres últimos estudios realizados del año 2016 por Nijampatnam B., Casals L., Zheng R., Wu H., Velu donde *Camellia sinensis* (té verde) inhibe la formación de biofilm dental con cepas de *S. mutans*.³

También un año antes Arévalo A. & Gómez P. explica las propiedades antimicrobianas del *camellia sinensis* (té verde) demostrando el poder de combatir al *Streptococcus mutans* presentando una efectividad como la disminución en la cavidad oral.⁴

Kawarai T y col en el año 2015, mostrando que el té de Assam puede reducir más la caries dental en la inhibición de la biofilm dental del *Streptococcus mutans* en comparación que el té verde .⁵

Por es motivo de aquellos estudios realizados buscamos obtener la concentración ideal para la reducción de las cepas, con ese fin se propone efectuar está presente investigación donde pone en estudio la efectividad de Té verde “China Green Tea” (Jemple of Heaven) en cuatro concentraciones diferentes del 2,5; 5%; 10%; 20% en comparación a la clorhexidina al 0, 12% y en un grupo control que solo los discos tendrán agua destilada. Se utilizaran 30 placas Petri divididas en 6 cada placa, donde se servirá la dilución del agar Müller Hinton y el sembrado de las cepa *Streptococcus mutans* donde se hará el sembrado de cada disco que se hará sumergido en concentraciones etanólica del *Camellia Sinensis*. El *Camellia sinensis* (Té verde), donde buscamos

demostrar la hipótesis planeada de a mayor concentración presentará similar actividad bacteriana en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación con la Clorhexidina al 0.12%. Mediante la comparación el diámetro del halo inhibitorio del *Camellia sinensis*(Té verde) al 2.5% asimismo como comparar el diámetro del halo inhibitorio que logra la *Camellia sinensis*(Té verde) al 5%, al 10% y al 20% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).Y analizar los diámetros de los halos inhibitorios que logra la *Camellia sinensis*(Té verde) al 2.5%, 5%, 10% y 20% respecto a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

En este trabajo se obtuvo que todos los grupos evaluados presentaron menor crecimiento bacteriano que grupo control negativo.

CAPITULO I:

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

El principal problema en la salud bucal sigue siendo actualmente, la caries dental en el Perú como en nuestra región, en un estudio realizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en estudios realizados mundialmente, en un 60% y el 90% en los niños y llegando casi al 100% en los adultos tienen caries dental.¹

En estudios epidemiológicos han demostrado que la caries dental se relaciona con la prevalencia la presencia del *Streptococcus mutans* que puede llegar a desencadenar consecuencias de destrucción dentaria, inflamación e infección de tejido pulpar, hasta la pérdida de vitalidad pulpar. La cual un diagnóstico clínico de caries dental no cavitadas ayudará a la prevención y la atención dental. En la cual en este proyecto la finalidad y esta centralidad en la efectividad del *Camellia sinensis* (Té verde) en comparación de la Clorhexidina al 0.12% sobre el *Streptococcus mutans* proponiendo una alternativa de origen natural por sus propiedades antimicrobianas.

En algunos estudios realizados con el *Camellia sinensis* (Té verde) presenta la eficacia de los flavonoles en los biofilms de *S. mutans*; el mecanismo de acción se da través de su efecto sobre las glucosiltransferasas de *S. mutans*.

Por otro lado tenemos a la Clorhexidina que es un fármaco que viene siendo utilizado hace muchísimo tiempo, como un antiséptico para el control de los microorganismos que producen la caries dental y en otras patologías relacionadas con los tejidos de soporte.²

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema principal

¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del *Camellia sinensis* (Té verde) en comparación con la Clorhexidina al 0.12% sobre crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuál es el diámetro del halo inhibitorio que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 2.5% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?
- ¿Cuál es el diámetro del halo inhibitorio que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 5% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?
- ¿Cuál es el diámetro del halo inhibitorio que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?
- ¿Cuál es el diámetro del halo inhibitorio que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 20% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?

- ¿Cuáles son los diámetros de los halos inhibitorios que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 2.5%, 5%, 10% y 20% y la clorhexidina 0.12 % respecto al grupo control; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo principal

Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del *Camellia sinensis* (Té verde) en comparación con la Clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

1.3.2 Objetivos específicos

- Comparar el diámetro del halo inhibitorio que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 2.5% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Comparar el diámetro del halo inhibitorio que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 5% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Comparar el diámetro del halo inhibitorio que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

- Comparar el diámetro del halo inhibitorio que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 20% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Analizar los diámetros de los halos inhibitorios que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 2.5%, 5%, 10% y 20% y la Clorhexidina al 0.12% con respecto al grupo control; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

1.4 Justificación de la investigación

1.4.1 Importancia de la investigación

La presente investigación brinda una alternativa de elección en la inhibición del *Streptococcus mutans* que contribuirá a la prevención de la caries dental. Este trabajo cobra importancia puesto que en el Perú cada vez se da más realce al uso de la medicina alternativa y complementaria en el campo de la odontología puesto que muchos productos naturales como es el caso del Té verde que presenta efecto bactericida a diferentes concentraciones y el acceso a este producto natural es fácil y económico de obtener. Además con los resultados obtenidos en este trabajo se le podría dar diversa utilidad al Té verde en el campo de la odontología sobre todo a nivel promocional y preventivo.

1.4.2 Viabilidad de la investigación

El presente estudio es viable ya que se cuenta con la facilidad de poder obtener las muestras para realizar la recolección de datos, así como el conocimiento suficiente sustentado en los antecedentes de investigaciones

nacionales e internacionales y bases teóricas para darle el fundamento teórico necesario para evaluar el efecto bactericida del Té verde. Con respecto al tiempo y los recursos humanos necesarios para realizar esta investigación *in vitro*, son alcanzables a corto plazo y además con la asesoría microbiológica especializada.

1.5 Limitaciones del estudio

La obtención del Té verde a diferentes concentraciones y la preparación y activación de las colonias de *Streptococcus mutans* para hacer el cultivo *in vitro*. Además la preparación del medio de cultivo necesario para evaluar la concentración mínima inhibitoria del Té verde.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del estudio

2.1.1 Antecedentes Internacionales

Nijampatnam B., Casals L., Zheng R., Wu H., Velu S. (2016), el objetivo fue inhibir selectivamente el proceso de formación de biofilm dental mientras se preserva la flora bacteriana. En estudios realizados la eficacia de los flavonoles en los biofilms de *Streptococcus mutans* y han sugerido el mecanismo de acción a través de su efecto sobre las glucosiltransferasas de *Streptococcus mutans*. Llegando a demostrar las actividades de antibiótico del Polihidroxiconas del *Streptococcus mutans*, observado las actividades con respecto a Estereoquímica del doble enlace y la regioquímica y el número de grupos hidroxilo están presentes en las moléculas.³

Arévalo A. & Gómez P. (2015), explica las propiedades antimicrobianas de 6 plantas como el *camellia sinensis* (té verde), *rosmarinus officinalis* (romero), *allium sativum* (ajo), *organum vulgare* (orégano), propóleo, mandarina en la cual fueron analizados para combatir agentes patógenos como el *Staphylococcus aureus* resistente y además otras bacterias bucales como *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, entre otros. Llegando a conclusión que el colutorio de la infusión de té verde muestra efectividad en la reducción del recuento de las bacterias, como la disminución de *Streptococcus mutans* en la cavidad oral.⁴

Kawarai T. et al (2015), evalúa efectos de té de Assam y muestras de té verde en biopelícula utilizando el método convencional de placa de titulación y los discos de hidroxiapatita revestidos con saliva humana. Obteniendo como resultado que el té de Assam puede llegar a prevenir más la caries dental en la inhibición de la biofilm dental del *Streptococcus mutans* en comparación que el té verde.⁵

Ying T. et al (2015), evaluó la eficacia antimicrobiana in vitro de los productos herbales comerciales como enjuagues bucales contra microorganismos orales. Utilizando tres enjuagues bucales (OX, Pesona y Watsons) fueron probados para su actividad antimicrobiana contra seis organismos orales, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*), *Lactobacillus salivarius* (*L. salivarius*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) y *Candida albicans* (*C. albicans*) por ensayo estándar de difusión en disco de agar. Oradex enjuague bucal que contiene 0,12% de gluconato de Clorhexidina y agua destilada estéril se sirvió como controles positivos y negativos. Mostrando que el enjuagatorio Pesona no fue el único enjuague herbal eficaz contra el crecimiento de *S. mutans*, *S. sobrinus*, *L. salivarius* y *C. albicans*, sino todas.⁶

Anita Padam, Shyam S. et al (2015), evaluó la actividad antimicrobiana in vitro del extracto de *Citrus sinensis* sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, con los extractos acuosos, acetónicos y etanólicos de *Citrus sinensis* se sometieron a análisis antioxidante. El extracto etanólico se utilizó para la evaluación de las propiedades antimicrobianas. Se utilizó extracto de té verde etanólico a diez concentraciones diferentes y Clorhexidina al 0.2%. Se realizaron investigaciones microbiológicas para determinar la Concentración

mínima inhibitoria (CIM) y la Concentración bactericida mínima (MBC), la inhibición de los agentes de ensayo y la muestra de control contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. Al realizar el análisis estadístico: Prueba U de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney encontrando que la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto de té verde en *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* era de 0.2% y 0.3% respectivamente, se encontró que el concentración bacteria minima era de 0.8% y 0.9%, respectivamente. La zona media de inhibición para 30 µl conteniendo 300 µg de extracto etanólico de té verde y control contra *S. mutans* fue de 18,33 mm y 14,67 mm, respectivamente. La zona media de inhibición para 30 µl conteniendo 300 µg de extracto etanólico de té verde y control contra *Lactobacillus acidophilus* fue de 12,67 mm y 7,33 mm, respectivamente. Obteniendo como resultado que el té verde tiene actividad antibacteriana contra las bacterias del *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*.⁷

Xin Xu et al (2012), realiza el estudio de las propiedades anti-cariogénicas del té en las cuales ha demostrado que los teapolifenoles, especialmente el galato de epigallocatequina (EGCG), inhiben la acumulación de placa dentales a niveles subletales es capaz de reducir la formación de biofilm de *Streptococcus mutans* suprimiendo la expresión de gtf asociada con la adherencia celular y la formación de biofilm dental.⁸

2.2 Base teórica

2.2.1 Caries dental

2.2.1.1 Definición

La etiopatogenia de la caries dental fue propuesta por W. Miller en 1882; según Miller indicó que el factor más importante en la patología de la caries dental era la capacidad de gran número de bacterias bucales la cual producen ácidos a partir de los hidratos de carbono de la dieta, hipótesis que sustentó experimentalmente era aislar varios grupos de microorganismos bucales que eran cariogénicos.⁹ La caries es una enfermedad infecciosa y transmisible de los dientes, producido por la desintegración progresiva de sus tejidos calcificados, debido a que los microorganismos actúan sobre los carbohidratos fermentables provenientes de la dieta. Como resultado, se produce la desmineralización de la porción mineral y la disgregación de su parte orgánica.¹⁰ En dientes despulpados Fusayama clasifica la caries de acuerdo con la ruta de invasión en: centrípeta, cuando el avance se produce desde el fin del túbulo hacia la pulpa y centrífuga, como en el caso de un diente tratado endodónticamente en el cual la caries se instala en la cámara pulpar y avanza e invade los túbulos en forma perpendicular.¹¹

2.2.1.2 Formación y desarrollo de la biopelícula o placa dental.

La biopelícula o placa dental que baña las superficies dentarias según Marcantoni la entidad bacteriana proliferante con actividad enzimática, se adhiere firmemente a las superficies dentarias y que por su actividad bioquímica y metabólica ha sido propuesta como el agente etiológico principal de la caries dental. La composición de la biopelícula varía según el

tiempo de maduración y la región de la pieza dentaria colonizada, como una estructura formada por dos matrices: la capa salival o cutícula acelular adquirida, la capa formada por microorganismos y polímeros extracelulares.¹¹

Cutícula acelular adquirida.

Formada por una película delgada amorfa y electro densa adyacente a la superficie del esmalte, cuyo grosor varía según el sitio pero se ha estimado en 1 a 2 μm . En estudios realizados demuestran que la película adquirida del esmalte se forma en menos de dos horas en una superficie dental limpia, esta carece de microorganismos y sus productos están formados por proteínas y glucoproteínas.¹¹

Capa formada por microorganismos y polímeros extracelulares

Formada por una colonización inicial de las superficies dentarias. Son varios los mecanismos que intervienen en el desarrollo y multiplicación dentro de la biopelícula adquirida o colonización secundaria y multiplicación.¹¹

Adherencia a la película adquirida.

Una vez establecida la película adquirida y con la falta de higiene oral adecuada se depositan las primeras colonias bacterianas específicas. El primero en colonizar es especialmente *Streptococcus sanguis*. El *Streptococcus mutans* en esta fase es variable ya que se encuentra en bajo número o ausente. Esta situación se asocia con la escasa presencia de sacarosa en el medio bucal.¹¹

2.2.1.3 Factores Etiológicos

La Teoría Químio parasitaria de Miller en 1890, aproximadamente al promediar el siglo XX, la cual fue aceptada por el consenso de la profesión, pero solo después de las investigaciones arduas y sumamente prolongadas que permitieron conocer el mecanismo del inicio y del desarrollo de la caries dental.¹⁰

En experiencias de laboratorio se realizaron trabajos in vitro sobre la caries dental en dientes humanos extraídos y asimismo, en animales de experimentación, alcanzándose importantes hallazgos. Se lograron identificar los microorganismos o bacterias consustanciales al origen de la caries dental; los *Streptococcus mutans*, aislándose a partir de lesiones cariosas activas. A través de experiencias de laboratorio en perros, Kite en 1950 comprobó que la presencia de carbohidratos en la dieta es primordial para el desarrollo de caries dental.

(Keyes en 1960), demostró en experimentos realizados que la caries dental es una enfermedad de tipo infecciosa y transmisible. Basado en un experimento realizado en hámster la cual los divide en dos grupos, uno con y otro sin actividad cariosa. Este último grupo a su vez fue subdividido en dos subgrupos, uno de ellos al unirse al grupo con experiencia de caries con desarrollo de la enfermedad, mientras que el otro subgrupo permaneció aislado sin desarrollar caries. Sobre la base de la triada ecológica formulada por Gordon, para la elaboración del modelo causal en Epidemiología en 1960 realizado por Paul Keyes estableció que la etiología de la caries dental estaba conformado por tres agentes (Huésped, Microorganismo y Sustrato)

que interactúan entre sí. Dicha relación fue resumida en una gráfica que trascendió en el siglo XX, con la denominación de la triada de Keyes.¹⁰

2.2.2 Streptococcus mutans

2.2.2.1 Definición:

Microorganismos de forma esférica que se agrupan uno tras otro formando cadenas. Los *Streptococcus mutans* son gérmenes gram positivos, siendo visualizada de forma esféricas o de forma ovoidal, que no poseen motilidad y que se disponen por cadenas (cortas o largas) o por pares. Las variedades *Streptococcus mutans*, *salivaris* y *sanguis* forman parte importante de la población bacteriana de la placa dental y son considerados los principales agentes cariogénicos.

2.2.2.2 Descripción de género y especie:

Los *Streptococcus* son un género de bacterias Gram positivas, esféricas de menos de 2µm de tamaño. Estas bacterias crecen en cadenas o pares, donde cada división ocurre a lo largo de un eje. Proveniente del griego *streptos*, significa que se dobla o retuerce con facilidad, como una cadena. Además de ser bacterias de tipo anaerobias facultativas.¹²

Bratthal describió la presencia de 5 serotipos a, b, c, d y e. subsecuentemente otros investigadores revelaron 2 serotipos adicionales f y g.¹³ Además siendo una bacteria de un comportamiento acidogénica y acidúrica.¹⁴

2.2.2.3 Factores de Virulencia:

Perteneciente del grupo *mutans*, la capacidad del *Streptococcus mutans* puede causar la caries dental, siendo estudiada esta patología en modelos realizados con animales como por ejemplo roedores y monos. La virulencia de este microorganismo puede ser dividido debido a la formación de la placa dental y en la tolerancia a ácidos a partir de la actividad metabólica de los carbohidratos de la dieta, y los factores de adherencia entre otros.¹³

El *Streptococcus mutans* posee algunos factores de virulencia como: la formación de una biopelícula para sobrevivir y persistir en su ecosistema natural regulada por el sistema “Quorumsensing”, así como un sistema de exclusión de protones y expulsión de productos ácidos.¹³

2.2.2.4 Adquisición del *Streptococcus mutans*

El *Streptococcus mutans* se encuentra en forma permanente y predominante en la cavidad oral después de la erupción dental, debida fundamentalmente a que requiere la presencia de tejido duro no descamativo para su colonización. La principal fuente de adquisición y transmisión de *Streptococcus mutans* de niños a madres es la saliva. Estas evidencias provienen de diferentes estudios realizados que han demostrado un patrón idéntico de ADN cromosomal en las bacterias tanto de los niños y de sus madres. Demostrando que el tiempo exacto de colonización de esta bacteria es a los 26 meses de edad, período que ha sido denominado “ventana de infectividad”. En la flora oral microbiana encontramos el *Streptococcus mutans*, tanto en pacientes con y o sin caries.¹¹

2.2.2.5 Aislamiento, recuento e identificación de *Streptococcus mutans*

Para la identificación se necesita tomar muestras de placa y de saliva (espontánea o estimulada) luego se procede a ser diluida de forma seriada de 10 en 10 en tubos de ensayo que contiene tampón fosfato salino 0.05 M. Después de mezclar las muestras con el tampón en vortex durante 30 segundos, se toman 100 µl de cada dilución y por ultimo será sembrado en cajas de Petri con agar *mitis salivarius* bacitracina (MSB); mediante el método del disco de *Streptococcus mutans*.¹¹

Después de realizar el recuento bacteriano, se examinan entre 5 y 20 colonias con características de *Streptococcus mutans* por medio de la tinción de Gram y se someten a las siguientes pruebas bioquímicas: fermentación de rafinosa, manitol, melobiosa, trehalosa e inulina; hidrólisis de esculina en presencia y ausencia de bilis; ureasa; hidrolizas. Teniendo como perfil bioquímico; fermentación positiva.¹⁵

2.2.2.6 Susceptibilidad antimicrobiana

Además de la caries dental e infecciones piogénicas están relacionadas al *Streptococcus mutans* es también siendo un agente infeccioso muy importante en endocarditis. La participación de este microorganismo en infecciones orales y no orales ha generado un interés por el conocimiento de su susceptibilidad bacteriana. Los agentes más utilizados son: Penicilina, Amoxicilina, Cefazolina, Eritromicina, Clindamicina, Imipenem y Vancomicina. La concentración mínima inhibitoria (CMI) es utilizado mediante el método de dilución en agar.

El protocolo a seguir es el siguiente:

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se hace con los antimicrobianos, en concentraciones entre 0.003 y 32 µg/ml .

Mediante el agar Müller - Hinton se aplica en suspensiones estandarizadas de 10.000 UFC/ml de la bacteria. Después de haber realizado el sembrado a las 48 horas de incubación a 35° en atmosfera anaeróbica (H₂:CO₂:N₂ 10:10:80), se determina la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y con la concentración más baja del agente antimicrobiano que inhibe el crecimiento de la bacteria.¹¹

2.2.2.7 Asociación entre caries dental y *Streptococcus mutans*

El *Streptococcus mutans* está relacionada directamente con la biopelícula cariogénica. El *Streptococcus mutans* se encuentra de manera significativa en saliva provocando la formación de la caries dental. La acción de los antisépticos como la clorhexidina determina que el nivel del *Streptococcus mutans* disminuye y también actúa disminuyendo el número de caries.¹¹

2.2.2.8 Identificación de *Streptococcus mutans*:

La identificación del *Streptococcus mutans* está relacionada al crecimiento a varios medios de cultivo, como la morfología de las colonias y características bioquímicas de sus ácidos nucleicos. Algunos de los *Streptococcus* orales utilizan sustratos, como el manitol, sorbitol y otros. El *Streptococcus mutans* se diferencia de los demás *Streptococcus* orales por su capacidad de fermentar al manitol, sorbitol principalmente por tener la característica de producir considerables cantidades de glucanos cuando la sacarosa es utilizada como sustrato. Recientemente, los métodos basados en ácidos nucleicos, como Fragmento de Restricción de Polimorfismo Largo

(RFLP) o Técnicas de hibridación, siendo desarrollados y aplicadas ampliamente en los campos de la investigación, en los diagnósticos médicos y dental. En la investigación, la técnica de Fragmento de Restricción de Polimorfismo Largo (RFLP) o Técnicas de Hibridación presenta buenos resultados.⁹

Entre los factores de patogenicidad presentes en *S treptococcus mutans* se destacan:

- Poder ser acidógeno, acidófilo y acidúrico.
- Síntesis de polisacáridos extracelulares de tipo glucanos insolubles y solubles, fructanos.
- Síntesis de polisacáridos intracelulares.
- Capacidad adhesina por la proteínas salivares que posibilitan su adhesión a superficies duras.
- Capacidad agregativa y coagregativa a través de mutanos, glucosiltransferasas y proteínas receptoras de glucanos.
- Producción de bactericidas con actividad sobre otros microorganismos.

El *Streptococcus mutans* sintetiza glucanos insolubles a partir de la sacarosa de la dieta a través de las glucosil transferasas facilita la formación de biopelícula dental.

2.2.2.9 Glucosiltransferasa

La Glucosil transferasas son enzimas extracelulares capaces de convertir el almidón y sustratos relacionados en oligosacáridos cíclicos no reductores denominados ciclo dextrinas. La Glucosiltransferasas convierte a la sacarosa en polímeros de la glucosa (glucanos) que cooperan en la adhesión a la superficie del diente.^{16,17}

Una enzima producida por *Streptococcus mutans*, denominada Glucosiltransferasas, convierte la glucosa (derivada de la sacarosa) en un polisacárido pegajoso denominado dextrano, que forma el glucocálix.¹¹

2.2.3 Té Verde

2.2.3.1 Origen:

El Té verde tiene su origen en China. Estudios arqueológicos han demostrado que el té verde se consume desde hace más de 5000 años. En su inicio sólo unos pocos privilegiados de la nobleza china podían consumir esta saludable bebida. Tras la caída de la Dinastía Ming el Té verde se extendió al resto de la población. El Té fue exportado al mundo por primera vez entre los siglos XV y XVII llegando a casi todos los países. En Inglaterra llegó por primera vez en 1673. Dos siglos más tarde, con la prohibición del emperador chino de seguir vendiendo Té, los británicos iniciaron plantaciones en la India.

El Té pertenece a la familia Teáceas. Es un árbol pequeño de hoja perenne que puede llegar a medir 5 - 10 m de alto en estado salvaje, aunque cuando

se cultiva no suele sobrepasar los dos metros de altura. Sus hojas son de color verde oscuro, se disponen alternas y miden generalmente entre 5 - 10 cm de largo por 2 - 4 cm de ancho. Son pequeñas, dentadas en sus dos terceras partes superiores y se disponen aisladamente o en grupos de 2 o 3. El fruto es una pequeña cápsula redondeada, en cuyo interior se localizan las semillas.³

En el sudeste asiático en la India y Sri Lanka hasta China o Japón, el té crece de manera extensa en las regiones tropicales y subtropicales. Para que el crecimiento del té sea óptimo, requiere suelos bien drenados, ricos en materia orgánica y con un pH ligeramente ácido. Las condiciones ideales de cultivo son clima húmedo, temperatura que oscile entre 14 - 27 °C, irradiación solar de un mínimo de 5 horas diarias, humedad del aire entre 70-90% y lluvias abundantes y regulares durante todo el año. La recolección de la planta es cuando este alcanza los 3 años de edad ⁴

2.2.3.2 Composición:

El té contiene más de 600 compuestos químicos que actúan todos juntos sobre el sabor, el gusto, el color, los nutrientes y el efecto terapéutico de esta planta.

Las hojas de *Camellia sinensis* contienen un 75 - 80% de agua. La infusión de las hojas frescas extrae un 60% de producto soluble. El 40% de producto insoluble corresponde a sustancias tales como el almidón, la clorofila, resinas, etc. Los productos solubles son los que nos encontramos en la infusión¹⁰. Ricas en sales minerales en un 4 a 7 % potasio, magnesio y flúor en un .Otros compuestos minoritarios en el té son ácidos

orgánicos como málico, succínico, oxálico y galoquínico; compuestos glucídicos como inositol, azúcares reductores, gomas y pectinas; e incluso un pequeño porcentaje de lípidos.¹¹

Entre los principios activos responsables de la actividad terapéutica del té verde destacamos su contenido en compuestos polifenólicos (3%), que son de tres tipos: flavonoides, catecoles y taninos.

Las catequinas son potentes flavonoides. El té verde contiene una variedad de estos antioxidantes. Gran parte del poder antioxidante del té verde se debe a sus catequinas, de las cuales la epigalocatequina gálata (EGCG) representa por sí sola el 32% del potencial antioxidante del té verde.¹⁷

Cafeína y otras sustancias son encontradas en pequeñas cantidades, la teofilina y la teobromina de 2 a 4%; todos los tipos de té contienen cafeína, pero en diferentes proporciones. El té verde tiene menos cafeína que el negro. El organismo absorbe rápidamente la cafeína del café, lo que provoca un inmediato incremento de la actividad cardiovascular. En cambio se cree que los polifenoles del té ralentizan (demoran) el ritmo de absorción. Los efectos de la cafeína se notan más lentamente, pero son más duraderos, por lo que el té es mucho más revitalizante que el café.

Sales minerales como se mencionó destaca un alto contenido en flúor importante para la remineralización de las piezas dentarias y la protección contra la caries dental.

Entre las vitaminas presenta Vitamina A (se cree que los carotenos pueden tener influencia en el aroma), grupo de vitaminas B muy bien representado,

vitamina C (en los no fermentados como el té verde) y vitamina E (sobre todo en los té de la India y Ceilán).^{18,19}

Otros: Pequeñas cantidades de aminoácidos, glúcidos y lípidos. Se han descubierto algunos aminoácidos exclusivos del Té como la teamina, valina y arginina. El aporte calórico de una taza de Té es de tan solo 2 calorías.¹⁶

En el té verde se han identificado más de 300 ingredientes activos, entre los que representan mayor significado en nuestra profesión son los polifenoles a los que haremos referencia.¹⁹

2.2.3.3 Polifenoles

El Té contiene varios tipos de polifenoles pero encontramos en más cantidades a los flavonoides. En un principio se pensó llamarlos vitamina P, pero su enorme variedad impidió clasificarlos como una sola vitamina.

Los principales flavonoides presentes en el Té pertenecen a un tipo de sustancias conocidas genéricamente como catequinas. Las cuatro principales catequinas del Té son: EC, ECG, EGC y EGCG (epigallocatequina galata). Diferentes investigaciones han demostrado que las EGCG por si sola concentran el 32% de toda la actividad antioxidante del té verde. Las catequinas del té verde son 100 veces más efectivas que la vitamina C y 25 veces más potentes que la vitamina E.^{15,14} También contiene taninos, responsables de la astringencia y del sabor amargo. Parece ser que el contenido en polifenoles está en relación directa con la edad de las hojas, cuanto más joven o tierna sea la hoja mayor es el contenido en polifenoles.

2.2.3.4 Mecanismo de acción sobre bacterias orales:

El mecanismo de acción del té verde sobre los *Streptococcus* de cavidad oral tienen varios planteamientos, considerando conceptos fitoterapéuticos, un componente aislado (principio activo) puede tenernos efectos terapéuticos y más efectos nocivos que al permitir que actúe de forma sinérgica con otros componentes de la misma planta (complejo fitoterápico).²⁰

El Té verde (*Camellia sinensis*) es una planta muy rica en taninos que son compuestos polifenólicos con alta afinidad a las proteínas, lo que favorece la precipitación e inactivación de las mismas en muchas situaciones, en especial frente a procesos inflamatorios (carácter antiinflamatorio) y en el bloqueo de procesos de colonización y vitalidad microbianos (acción antimicrobiana), así como también posee una gran cantidad de fluoruro lo que previene el inicio de caries dental y mantiene la integridad de las piezas dentarias.

La mayoría de los polifenoles en el Té verde son flavonoides, comúnmente conocidos como catequinas. Las principales catequinas son: epicatechin, epicatechin – 3-gallate, epigallo catechin y epigallo catechin - 3 - gallate. Estas se les atribuyen un carácter antibiótico especialmente contra bacterias gran+ anaerobias facultativas del género *Streptococcus*.¹⁹

Existen estudios donde se comprueba que el Té verde inhibe la actividad de la enzima amilasa estreptococo que permite que los restos de hidratos de carbono se queden entre las piezas dentarias y fermenten además de evitarla formación de la biopelícula.¹⁵

La capacidad del Té verde para reducir los síntomas de la enfermedad periodontal puede deberse a la presencia del antioxidante catequina. Investigaciones previas ya habían demostrado la habilidad de los antioxidantes para reducir la inflamación, y los indicadores de enfermedades medidas en este estudio, sugieren la existencia de una respuesta inflamatoria a la bacteria periodontal en la boca. Interfiriendo con esta respuesta, el té verde puede realmente ayudar a promover la salud periodontal, e incluso prevenir otras dolencias (21).

Investigaciones sobre tejidos periodontales alterados, donde se aplicaron tiras de liberación lenta de catequinas, evidenciaron clínicamente una reducción en la profundidad del sondaje y de la concentración bacteriana (2).

Los estudios que tenemos como antecedentes, refieren que actúan en la microflora oral de las siguientes formas:

- Efecto bactericida directo sobre *Streptococcus*
- Impide la adherencia bacteriana
- Inhibe la Glucosiltransferasas de dichas bacterias
- Disminuye la incidencia y gravedad de las caries.
- Sobre tejidos periodontales por estudios se evidencia una reducción en la profundidad del sondaje y de la concentración bacteriana.²⁰

2.2.3.5 Propiedades.

- El Té verde es un poderoso antioxidante. El contenido de catequinas e isoflavonas que se encuentran en sus hojas lo convierten en uno de los mejores aliados para luchar contra problemas relacionados con el

envejecimiento o el aparato cardiovascular (es recomendable para la circulación).

- Existen algunas versiones que aseguran que el té verde para perder peso es muy efectivo. Incluso hay otros estudios que determinaron que reduce la acumulación de grasa en el hígado.
- El Té verde es anti cancerígeno. Varias investigaciones favorables hay al respecto. Esto se debería también a su gran contenido de antioxidantes. El Té verde sería el responsable de la baja tasa de cáncer en Asia, como así también se indica que es bueno para la próstata y se lo indica como ideal para la prevención de diferentes tipos de cáncer.
- El Té verde estaría recomendado para aquellas personas que sufren trastornos para dormir, sobre todo para los que padecen de apnea obstructiva del sueño.
- El té verde también es estimulante. Al tener cafeína, esta bebida también sirve para la concentración y el estímulo mental de una manera mucho más saludable que en otros brebajes de similares características.
- Dentro de las propiedades que tiene el té verde, se encuentra la de prevenir las caries. Resulta que en países como China o Japón, donde el consumo de esta bebida es más que notable, la población prácticamente no sufre de caries. Esto se debería a las inmensas propiedades de las catequinas del té verde, que matan a las bacterias cariogénicas.

- El extracto de Té verde puede aumentar los niveles de energía y favorecer la oxidación de las grasas, puede ser una herramienta para el control de peso.

2.2.4 Clorhexidina.

2.2.4.1 Origen.

La Clorhexidina es un agente terapéutico introducido en 1954, aprobado en los EEUU por la Food and Drug Administration (Administración de alimentos y medicamentos) y aprobado por la América Dental Association Council of Dental Therapeutics (Consejo de la asociación dental americana de la terapéutica dental). La Clorhexidina es un fármaco que viene siendo utilizado como un importante antiséptico para el control de los microorganismos causantes de la caries dental y en otras patologías relacionadas con los tejidos de soporte (Periodontales).

2.2.4.2 Definición.

La Clorhexidina es un potente antiséptico, normalmente es usado en concentraciones de 2% y 0.12%, en estas concentraciones presenta una buena actividad bactericida, pero una baja actividad antifúngica, debemos mantener la clorhexidina alejada de la luz o de fuertes temperaturas ya que esta se descompone fácilmente.²²

La clorhexidina es un antiséptico bisbiguanídico, posee una molécula simétrica conformada por cuatro anillos de cloro fenilo y dos grupos bisguanida, conectados por un puente central de hexametileno.²³

Debido a las propiedades catiónicas de la clorhexidina, esta puede unirse a la hidroxiapatita del esmalte, a la película adquirida y a las proteínas

salivales. Se piensa que la clorhexidina absorbida se libera gradualmente desde el diente durante 24 horas después de su absorción, durante este tiempo se evita la colonización bacteriana.²³

2.2.4.3 Estructura química

La Clorhexidina es una sal de Clorhexidina y ácido glucoico. La clorhexidina es una bisguanida de naturaleza catiónica, por lo que tiene afinidad por la pared celular de los microorganismos, que está cargada negativamente, alterándola, tiene actividad frente a microorganismos (Gram + y Gram -), hongos, dermatofitos y algunos virus.

Es bactericida a concentración alta y bacteriostática a bajas concentraciones. No produce hay evidencia de cambios de resistencias bacterianas ni sobre el crecimiento de microorganismos oportunistas.

La clorhexidina tiene una gran sustantividad. El 30% de la clorhexidina se retiene en la boca unida a proteínas salivales y es liberada lentamente durante 8 -12 horas.²⁴

2.2.4.4 Mecanismo de acción

La interacción de la Clorhexidina con la bacteria comienza con la absorción en la pared celular, lo que se facilita con la carga negativa presente en la superficie de la pared, la cantidad absorbida depende de la concentración.²⁵

Si la concentración es baja se liberan las sustancias de bajo peso molecular (iones K y P) de ahí que su efecto es bacteriostático, si la concentración es alta se presenta una precipitación del contenido citoplasmático resultando en la muerte celular, de ahí su efecto bactericida.

Gracias a sus propiedades catiónicas, la Clorhexidina también se une electrostáticamente a la hidroxiapatita de los dientes, esto significa que los depósitos de Clorhexidina se unen a la dentina y posteriormente el fármaco es liberado lentamente, manteniendo de esta forma el fármaco activo durante cierto tiempo.

2.2.4.5 Propiedades físico – químicas

El Digluconato de Clorhexidina es una base estable, soluble en agua a un pH fisiológico (7.4) y se disocia rápidamente liberando su carga positiva. A causa de su naturaleza altamente catiónica, el Digluconato de Clorhexidina tiene gran facilidad para ser absorbida por la pared celular de los microorganismos y modifica sus estructuras superficiales, se pierde el equilibrio osmótico y en consecuencia la membrana celular resulta extraída, se forman vesículas y se precipita el citoplasma, estas precipitaciones inhiben la reparación de la pared celular bacteriana y las bacterias ya no pueden recuperarse.

La Clorhexidina tiene la característica de conjugarse iónicamente con el cristal de hidroxiapatita en forma permanente y puede liberar iones de la misma prolongando su acción por un tiempo más o menos largo actuando sobre la placa bacteriana.²²

2.2.5 Medio de cultivo Agar Müller Hinton

Es el agar más empleado en estudios in vitro de los muchos medios disponibles, se considera el Agar Müller - Hinton como el mejor para pruebas de susceptibilidad de rutina de bacterias por las siguientes razones:^{10,11,12,13}

-Reproducibilidad aceptable lote a lote para ensayos de susceptibilidad.

-Es bajo en inhibidores de sulfonamida, trimetoprim, y tetraciclina.

-Crecimiento satisfactorio para la mayoría de los patógenos no fastidiosos.

Aunque el agar Müller - Hinton es una prueba de susceptibilidad confiable ya que los resultados obtenidos con un porcentaje de lotes en los algunos casos varían significativamente. Si el lote del medio no soporta un adecuado crecimiento de organismos de prueba, las zonas obtenidas en un disco de difusión usualmente son más grandes que lo esperado y pueden exceder los límites de control de calidad aceptable. Sólo las formulaciones del medio Müller - Hinton que han sido controladas con la cepa de referencia de acuerdo al NCCLS pueden ser usados.¹⁴

2.2.5.1 Preparación del Agar Müller Hinton

El agar Müller - Hinton debe ser preparado a partir del reactivo comercial deshidratado y de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Inmediatamente después de autoclavar dejar enfriar en un baño de agua a 45- 50°C. Luego verter el preparado fresco y tibio a una placa Petri de vidrio o plástica, de fondo plano en un nivel, superficie horizontal para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm. Esto corresponde a 60 - 70 ml de medio por placa de diámetro de 150 mm y 25- 30 ml para placas de 100 mm de diámetro.

El medio de agar debe dejarse que enfríe a temperatura ambiente, y a menos que la placa se use el mismo día, debe guardarse en refrigerador (2 - 8° C). Las placas deberían usarse en un lapso de 7 días después de la preparación

a menos que se hayan tomado adecuadas precauciones, tal como envolver en plástico, para minimizar el secado del agar y que al menos haya mostrado correcto funcionamiento con los organismos ¹⁴

2.2.5.2 El pH del Agar Müller Hinton

El pH de cada lote de agar Müller - Hinton debería ser chequeado cuando el medio es preparado. El agar debe tener un pH entre 7,2 y 7,4 después de gelificar a temperatura ambiente. Si el pH es muy bajo, ciertas drogas parecería que pierden potencia (por ej. amino glucósidos, quinolonas y macrólidos), mientras otros agentes pueden presentar excesiva actividad (por ej. tetraciclinas). Si el pH es muy alto, puede esperarse efectos opuestos. El pH puede ser controlado por ejemplo macerando una cantidad suficiente de agar para sumergir la punta del electrodo.¹⁴

2.2.5.3 Humedad en el Agar Müller Hinton

Un exceso de humedad justo antes del uso se presenta en la superficie del agar, las placas deberían ponerse en una incubadora (35°C) o una cámara de flujo laminar con las placas entreabiertas hasta que el exceso de humedad se haya perdido por evaporación (usualmente 10 a 30 minutos). La superficie debe ser húmeda, pero sin gotas de humedad en la superficie del medio o en la tapa de la placa antes de ser inoculada.¹⁴

Streptococcus mutans: Es un habitante de la microbiota oral que constituye la primera causa de caries dental y de infecciones graves por estreptococos del grupo *viridans*, tales como bacteriemia y endocarditis. Sin embargo, puede constituir un desafío diagnóstico debido a su capacidad de presentarse como "bacilo Gram positivo" a la tinción de Gram.

2.3 Definición de términos básicos

- **Bacteria:** Microorganismo perteneciente al grupo monera. Son unicelulares, procariotas y carecen en general de pigmentos asimiladores; se reproducen por bipartición. Poseen un solo cromosoma disperso por el protoplasma (carecen de membrana nuclear); en algunos casos, existe un pequeño fragmento adicional denominado plásmido.²⁶
- **Caries:** “un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, determinando el reblandecimiento del tejido duro del diente y evoluciona hasta la formación de una cavidad”, y es el principal culpable de la caries la bacteria *Streptococcus mutans*.¹¹
- **Cultivo:** Es la forma en la que se hacen crecer los microorganismos (colonias) en una superficie sólida (agar) o en medio líquido (caldo) e incluso en células (línea celular) y es utilizado como el método principal para poder estudiar a los agentes causales de enfermedades, y saber si se trata de bacterias, hongos, virus, parásitos o algas.²⁷
- **Agar nutritivo:** Medio de cultivo utilizado para propósitos generales, para el aislamiento de microorganismos poco exigentes en lo que se refiere a requerimientos nutritivos. Su uso está descrito en muchos procedimientos para el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria.²⁸
- **Müller Hilton:** Medio de cultivo recomendado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.²⁸
- **Prueba in- vitro:** Muchos experimentos en biología celular son llevados a cabo fuera del organismo, en células. Son a menudo denominados in

vitro, para distinguirlos de los experimentos *in vivo*, en los que los tejidos estudiados permanecen dentro del organismo en el que normalmente se encuentran.²⁹

- **Flavonoides:** Son metabolitos secundarios polifenólicos comúnmente con un grupo cetona y normalmente pigmentos de coloración amarilla de donde viene su nombre (del latín flavus, "amarillo").³⁰
- **Bisbiguanidico:** Son moléculas o grupos de medicamentos que funcionan como antidiabéticos orales para el tratamiento de la diabetes mellitus y algunos como antimaláricos. Estructura un grupo funcional bisguanida.³¹
- **Resistente (R):** Categoría clínica definida para las pruebas de susceptibilidad *in vitro*. Las cepas bacterianas incluidas en esta categoría no son inhibidas por las concentraciones séricas del antibiótico normalmente alcanzadas con las dosis habituales del mismo, poseen comúnmente mecanismos específicos de resistencia bacteriana o la eficacia clínica del antibiótico frente a la bacteria no ha sido comprobada.
32
- **Sensible (S):** Categoría clínica definida para las pruebas de susceptibilidad *in vitro*. Implica que una infección debida a la cepa bacteriana estudiada puede ser tratada apropiadamente con la dosis de antibiótico recomendada para el tipo de infección y la especie infectante, a menos que existan contraindicaciones.³²

CAPITULO III:
HIPOTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACION

3.1 Formulación de hipótesis principal y derivadas

3.1.1. Hipótesis principal.

La *Camellia sinensis* (Té verde), presentaría diferencias en el efecto antibacteriano en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

3.1.2 Hipótesis derivadas.

- La *Camellia sinensis* (Té verde) al 2.5% presentaría diferencias del diámetro del halo inhibitorio en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- La *Camellia sinensis* (Té verde) al 5% presentaría diferencias del diámetro del halo inhibitorio en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- La *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% presentaría diferencias del diámetro del halo inhibitorio en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

- La *Camellia sinensis* (Té verde) al 20% presentaría diferencias del diámetro del halo inhibitorio en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- La *Camellia sinensis* (Té verde) al 2.5%, 5%, 10% y 20% y la Clorhexidina 0.12% presentaría diferencias del diámetro del halo inhibitorio en comparación con el grupo control sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

3.2 Variables; definición conceptual y operacional

3.2.1 Definición Conceptual

Variable Dependiente:

Inhibición sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175):

Halos alrededor de los discos (con Té verde o Clorhexidina), libres de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Variable Independiente:

Efecto antibacteriano in vitro del Té Verde: respuesta bactericida sobre el crecimiento de cepas bacterianas.

Efecto antibacteriano in vitro de Clorhexidina al 0.12%: respuesta bactericida sobre el crecimiento de cepas bacterianas.

Lema, Castro, Arias y Lozano (1994). Este efecto bactericida se considera en función del diámetro del halo de inhibición de crecimiento microbiano:

- **Categoría de interpretación Sensible:** Implica que una infección dada por una cepa se puede tratar apropiadamente con la dosis de un antibiótico.
- **Categoría de interpretación Intermedio:** Incluye cepas que pueden ser inhibidas por concentraciones de antibióticos más elevadas.
- **Categoría de interpretación Resistente:** Cuando las cepas resistentes son inhibidas por concentraciones séricas normalmente alcanzadas a dosis habituales y /o caen en el rango donde son comunes mecanismos específicos de resistencia microbiana.
- **Categoría de interpretación No sensible:** Utiliza microorganismos que solo tienen categoría de interpretación sensible.

0 – 6 mm	-	Resistente
6 - 8 mm	+	Sensibilidad limite
8 – 13 mm	++	Sensibilidad media
13 – 18 mm	+++	Sensibilidad moderada
18 – 23 mm	++++	Sensibilidad alta
23 mm a más	+++++	Sumamente sensible

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO DE MEDICIÓN
<p style="text-align: center;">INDEPENDIENTE</p> <p>Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del Té Verde.</p>	<p>Concentración al 2.5%, 5%, 10% y 20%</p>	<p>Método de difusión en agar Mueller – Hinton con discos.</p>	Nominal	Directa
<p style="text-align: center;">INDEPENDIENTE</p> <p>Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de clorhexidina</p>	<p>Concentración de 0.12%</p>	<p>Método de difusión en agar Mueller – Hinton con discos.</p>	Nominal	Directa
<p style="text-align: center;">DEPENDIENTE</p> <p>Inhibición sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)</p>	<p>Halos de inhibición</p>	<p>Medición del halo de inhibición en milímetros.</p>	Continua	Directa
<p style="text-align: center;">INTERVINIENTE</p> <p>El tiempo</p>	<p>El tiempo de lectura de las 24 y 48 horas</p>	<p>Las 24 Y 48 horas</p>	Continua	Directa

CAPITULO IV: METODOLOGÍA Y DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Diseño de la investigación

La investigación responde a un diseño experimental *in vitro*.

Experimental: (Hernández S. 2010): Es la manipulación intencional de un procedimiento para la obtención de resultados.

4.1.1 Tipo de la Investigación

Comparativo, transversal, prospectivo. (Hernández S. 2010)

Comparativo: (Sánchez y Reyes, 1996 & Alarcón, 1991) Consiste en recolectar en dos o más muestras con el propósito de observar el comportamiento de una variable, tratando de controlar estadísticamente otras variable estudiada.

Longitudinal: (Hernández S. 2010) Se realiza más de una medición. Entre las mismas puede intervenir o no el investigador, lo que determinará que el estudio sea observacional o experimental.

Prospectivo: (Hernández S. 2010) Se realiza luego de planificar el estudio.

4.1.2 Nivel de Investigación

Explicativo: (Hernández S. 2010) Explica el porqué de un fenómeno y en qué condiciones se manifiesta, o porque se relacionan dos o más variables.

4.1.3 Métodos

Este estudio, de tipo experimental in vitro, está conformada por 30 cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en Agar Müller Hinton.

Los métodos aplicados en el presente trabajo de investigación son los siguientes:

- Descriptivo: Porque se describirán cada uno de los hechos presentados durante el uso del Té verde en la inhibición del *Streptococcus mutans*.
- Analítico: Para establecer la relación las variables después del recojo de datos.
- Síntesis: De tal manera que se formulen las conclusiones a las que se arribe producto de la investigación.
- Estadístico: Para procesar, analizar y presentar los datos recogidos de la muestra en estudio

4.1.4 Instrumento: Ficha de Registro

El presente trabajo utilizó un instrumento (ficha de registro) la cual fue evaluada y registrada por llenado por el investigador. El instrumento tuvo la siguiente característica:

En la cual tuvo la función de recolectar y registrar los datos de manera independiente los halos en mm, formados en placas sembradas en Agar Mueller Hinton y en cada una de sus concentraciones, teniendo un control de lectura a las 24 y 48 horas de haber realizado la siembra, tomando en cuenta:

- Identificación de la muestra.
- Identificación de la concentración utilizada

- Medida en milímetros del halo de inhibición formado.

4.1.4.1 Observación directa:

El sembrar en placas Petri estériles y a su vez hacer la medición del halo de inhibición sobre el *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175).

4.1.5 Procedimientos

4.1.5.1 La obtención del Té Verde

Las hojas secas de *Camellia sinensis* fueron adquiridas en forma del producto comercial Té verde “China Green Tea” (Jemple of Heaven), tipo granel por 500gr. la cual se utilizó 75 gr. que contienen un 100% hojas de Té verde, el Té verde de pólvora es Templo de cielo marca. Las hojas del té verde es muy oscuro en forma de pelotitas pequeñas (rizado y apretado que parece una pequeña bola o perla) que parecen pólvora. También puede ser apretado y encrespado el Té parece pequeña perla con color brillante verde oscuro la cual se procederá a entregar el producto a un químico farmacéutico con más 10 años de experiencia para que pueda obtener la concentración necesaria de acuerdo a los objetivos planteados.

4.1.5.2 Obtención de principios activos

Técnica de maceración alcohólica: En un envase estéril de vidrio ámbar de 4 litros de capacidad se colocó ½ kg. De hojas secadas en estufa por 24 horas a 60°C, previamente molida. Se añadió alcohol etílico rectificado de 96% hasta que cubra por completo el contenido de las hojas molidas. Se agita el frasco tres veces por día; el tiempo de maceración fue de 7 días. Después de los 7 días de maceración se filtró con una membrana estéril. Posteriormente se procedió a la evaporación del contenido alcohólico de lo filtrado con ayuda del Buche de

Rotavapor R- 3000 a 270mbar de presión, 40°C de temperatura y a una rotación de 100 rpm, obteniéndose de esta manera los principios activos totales. Luego se enraza con agua destilada para obtener las concentraciones del Extracto alcohólico del Té verde al 0.25% 5%, 10%, 20%.

4.1.5.3 Disolución del medio de cultivo deshidratado

Se Utiliza una etiqueta en los envase para las cantidades y volúmenes requeridos. Preparar MAST Müeller Hinton Agar (DM 170) suspendiendo polvos en agua destilada o desionizada. Para los envases de sobre se disolverá el contenido entero del sobre en el volumen mostrado.

- Autoclavar a 121°C (15 p.s.i.) durante 15 minutos.
- Verter en las placas (de 15 a 25 ml en cada placa) y dejar solidificar.
- Las placas de cultivo preparadas deben ser usadas inmediatamente o almacenadas en bolsas de plástico a 2 – 8°C hasta un máximo de una semana antes de su uso.

4.1.5.4 Procedimiento microbiológico

El cultivo de las cepas se realizó en el laboratorio de Ciencias Básicas de Salud de la Universidad Alas Peruanas – Filial Huacho, por el investigador, bajo la supervisión de una microbiólogo y antes de realizar el cultivo de las cepas, estas serán reactivadas debido a que se encontraran a - 80°C, para lo cual se someterán a dos pasos de reactivación a las 24 y 48 horas antes del experimento y serán colocadas a 37°C. Posteriormente se realizará el sembrado selectivo mediante la técnica del hisopo se coloca sobre los medios de cultivo.

4.1.5.5 Sembrado del microorganismo

- Esterilizar un asa de siembra por flameado en la llama de un mechero.
- Introducirla en la suspensión bacteriana para recoger una muestra.
- Sembrar haciendo estrías sobre la superficie de un medio sólido en una placa Petri.
- Se vuelve a esterilizar el asa, tocar en la zona de la placa ya sembrada y hacer un segundo grupo de estrías en una región nueva de la placa. Repetir el proceso una tercera y una cuarta vez, hasta conseguir que los grupos de células se diluyan y se separen células aisladas.
- Después de la incubación, se desarrolla colonias aisladas.

4.1.5.6 Medición de los halos

Luego de ser sembrado se rotuló de acuerdo la cantidad y sustancia respectiva, y finalmente se lleva a la incubadora en un ambiente de 37°C en ausencia de oxígeno (idóneo para el crecimiento de los microorganismos).

El microorganismo crece en la superficie de la placa, pero alrededor de los disco se forman unos halos de inhibición más o menos grandes, dependiendo de la mayor o menor sensibilidad de la bacteria. Se mide el diámetro del halo (expresado en milímetro) y la cual se anotará en las tablas de ficha de recolección de datos.

4.1.6 Esterilización y empacado del material

Es necesario que todos los materiales estén correctamente esterilizados, limpiando primero toda el área de trabajo con una solución desinfectante.

El material a esterilizar será correctamente envuelto con papel kraft, para evitar el ingreso de microorganismos al interior y evita así la contaminación.

4.1.6.1 Esterilización

- Enjabonar el instrumental, mediante el detergente elegido para ablandar y disolver la suciedad.
- Hacer fricción con un cepillo de cerdas no metálicas (las cerdas metálicas pueden dañar el acero) tiene por finalidad desprender la suciedad.
- Aclarado con agua desmineralizada (las aguas muy duras pueden producir manchas en el Instrumental y posteriormente una picadura por corrosión del mismo) el aclarado se realizará de forma minuciosa y con abundante agua, para arrastrar los restos orgánicos y del detergente. No existe una buena limpieza sin un aclarado perfecto ya que cualquier resto de detergente actuará como barrera, impidiendo la acción del agente esterilizante.
- El secado se realizó inmediatamente después del aclarado, para evitar la formación de manchas en la superficie del instrumental que acabarán produciendo una corrosión del mismo. Un secado defectuoso con gotas de agua puede llevarnos a una esterilización incorrecta, ya que las gotas de agua puede actuar como barrera protectora sobre las bacterias.
- Una vez limpio el instrumental se procedió a la desinfección, del mismo para evitar el contagio por el virus de la hepatitis B, C, VIH etc.

4.1.7 Empacado

4.1.7.1 Placas de Petri

- Ñ Cortar el papel estraza, en forma de rectángulos adecuados para la cantidad de 2 a 3 cajas. Colócalas en la parte central y envolverlas.
- Ñ Se toman los extremos de Papel y se unen.
- Ñ Se hace un nuevo doblez recargando ligeramente en la caja para marcarlo.

Ñ Los extremos se doblan en forma triangular.

Ñ En forma triangular se doblan hacia atrás quedando listas para esterilizar.

4.1.7.2 Pipetas

Ñ Introducir una pequeña porción de algodón en el cuello de la pipeta.

Ñ Procurando que quede lo suficientemente apretada.

Ñ Con tiras de papel de 3 cm de ancho envolverlas.

Ñ Comenzar por la punta y en forma de espiral gira hacia arriba hasta el final de la pipeta.

4.1.8 Esterilización.

- Colocar el material dentro de la esterilizadora.
- Encender y colocar los instrumentos a la temperatura y posición correcta (121°C) a 15-20 PSI.
- Una vez alcanzado la temperatura correcta prolongar 20 minutos de exposición.
- Cuando acabe el tiempo de exposición del equipo, dejando el tiempo de enfriamiento.
- Retirar los empaques y colocarlos en lugares adecuados hasta su uso.

4.1.9 Instrumento

4.1.9.1 Pie de rey

La función es de medir los halos de inhibición, ya que es un medidor de longitud el cual posee dos puntas para poder hacer el control de tanto del interior y exterior.

4.1.9.2 Regla milimetrada estándar

Es una regla de precisión fabricada en acero inoxidable con graduación de 0.5 mm desde 0 mm hasta una longitud máxima de 150 mm.

4.2 Diseño muestral

Muestra. Tamaño de la Muestra:

$$n = \left[\frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 (1 - r^2)^{1/2}}{r^2} \right] + 2 = 29.16$$

Z 1,96 Coeficiente de confianza al 95%

Z 0,84 Coeficiente de Potencia al 80%

R 0,5 Coeficiente de correlación

N : 30 Tamaño de muestra mínimo a evaluar para detectar correlación

La muestra estará conformada específicamente por 30 cultivos del Agar Müller Hinton con cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Criterios de selección.

a. Criterios de inclusión:

- Cepas identificadas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), reactivadas.

b. Criterios de exclusión:

- Cepas no identificadas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), no reactivadas

4.3 Técnica de recolección de datos

Se procedió a recolectar los datos de acuerdo a la medición con el pie de rey de los halos de inhibición y posteriormente será anotado en una ficha en (Ad hoc). (Ver anexo n°1 y n°3). Que son tomados del Manual de Sensibilidad Microbiológica por el Instituto Nacional de Salud en el año 2002.

4.4 Técnica estadística para el procesamiento de la información

Se elaboró una base de datos en una hoja de cálculo Microsoft Excel 2016, luego fue importada por el paquete estadístico Spss versión 24.0 donde fueron analizados para responder las preguntas de investigación formuladas.

Los datos resumidos fueron presentados en tablas de clasificación consignando los valores descriptivos utilizados. También se utilizaron gráficos de cajas y bigotes para representar la distribución de los datos.

Análisis Descriptivo

Para la variable el diámetro del halo inhibitorio, de naturaleza cuantitativa, se utilizaron para su resumen medidas de tendencia central como la media aritmética y mediana, valores máximos y mínimos, así como medias de dispersión como la desviación estándar.

Para su presentación se utilizaron tablas de clasificación.

Análisis Inferencial

Para el contraste de hipótesis de diferencia; se aplicó la prueba no paramétrica U de Mann Whitney para muestras independientes ya que los datos obtenidos no presentaron distribución normal (ver anexo) y se realizaron en diferentes unidades de análisis.

Para realizar el contraste de hipótesis de diferencia entre todos los grupos, se realizaron comparaciones múltiples utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para muestras independientes.

Todas las pruebas estadísticas fueron contrastadas a un nivel de confianza del 95% aceptando un error tipo 1 de 5%.

4.5 Aspectos éticos

Se tuvo en consideración las normativas vigentes dadas por el instituto nacional de Salud para el manejo microbiológico para estudios in vitro utilizando cepas de laboratorio, a su vez este trabajo no presentará conflicto de interés con el autor y además respetará las normas del comité de ética de la Universidad Alas Peruanas.

CAPITULO V: ANALISIS Y DISCUSIÓN

5.1 Análisis descriptivo

La tabla 1 muestra los valores descriptivos para diámetro del halo inhibitorio del grupo *Streptococcus mutans*. A las 24 horas, en el grupo de té verde al 2.5% se observó menor halo de inhibición ($3.77\text{mm}\pm 0.77\text{mm}$) con una mediana de 4 mm en contraste con el grupo de Clorhexidina, donde el halo de inhibición fue mayor ($9.23\text{mm}\pm 1.52\text{mm}$) con una mediana de 10 mm. A las 48 horas, el grupo té verde presento similares valores que a las 24 horas ($3.47\text{mm}\pm 0.57\text{mm}$) con una mediana de 3 mm de halo de inhibición. En contraste el grupo de Clorhexidina presentó mayor halo de inhibición ($8.40\text{mm}\pm 1.67\text{mm}$) con una mediana de 9 mm. El gráfico 1 muestra distribuciones asimétricas para el diámetro del halo inhibitorio en ambos grupos tanto a las 24 como a las 48 horas.

De igual forma, el té verde a concentración de 5% parece frenar el crecimiento bacteriano. A las 24 horas el grupo té verde presento menor diámetro de halo inhibitorio ($4.33\text{mm}\pm 0.71\text{mm}$) con mediana de 4mm, mientras que el grupo clorhexidina mostro valores más altos ($9.23\text{mm}\pm 1.52\text{mm}$) con una mediana de 10 mm de halo inhibitorio. Esta diferencia parece mantenerse a las 48 horas, donde el grupo té verde al 5% presento diámetro de inhibición menor ($3.77\text{mm}\pm 0.82\text{mm}$) con una mediana de 4 mm frente al grupo de clorhexidina que presento mayor halo de inhibición ($8.40\text{mm}\pm 1.67\text{mm}$) con mediana de 9 mm. El gráfico 2 muestra que el diámetro inhibitorio del grupo té verde, tanto a las 24 como 48 horas se distribuye de forma simétrica, mientras que el grupo clorhexidina tiene una tendencia de distribución asimétrica.

El uso de té verde al 10% muestra a las 24 horas de actividad valores bajos del diámetro de halo inhibitorio ($4.90\text{mm}\pm 0.61\text{mm}$) con una mediana de 5 mm, en contraste con el grupo Clorhexidina donde los valores se mantienen altos ($9.23\text{mm}\pm 1.52\text{mm}$) con mediana de 10 mm. Esta diferencia se replica a las 48 horas, donde el grupo té verde presenta crecimiento halo de inhibición menor ($4.50\text{mm}\pm 0.63\text{mm}$) con mediana de 5 mm frente al grupo de Clorhexidina con valores más elevados ($8.40\text{mm}\pm 1.67\text{mm}$) con mediana de 9 mm. El gráfico 3 se observa alta asimétrica del diámetro de halo inhibitorio para el grupo té verde especialmente a las 24 horas de actividad.

Se puede observar que la actividad antibacteriana del té verde al 20% evaluado a las 24 horas, disminuye pues el diámetro de halo inhibitorio es menor ($6.63\text{mm}\pm 1.38\text{mm}$) con mediana de 6 mm. El grupo de Clorhexidina presentó mayor halo de inhibición ($9.23\text{mm}\pm 1.52\text{mm}$) con mediana de 10 mm. A las 48 horas los valores disminuyen, observándose para el té verde al 20% un halo de inhibición menor ($5.83\text{mm}\pm 1.23\text{mm}$) y mediana 5 mm, mientras que en el grupo de clorhexidina el halo de inhibición fue mayor ($8.40\text{mm}\pm 1.67\text{mm}$) con una mediana de 9 mm. El gráfico 4 muestra alta dispersión de los valores en todos los casos.

5.2 Análisis inferencial

1. Comparación de crecimiento bacteriano entre *Camellia sinensis* (Té verde) al 2.5% y Clorhexidina al 0.12%.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre el grupo Té verde al 2.5% y Clorhexidina al 0.12%

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre el grupo Té verde al 2.5% y Clorhexidina al 0.12%

Al realizar las comparaciones entre grupos, se observa que las diferencias halladas son estadísticamente significativas tanto a las 24 horas ($p=0.000$) como a las 48 horas ($p=0.000$). Tabla 1

2. Comparación de crecimiento bacteriano entre *Camellia sinensis* (Té verde) al 5% y Clorhexidina al 0.12%.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre el grupo Té verde al 5% y Clorhexidina al 0.12%

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre el grupo Té verde al 5% y Clorhexidina al 0.12%

Al realizar las comparaciones entre grupos, se observa que las diferencias halladas son estadísticamente significativas tanto a las 24 horas ($p=0.000$) como a las 48 horas ($p=0.000$). Tabla 2

3. Comparación de crecimiento bacteriano entre *Camellia sinensis* (té verde) al 10% y clorhexidina al 0.12%.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre el grupo Té verde al 10% y Clorhexidina al 0.12%

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre el grupo Té verde al 10% y Clorhexidina al 0.12%

Al realizar las comparaciones entre grupos, se observa que las diferencias halladas son estadísticamente significativas tanto a las 24 horas ($p=0.000$) como a las 48 horas ($p=0.000$). Tabla 3

4. Comparación de crecimiento bacteriano entre Camellia sinensis (Té verde) al 20% y Clorhexidina al 0.12%.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre el grupo Té verde al 20% y Clorhexidina al 0.12%

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre el grupo Té verde al 20% y Clorhexidina al 0.12%

Al realizar las comparaciones entre grupos, se observa que las diferencias halladas no son estadísticamente significativas tanto a las 24 horas ($p=0.360$) como a las 48 horas ($p=0.282$). Tabla 4

5. Comparaciones múltiples entre todos los grupos de estudio

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre grupos de estudio

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre grupos de estudio

Al realizar las comparaciones entre grupos, se observa que las diferencias halladas no son estadísticamente significativas al comparar el grupo control negativo con todas las concentraciones del té verde ($p < 0.05$). También fueron significativas las diferencias entre el grupo Clorhexidina al 0.12% con las concentraciones del té verde al 2.5%, 5% y 10% ($p < 0.05$). Se hallaron también diferencias estadísticamente significativas al comparar el grupo de té verde al 20% con la concentración de 2.5% ($p = 0.000$) y con la de 5% (0.000). Tabla 5

Tabla 1. Efecto antibacteriano del *Camellia sinensis* (Té verde) al 2.5% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Tiempo	Grupos	Media	IC 95%		Mediana	DE	Min	Max	p-valor ^a
			Li	Ls					
24 horas	Te 2.5%	3.77	3.48	4.06	4.00	0.77	3.0	6.0	0.000*
	Clorhexidina 0.12%	9.23	8.66	9.80	10.00	1.52	7	12	
48 horas	Te 2.5%	3.47	3.25	3.68	3.00	0.57	3.0	5.0	0.000*
	Clorhexidina 0.12%	8.40	7.78	9.02	9.00	1.67	6	11	

^a Basado en el test U de Mann-Whitney

*Diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$)

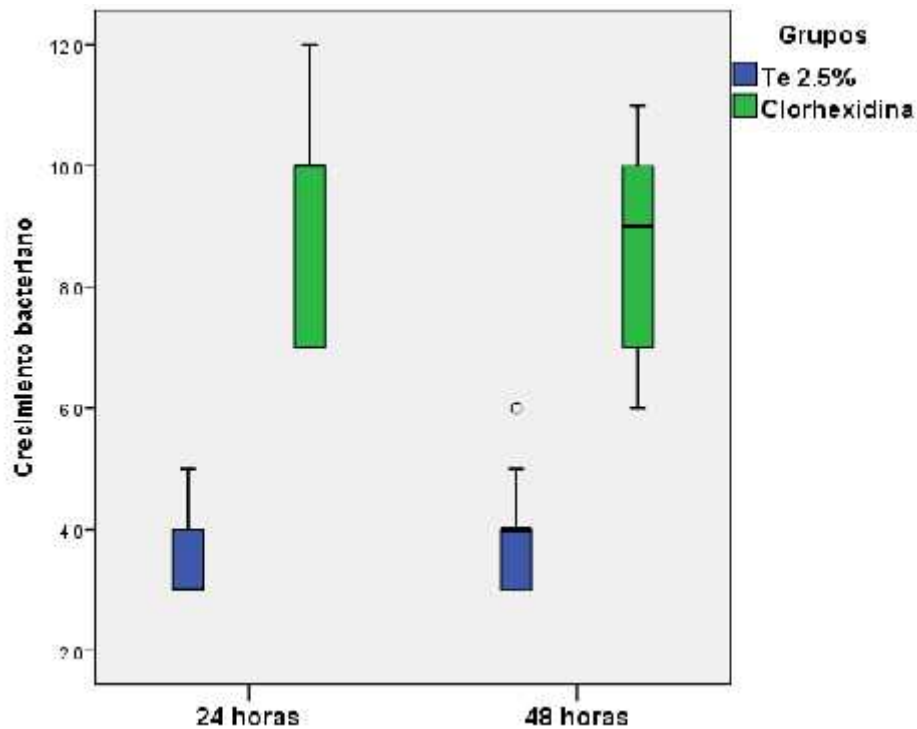


Gráfico 1. Crecimiento bacteriano utilizando Té verde al 2.5% en comparación con Clorhexidina al 0.12%

Tabla 2. Efecto antibacteriano del *Camellia sinensis* (Té verde) al 5% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Tiempo	Grupos	Media	IC 95%		Mediana	DE	Min	Max	p-valor ^a
			Li	Ls					
24 horas	Te 5%	4.33	4.07	4.60	4.00	0.71	3	6	0.000*
	Clorhexidina 0.12%	9.23	8.66	9.80	10.00	1.52	7	12	
48 horas	Te 5%	3.77	3.46	4.07	4.00	0.82	2	5	0.000*
	Clorhexidina 0.12%	8.40	7.78	9.02	9.00	1.67	6	11	

^aBasado en el test U de Mann-Whitney

*Diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$)

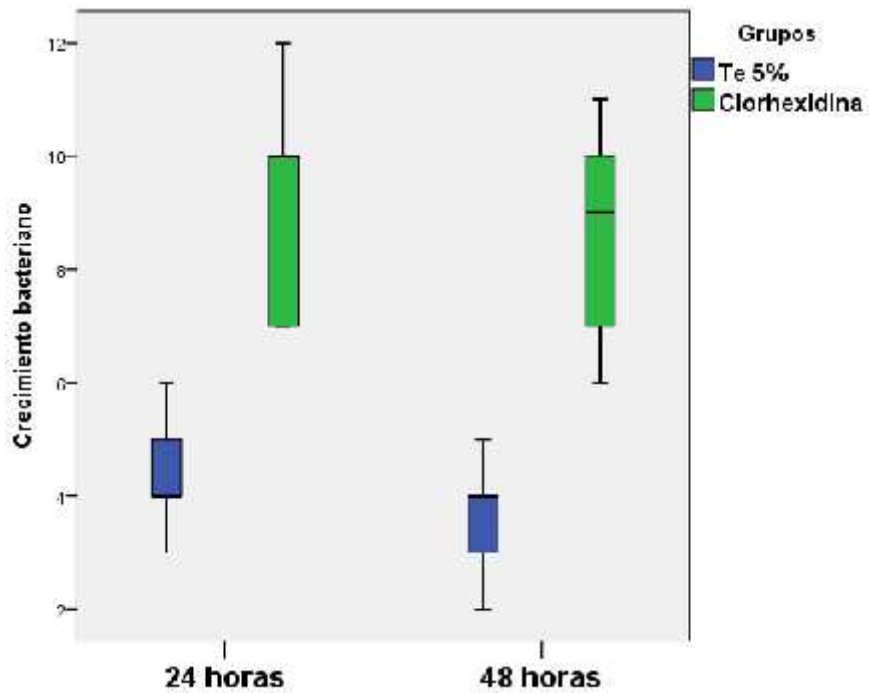


Gráfico 2. Crecimiento bacteriano utilizando Té verde al 5% en comparación con Clorhexidina al 0.12%

Tabla 3. Efecto antibacteriano del Camellia sinensis (Té verde) al 10% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

Tiempo	Grupos	Media	IC 95%		Mediana	DE	Min	Max	p-valor ^a
			Li	Ls					
24 horas	Te 10%	4.90	4.67	5.13	5.00	0.61	4	6	0.000*
	Clorhexidina 0.12%	9.23	8.66	9.80	10.00	1.52	7	12	
48 horas	Te 10%	4.50	4.26	4.74	5.00	0.63	3	5	0.000*
	Clorhexidina 0.12%	8.40	7.78	9.02	9.00	1.67	6	11	

^aBasado en el test U de Mann-Whitney

*Diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$)

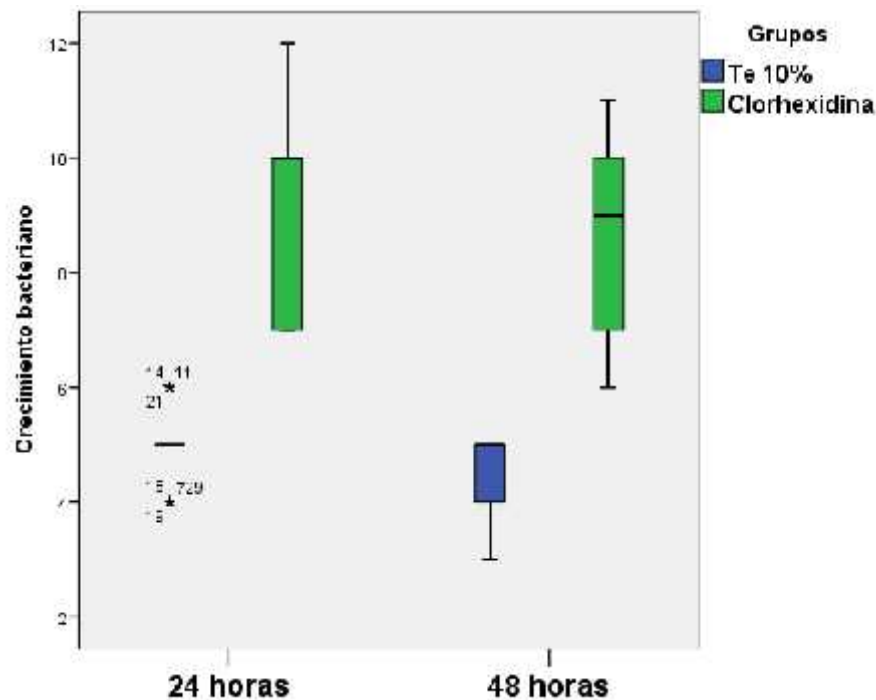


Gráfico 3. Crecimiento bacteriano utilizando Té verde al 10% en comparación con Clorhexidina al 0.12%

Tabla 4. Efecto antibacteriano del *Camellia sinensis* (Té verde) al 20% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Tiempo	Grupos	Media	IC 95%		Mediana	DE	Min	Max	p-valor ^a
			Li	Ls					
24 horas	Te 20%	6.63	6.12	7.15	6.00	1.38	4	9	0.360
	Clorhexidina 0.12%	9.23	8.66	9.80	10.00	1.52	7	12	
48 horas	Te 20%	5.83	5.37	6.29	5.00	1.23	4	8	0.282*
	Clorhexidina 0.12%	8.40	7.78	9.02	9.00	1.67	6	11	

^aBasado en el test U de Mann-Whitney

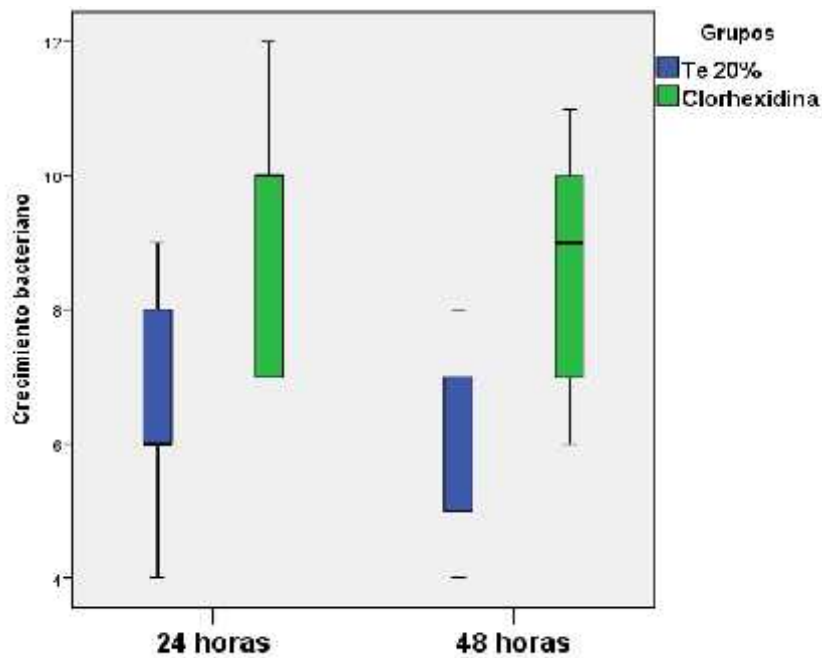


Gráfico 4. Crecimiento bacteriano utilizando Té verde al 20% en comparación con Clorhexidina al 0.12%

Tabla 5. Actividad bacteriana que logra la *Camellia sinensis* (Té verde) al 2.5%, 5%, 10%, 20% respecto a la Clorhexidina al 0.12%; sobre crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Grupo 1 vs Grupo 2	Estadístico de prueba	p-valor
Control vs Te 2.5%	-46.333	0.000*
Control vs Te 5%	-58.45	0.000*
Control vs Te 10%	-84.15	0.000*
Te 2.5% vs Te 5%	-12.117	0.360
Control vs Te 20%	-114.967	0.000*
Te 2.5% vs Te 10%	-37.817	0.065

Control vs Clorhexidina	-146.1	0.000*
Te 2.5% vs Te 20%	-68.633	0.000*
Te 5% vs Te 10%	-25.7	0.787
Te 2.5% vs Clorhexidina	-99.767	0.000*
Te 5% vs Te 20%	-56.517	0.000*
Te 5% vs Clorhexidina	-87.65	0.000*
Te 10% vs Te 20%	-30.817	0.301
Te 10% vs Clorhexidina	-61.95	0.000*
Te 20% vs Clorhexidina	-31.133	0.282

^aBasado en el test de Kruskal Wallis

*Diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$)

DISCUSIÓN

En la presente investigación explica sobre efecto antibacteriano in vitro del *Camellia sinensis* (Té verde) en comparación con la Clorhexidina al 0.12% sobre crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Mostrando que el té verde a una concentración del 2.5% presenta menor efecto bacteriostático comparado con la Clorhexidina al 0.12%; al igual que la concentración del 5% el té verde presenta un efecto bacteriostático menor y en concentración del 10% presento menor crecimiento bacteriano comparado con la Clorhexidina al 0.12%. Y el efecto antibacteriano fue igual para el Té verde del 20% y para la Clorhexidina al 0.12%.

Se mostró que el Té verde a una concentración del 2.5% presenta menor efecto bacteriostático comparado con la Clorhexidina al 0.12% coincidiendo con los autores Anita Padam, Shyam S., también Xin Xu y Nijampatnam B., Casals L., Zheng R., Wu H., Veludon ,Arévalo A. y Gómez P ; al igual que la concentración del 5% el té verde presenta un efecto bacteriostático menor y en concentración del 10% presento menor crecimiento bacteriano comparado con la Clorhexidina al 0.12% como Kawarai. Y el efecto antibacteriano fue igual para el Té verde del 20% y para la Clorhexidina al 0.12%.

Al igual que Ying T y col evaluó la eficacia antimicrobiana in vitro utilizando tres enjuagues bucales (Oradex, Pesona y Watsons) contra seis organismos orales como el *S. mutans* mediante la difusión en disco de agar, mostrando en el análisis estadístico todos ser eficaces contra las cepas ⁸.

CONCLUSIONES

1. EL Té verde a una concentración del 2.5% presenta menor efecto bacteriostático comparado con la Clorhexidina al 0.12%
2. A una concentración del 5% el té verde presenta un efecto bacteriostático menor que la Clorhexidina al 0.12%
3. El grupo experimental de té verde al 10% presento menor efecto antibacteriano comparado con la Clorhexidina al 0.12%
4. El efecto antibacteriano fue igual tanto para la té verde al 20% como para la Clorhexidina al 0.12%
5. Todos los grupos evaluados presentaron mayor efecto antibacteriano que grupo control negativo.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda comparar el efecto bacteriano del Té verde a diferentes concentraciones con respecto a otros antibióticos como por ejemplo a la vancomicina.
2. Se recomienda difundir los resultados de este trabajo entre la comunidad odontológica.
3. Se recomienda comparar el Té verde en diferentes concentraciones, respecto a la clorhexidina al 2.0%

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. OMS | Salud bucodental [Internet]. WHO. [citado 2 de diciembre de 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/>
2. Yagiela J, Dowd FJ, Johnson B, Mariotti A. Farmacología E Terapéutica Para Dentistas. Elsevier Brasil; 2011. 4749 Pp.328
3. Bhavitavya Nijampatnam, Luke Casals, Ruowen Zheng, Hui Wu, Sadanandan, E. Velu. Hydroxychalcone inhibitors of Streptococcus mutans glucosyl transferases and biofilms as potential anticaries agents [Internet]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters; 2016. 21 p. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.06.033>
4. Anghie Andrea Ponce Arévalo*, Pablo Alejandro Millones Gómez. Efectividad antibacteriana de productos naturales frente.
5. Kawarai T, Narisawa N, Yoneda S, Tsutsumi Y, Ishikawa J, Hoshino Y, et al. Inhibition of Streptococcus mutans biofilm formation using extracts from Assam tea compared to green tea. Arch Oral Biol. agosto de 2016;68:73-82.
6. Ying Teh J, Rawi R, Md Noor S, Taib H, Mohamad S. In-vitro antimicrobial effectiveness of herbal-based mouthrinses against oral microorganisms. Asian Pac J Trop Biomed. 1 de mayo de 2015;5:370-4.
7. Anita P, Sivasamy S, Madan Kumar PD, Balan IN, Ethiraj S. In vitro antibacterial activity of Camellia sinensis extract against cariogenic microorganisms. J Basic Clin Pharm. diciembre de 2014;6(1):35-9.
8. Xu X, Zhou XD, Wu CD. Tea catechin epigallocatechin gallate inhibits Streptococcus mutans biofilm formation by suppressing gtf genes. Arch Oral Biol. junio de 2012;57(6):678-83.
9. Cuenca SalaEmili, Baca garcía Pilar. Odontología preventiva y comunitaria: principios, métodos y aplicaciones. Elsevier España; 2005. 506 p.
10. Roitt. Inmunología. Fundamentos. Ed. Médica Panamericana; 2008. 548 p₇₂

11. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Introducción a la microbiología. Ed. Médica Panamericana; 2007. 996 p.
12. Devesa JA. Plantas con semillas. In: Izco J, Barreno E, Burgués M, Costa M, Devesa J, Fernández J, Gallardo T, Llimona X, Salvo E, Talaberas S, Valdes B. Botánica. McGraw-Hill: Madrid; 1997: 379-581
13. Te verde y salud [Internet]. [citado 1 de diciembre de 2017]. Disponible en: <http://te.innatia.com/c-propiedades-del-te-verde/a-te-verde.html>
14. Prat S. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar. Gob Chile Minist Salud Inst Salud Pública Chile. 2006;
15. Té verde y salud [Internet]. [citado 1 de diciembre de 2017]. Disponible en: <http://www.casadelte.com/teverde.htm>
16. Propiedades y beneficios del Té Verde » Propiedades de las Plantas – Plantas Medicinales [Internet]. [citado 1 de diciembre de 2017]. Disponible en: <http://propiedadesplantas.com/propiedades-y-beneficios-del-te-verde.html>
17. Valenzuela B. A. El consumo te y la salud: características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. Rev chil nutr. Agosto de 2004;31(2):72-82.
19. Carini M, Aldini G, Orioli M, Facino RM. Antioxidant and photoprotective activity of a lipophilic extract containing neolignans from *Krameria triandra* roots. Planta Med. marzo de 2002;68(3):193-7.
20. El Té Verde para la salud de dientes y encías |Odontología Virtual [Internet].[citado 1 de diciembre de 2017]. Disponible en <http://www.odontologiavirtual.com/2010/05/el-te-verde-para-la-salud-de-dientes-y.html>
21. Scholz E, Rimpler H. Proanthocyanidins from *Krameria triandra* root. Planta Med. agosto de 1989;55(4):379-84.

22. Chica Gutiérrrez RE, Ludeña Reyes VC. Eficacia del Propóleo al 25 por ciento vs. la Clorhexidina al 0.12 por ciento usado conjuntamente con técnica de Bass para disminuir la placa bacteriana [B.S. thesis]. 2005.
23. M Gustavo Barrios, G. Odontología: su fundamento biológico. Iatros; 1993. 1110 Pp. 480
24. Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz T, de Castro P, Aguado B, Baca P. Antimicrobial activity of alexidine, chlorhexidine and cetrimide against *Streptococcus mutans* biofilm. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 20 de agosto de 2014;13:41.
25. Hernández Saavedra JJ, Martínez Ramos GM. Evaluación documental del gluconato de clorhexidina en colutorios: concentración, factores que la afectan y consecuencias.(Estudio piloto de la concentración de dicha sustancia, mediante espectrofotometría de absorción molecular, en muestras comercializadas en San Salvador). Universidad de El Salvador; 2004.
26. Bacteria [Internet]. [citado 1 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://enciclopedia_universal.esacademic.com/71806/bacteria.
27. Cultivo Microbiológico. Definición y Utilidad [Internet]. [citado 1 de diciembre de 2017]. Disponible en: <http://microblogogia.blogspot.com/2012/09/cultivo-microbiologicodefinition-y.html>
28. Nutritivo Agar [Internet]. [citado 1 de diciembre de 2017]. Disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/nutritivoagar.htm>
29. In vitro. En: Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. 2017 [citado 1 de diciembre de 2017]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=In_vitro&oldid=100396614
30. Que son flavonoides y para que sirven | Fundación CANNA: Investigación y análisis de Cannabis [Internet]. [citado 1 de diciembre de 2017]. Disponible en: <https://www.fundacion-canna.es/flavonoides>

31. Biguanida. en: Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. 2017 [citado 1 de diciembre de 2017]. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Biguanida&oldid=101874661>
33. Sacsquispe Contreras R, Velásquez Pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. 2008.

ANEXOS

ANEXO N°1

ANÁLISIS DE NORMALIDAD DE LOS DATOS ENTRE GRUPOS DE ESTUDIO

Tiempo	Grupos	Kolmogorov - Smirnov		
		Estadístico	gl	Sig. ^a
Crecimiento a las 24 horas	Te 2.5%	0.248	30	0.000
	Te 5%	0.280	30	0.000
	Te 10%	0.332	30	0.000
	Te 20%	0.244	30	0.000
	Clorhexidina	0.326	30	0.000
Crecimiento a las 48 horas	Te 2.5%	0.360	30	0.000
	Te 5%	0.279	30	0.000
	Te 10%	0.353	30	0.000
	Te 20%	0.350	30	0.000
	Clorhexidina	0.240	30	0.000

^a Distribución normal ($p > 0.05$)

ANEXO N° 2

MATRIZ DE CONSISTENCIA

EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL *Camellia sinensis* (TÉ VERDE), EN COMPARACIÓN A LA EFICACIA DE LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CULTIVOS DE *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), HUACHO - 2017.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	TECNICA Y MÉTODO
<p>Problema principal ¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) en comparación con la Clorhexidina al 0.12% sobre crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)?</p> <p>Problemas específicos: ¿Cuál es el diámetro del halo inhibitorio que logra la <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 2.5% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)?</p>	<p>Objetivo general: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) en comparación con la Clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <p>Objetivos específicos Comparar el diámetro del halo inhibitorio que logra la <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 2.5% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p>	<p>Hipótesis general: La <i>Camellia sinensis</i> (Té verde), presentaría diferencias en el efecto antibacteriano en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <p>Hipótesis derivadas. La <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 2.5% presentaría diferencias del diámetro del halo inhibitorio en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p>	<p>Variable Independiente: Efecto antibacteriano in vitro del Té Verde: respuesta bactericida sobre el crecimiento de cepas bacterianas.</p> <p>Efecto antibacteriano in vitro de Clorhexidina al 0.12%: respuesta bactericida sobre el crecimiento de cepas bacterianas.</p>	<p>Método de difusión en agar con discos</p> <p>Medición del halo de inhibición en milímetros.</p> <p>·</p> <p>Halos de inhibición en milímetros.</p>	<p>Nivel: - Explicativo</p> <p>Tipo: - Aplicada, transversal, prospectivo.</p> <p>Diseño: - Experimental in vitro.</p> <p>Métodos: -Método de Kirby Bauer</p> <p>Técnicas: -Observación</p>

<p>¿Cuál es el diámetro del halo inhibitorio que logra la <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 5% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)?</p> <p>¿Cuál es el diámetro del halo inhibitorio que logra la <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)?</p> <p>¿Cuál es el diámetro del halo inhibitorio que logra la <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 20% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)?</p> <p>¿Cuáles son los diámetros de los halos inhibitorios que logra la <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 2.5%, 5%, 10% y 20% y la Clorhexidina 0.12% con respecto al grupo control; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)?</p>	<p>Comparar el diámetro del halo inhibitorio que logra la <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 5% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <p>Comparar el diámetro del halo inhibitorio que logra la <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <p>Comparar el diámetro del halo inhibitorio que logra la <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 20% en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <p>Analizar los diámetros de los halos inhibitorios que logra la <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 2.5%, 5%, 10% y 20% y a la Clorhexidina al 0.12% con respecto al grupo control; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p>	<p>La <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 5% presentaría diferencias del diámetro del halo inhibitorio en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <p>La <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10% presentaría diferencias del diámetro del halo inhibitorio en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <p>La <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 20% presentaría diferencias del diámetro del halo inhibitorio en comparación a la Clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <p>La <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 2.5%, 5%, 10% y 20% y la clorhexidina al 0.12%; presentaría diferencias del diámetro del halo inhibitorio en comparación del grupo control sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p>	<p>Variable Dependiente: Inhibición sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175): Halos alrededor de los discos (con Té verde o Clorhexidina), libres de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <p>Variable Interviniente: El tiempo (las 24 y 48 horas)</p>		<p>-Prueba no paramétrica U Mann Whitney</p> <p>-Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis</p>
--	--	--	---	--	--

ANEXO N°3


FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS N° 1

		GRUPOS / mm																															
MUESTRA	BACTERIA	TIEMPO DE LECTURA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
Control	Streptococcus mutans	24 Horas.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		48 Horas.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Té verde 2.5%		24 Horas.	3	4	4	4	3	3	4	3	6	3	4	3	4	5	3	4	5	4	4	4	4	5	3	4	4	3	3	4	3	3	4
		48 Horas.	3	3	3	4	3	3	3	3	5	3	4	3	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4	3	3	3	3	3	3
Té verde 5%		24 Horas.	4	4	4	4	3	4	4	3	3	5	4	5	4	6	5	5	5	4	5	4	5	4	4	4	4	5	4	5	5	4	5
		48 Horas.	4	4	4	4	2	3	3	3	2	5	4	4	4	3	4	5	5	4	5	4	5	4	5	3	4	3	4	4	4	4	3
Té verde 10%		24 Horas.	5	5	4	4	5	4	4	5	5	5	6	5	5	6	5	5	5	4	4	5	6	5	5	5	5	5	5	5	6	4	5
		48 Horas.	5	5	3	4	4	3	3	4	4	5	5	4	5	5	5	5	5	4	4	5	5	4	5	5	5	5	5	4	5	4	4
Té verde 20%		24 Horas.	5	6	8	4	8	8	8	7	6	9	9	6	8	6	6	6	8	6	5	7	8	6	7	9	8	5	6	6	6	5	
		48 Horas.	5	5	7	4	7	7	7	5	5	8	8	5	7	5	5	5	7	5	5	7	7	5	7	8	7	4	5	5	5	5	
Clorhexidina 0.12%		24 Horas.	11	9	7	8	12	10	10	10	10	10	10	7	10	7	10	7	10	11	11	10	7	9	7	10	10	7	10	10	10	7	
		48 Horas.	10	7	6	7	11	10	9	7	10	9	9	6	9	6	10	7	10	10	10	10	6	7	7	9	9	6	10	10	10	6	

*Ficha de recolección tomada de Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco por difusión. Instituto Nacional de Salud

(INS), 2002

ANEXO N° 5

 **UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS**

FILIAL HUACHO

125 - 0029999

UAP
UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS
HUACHO

06 FEB. 2008

ESCUELA DE ESTOMATOLOGIA

RECIBIDO

SOLICITO: Uso del laboratorio de Ciencias Básicas de Salud.

SEÑOR: Coordinador de la escuela de Estomatología
Javier David Ramos de los Ríos

Mina APELLIDO PATERNO Pantoja APELLIDO MATERNO Karla Evelyn NOMBRES

Documento de Identidad: 72121743 Carrera Profesional: Estomatología
(DNI, I.M Boleta)

Código: 20112056-27 Ciclo: _____ Turno: _____


Teléfono: 944370161 E-mail: cdnsonident@gmail.com

Ante Ud. con el debido respeto me presento y expongo:

El uso del laboratorio de Ciencias Básicas de Salud con el fin de poder ejecutar mi proyecto de Tesis con el título "Efectos de la Cambia sinensis y la clorhexidina frente al Streptococcus mutans" en la cual necesito para hacer mis cultivos

Agradeciéndole anticipadamente su atención, quedo de Usted.

Atentamente,




Huacho, 06 de 02 del 2018.

Adjunto:

- B125 - 00055161
- _____
- _____
- _____

Prof. Pantoja
Por favor darle las facilidades a la alumna para realizar su plan de tesis.


CD. JAVIER DAVID RAMOS DE LOS RÍOS
COORDINADOR ACADÉMICO ESTOMATOLOGIA

HUACHO: Av. Jorge Chávez N° S/N Barrio Chururo Hualmay - Huacho - Lima Telf: (01)239 5606 / (01)239 5617
LIMA: Av. San Felipe N° 1109 - Jesús María, Lima - Perú. Teléfono: 266-0195, 470-0953 Fax: 470-9838
Website: <http://www.uap.edu.pe> E-mail: webmaster@uap.edu.pe

Solicitud para utilizar el laboratorio de Ciencias Básicas de Salud de la Universidad Alas Peruanas – Filial Huacho.

ANEXO N° 6



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
Spiritus ubi vult spirat

CONSTANCIA

Quien suscribe hace constar que:

Se han cumplido con todos los protocolos para la reactivación (24/48 horas) del microorganismo ATCC® 25175™, la cual será utilizada para cumplir fines de investigación científica.

Se expende la presente constancia para los fines convenientes.

S.M.P. Lima, marzo del 2018



MSc. Maura Torres Dora
Docente Microbiología - FCF - UPCH
C.S.P. 776

UPCH
Autenticar

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

ANEXO N° 7



UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
HERBARIO UFV



CONSTANCIA N° 27 – UFV - 2018

EL JEFE DEL HERBARIO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL,
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA DEPARTAMENTO
ACADÉMICO DE BIOLOGÍA DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (Planta completa), recibida de Karina Evelyn Miraya Pantiga de la Escuela de
Estomatología de la universidad Alas Peruanas Fidel Huacho, ha sido estudiada y clasificada como
Camellia sinensis y tiene la siguiente posición taxonómica según el sistema de clasificación
APG III 2009.

CLADO: EUDICOTILEDONEA

ORDEN: THEALES

FAMILIA: THEACEAE

ESPECIE: ***Camellia sinensis*** VAR. ***sinensis***

Nombre Vulgar: "Té verde" o "Té de la china"

Determinado por: Mg Bijo Botánico JORGE LUIS LÓPEZ BULNES con maestría en Botánica
Tropical, Mención, Taxonomía y Sistemática Evolutiva Colegiatura: CBP 8932 – Habilitado.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada para fines de estudio.

Fecha: 01 de Febrero de 2018



Mg Bijo JORGE LUIS LÓPEZ BULNES
CBP 8932
Jefe de Herbario UFV

ANEXO N° 8

CONSTANCIA

Consto por medio del presente documento que yo **Fermín Humberto Arévalo Ortiz**, con DNI 10190957, de profesión Químico Farmacéutico con No. de colegio CQFP 0076, Magister en Biotecnología acreditado por la UNMSM y Profesor del curso de Fitoquímica del Dpto. de Química de la Facultad de Ciencias de la UNALM, **dejo constancia y doy fe que, en el ejercicio de mi profesión y amparado por la Ley de Trabajo del Químico Farmacéutico, Ley No. 28173, he realizado la extracción etanólica de hojas de *Camellia sinensis*, cuyo nombre común es "té verde" a una concentración equivalente de 20 g de hojas secas estabilizadas y particuladas, en 100 ml de suspensión etanólica, la misma que fue macerada hasta agotamiento, decantada, filtrada al vacío y concentrada en rotavapor. Adicionalmente, a partir del extracto mencionado, se realizó diluciones al 20%, 10%, 5% y 2.5%, respecto al extracto obtenido de la suspensión primigenia. Cabe destacar que la muestra de "té verde" fue proporcionada por el cliente.**

En ejercicio de mi derecho profesional, extendiendo la presente constancia a solicitud de la Bachiller en Estomatología, **Karina Evelyn Minaya Pantoja**, con DNI N° 72121743, para fines investigativos que ella manifiesta.

Se extiende la presente Constancia a los 08 días del mes de febrero del 2018.



FERMIN HUMBERTO AREVALO ORTIZ
Mag. en BIOTECNOLOGIA
QUIMICO FARMACEUTICO
C.Q.F.P. N° 0076

ANEXO N° 9

1. OBTENCIÓN DEL TÉ VERDE:



Té verde (*Camellia sinensis*)
Jemple of Heaven - CHINA GREEN TEA

2. ELABORACIÓN DEL TÉ VERDE:

- Maceración de las hojas del Té verde con alcohol de 96% por 7 días.



- Destilación al vacío





3. APLICAR EN ROTAVAPOR DESTILACIÓN ROTATORIO:



Té verde (*Camellia sinensis*)
Prueba de la cantidad etanólico

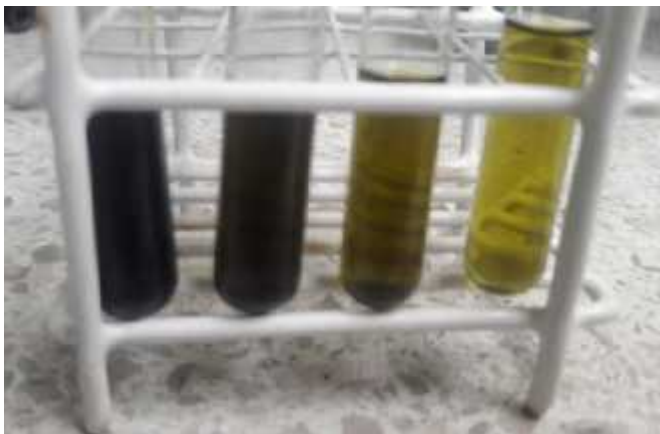




Verificar temperatura con el Tensiometro: A 47 grados de temperatura, pero a son 10 grados menos en el extracto.



200 ml de Extracto de Té verde



Extracto de Té verde:

- ✓ 0, 25%
- ✓ 5%
- ✓ 10%
- ✓ 20%

4. CONTRACCIÓN DEL TÉ VERDE:



5. CLORHEXIDINA 0.12%:



6. AGUA DESTILADA:



7. AGAR MULLER HINTON

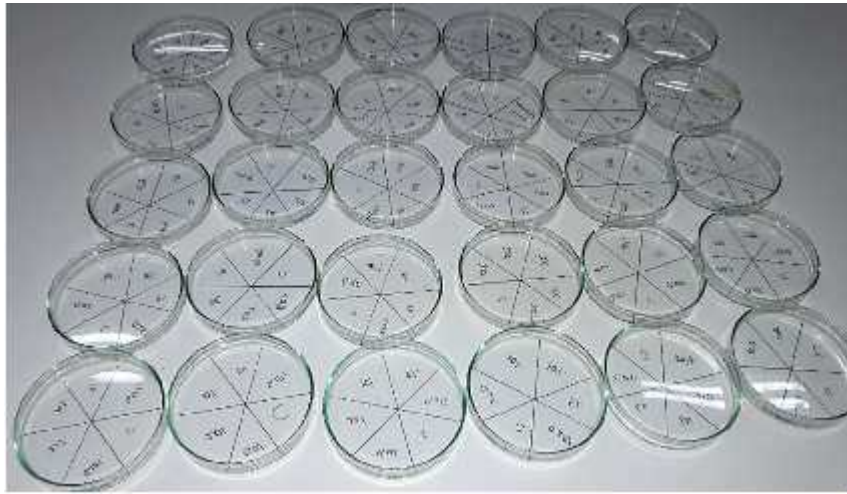


8. PLACAS PETRI



9. DIVISIÓN EN LA PLACA PETRI:

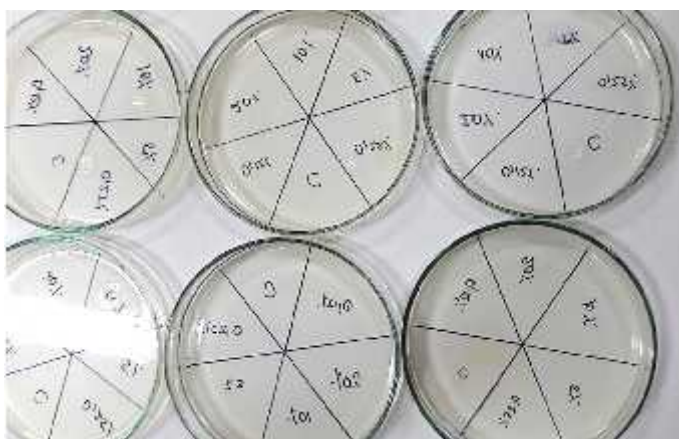




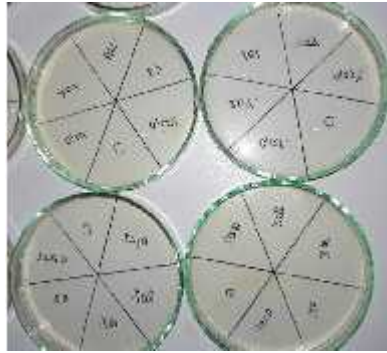
10. DILUCIÓN DEL AGAR MULLER HINTON:



11. SERVIR EL AGAR MULLER HINTON



12. SEMBRADO DEL Streptococcus mutans:



13. SEMBRADO DE LOS DISCOS:

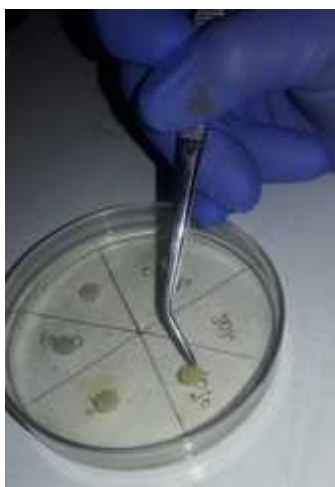
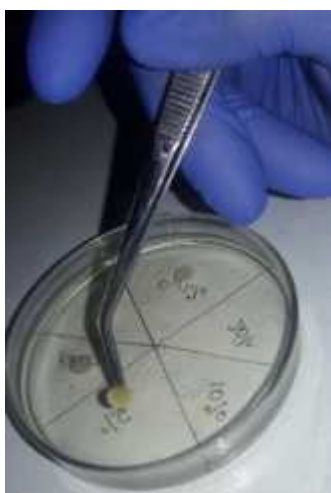


Clorhexidina al 0,12%



SEMBRADO DE LOS DISCOS:

- **Extracto del Té verde:**
 - ✓ Al 0, 25%
 - ✓ Al 5%
 - ✓ Al 10%
 - ✓ Al 20%
- **Clorhexidina 0, 12%**
- **Control (Agua destilada)**



15.COLOCAR EN LA INCUBADORA:



14.LECTURA A LAS 24 y 48 HORAS:



