

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**“EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA INFUSION DE
Camellia sinensis (TE VERDE) SOBRE Streptococcus mutans
EN CEPILLOS DENTALES DE ESTUDIANTES DE I.E.S.
SAN ANTONIO DE PADUA, PUNO -2015”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE CIRUJANO DENTISTA

PRESENTADO POR BACHILLER:

YESSIKA GREGORIA PUMACAJIA SILVESTRE

PUNO - PERÚ

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

“EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA INFUSIÓN DE *Camellia sinensis* (TÉ VERDE) SOBRE *Streptococcus mutans* EN CEPILLOS DENTALES DE ESTUDIANTES DE I.E.S. SAN ANTONIO DE PADUA, PUNO – 2015”

Presentado por:

Bach. YESSIKA GREGORIA PUMACAJIA SILVESTRE

TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

APROBADO POR EL JURADO REVISOR:

PRESIDENTE:


C.D. CESAR A. MOLINA DELGADO

PRIMER MIEMBRO:


Mg. DANTE MAMANI SAIRITUPAC

SEGUNDO MIEMBRO:


Mg. AUGUSTO ATAYUPANQUI NINA

DIRECTOR DE TESIS:


Mg. SONIA C. MACEDO VALDIVIA

ASESOR DE TESIS:


Mg. TANIA C. PADILLA CÁCERES

PUNO – PERÚ

2015

Área: Odontología

Tema: Ensayos clínicos y preclínicos

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más.

A mis padres: Romeo y Sabina quienes me dieron la vida, protección que hoy es sustento de mi vida, reflejo de amor, comprensión, sabiduría como ejemplo de perseverancia, honestidad, son mi inspiración y mis más grandes maestros

A mi hermana: Dafne, por su comprensión, apoyo fraterno en los momentos más difíciles, por ser más que hermana una amiga, a quien apoyare por siempre

por ser mi compañera de vida.

A mi tía Eva. Por su paciencia, su comprensión, por su empeño, por su amor, por su apoyo incondicional a lo largo de mi vida, por ser como una madre para mí.

Gracias de todo corazón, Yessika.

AGRADECIMIENTO:

A la Universidad Nacional del Altiplano que se ha convertido en mi alma mater por abrirme sus puertas y brindarme la oportunidad de lograr el grado de título profesional.

A la Escuela Profesional de Odontología donde obtuve los conocimientos que hoy hacen que pueda contribuir el desarrollo de nuestra región.

Mi eterno agradecimiento a mi Directora de tesis Dra. Sonia Macedo Valdívía y a mi asesora de tesis Dra. Tania Padilla Cáceres por creer tanto en el concepto de esta investigación y en mi persona, así como por sus consejos, su apoyo y motivación para llevar a cabo el presente trabajo de investigación.

A mis miembros jurados revisores de la presente tesis; Dr. Cesar Molina Delgado, Dr. Dante Mamani Sairitupac y Dr. Augusto Atayupanqui Nina; por las sugerencias y aportes que me brindaron para la culminación y fortalecimiento del presente trabajo de investigación.

A los estudiantes de la Institución Educativa Secundaria San Antonio de Padua de ésta ciudad que con su participación voluntaria contribuyeron al desarrollo y culminación de este trabajo.

A los docentes y directora de la institución educativa por aceptar ser parte de esta investigación, brindándome todas las facilidades en el desarrollo.

Y, finalmente, aunque no en menor grado, también estoy especialmente agradecido a todas esas personas que me han permitido utilizar en esta tesis sus ideas y sus palabras como citas y referencias.

Me siento muy complacida y agradecida con todos.

ÍNDICE

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	144
ANTECEDENTES	15
1. INTERNACIONALES:.....	15
2. NACIONALES:.....	20
JUSTIFICACIÓN.....	22

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL.....	24
1. MICROFLORA ORAL	24
1.1 Biofilm bacteriano.....	25
1.2 Mecanismos para eliminar el biofilm.....	25
1.3 Microorganismos cariogénicos	26
2. MEDIOS DE CULTIVO	27
2.1 Medios de cultivo para <i>Streptococcus mutans</i>	28
3. CEPILLOS DENTALES	30
3.1 Definición.....	30
3.2 Tipos.....	30
3.3 Características del cepillo dental.....	31
3.4 Diseño y partes del cepillo dental.	31
3.5 Contaminación de cepillos	32
3.6 Recomendaciones para el cuidado del cepillo dental.....	33
4. FITOTERAPIA.....	33
4.1 Definición.....	33
4.2 Reseña histórica.....	34
4.3 <i>Camellia sinensis</i> , “Té verde”	35
4.4 Características del Género <i>Camellia</i> :	35
4.5 Clasificación científica:.....	35

4.6 Composición de las hojas de té verde	36
4.7 Polifenoles de té	36
4.8 Propiedades antimicrobianas de los polifenoles.....	36
4.9 Propiedades antioxidantes de los polifenoles.....	37
4.10 Propiedades benéficas para la salud de los polifenoles.....	37
4.11 Usos y Aplicaciones de la especie <i>Camelia sinensis</i>	38
4.12 <i>Camellia sinensis</i> en Odontología.....	39
HIPÓTESIS	39
OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	40
UTILIDAD DE LOS RESULTADOS DE ESTUDIO.....	40

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

METODOLOGÍA.....	42
1. Tipo de estudio.....	42
2. Universo y muestra de la investigación.....	42
3. Operacionalización de variables	43
4. Instrumento.....	44
5. Técnicas y procedimientos de recolección de datos.....	44
6. Consideraciones éticas.....	49
7. Plan de recolección de datos.....	49
8. Diseño y análisis estadístico.....	49
RECURSOS	50

CAPÍTULO IV

CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE INVESTIGACIÓN

ÁMBITO DE ESTUDIO	51
1. ÁMBITO GENERAL DE ESTUDIO.....	52
2. ÁMBITO ESPECÍFICO DE ESTUDIO.....	53

CAPÍTULO V

EXPOSICIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

RESULTADOS	55
DISCUSIÓN.....	65
CONCLUSIONES.....	68
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	69
ANEXOS.....	10

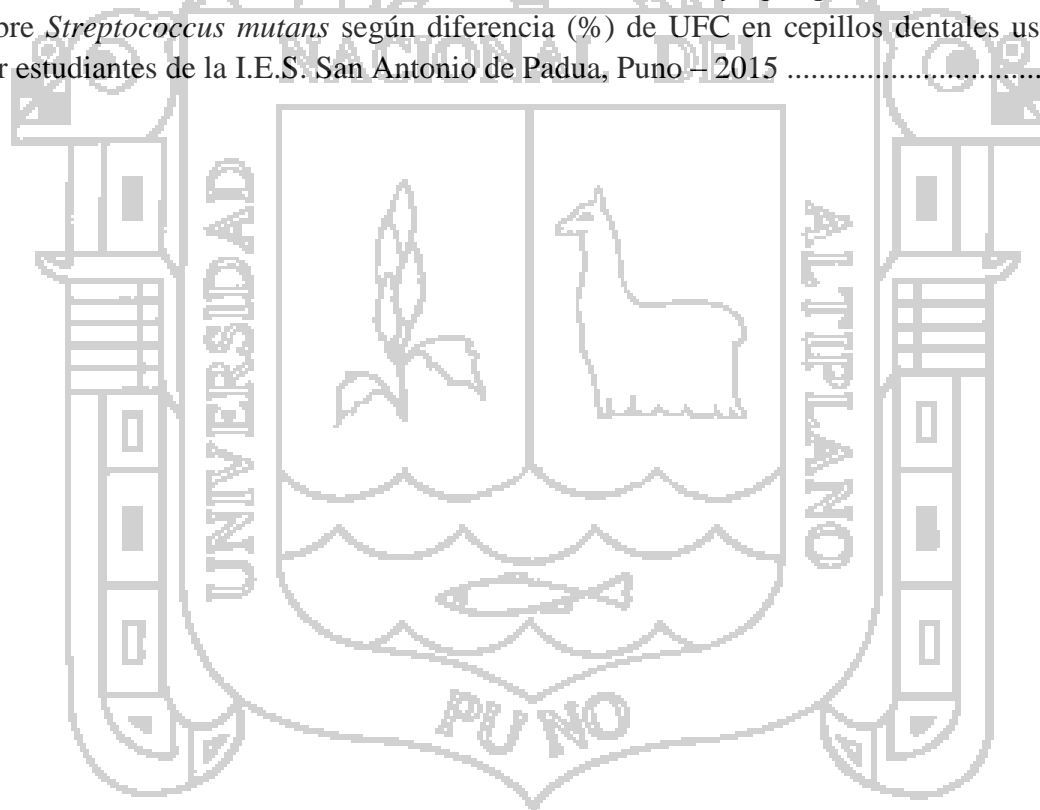


ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Unidades formadoras de colonia de <i>Streptococcus mutans</i> en cepillos dentales antes de la aplicación de infusión de <i>Camellia sinensis</i> al 20%, luego de cinco días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015.	55
TABLA 2. Unidades formadoras de colonia de <i>Streptococcus mutans</i> en cepillos dentales después de la aplicación de infusión de <i>Camellia sinensis</i> al 20%, luego de cinco días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015.....	57
TABLA 3. Comparación de actividad antibacteriana de la infusión de <i>Camellia sinensis</i> al 20% frente a los controles clorhexidina 0,12% y agua potable sobre <i>Streptococcus mutans</i> según UFC en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015.	59
TABLA 4. Comparación de actividad antibacteriana de la infusión de <i>Camellia sinensis</i> al 20% frente al control positivo clorhexidina 0,12% y agua potable sobre <i>Streptococcus mutans</i> según diferencia de UFC en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015.	61
TABLA 5. Comparación de actividad antibacteriana de la infusión de <i>Camellia sinensis</i> al 20% frente al control positivo clorhexidina 0,12% y agua potable de uso común sobre <i>Streptococcus mutans</i> según diferencia (%) de UFC en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015.....	62
TABLA 6. Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la actividad antibacteriana de la infusión de <i>Camellia sinensis</i> al 20% frente a los controles clorhexidina 0,12% y agua potable sobre <i>Streptococcus mutans</i> según diferencia promedio de UFC (%) en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

- FIGURA 1. Unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales antes de la aplicación de infusión de *Camellia sinensis* al 20%, luego de cinco días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015. 55
- FIGURA 2. Unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales después de la aplicación de infusión de *Camellia sinensis* al 20%, luego de cinco días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015..... 58
- FIGURA 3. Comparación de actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% frente a los controles clorhexidina 0,12% y agua potable de uso común sobre *Streptococcus mutans* según UFC en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015 60
- FIGURA 4. Comparación de actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% frente a los controles clorhexidina 0,12% y agua potable de uso común sobre *Streptococcus mutans* según diferencia (%) de UFC en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015 63



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1 Composición de las hojas de té (% peso seco).....	36
Cuadro N° 2 Operacionalización de variables.....	43



RESUMEN

Se realizó un estudio experimental, prospectivo y longitudinal con la finalidad de evaluar el efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* (Té verde) al 20% sobre *Streptococcus mutans* en cepillos dentales usados por estudiantes de la Institución Educativa Secundaria (I.E.S.) San Antonio de Padua de Puno, además compararlo con un colutorio convencional (clorhexidina al 0,12%) y agua potable de uso común. La muestra estuvo constituida por 36 cepillos dentales. En una primera fase se entregó un cepillo y pasta dental nuevos a cada estudiante, se supervisó el cepillado durante cinco días, luego se recogió cada cepillo en una bolsa de plástico estéril para transportarlos al laboratorio microbiológico; para la toma de muestra se sumergió la cabeza de los cepillos en tubos de ensayo estériles que contenían 5 ml del medio de transporte (tioglicolato), se cultivó en agar Mitis Salivarius, luego se realizó el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus mutans*. En una segunda fase se entregaron otros cepillos dentales nuevos, se supervisó el cepillado por cinco días, después de cada cepillado se aplicó la infusión de *Camellia sinensis* 20% en aerosol; se escogieron al azar 03 cepillos para aplicar clorhexidina al 0,12% en aerosol y 03 cepillos para el agua potable. Se realizó el procesamiento de muestras al igual que en la primera fase. Se hizo el recuento de UFC después de la aplicación de la infusión, clorhexidina y agua; y se comparó con la cantidad de UFC antes de la aplicación de las soluciones de estudio. En la fase de pre intervención se observó una amplia variación en el grado de contaminación de los cepillos por *Streptococcus mutans* con un promedio de 42,3 UFC/ml. En la fase de post intervención, la infusión de *Camellia sinensis* evidenció efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* con un promedio de reducción del 74,5% UFC, la clorhexidina 0,12% presentó un promedio de reducción del 92,4% UFC, y el agua potable mostró el menor efecto antibacteriano con un promedio de reducción de 12,2% de UFC. Se concluye que el efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% es similar al efecto antibacteriano de la clorhexidina 0,12% ya que produjeron disminución significativa de UFC de *Streptococcus mutans* según la prueba estadística de Kruskal-Wallis.

Palabras claves: *Camellia sinensis* - *Streptococcus mutans* - Cepillos dentales – Antibacteriano

ABSTRACT

An experimental, prospective and longitudinal study was conducted in order to evaluate the antibacterial effect of the infusion of *Camellia sinensis* (green tea) 20% on *Streptococcus mutans* in use by students of Secondary Education Institution (IES) San Antonio Padua Puno toothbrushes also compared with a conventional mouthwash (chlorhexidine 0.12%) and water for common use. The sample consisted of 36 toothbrushes. The technique was the observation instrument and a form of data collection. In a first phase, a new toothbrush and toothpaste was given to each student, brushing was monitored for five days, then each brush was collected in a sterile plastic bag for transport to the microbiology laboratory; for sampling head brushes immersed in sterile test tubes containing 5 ml of transport medium (thioglycolate), was cultured in agar Mitis salivarius, then counting the colony forming units (CFU) was performed *Streptococcus mutans*. In a second phase new toothbrushes were handed brushing for five days after each infusion brushed *Camellia sinensis* 20% spray was applied was monitored; 03 were randomly selected brushes to apply 0.12% chlorhexidine and 03 spray brushes for drinking water. Sample processing as in the first stage was performed. CFU counts after application of the infusion, chlorhexidine and watered; and compared with the number of CFU before applying solutions studied. In the pre intervention it was observed a wide variation in the degree of contamination of *Streptococcus mutans* brushes an average of 42,3 UFC/ml. In the post-intervention phase, infusion of *Camellia sinensis* showed antibacterial effect on *Streptococcus mutans* with an average 74.5% reduction in UFC, chlorhexidine 0.12% had an average 92.4% reduction in UFC, and drinking water showed the least effect antibacterial with an average of 12.2% reduction in CFU. It is concluded that the antibacterial effect of the infusion of *Camellia sinensis* 20% is similar to the antibacterial effect of chlorhexidine 0.12% and that produced significant decrease UFC *Streptococcus mutans* as the statistical test of Kruskal-Wallis.

Keywords: *Camellia sinensis* - *Streptococcus mutans* - Toothbrushes - Antibacteriano

INTRODUCCIÓN

El cuidado apropiado del cepillo dental a menudo se descuida dando lugar para albergar a millones de microorganismos, siendo éste el instrumento más utilizado como elemento de higiene oral ya que ayuda a prevenir enfermedades orales mediante la remoción del biofilm bacteriano es que se hace imprescindible su cuidado. Investigaciones indican que, aun después de un profundo enjuague, los cepillos dentales permanecen contaminados con microorganismos potencialmente patogénicos.

Streptococcus mutans es la bacteria más prevalente de la cavidad bucal, se instaura en la boca poco después del brote de la dentición temporal, se asocia al inicio y desarrollo de la caries dental.

El té verde (*Camellia sinensis*) ha sido considerado una bebida curativa desde tiempos antiguos por contener componentes que actúan en beneficio de la salud humana, presenta propiedades antimicrobianas; reportes experimentales en animales y humanos sugieren que el consumo de té verde reduce la caries dental.

Siendo *Streptococcus mutans* la bacteria más prevalente en el desarrollo de caries dental es que se hace necesario el control de su crecimiento y desarrollo como medida preventiva y teniendo el té verde propiedades antimicrobianas es que se presume que pueda tener algún efecto sobre *Streptococcus mutans*.

Moromi H. y cols. (2007), realizaron un estudio para determinar el efecto antimicrobiano de la infusión de *Camellia sinensis* al 10% en forma de colutorio sobre bacterias orales, demostrándose que hay una efectiva reducción en el recuento de *Streptococcus mutans*, la disminución se aprecia significativa inmediatamente después, manteniendo la significancia en la lectura hasta los 30 minutos.

Entendiendo la importancia de la descontaminación de cepillos como medida preventiva frente a enfermedades de mayor prevalencia como la caries es que este trabajo de investigación tiene como propósito determinar la capacidad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% sobre *Streptococcus mutans* brindando de esta manera un método de desinfección de cepillos práctico y económico.



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La caries dental es una de las enfermedades más prevalentes de la cavidad bucal en nuestro país y en nuestra región, un estudio epidemiológico realizado en la provincia de Puno en escolares de 6 – 16 años demuestra que la prevalencia de caries es de 89,8%.¹ El cepillo dental es el instrumento más utilizado a nivel mundial como elemento de higiene oral, que ayuda a prevenir enfermedades orales de mayor prevalencia como la caries dental y enfermedad periodontal, mediante la remoción del biofilm bacteriano.² Por desgracia, el cuidado apropiado del cepillo dental a menudo se descuida dando lugar para albergar a millones de microorganismos.³ Estudios epidemiológicos han demostrado que la caries se correlaciona positivamente con la concentración de *Streptococcus mutans*.⁴ La retención y la supervivencia de microorganismos patógenos como el *Streptococcus mutans* en el cepillo dental después de cepillarse representan una posible causa de la re-contaminación de la boca. El conocimiento de la contaminación del cepillo de dientes es todavía un vacío entre la población. La descontaminación del cepillo dental es esencial para eliminar los microorganismos patógenos.⁵ Diferentes técnicas de cepillado y el mantenimiento de los cepillos de dientes para evitar su contaminación con microorganismos se han descrito en la literatura. Existen varios métodos para la descontaminación de cepillo de dientes, que incluyen la inmersión de los mismos en soluciones antimicrobianas.⁶

Con la finalidad de determinar el grado de contaminación bacteriana de los cepillos de dientes después de su uso y la eficacia de la clorhexidina y Listerine® en la descontaminación de cepillos dentales se realizó un estudio, donde se encontró que el 70% de los cepillos de dientes utilizados fueron contaminados con diferentes microorganismos patógenos como el *Streptococcus mutans*. La inmersión durante toda la noche de un cepillo de dientes en gluconato de clorhexidina (0,2%) se encontró que era altamente eficaz en la prevención de tal contaminación microbiana.⁷

Se compararon técnicas de desinfección ultravioleta y microondas para la descontaminación del cepillo de dental; demostrándose que después del procedimiento de desinfección, hubo una reducción significativa ($P < 0,001$) en la contaminación microbiana del grupo de microondas, en comparación con el grupo de ultravioleta.⁸

Estas investigaciones demuestran la importancia de la desinfección de los cepillos dentales ya que estos se contaminan después de cada cepillado, siendo el *Streptococcus*

mutans una de las bacterias de mayor prevalencia en la aparición de caries dental. En tal sentido este proyecto de investigación pretende evaluar la capacidad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% sobre *Streptococcus mutans* en cepillos dentales, proponiendo un producto de origen natural que por sus propiedades antimicrobianas ampliamente conocidas se suma a los esfuerzos por encontrar una sustancia de desinfección natural alternativo.

ANTECEDENTES

1. INTERNACIONALES:

Se realizó un estudio para evaluar la tasa de contaminación microbiológica de cepillos de dientes utilizado por estudiantes de la Universidad del Estado de West Paraná (Unioeste / PR), se identificó y estableció un protocolo de descontaminación usando aerosol de clorhexidina al 0,12% para disminuir la presencia de bacterias en las cerdas de los cepillos. El estudio fue doble ciego cruzado, con una selección aleatoria de voluntarios. Cada fase experimental consistió de 14 días de cepillado y un intervalo de 7 días entre tratamientos. La prueba se realizó con 30 voluntarios, divididos en tres grupos de 10 estudiantes, utilizando nuevos cepillos de dientes, se rociaron ya sea con agua o clorhexidina al 0,12% en diferentes intervalos (una vez o tres veces al día) después del cepillado. Hubo crecimiento microbiano en 91% de los cepillos de dientes usados, con crecimiento de *Streptococcus*, *Staphylococcus* y Enterobacterias. El uso de la clorhexidina aerosol sólo por tres veces al día fue significativamente más efectivo que el agua.⁹

En un estudio cuyo objetivo fue determinar el nivel de contaminación de cepillos de dientes por *Streptococcus mutans*, utilizando escaneo por microscopía electrónica (SEM) para la identificación microbiológica de la contaminación bacteriana y posteriormente evaluar la eficacia de dos desinfectantes de cepillo de dientes. Se evaluaron a 19 niños que utilizaron sus cepillos de dientes una vez al día, durante cinco días consecutivos. Los cepillos de dientes se sumergieron en soluciones desinfectantes por 20 hrs. Grupo I - gluconato de clorhexidina 0,12%; Grupo II - hipoclorito de sodio al 1%; Grupo III - agua estéril del grifo. Luego se colocaron en tubos de ensayo que contenían el medio de cultivo CaSa B (agar de sucrosa-bacitracina), de 3 a 4 días a 37 ° C. Se contó el número de UFC de *Streptococcus mutans* y los cepillos de dientes fueron

sometidos a análisis SEM. Se obtuvo que no hubo crecimiento bacteriano en los grupos I y II; mientras el Grupo III mostró un crecimiento de *Streptococcus mutans* (rango, 21 a 120 UFC). A la exploración de microscopía electrónica se mostró la formación de biopelículas en las cerdas de los cepillos de dientes. Se concluyó que la inmersión en 0,12% de gluconato de clorhexidina y 1% de hipoclorito de sodio son métodos eficaces para la desinfección de cepillo de dientes.¹⁰

Se evaluó la capacidad antimicrobiana del cloruro de cetilpiridinio (CCP) sobre la microflora existente en los cepillos dentales en uso en preescolares con dentición decidua completa. Fue un estudio de ciego, cruzado cuya muestra estuvo constituida por 67 niños con edades que oscilaban entre 2 y 5 años, pertenecientes a un centro educativo preescolar localizado en la ciudad de Huaral (Lima), fueron divididos en dos grupos: Grupo 1 y Grupo 2. El estudio fue realizado en dos fases, en cada una de ellas se intercaló la aplicación de la solución seleccionada para la descontaminación del cepillo dental para ambos grupos; Sustancia B: enjuague bucal para niños que contiene cloruro de cetilpiridinio (CCP) con flúor y Sustancia A: agua destilada (grupo control). Los cepillos dentales a los que se le aplicó en forma de spray el enjuague bucal para su descontaminación, presentaron un menor porcentaje de colonización bacteriana de *Streptococcus mutans* (28,6%), mientras que con el agua destilada (control) existió un alto porcentaje (93,6%). El cloruro de cetilpiridinio (CCP) al 0,05%, presente en el enjuague bucal pediátrico, utilizado demostró disminuir la presencia de colonias de *Streptococcus mutans* presentes en los cepillos dentales.¹¹

Se determinó la eficacia de varios desinfectantes sobre la contaminación microbiana de cepillos de dientes en uso. Se inscribieron 50 niños varones sanos en el rango de edad de 8 a 11 años. Se dividieron en cinco grupos de 10 niños cada uno y provistos de cepillos de dientes y desinfectantes. Se dieron instrucciones a los niños; los cepillos de dientes se recogieron después del cepillado y se cultivaron durante el crecimiento de microorganismos. Se evaluó la eficacia de Hexidine®, peróxido de hidrógeno 3,0%, Listerine® y Dettol®. Con la prueba de Chi-cuadrado se realizó el análisis estadístico. El Hexidine®, peróxido de hidrógeno 3,0% y Listerine® mostraron 100% de eficacia, mientras que Dettol® mostró 40% de eficacia en la descontaminación de los cepillos de dientes. El agua como grupo control mostró la menor eficacia en la limpieza de los cepillos de dientes. El peróxido de hidrógeno 3,0% resultó ser el desinfectante más económico y eficaz en comparación con los otros desinfectantes.⁵

Se evaluó la eficacia antimicrobiana del extracto de ajo, aceite de árbol de té, cloruro de cetilpiridinio, clorhexidina y el dispositivo de desinfección ultravioleta (UV) en la descontaminación de cepillo de dientes. Fue un estudio doble ciego, aleatorio y controlado en paralelo, se realizó en 210 estudiantes de odontología. Los sujetos fueron divididos en: un grupo control con agua destilada y cinco grupos de estudio que representan el grupo de aceite de árbol de té al 0,2%, extracto de ajo 3%, gluconato de clorhexidina al 0,2%, cloruro de cetilpiridinio al 0,05% y el dispositivo de desinfección UV para cepillos de dientes. Los participantes recibieron cepillos de dientes nuevos y cremas dentales para ambas fases control y de intervención. Los cepillos de dientes se recogieron después de dos semanas para el análisis microbiano en ambas fases. Se analizaron y compararon. En la comparación de antes y después de la intervención, los recuentos de colonias de *Streptococcus mutans*, se observó una diferencia altamente significativa en las unidades formadoras de colonias (UFC). El grupo de ajo mostró la mayor reducción (100%), mientras que el grupo UV mostró menor reducción de colonias de *Streptococcus mutans* (47,4%). Los agentes antimicrobianos utilizados en este estudio reducen eficazmente los recuentos de *Streptococcus mutans* y por lo tanto pueden considerarse como desinfectantes de cepillo de dientes para prevenir la caries dental.⁶

Se realizó un estudio para determinar la viabilidad *in vitro* del *Streptococcus mutans* en las cerdas del cepillo de dientes en relación con el tiempo de secado, 45 cepillos de dientes se sumergieron en una suspensión que contenía *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) en una concentración de 1,720.000 UFC/ ml (0,5 escala de McFarland) durante 4 minutos, se enjuagaron en agua del grifo estéril, y se asignaron en 9 grupos. Grupo 1 cepillos de dientes se incubaron inmediatamente en medio de cultivo CaSa B (agar de sucrosa-bacitracina, caldo de enriquecimiento, caldo selectivo) durante 4 días. Los cepillos de dientes de los grupos de 2 a 9 se mantuvieron a temperatura ambiente durante 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60, y 72 horas, respectivamente, y posteriormente se incubaron en medio de cultivo CaSa B. Se observó que los microorganismos estaban presentes en los cepillos de dientes de los grupos 1 a 3, que van desde 50 a más de 100 UFC. Desde el período de secado de 12 horas en adelante, no hubo crecimiento de *Streptococcus mutans*. Los *Streptococcus mutans* se mantuvieron viables en las cerdas cepillos de dientes por hasta 8 horas.¹²

En un estudio *in vitro* para determinar la contaminación de cepillos dentales denominados antibacteriales. Se incluyeron, tres marcas de cepillos dentales que fueron Oral-B® antibacterial y Colgate® antibacterial incluido un cepillo convencional no antibacterial de la marca Colgate. Un total de 48 cepillos fueron inoculados, 24 con *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y 24 con *Enterobacter cloacae* y la viabilidad microbiana fue establecida después de diversos tiempos: 24 horas, 4 días, 12 días y 24 días. A las 24 horas los cepillos cumplen con su poder antibacterial incluido el cepillo convencional, el cepillo Oral-B® antibacterial y Colgate® antibacterial inhibieron completamente el crecimiento de las colonias del *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, mientras que el cepillo Oral B® antibacterial permitió el crecimiento de *Enterobacter cloacae*. Finalmente se encontró que con el paso de tiempo a los 24 días, los cepillos dentales perdieron el efecto antibacterial contra ambos organismos. Los cepillos antibacteriales logran inhibir el crecimiento de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* entre las 24 horas y los 4 días, pero su efecto antibacterial se pierde con el tiempo. Un microorganismo súper-infectante como el *Enterobacter cloacae* es más resistente contra antibacteriales presentes en los cepillos dentales.¹³

Se realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar la acción desinfectante del gluconato de clorhexidina al 0,12% y un compuesto fenólico (Listerine®) sobre microorganismos comúnmente presentes en la cavidad bucal en cepillos dentales utilizados por los participantes voluntarios. Se examinó el estado periodontal de los 15 voluntarios y se procedió a entregar cepillos nuevos, pasta dental y un aerosol. El estudio se realizó en un lapso de tres semanas en intervalos de una semana para cada etapa, al final de cada semana se procedió a la recolección del cepillo de dientes utilizado y a la entrega de uno nuevo para continuar con la siguiente fase del estudio. Después de recolectado el cepillo de cada voluntario, se llevaron al laboratorio de microbiología para su cultivo en medios de cultivo específicos. Luego de 7 a 8 semanas se procedió a la identificación de los patógenos y al análisis estadístico. Se demostró que el Listerine® es el mejor agente químico para la desinfección de cepillos dentales, a pesar de la demostrada capacidad de desinfección de la clorhexidina.¹⁴

Se realizó una investigación para el aislamiento y cuantificación de *Streptococcus mutans* en saliva de niños de una escuela, cuyos objetivos fueron: establecer la densidad poblacional del *Streptococcus mutans* en la saliva de los niños, demostrar en que sexo y edad se encuentra mayor prevalencia de *Streptococcus mutans*. Para ello se

recolectó la muestra salival de cada niño, se hicieron las diluciones de la muestra salival, se sembró sobre agar mitis salivarius-bacitracina, se colocó en una jarra en anaerobiosis a 37°C por 24 horas y 24 horas más en aerobiosis, finalmente se realizó el conteo de colonias, obteniéndose un rango de 347 500 - 1 642 500 UFC/ml de saliva. Además se observó que la densidad poblacional de *Streptococcus mutans* es alta, el mayor número de colonias se registró en las niñas y en la edad de 7 años hubo mayor cantidad de UFC/ml de saliva.¹⁵

En una investigación que tuvo como objetivo determinar el *Streptococcus mutans* en placa dentobacteriana como factor de riesgo de caries en niños de 6 a 11 años de la escuela primaria federal Ignacio Ramírez. La población estudiada fue de tipo no probabilística, contando con 10 alumnos (100%) de los cuales fueron, 5 niños (50 %) y 5 niñas (50 %). Se encontró un 90 % de la población con riesgo de caries. El sexo predominante en cual existió mayor densidad poblacional de *Streptococcus mutans* en placa dentobacteriana fue el sexo femenino con un 59 % fue superior respecto a la cantidad de bacterias del sexo masculino que presentó un 49%. Con respecto a la edad con mayor densidad poblacional de *Streptococcus mutans*, los alumnos de 11 años obtuvieron un 26 % siendo la edad con mayor densidad poblacional de *Streptococcus mutans*, siguiendo los alumnos de 8 años con un 25%, los alumnos de 9 años con un 20 %, los alumnos de 6 años con un 15 % y por último, los alumnos de 10 años que presentaron la menor densidad poblacional con un 14 %.¹⁶

Se realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar la presencia de *Streptococcus mutans* en saliva y su relación con la caries dental en una población infantil de la comunidad de Tacoaleche Guadalupe, Zacatecas. Se estudiaron 139 niños con edades de 6-13 años. Se determinó el ceod/CPOD, IHOS y UFC/ml de *Streptococcus mutans*. Se recolectaron muestras de saliva y se realizaron diluciones seriadas para posteriormente realizar cultivos en agar mitis salivarius y determinar el riesgo a caries de acuerdo con la concentración de UFC/ml de *Streptococcus mutans* y la experiencia relativa de caries, se encontró una prevalencia de caries dental del 67,6 %, se encontró un valor medio de ceod/CPOD de 2,4 (bajo) y de IHOS 1.25 (buena), en contraste con la experiencia de caries se detectó una correspondencia entre los niveles de *Streptococcus mutans* y el CPOD.¹⁷

2. NACIONALES:

Se estudió la eficacia del hipoclorito de sodio al 0.5% comparado con la clorhexidina al 0,12% en la desinfección de cepillos dentales. La muestra estuvo constituida por 26 soldados de 18 a 23 años de edad a quienes se les entregó un cepillo dental nuevo que fue usado por 4 semanas, después se recogió la muestra de cada soldado introduciendo la cabeza del cepillos en frascos contenidos con medio de transporte: tioglicolato 5 ml, luego se procedió al sembrado en 2 medios de cultivo; Agar Glucosado Sabouraud: *Candida albicans* y Agar Mitis Salivarius: *Streptococcus mutans*. Se dividió a los soldados en tres grupos: Grupo I hipoclorito de sodio al 0,5%, Grupo II clorhexidina 0,12% y Grupo III agua de caño. Al grupo I y II se les entregó 10 ml de desinfectantes en frascos para que sumerjan los cepillos 10 minutos antes de cada cepillado con la finalidad de desinfectar los cepillos. Se observó una alta contaminación de los cepillos dentales con las dos especies bacterianas en estudio después del cepillado en el grupo III agua de caño; mientras que en los grupos I y II se observó desinfección de los cepillos dentales lo cual comprueba la eficacia de estas soluciones para prevenir la acumulación y crecimiento microbiano sobre los cepillos dentales.¹⁸

Se realizaron estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, tanto *in vitro*, como *in vivo* con el objetivo de proveer un panorama sobre los antibacterianos naturales orales estudiados para su posible aplicación preventiva tendientes a contribuir a la solución de la caries dental, ya que estos son de fácil acceso y manejo, bajo costo y sobre todo poseen mínimos efectos colaterales indeseables. En los estudios *in vitro*, hay evidencias del efecto antibacteriano de los principios naturales (extracto de propóleo, *Erythroxylum novogranatense*, *Minthostachys mollis*, *Camellia sinensis* y *Crotón lachleri*) para la flora bucal. Así mismo no se observó efecto antibacteriano con: *Aloe vera* y *Uncaria tomentosa*. En un estudio *in vitro*, la *Camellia sinensis* ha demostrado capacidad de evitar la formación de placa bacteriana y en un estudio *in vivo*, la *Camellia sinensis* en colutorio mostro efecto antibacteriano oral hasta 30 minutos después del enjuague bucal.¹⁹

Se realizó un estudio para determinar la efectividad antibacteriana *in vitro* de una infusión a base de *Camellia sinensis* y *Minthostachys mollis* sobre flora salival mixta. Se recolectó saliva no estimulada de 30 estudiantes universitarios y se sembró en el medio agar tripticasa soya. Utilizándose el método de difusión por discos para la solución de té verde, muña, té verde y muña, y los controles positivos (Clorhexidina) y

negativo (Agua destilada), las placas se incubaron a 37 °C/24 horas. El análisis estadístico determinó la efectividad antibacteriana de las infusiones a base de té verde, y té verde y muña, no encontrando efectividad en la infusión a base de muña. Así mismo, la infusión a base de té verde resultó ser similar en cuanto a su efectividad antibacteriana con respecto a la clorhexidina.²⁰

Un estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* de la *Camellia sinensis* de cuatro marcas comerciales (A, B, C y D) sobre las bacterias orales, se recolectó saliva no estimulada de 40 estudiantes universitarios y se sembró en el medio de agar tripticosa soya. Utilizándose el método de difusión por discos para las soluciones de té verde y los controles positivos (Amoxicilina) y negativo (agua destilada), las placas se incubaron a 37 °C/24 horas. De acuerdo a los resultados las cuatro marcas de té verde produjeron halos de inhibición de crecimiento de colonias de *Streptococcus mutans*. Por tanto se ha evidenciado la acción antibacteriana para la cepa de *Streptococcus mutans*, así como para la microflora mixta salival, y que existen diferencias en la acción, dependiendo de la marca utilizada. Es necesario continuar estudios para comprobar su efecto antimicrobiano *in vivo*, para el uso como enjuagatorio bucal.²¹

Se realizó un estudio para determinar el efecto antimicrobiano *in vivo* de la infusión de *Camellia sinensis* sobre bacterias orales, en forma de colutorio al 10%; se colectó saliva no estimulada de 32 personas aparentemente sanas: 1) antes del enjuague, 2) inmediatamente después; y 3) luego a los 30 minutos. Se sembraron las muestras en agar tripticosa soya y agar mitis salivarius bacitracina; para luego proceder al recuento de UFC de *Streptococcus mutans*/ml. El análisis estadístico demuestra que hay una efectiva reducción en el recuento de microorganismos de la microflora mixta salival, en el caso del recuento de *Streptococcus mutans*, la disminución se aprecia significativa inmediatamente después, manteniendo la significancia en la lectura a los 30 minutos.²²

Se determinó la efectividad *in vitro* e *in vivo* de un gel a base de carboximetilcelulosa y extracto de *Camellia sinensis* “té verde” frente a microorganismos de importancia en la enfermedad periodontal. Los resultados muestran la presencia de halos de inhibición del extracto de té verde a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%, con el gel solo se apreció acción en el sitio de contacto, sin halo. En lo referente a los resultados en pacientes se observó una mejoría del índice gingival (Loe Silness) luego de la

exposición al gel con extracto de té verde hasta por 2 semanas. Se concluye que el extracto de té verde tiene acción antibacteriana sobre las cepas de los microorganismos relacionados con la enfermedad periodontal a diversas concentraciones, pero que el gel solo manifiesta un efecto en el sitio de contacto.²³

Se realizó un estudio para evaluar *in vitro* el efecto antibacteriano de la *Camellia sinensis* (té verde) frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y al *Streptococcus sanguis* (ATCC 10556). Se probaron dos extractos de té verde, uno comercial y otro a granel. Se utilizaron 24 discos para el primer extracto (Comercial) y la misma cantidad para el segundo extracto metanólico (Granel), se dividieron en grupos de 12 discos para cada bacteria, con un total de 4 placas petri por cada uno. Además, cada placa contenía 3 discos embebidos de té y 1 disco con Clorhexidina al 0.12% como grupo control. Estas muestras fueron analizadas con el método de difusión con discos y los halos de inhibición se midieron a las 72 horas. Se encontró efecto antibacteriano para ambos extractos probados. Ambos extractos metanólicos de té verde presentaron efecto antibacteriano contra las cepas del *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis*. El té verde comercial fue el que presentó mayor efecto antibacteriano que el extracto a granel.²⁴

JUSTIFICACIÓN

Este trabajo de investigación basándose en los antecedentes pretende proponer la infusión de *Camellia sinensis*, como agente antibacteriano; para la descontaminación de cepillos dentales.

Esta propuesta tiene relevancia científica pues difundirá el interés de los alumnos y profesionales de la odontología en la investigación de diversas sustancias naturales alternativas que posean propiedades antimicrobianas, con el propósito de mejorar la salud bucal de la población, esperando obtener resultados efectivos con la aplicación de *Camellia sinensis* lo cual servirá para posteriores estudios.

Tiene relevancia social pues ofrece una sustancia antimicrobiana de origen natural alternativa al alcance de la población.

Tiene valor teórico ya que en la bibliografía no existen contenidos teóricos a cerca de la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% como agente antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* en cepillos dentales, los resultados de esta investigación aportarán con datos e información que servirá para desarrollar métodos de desinfección para cepillos dentales.



CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

1. MICROFLORA ORAL

Antes del parto, el feto vive en un ambiente estéril, rodeado del líquido amniótico y la placenta; es en el momento del nacimiento, cuando se pone en contacto primero en el canal del parto, y posteriormente en el ambiente que le rodea, con los distintos microorganismos que van a colonizar su piel, nariz, cavidad oral y otras regiones corporales. Los microorganismos de la microbiota humana incluyen un gran número de

especies que han experimentado una evolución adaptativa que les permite colonizar casi exclusivamente a la especie humana. En nuestra boca existen centenares de bacterias, en las primeras horas de vida se adquieren estafilococos aerobios y anaerobios, diplococos Gram. (-) y en ocasiones lactobacilos y entre las 4-12 horas después del nacimiento, el *Streptococcus viridans* se establece como miembro más notable de la flora residente, así permanece durante toda la vida.¹⁸

1.1 Biofilm bacteriano

Es una masa blanda, tenaz y adherente de colonias bacterianas en la superficie de los dientes, la encía, la lengua y otras superficies bucales (incluso las prótesis), cuando no se aplican los métodos de higiene adecuados. Se encuentra como una película transparente e incolora adherente al diente, compuesta por diversas bacterias.¹⁵ Los biofilm contienen comunidades de bacterias causantes de enfermedades, y su acumulación incontrolada se ha asociado con caries y enfermedad periodontal.^{25, 26}

La formación de la placa parece seguir un modelo definido en el que suelen considerarse 3 etapas:

- a) Formación sobre la superficie de los dientes una película inicial conocida como película dental o película adquirida.
- b) Colonización de la superficie de los dientes por parte de bacterias específicas que se unen a la película dental.
- c) Maduración de la placa como consecuencia del metabolismo bacteriano que se produce en su interior y la unión de la placa de otros tipos de bacterias.¹⁸

1.2 Mecanismos para eliminar el biofilm

Frente a los biofilms podemos actuar: Evitando o retrasando la aparición de los mismos. Se pueden realizar cambios en las características físicas y/o químicas de las superficies a las que se adhieren los biofilm, de forma que se impida o retrase la adhesión de los mismos.²⁷

También se podría actuar sobre el medio líquido de crecimiento del biofilm. Se pueden realizar tratamientos que cambien el medio ambiente bacteriano (tratamiento ecológico), lo que imposibilitaría el desarrollo de determinados biofilms; de esta forma, mediante

un buen control de la placa supragingival, se produciría un cambio en las condiciones ambientales subgingivales, dificultando el desarrollo de biofilms patógenos.²⁷

Una vez desarrollado el biofilm, fundamentalmente podría actuarse de dos formas para eliminarlos:

- Por medios físicos.
- Por medios químicos.

Siendo la cavidad oral de fácil acceso, se pueden eliminar los biofilms por medios físicos, bien a nivel supragingival (por medio del cepillado y profilaxis dental), bien a nivel subgingival (por medio de raspado y alisado radicular, o cirugía periodontal). A nivel supragingival se pueden utilizar distintos antisépticos, y a nivel subgingival distintos antibióticos y antisépticos. Para que estos productos consigan el mayor efecto posible, sería deseable producir de forma física una desestructuración previa del biofilm.²⁷

1.3 Microorganismos cariogénicos

La caries es una enfermedad multifactorial frecuente, que comprende la interacción entre los dientes, la saliva y la microflora oral como factores del huésped y la dieta como factor externo. La enfermedad es una forma singular de infección en la cual se acumulan cepas específicas sobre la superficie del esmalte, donde elaboran productos ácidos y proteolíticos que desmineralizan la superficie y digieren su matriz orgánica. Una vez que se ha tenido penetración al esmalte, el proceso patológico evoluciona hasta la pulpa.¹³

Dentro de los microorganismos cariogénicos está el *Streptococcus mutans*; presenta un potencial acidógeno superior a cualquier otro microorganismo. Estos fueron descritos por primera vez por Clark en 1942.¹⁴ Otra bacteria responsable de la caries dental es el *Streptococcus sanguis*, pertenece a la familia de Streptococcaceae de género *Streptococcus*. *S. sanguis* es la encargada de la producción de placa dental, coloniza la cavidad oral de los niños después del inicio de la erupción dental y se demostró que es el primer microorganismo que se instala en superficies dentarias limpias. Sin embargo, el potencial cariogénico de esta bacteria es muy baja en comparación al *Streptococcus mutans*.¹⁵

- ***Streptococcus:***

Son bacterias esféricas grampositivas que forman, de modo característico, pares o cadenas durante el crecimiento. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Algunos forman parte de la flora normal humana; otros se relacionan con importantes enfermedades humanas atribuibles en parte a la infección por los *Streptococcus* y en parte a una sensibilización hacia ellos. Son un grupo heterogéneo de bacterias y ningún sistema es suficiente para clasificarlos. Veinte especies en total, pasando desde *S. pyogenes* al *S. mutans*. Estos son microorganismos sumamente difundidos en la cavidad bucal que alberga a gran número de especies de este género. Estos gérmenes, que hasta hace poco se denominaban “cocos piógenicos”, pueden provocar distintas patologías como consecuencia de sus productos o por el hecho de ser bastante resistentes a la fagocitosis.¹⁵

- ***Streptococcus mutans:***

Es una bacteria Gram positiva, esférica, anaerobia facultativa perteneciente al grupo de bacterias ácido-lácticas, suele colonizar particularmente las fisuras de los dientes y las superficies interproximales, se agrupa en cadenas, se instaura en la cavidad bucal poco después del brote de la dentición temporal, pues carece de capacidad de adhesión a los tejidos blandos bucales, se encuentra normalmente en la cavidad bucal humana, formando parte de la placa bacteriana o biofilm dental. Se asocia al inicio y desarrollo de la caries dental.^{16, 24}

Es acidófilo porque vive en medio con pH bajo, acidogénico por metabolizar los azúcares a ácidos y acidúrico por sintetizar ácidos a pesar de encontrarse en un medio de tales condiciones. Metaboliza la sacarosa para producir polisacáridos extracelulares (sustancia laxa que facilita su adhesión a las caras libres de las piezas dentarias) e intracelulares (metabolismo energético).¹⁶

2. MEDIOS DE CULTIVO

Uno de los sistemas más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio. El material alimenticio en el que crecen los microorganismos es el medio de

cultivo y el crecimiento de los microorganismos es el cultivo. Se han preparado más de 10 000 medios de cultivo diferentes.^{28, 29, 30}

Para que las bacterias crezcan adecuadamente en un medio de cultivo artificial debe reunir una serie de condiciones como son: temperatura, grado de humedad y presión de oxígeno adecuadas, así como un grado correcto de acidez o alcalinidad. Un medio de cultivo debe contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y debe estar exento de todo microorganismo contaminante. La mayoría de las bacterias patógenas requieren nutrientes complejos similares en composición a los líquidos orgánicos del cuerpo humano. Por eso, la base de muchos medios de cultivo es una infusión de extractos de carne y peptona a la que se añaden otros ingredientes.^{28, 29}

El agar es un elemento solidificante muy empleado para la preparación de medios de cultivo.²⁹

En los diferentes medios de cultivo se encuentran numerosos materiales de enriquecimiento como hidratos de carbono, suero, sangre completa, bilis, etc. Los hidratos de Carbono se adicionan por dos motivos fundamentales: para incrementar el valor nutritivo del medio y para detectar reacciones de fermentación de los microorganismos que ayuden a identificarlos. El suero y la sangre completa se añaden para promover el crecimiento de los microorganismos menos resistentes.²⁸

También se añaden colorantes que actúan como indicadores para detectar, por ejemplo, la formación de ácido o como inhibidores del crecimiento de unas bacterias y no de otras (el Rojo Fenol se usa como indicador ya que es rojo en pH básico y amarillo en pH ácido. La Violeta de Genciana se usa como inhibidor ya que impide el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram-positivas).^{28, 30}

2.1 Medios de cultivo para *Streptococcus mutans*:

Actualmente hay 5 medios de cultivo diferentes para el aislamiento de *Streptococcus mutans*. Estos son:

- Agar Mitis *salivarius* con bacitracina (MSB)
- Agar Mitis *Salivarius* con bacitracina y kanamicina (MSKB)
- Agar glucosa-sacarosa-telurito bacitracina (GSTB)

- Agar Tripticasa de soya con sacarosa y bacitracina (TYS20B)
- Agar triptona extracto de levadura cisteína con sacarosa y bacitracina (TYCSB).²⁸

- ***Tinciones diferenciales***

Son aquellas que utilizan más de un colorante y sirven para poner de manifiesto algún carácter propio del microorganismo.³⁰

- ***Tinción de Gram***

La tinción de Gram es la tinción diferencial que más se emplea en microbiología, fue desarrollada por Christian Gram en 1883, permite la separación o clasificación de bacterias en dos grupos: Gram + y Gram -.^{28, 30}

En el proceso de tinción se emplean 4 tipos de soluciones:

- Cristal violeta, que es un colorante básico.
- Lugol, que sirve para reforzar o potenciar la acción del cristal violeta.
- Alcohol, sirve para decolorar las células que están teñidas.
- Solución de contraste (fucsina 30 segundos, safranina 1 minuto) y es la que nos va a diferenciar el color final.²⁸

Los microorganismos no se decoloran fácilmente sino que retienen el color del colorante inicial (básico), las células que retienen este colorante básico inicial, son las que van a quedar teñidas de color violeta, mientras que las demás van a quedar de color rojizo.^{28, 30}

Esto se debe a la diferencia en su pared celular y básicamente hay dos causas de diferencia que son:

- A la cantidad de fosfolípidos que tienen las Gram – es mayor que las Gram+.
- A los peptidoglicanos, que es mayor en las Gram+ que en las Gram-.²⁸

El alcohol en las Gram- va a extraer los lípidos de la pared con lo cual aumentan los poros de esa pared y sale el colorante de cristal violeta. En las Gram+, que tienen menos

lípidos, ocurre una deshidratación de la pared y por lo tanto disminuyen los poros de la pared, entonces no sale el cristal violeta.²⁸

La fucsina es un colorante de contraste, en las Gram- va a quedar teñida de color rojo o rojizo y en las Gram+ queda de color azul (violeta).³⁰

Las Gram-, tienen gran cantidad de lípidos en su pared, el alcohol los extrae, origina grandes poros en su pared y a través de ellos el complejo cristal violeta – yodo, puede salir permitiendo que en su lugar sea ocupado por el colorante fucsina tomando por tanto un color entre rojo y rosado. Las Gram+, al actuar el alcohol se produce deshidratación. Al complejo cristal violeta – yodo debido a que disminuyen los poros de la pared y quedan teñidos de color púrpura – violeta.²⁸

3. CEPILLOS DENTALES

3.1 Definición

Es un instrumento de higiene oral utilizado para limpiar los dientes y las encías, para la remoción del biofilm o placa dental, es la principal arma para la higiene bucal por lo que es ampliamente utilizado.¹⁴ La mayoría de los dentistas recomiendan utilizar cepillos de cerdas suaves para evitar el daño a la capa de esmalte dental o la irritación de las encías que unas cerdas más duras podrían provocar.²

Aunque el cepillo dental es una herramienta indispensable para garantizar la salud dental, este elemento puede convertirse en nocivo si no se tiene en cuenta que deben desecharse cada cierto tiempo y desinfectar diariamente.³¹

3.2 Tipos

- Cepillo convencional. Con tres o cuatro tiras de cerdas. Es el que usamos normalmente.
- Cepillo periodontal. También llamado sulcular o crevicular. Tiene dos tiras de cerdas. Se utiliza en casos de inflamación gingival y surcos periodontales profundos. También es recomendable en niños con ortodoncia fija.
- Cepillo eléctrico. Tiene tres tipos de movimiento: horizontal, alternado, vertical, arqueado o vibratorio. Pueden ser especialmente útiles en personas disminuidas

física o mentalmente, debido a la simplicidad de la operación por parte del paciente o por quien lo ayude.

- Cepillos interproximales. Constituyen un penacho para los espacios interdientales.²⁵

El tiempo de vida promedio de un cepillo dental es de tres meses. Sin embargo, esto es muy variable, de manera que debemos cambiar el cepillo, cuando las cerdas empiezan a doblarse hacia los lados, ya que esto podría dañar las encías; además, el cepillo pierde su función de limpieza. No se debe colocar dentro de estuches o bolsas que impidan el secado. Tampoco debe estar en contacto con cerdas de otros cepillos. El cepillo es de uso personal. El odontólogo es el profesional que indicará cual es el más adecuado para cada persona. Existen otros tipos de cepillos que serán indicados por el odontólogo en tratamientos especiales.³¹

3.3 Características del cepillo dental.

La cabeza del cepillo debe ser pequeña y compacta; en ella estarán ubicadas las cerdas, las que serán de nylon, todas de la misma altura; es decir, que la superficie activa es plana. El cepillo para adulto tendrá cuatro hileras en sentido longitudinal y el de los niños será de tres hileras. La textura de las cerdas conviene que sea blanda o suave para no lastimar las encías. El extremo plástico de la cabeza debe ser redondeado. El cuello debe ser más angosto que la cabeza y el mango; y cuanto más largo mejor, para darle flexibilidad al cepillo. El mango debe ser recto y lo suficientemente cómodo para tomarlo con la palma de la mano.^{31, 3}

3.4 Diseño y partes del cepillo dental.

El cepillo dental constituye por sí mismo el instrumento más eficaz y excelente para la eliminación de la placa bacteriana, siempre que reúna las condiciones adecuadas de naturaleza y diseño, basados en la calidad de los materiales que lo componen y en las normas específicas de fabricación. Un cepillo dental consta de cuatro partes: el mango, el cuello, la cabeza y los filamentos (o cerdas). Cada uno puede tener distintas formas, estar hecho de diferentes materiales.²⁵

- El mango: El papel del mango es básicamente el de facilitar la función de la parte activa del cepillo. Su diseño tiene repercusión en la comodidad que se experimenta al emplear el cepillo, no en la eficacia clínica del cepillado. Hoy se tiende a crear mangos con materiales antideslizantes y con formas anatómicas, que faciliten la

sujeción y eviten molestos e imprevistos desplazamientos al manejarlos con las manos húmedas.

- El cuello: El cuello del cepillo es la prolongación del mango y es la parte que le confiere ergonomía y comodidad al cepillado. Existen cuatro diseños básicos de cuellos que diferencian las cuatro modalidades de mango: recto, angulado, en estribo y en estribo-angulado. El mejor diseño corresponde al cuello recto, el cual permite una técnica de cepillado eficaz. El resto de las formas obedece la mayoría de veces, a innovaciones de mercado y que en la mayoría de los casos, dificulta el posicionamiento indicado por el profesional.
- La cabeza: Es la parte activa del cepillo. Sobre ella se insertan los filamentos encargados de la función limpiadora. Es la zona que más profundamente entra en la boca y tiene que moverse por áreas pequeñas y recónditas de difícil acceso. Por ello, debe ser pequeña, de tejidos blandos y preferiblemente plana.
- Los filamentos: Los filamentos (denominados también cerdas por el material que primitivamente se utilizaba en su fabricación), son los encargados últimos de realizar la función limpiadora del cepillo dental. Han sufrido variaciones tanto en el material de confección como en su disposición en la cabeza del cepillo.²⁵

3.5 Contaminación de cepillos

En muchos casos los mondadientes metálicos eran menos peligrosos para la salud que los cepillos de pelo de animal duro y cuando el bacteriólogo francés Louis Pasteur expuso en el siglo XIX su teoría sobre los gérmenes, los dentistas comprobaron que todos los cepillos de pelo de animal (que conservan la humedad) acaban por acumular bacterias y hongos microscópicos y que la perforación de una encía por las agudas puntas de los cerdas puede ser causa de las numerosas infecciones en la boca. Esterilizar el cepillo de pelo de animal con agua hirviendo presentaba el inconveniente de ablandarlos excesivamente para siempre, e incluso destruirlos por completo y los cepillos de calidad fabricados con pelo de animal eran demasiado caros para permitir su frecuente sustitución.¹⁸

La boca es el hogar de millones de gérmenes. Al remover la placa y la suciedad de los dientes, los cepillos dentales se contaminan con bacterias, sangre, saliva y detritos bucales. Debido a esta contaminación, una recomendación es enjuagar su propio cepillo

con agua de la llave después de cada cepillado. Algunas investigaciones han sugerido que, aun después de un profundo enjuague, los cepillos dentales permanecen contaminados con organismos potencialmente patogénicos. En respuesta a esto, se han desarrollado diversos medios de limpieza, desinfección o esterilización de los cepillos dentales en uso.¹⁸

3.6 Recomendaciones para el cuidado del cepillo dental:

- No compartir los cepillos dentales. El intercambio de fluidos corporales que esto promovería, aumenta el riesgo de contraer infecciones para quienes los compartan. Esta es una consideración particularmente importante para las personas con sistemas inmunes comprometidos o con enfermedades infecciosas.
- Después del cepillado, se debe enjuagar el cepillo dental cuidadosamente con agua corriente para asegurarse de remover la pasta dental y los detritos, dejarlo secar al aire libre, y guardarlo en posición vertical con las cerdas hacia arriba. Si varios cepillos comparten el mismo cepillero, no permita que haya contacto entre ellos.
- No es necesario remojar los cepillos dentales en soluciones desinfectantes o enjuagues bucales. En realidad, esta práctica puede provocar la contaminación entre cepillos si la solución se utiliza durante un periodo largo o si varios usuarios la comparten.
- Tampoco es necesario utilizar lava-vajillas, dispositivos de microondas o rayos ultravioleta para desinfectar los cepillos dentales. Estas medidas pueden dañarlos.
- No mantener los cepillos cubiertos ni los guardar en recipientes cerrados. Estas condiciones (un ambiente húmedo) son más propicias para el crecimiento bacteriano que el aire libre.
- Reemplazar el cepillo dental cada 3-4 meses, o antes si las puntas de las cerdas aparecen gastadas o dobladas. Recomendación de la ADA está basada en la vida útil del cepillo dental y su posterior pérdida de efectividad mecánica.^{2,25}

4. FITOTERAPIA

4.1 Definición:

La fitoterapia (del griego fyton, “planta”, “vegetal” y therapeia, “terapia”), conocida también como herbolaria (del latín herba, “hierba”) es la ciencia del uso extractivo de

plantas medicinales o sus derivados con fines terapéuticos, para prevención o tratamiento de patologías. La materia prima vegetal de la que hace uso, sometida a los procedimientos galénicos adecuados permite obtener lo que se conoce como fitofármaco.²⁰

La Fitoterapia moderna, se basa en el conocimiento de la Farmacología, y considera los aspectos farmacodinámicos y farmacocinéticos de los medicamentos basados en plantas medicinales, en estudios preclínicos y clínicos, aunque tiene su punto de origen en el conocimiento ancestral y la experiencia de prueba y error heredada de las pasadas generaciones.³⁰ Las propiedades antimicrobianas encontradas en algunas plantas se explican por las sustancias terpenoides presentes en la fracción de aceite esencial extraída. También existen reportes de actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora de los aceites de diversas plantas.²⁰ Se sabe que hay gran cantidad de plantas que suelen ser usadas como antimicrobianos, entre ellas se encuentra la *Camellia sinensis* o comúnmente conocida como té verde. Se ha demostrado que esta planta tiene propiedades antimicrobianas frente a diversos microorganismos comúnmente encontradas en la cavidad oral.²⁴

4.2 Reseña histórica:

La práctica de la fitoterapia es casi tan antigua como el hombre. La fitoterapia es la medicina más antigua y probada del mundo. De forma obligada los individuos y sociedades prehistóricas mantenían un fuerte contacto con la naturaleza la cual, al principio, de una forma accidental repercutía en el hombre, ya fuera por la ingesta de plantas tóxicas o venenosas, picaduras de insecto, etc. Estas situaciones pasaban a formar parte de la experiencia de las comunidades antiguas que comprendían que la naturaleza era fuente de sustancias con propiedades curativas.²¹

Los primeros documentos escritos, que nos hablan acerca del uso de las plantas medicinales, los encontramos con una antigüedad de unos 4.000 años a.C. Tenemos también los ideogramas de los Sumerios escritos unos 2.500 años a.C., donde encontramos descripción de plantas usadas con fines medicinales. En el código de Hamurabi, unos 2.000 años a.C. encontramos como los babilónicos usaban ya muchas plantas para restaurar su salud; entre ellas tenemos: la menta, el sen, el beleño, ajo, adormidera, cáñamo, etc.²⁰

Los egipcios y los griegos también dejaron documentos donde se comprueba el uso de los productos naturales en la salud. También se sabe cómo en la India también se han usado las plantas medicinales.²¹

4.3 *Camellia sinensis*, “Té verde”

El té es un producto elaborado de la hoja y brotes de la planta *Camellia sinensis*, es la segunda bebida más consumida en el mundo después del agua, muy por encima del café, la cerveza, el vino y bebidas gaseosas. Originaria de China, el té ha ganado su espacio en sabor alrededor del mundo en los últimos 2000 años.¹⁹ Actualmente, el té es consumido no sólo como una bebida popular, sino también porque sus extractos han sido preparados en una variedad de formas (infusiones, extractos y polvos) y están también disponibles en un amplio rango de alimentos, bebidas y productos de cosmética.²⁰⁻²⁴

4.4 Características del Género *Camellia*:

Planta, de origen asiático, introducida al continente americano a finales del siglo XVIII donde adquirió el nombre de "Chinesse Tea". El nombre *Camelia* se acredita al misionero jesuita George Josef Kamel quien estudiara esta planta en las Filipinas donde realizó diversas investigaciones para conocer su utilidad, ya que la flor aparte de su belleza era usada por los asiáticos como té. Sus flores de consistencia cerosa miden de cuatro a quince centímetros y pueden presentarse en formas sencillas o dobles, dentro de uno o varios tallos que varían en longitud y grosor, el arbusto es perenne y la flor únicamente puede encontrarse en los meses de primavera, sus hojas no obstante pueden usarse a lo largo de todo el año como follaje.^{20, 33}

4.5 Clasificación científica:

Reino: Plantae.

Orden: Ericales.

Familia: Theaceae.

Género: *Camellia*.

Especie: *C. Sinensis*.

Nombre binomial: *Camellia sinensis*.²⁴

4.6 Composición de las hojas de té verde³⁴

CUADRO N° 1 COMPOSICIÓN DE LAS HOJAS DE TÉ (% PESO SECO)

Polifenoles	36	Metilxantinas (cafeínas)	3,5
Carbohidratos no digeribles	25	Lípidos	2
Proteínas	15	Ácidos orgánicos	1,5
Lignina	6,5	Clorofila	0,5
Minerales	5	Carotenoides	<0,1
Aminoácidos	4	Volátiles	<0,1

Fuente: Staszewski M.; 2011³⁴

4.7 Polifenoles de té

Los polifenoles son un amplio grupo de metabolitos secundarios que abundan en las plantas. Cumplen importantes funciones como agentes de defensa contra estreses bióticos (patógenos y herbívoros) y abióticos (radiaciones ultravioletas y sequía). El té presenta una de las concentraciones más altas en polifenoles, hasta un 30% de su peso seco. A modo comparativo, el contenido de polifenoles en el té verde se encuentra en un rango de 800 a 2400 mg/L mientras el vino tinto posee entre 1000 y 4000 mg/l.³⁴ Dentro de éstos se agrupan las catequinas, compuestos hidrosolubles sin color, que imparten amargor y astringencia a las infusiones de té verde. Las catequinas más abundantes en las hojas frescas de té y en el té verde son (-)-epigallocatequina galato (EGCG), (-)-epigallocatequina (EGC), (-)-epicatequina galato (ECG) y (-)-epicatequina (EC).³⁴ Numerosos estudios han demostrado que el extracto acuoso de epigallocatequinas (GTP) posee propiedades antimutagénicas, antidiabéticas antibacterianas, antiinflamatorias e hipocolesterolémicas.²⁰

4.8 Propiedades antimicrobianas de los polifenoles

La mayoría de los polifenoles presentan actividad antimicrobiana. La tolerancia de las bacterias a los mismos depende de la especie bacteriana en cuestión y de la estructura del polifenol. Los polifenoles pueden inhibir el crecimiento de algunos microorganismos patógenos. En general se observa una mayor resistencia de las bacterias Gram negativas comparadas con las Gram positivas y el hecho de que los extractos de té verde inhiban a microorganismos contaminantes de alimentos pero que no afecten a las bacterias intestinales supone una gran ventaja para el uso de este producto como antimicrobiano natural.^{33, 34}

Aunque algunos autores han llevado a cabo estudios sobre el mecanismo de acción antibacteriano de los polifenoles del té, el mecanismo de acción exacto aún no está claro. Adicionalmente, los polifenoles pueden interferir con funciones de la membrana plasmática (transporte de electrones, absorción de nutrientes, síntesis de ácidos nucleicos y actividad enzimática) e interactuar con proteínas de la membrana causando deformaciones en la estructura y funcionalidad de la misma.³⁴

Estudios demuestran que las catequinas (polifenoles) actúan principalmente sobre la membrana dañando las bicapas lipídicas, posiblemente por penetración directa y disrupción de la función de barrera. Alternativamente, los polifenoles pueden cambiar la fluidez de la membrana y causar fusiones de membranas, proceso que puede resultar en la pérdida de material intracelular y agregación de células.³⁴

4.9 Propiedades antioxidantes de los polifenoles

Los polifenoles del té pueden actuar como antioxidantes mediante la donación de un átomo de hidrógeno, como aceptores de radicales libres, como interruptores de reacciones de oxidación en cadena o mediante la quelación de metales. Numerosos estudios *in vitro* han demostrado que los polifenoles del té son neutralizadores efectivos de especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno. Diferentes estructuras de las catequinas parecen estar involucradas en su acción antioxidante. Por lo tanto, la capacidad antioxidante de las catequinas se debe a su alto número de grupos OH en sus estructuras. Por otro lado, la habilidad de los polifenoles para quelar iones metálicos como el hierro o el cobre también podría contribuir a su actividad antioxidante porque prevendría que los mismos catalicen la formación de radicales libres.³³

4.10 Propiedades benéficas para la salud de los polifenoles

Los radicales libres son considerados como la mayor causa de enfermedades crónicas y degenerativas como hipertensión, aterosclerosis, alzheimer, Parkinson, diabetes y muchos otros desórdenes relacionados como enfermedades cardiovasculares, cáncer y alergias. Esto se debe a que los radicales libres pueden disparar reacciones en cadena que causan daño oxidativo a biomoléculas como el ADN y a estructuras biológicas sensibles como las membranas celulares.³⁴ Recientemente, el té ha atraído más atención debido a que representa una rica fuente de antioxidantes naturales, los cuales pueden reducir la oxidación de lípidos y la acumulación de colesterol disminuyendo la incidencia de aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares. Los polifenoles

presentes en el té poseen una fuerte actividad antioxidante y secuestradora de radicales libres, resultando más efectivos que las vitaminas C y E para proteger células del daño de radicales libres.^{20, 34} Paralelamente, se ha informado que también posee propiedades benéficas para la salud como agente anti-mutagénico y anti-carcinogénico ya que estudios con animales indicaron que el consumo de té verde podría tener efectos significativos en la reducción del número de tumores y en su crecimiento. Los efectos anticancerígenos se observaron en diversos tejidos y órganos incluyendo boca.³⁴

4.11 Usos y Aplicaciones de la especie *Camelia sinensis*

El té verde ha sido considerado una medicina y bebida curativa desde tiempos antiguos. La Medicina Tradicional China la ha recomendado para dolores de cabeza y de cuerpo, digestión, depresión, desintoxicador, como energizante y, en general, para prolongar la vida.²²

Las hojas del té verde contienen 3 principales componentes que actúan en beneficio de la salud humana: bases xánticas (cafeína y teofilina), aceites esenciales y especialmente, componentes polifenólicos. La cafeína actúa principalmente sobre el sistema nervioso central, estimulando la vigilia, facilitando asociación de ideas y disminuyendo la sensación de fatiga. Algunos de los efectos ocasionados por la cafeína son influenciados por la teofilina. La teofilina induce actividad psicoactiva, además posee un leve efecto inotrópico y vasodilatador, y un efecto diurético mayor que la cafeína. Sin embargo, sus efectos más interesantes pueden ser vistos a nivel respiratorio y broncopulmonar. La teofilina causa una relajación no específica en el músculo bronquial y la estimulación respiratoria también es observada.²⁰

- **Infusión**

Proceso que consiste en sumergir una hierba o ciertas partes de ella en agua para extraer sus principios activos. Se diferencia de la decocción en que el agua no debe llegar a hervir, como ocurre en ese caso. Sin embargo, a veces se denomina infusión a cualquier bebida preparada con alguna hierba en agua hirviendo, como, por ejemplo, el té.²⁰

4.12 *Camellia sinensis* en Odontología

Aparte de los polifenoles del té verde el fluoruro natural que posee presenta también efectos benéficos en la salud oral; estudios han demostrado que después de una limpieza de la boca con té, aproximadamente el 34 % del fluoruro es retenido y muestra una fuerte habilidad de unión a interactuar con los tejidos orales y en la superficie de sus tegumentos. Este contenido en fluoruro tendría un impacto beneficioso sobre la caries y podría llevar a cabo un amplio rango de actividades incluyendo prevención en pérdida de dientes y en cáncer oral. Últimos reportes experimentales en animales y humanos sugieren que el consumo de té verde (sin añadir azúcar) reduce la caries dental.^{20, 21}

Muchos estudios han indicado que el GTP inhibe el crecimiento, producción de ácidos, metabolismo, y actividad de la enzima glucosiltransferasa del *S. mutans* y la placa dental. En consecuencia, el té verde ha sido considerado como comida funcional para salud oral y es ampliamente recomendada en formulaciones de pastas dentales. La información ha sugerido que el extracto de epigallocatequinas (GTP) sería el responsable para los efectos más notorios en salud oral y también ha sido demostrado que GTP más que el fluoruro contribuye al potencial anticariogénico por inhibición de crecimiento de bacterias como la *Escherichia coli*, *Streptococcus salivarius*, y *Streptococcus mutans*.^{20, 34}

Linke y LeGeros indicaron que el consumo frecuente de té verde puede disminuir significativamente la formación de caries, aún con la presencia de azúcares en la dieta. Estudios recientes de Okamoto *et al.* sugieren que las catequinas presentes en el té verde tienen potencial para reducir el daño periodontal resultante de la potente actividad de la proteinasa de *Porphyromonas gingivalis*. Así también, de cocciones de té verde inhiben la amilasa en saliva humana, reduciendo la liberación de maltosa en un 70 % y disminuyendo efectivamente el potencial cariogénico de almidón contenido en comida. Es probable que la competencia cariogénica en una dieta cariogénica podría ser reducida por la presencia simultánea de té verde en la dieta.^{20, 33-35}

HIPÓTESIS

- Dado que estudios realizados sobre *Camellia sinensis* demuestran su efecto antimicrobiano, es probable que la infusión de *Camellia sinensis* al 20% tenga un

efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* en cepillos dentales usados por estudiantes de I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015

OBJETIVOS DEL ESTUDIO

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* sobre *Streptococcus mutans* en cepillos dentales usados por estudiantes de I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar la cantidad de unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales antes de la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis*, luego de cinco (5) días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015.
2. Determinar la cantidad de unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales después de la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20%, luego de cinco (5) días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015.
3. Comparar la actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* frente a un colutorio convencional (clorhexidina 0,12%) y agua potable de uso común, sobre *Streptococcus mutans* según el número de unidades formadoras de colonia en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015.

UTILIDAD DE LOS RESULTADOS DE ESTUDIO

En base a los resultados obtenidos en este estudio se puede afirmar que la infusión de Té verde al 20% tiene un efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* brindando así un desinfectante de origen natural, práctico, de bajo costo al alcance de la población. Aportando datos e información científica para desarrollar métodos de desinfección en cepillos dentales.



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

METODOLOGÍA

1. Tipo de estudio:

Experimental: Porque presenta variables independientes (infusión de *Camellia sinensis* al 20%, clorhexidina 0,12%) y variable dependiente (efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*), para este tipo de estudio se manipula intencionalmente a la variable independiente, para medir el efecto que tiene sobre la variable dependiente, para éste estudio se medirá el efecto antibacteriano de la infusión mediante el recuento de unidades formadoras de colonias.

Longitudinal: Porque el periodo de tiempo en el que se ejecutó la investigación fue progresivo, en un periodo de cinco semanas. En la primera semana se brindó la información necesaria a los participantes de la investigación. En la segunda semana los estudiantes realizaron su cepillado normal. En la tercera semana se procesaron las muestras. En la cuarta semana los estudiantes realizaron su cepillado y después de cada cepillado se aplicaron infusión de *Camellia sinensis* al 20%, clorhexidina 0,12% y agua potable a chorro según el grupo al que correspondía cada participante. Seguidamente en la quinta semana se realizó el procesamiento de muestras.

Prospectivo: Porque los datos de la población se obtuvieron desde el inicio de ejecución lo cual indica que se realizó en tiempo presente, a diferencia de estudios retrospectivos donde se consideran datos en tiempo pasado.

2. Universo y muestra de la investigación:

- **Universo:**

Estuvo constituido por los cepillos dentales de los estudiantes de primer a tercer grado de secundaria a quienes se les hizo una revisión bucal para establecer la cantidad de muestra de acuerdo a los criterios de inclusión; de los 65 estudiantes a los cuales se les hizo la revisión bucal 54 presentaban las características necesarias para participar de la investigación, sin embargo 9 estudiantes no pudieron participar porque no tenían la autorización de sus padres o apoderado, 4 estudiantes no deseaban participar en la investigación, 5 estudiantes no asistieron regularmente y no completaron el tiempo de cepillado establecido.

• **Muestra:**

No probabilística por conveniencia ya que se seleccionó la muestra de acuerdo a las características requeridas para la investigación. La muestra estuvo constituida por 36 cepillos dentales (36 estudiantes), cantidad que corresponde al 55% de la población.

- Criterios de inclusión: Cepillos dentales en uso por estudiantes de 12 a 14 años de la I.E.S. San Antonio de Padua de Puno que presenten al menos cinco (05) piezas dentarias con caries activas, que no estén bajo tratamiento con antibióticos, analgésicos y/o antiinflamatorios.
- Criterios de exclusión: Cepillos dentales de estudiantes con ninguna o cuatro (04) piezas dentarias con caries, que no hayan concluido los cinco (05) días consecutivos en uso.

3. Operacionalización de variables: CUADRO N°2

VARIABLE	CONCEPTO	DIMENSION	INDICADOR	SUBINDICADOR	ESCALA
VARIABLE INDEPENDIENTE:					
<i>Camellia sinensis</i> (Té verde)	Planta, de origen asiático.	Infusión.	Dosis de aplicación.	-	20%
Clorhexidina	Agente antimicrobiano más estudiado, capaz de mantener las superficies dentarias libres de placa.	Colutorio.	Dosis de aplicación.	-	0,12%
VARIABLE DEPENDIENTE					
Efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i>.	Capacidad de disminuir y/o eliminar a <i>Streptococcus mutans</i> .	-	Crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> en medio de cultivo.	Agar mitis salivarius.	Recuento de UFC

Elaboración propia

4. Instrumento:

Ficha de recolección de datos estructurada. (ANEXO 1)

5. Técnicas y procedimientos de recolección de datos:

Técnica: Observación.

Procedimiento para la recolección de datos:

Se realizó una prueba piloto con la finalidad de determinar el efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* a cuatro concentraciones (5, 10, 20 y 30%) mediante la técnica de difusión en agar, para lo cual se escogieron al azar a siete (07) estudiantes correspondiente al 11% de la población a los cuales se les hizo entrega de un cepillo y pasta dental nuevos, los cuales se usaron durante cinco (05) días. Finalmente los cepillos fueron transportados al laboratorio microbiológico para el análisis correspondiente. Como resultado se obtuvo que las concentraciones de la infusión de *Camellia sinensis* al 20 y 30% tuvieron efecto antibacteriano similar e incluso ligeramente mayor a la clorhexidina al 0,12%, ya que sus halos inhibitorios así lo determinaron. Al no haber diferencias significativas en el efecto antibacteriano de las concentraciones de la infusión de *Camellia sinensis* al 20 y 30% se determinó trabajar con la infusión al 20%. Los resultados de ésta prueba piloto se adjuntan en ANEXO 8.

Obtención de la infusión de *Camellia sinensis* (Té verde) al 20%:

Las hojas de té verde fueron adquiridas de una casa naturista de la ciudad de Lima.

- Se pesó 20 gr. de la planta (*Camellia sinensis*) en una balanza analítica.
- Se hirvió 100 ml de agua en un recipiente de acero inoxidable.
- Se sumergió los 20 gr de *Camellia sinensis* en los 100 ml de agua para reposar por 10 minutos.

DETERMINACIÓN LA CANTIDAD DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA DE *Streptococcus mutans* EN CEPILLOS DENTALES ANTES DE LA APLICACIÓN DE LA INFUSIÓN DE *Camellia sinensis*, LUEGO DE CINCO (5) DÍAS DE USO POR ESTUDIANTES DE LA I.E.S. SAN ANTONIO DE PADUA, PUNO - 2015.

PRIMERA FASE: PRE-INTERVENCIÓN

a) Recolección de la muestra:

1. En la primera visita a los estudiantes de la I. E. S. San Antonio de Padua se realizó la presentación y explicación del proyecto de investigación, se indicó brevemente como sería su participación, el tiempo que duraría su participación y además que no estaban obligados a participar y que era necesario el consentimiento de su padres para su participación, dicho acto se realizó en cada aula.
2. En la segunda visita se realizó una charla educativa acerca de higiene bucal y se enseñó una técnica de cepillado (técnica de Bass modificado) con ayuda de un rotafolio, tipodon, cepillo e hilo dental. Se recogieron los consentimientos informados de los padres y/o apoderados, entregados en la primera visita.
3. En la tercera visita a la institución se realizó una revisión de la cavidad bucal a 65 estudiantes pieza dentaria por pieza dentaria con ayuda de un espejo bucal N° 3 y un explorador bucal monoactivo para determinar el número de caries activas de cada estudiante lo cual fue útil para determinar la población específica de acuerdo a los criterios de selección de muestra, encontrándose que 54 estudiantes cumplían con las características necesarias de la población.
4. En la cuarta visita a la institución se les hizo entrega de un cepillo dental nuevo y una pasta dental para cada estudiante, seguidamente se les indicó que se cepillen los dientes aplicando la técnica de cepillado enseñada, además que enjuagarán sus cepillos con agua potable (de caño) a chorro por cinco segundos.
5. Después de cada cepillado se recogieron los cepillos, y se conservaron en cepilleros hasta el siguiente uso, con el objetivo de evitar pérdidas de cepillos o que los participantes olvidaran el cepillo para el siguiente uso.
6. Al cabo de cinco días de uso se recogieron los cepillos, cada uno en una bolsa de plástico estéril para transportarlos a las instalaciones del laboratorio microbiológico

de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano para el procesamiento de muestra.

b) Procesamiento de muestras:

1. Se introdujeron los cepillos dentales con la cabeza hacia abajo, en tubos de ensayo estériles los cuales contenían 5 ml del medio de transporte (tioglicolato) por 30 minutos para mantener la viabilidad del microorganismo.
2. Seguidamente se agitó cada cepillo en el medio de transporte por 2 minutos para permitir que las bacterias presentes en las cerdas de los cepillos sean recepcionadas en el medio de transporte.
3. Finalmente se retiró cada cepillo del medio de transporte quedando los 5 ml del medio como muestra.

c) Cultivo de muestras en agar Mitis Salivarius

FUNDAMENTO: Agar Mitis Salivarius es un medio selectivo utilizado para diferenciar entre especies de *Streptococcus* y género *Enterococcus*. Contiene digerido enzimático de caseína y recopilación enzimática de tejidos de animales que proveerá de carbono, nitrógeno y aminoácidos requisitos generales para crecimiento en agar. Sacarosa y dextrosa son fuentes de carbohidratos. El fosfato dipotásico es el agente tampón. Azul de tripano es absorbida por las colonias, produciendo un color azul. Cristal violeta y telurito de potasio (1%) para inhibir la mayoría de bacilos Gram negativos y algunas bacterias Gram positivas, excepto *Streptococcus*. Agar es el agente solidificante.²⁹

Procedimiento:

1. Se preparó el agar selectivo (Mitis Salivarius) de acuerdo a las indicaciones del fabricante.
2. Se esterilizó el agar en autoclave a 121° C por 15 minutos.
3. Se vertió el agar Mitis Salivarius en placas Petri estériles, hasta obtener una altura de 4 mm equivalente a 60-70 ml de agar.
4. Se inoculó los 5 ml de la muestra sobre el agar líquido y se mezcló ambas soluciones mediante la técnica por dispersión haciendo movimientos en forma de ocho para obtener una mezcla homogénea.
5. Se incubó en anaerobiosis a 37° C por 48 horas.

6. Finalmente se hizo el recuento de UFC de *Streptococcus mutans* observando las características macroscópicas de las colonias: forma convexa, de borde ondulado, de color azul oscuro.
7. Además se hizo la tinción de Gram para identificar a *Streptococcus mutans*.

DETERMINACIÓN LA CANTIDAD DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA DE *Streptococcus mutans* EN CEPILLOS DENTALES DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE LA INFUSIÓN DE *Camellia sinensis* AL 20%, LUEGO DE CINCO (5) DÍAS DE USO POR ESTUDIANTES DE LA I.E.S. SAN ANTONIO DE PADUA, PUNO - 2015.

SEGUNDA FASE: INTERVENCIÓN

a) Aplicación de la infusión de *Camellia sinensis*, clorhexidina y agua potable:

1. Se dividió la población en grupo experimental (infusión de *Camellia sinensis*) constituido por 30 estudiantes y grupos control (clorhexidina y agua) constituidos por 03 estudiantes cada grupo.
2. Se entregó otro cepillo dental nuevo para cada estudiante, se les indicó que se cepillen los dientes al igual que en la primera fase.
3. Después de cada cepillado se aplicó: al grupo experimental infusión de *Camellia sinensis* al 20% en aerosol; al grupo control clorhexidina 0,12% en aerosol.
4. Se aplicó el aerosol en las cinco superficies externas de las cerdas de los cepillos.
5. A los estudiantes que conformaban el grupo control agua se les indicó que enjuagaran sus cepillos por 10 segundos en agua potable (de caño) a chorro.
6. La conservación de los cepillos después de cada uso fue la misma que en la primera fase.
7. Al cabo de cinco días de uso se recogieron los cepillos, cada uno en una bolsa de plástico estéril al igual que en la primera fase, para transportarlos a las instalaciones del laboratorio microbiológico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano para el procesamiento de muestra.

TERCERA FASE: POST-INTERVENCIÓN

a) Procesamiento de muestras:

Procedimiento:

1. Se introdujeron los cepillos dentales con la cabeza hacia abajo, en tubos de ensayo estériles los cuales contenían 5 ml del medio de transporte (tioglicolato) por 30 minutos para mantener la viabilidad del microorganismo.
2. Seguidamente se agitó cada cepillo en el medio de transporte por 2 minutos para permitir que las bacterias presentes en las cerdas de los cepillos sean recepcionadas en el medio de transporte.
3. Finalmente se retiró cada cepillo del medio de transporte quedando los 5 ml del medio como muestra.
4. Se preparó el agar selectivo (Mitis salivarius) de acuerdo a las indicaciones del fabricante.
5. Se esterilizó el agar en autoclave a 121° C por 15 minutos.
6. Se vertió el agar Mitis salivarius en placas Petri estériles, hasta obtener una altura de 4mm equivalente a 60-70 ml de agar.
7. Se inoculó los 5 ml de la muestra sobre el agar líquido y se mezcló ambas soluciones mediante la técnica por dispersión haciendo movimientos en forma de ocho para obtener una mezcla homogénea.
8. Se incubó en anaerobiosis a 37° C por 48 horas.
9. Finalmente se hizo el recuento de UFC de *Streptococcus mutans* observando las características macroscópicas de las colonias: forma convexa, de borde ondulado, de color azul oscuro.

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL GRUPO EXPERIMENTAL Y LOS CONTROLES POSITIVO Y NEGATIVO, SOBRE *Streptococcus mutans* SEGÚN EL NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA EN CEPILLOS DENTALES USADOS POR ESTUDIANTES DE LA I.E.S. SAN ANTONIO DE PADUA, PUNO – 2015.

Para realizar la comparación del efecto antibacteriano del grupo experimental y los controles se hizo una comparación del número de unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* obtenidas antes y después de la aplicación de cada una de las soluciones.

6. Consideraciones éticas:

Se procedió a pedir el permiso correspondiente a la directora de la I.E.S. San Antonio de Padua de Puno, se entregaron los consentimientos informados para padres y/o apoderados a cada estudiante, así mismo los asentimientos informados para cada estudiante en la primera visita a la institución. (ANEXO 2 y 3)

7. Plan de recolección de datos:

La recolección de datos fue organizada en la ficha de recolección de datos y en cuadros elaborados por el autor.

8. Diseño y análisis estadístico:

Prueba estadística de Kruskal-Wallis

Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis (de William Kruskal y W. Allen Wallis), es un método no paramétrico. Ésta prueba permite comparar tres o más poblaciones lo cual permitió comparar al grupo experimental (infusión de *Camellia sinensis* al 20%) y los controles (clorhexidina 0,12% y agua potable). Los recuentos de UFC de *Streptococcus mutans* tuvieron diferencia significativa porque se hallaron valores mínimo y máximo extremos lo cual es admitido por ésta prueba ya que no se requiere normalidad u homogeneidad en los datos. Se asumió, bajo la hipótesis nula, que la infusión de *Camellia sinensis* al 20% no tiene efecto antibacteriano.

La fórmula de cálculo fue la siguiente:

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \frac{\sum \frac{\sum Rc^2}{n_i}}{L} - 3(N+1)$$

Dónde:

H = Valor estadístico de la prueba de Kruskal-Wallis.

N = Tamaño total de la muestra.

Rc² = Sumatoria de los rangos elevados al cuadrado.

n_i = Tamaño de la muestra de cada grupo.

L = Ajuste dado por el ajuste de ligas o empates de los rangos.

El nivel de confianza fue del 95% ($\alpha = 0.05$).

RECURSOS

1. RECURSOS MATERIALES:

- Guantes
- Barbijos
- Espejos bucales
- Exploradores bucales
- Cepillos dentales
- Pastas dentales Colgate® Triple acción
- Vasos
- Tubos de ensayo
- Placas Petri
- *Camellia sinensis* (Té verde)
- Clorhexidina al 0,12% (PERIO-AID®)

2. RECURSOS HUMANOS:

- Personal en el laboratorio de microbiología.
- Estadista para el análisis estadístico.

3. RECURSOS INSTITUCIONALES:

- Aulas, servicios higiénicos y patio de la I.E.S. San Antonio de Padua de Puno.
- Laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano.



ÁMBITO DE ESTUDIO

1. ÁMBITO GENERAL DE ESTUDIO:

Puno



Ubicación: La región de Puno está ubicada en la parte sureste del territorio peruano entre los 13° 00' y 17° 08' latitud Sur y en los 71° 08' y 68° 50' longitud Oeste del meridiano de Greenwich, en un territorio de aproximadamente 72 000 km², representa el 5.6% del territorio peruano, con una población de 1 200 000 habitantes, de los cuales el 60% es rural y el 40% es urbano. El 70% del territorio está situado en la meseta del Collao y el 30% ocupa la región amazónica. La capital de la región es la ciudad de Puno, a orillas del mítico Lago Titicaca, el lago navegable más alto del mundo, a 3 827 m.s.n.m. Es el centro de conjunción de dos grandes culturas: quechua y aymara; las que propiciaron un patrimonio incomparable de costumbres, ritos y creencias. Las principales ciudades son: Puno, Juliaca, Juli, Azángaro, Lampa y Ayaviri.

Geografía: Puno se encuentra localizado en la sierra del sudeste del país en la meseta del Collao a: 13°00'66"00" y 17°17'30" de latitud sur y los 71°06'57" y 68°48'46" de longitud oeste del meridiano de Greenwich. Limita por el Sur, con la región Tacna. Por el Este, con la República de Bolivia y por el Oeste, con las regiones de Cusco, Arequipa y Moquegua. La región Puno se encuentra en el altiplano entre los 3,812 y 5,500 msnm y entre la ceja de selva y la Selva alta entre los 4,200 y 500 msnm. Cabe mencionar que la capital, Puno, está ubicada a orillas del Titicaca, y la ciudad más importante llamese Juliaca a 65km de esta última a una altura de 3825msnm.

2. ÁMBITO ESPECÍFICO DE ESTUDIO:

Las instalaciones de la I.E.S. San Antonio de Padua de la ciudad de Puno, ubicado en el cercado de la ciudad, entre las calles Huancané, Lima y Arequipa. El escenario principal en el cual se desarrolló el estudio fue en las aulas de primer, segundo y tercer grado, en el patio de la Institución Educativa.



Fuente diariocorreo.pe

El procesamiento de muestras se realizó en la Universidad Nacional del Altiplano-Puno; Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.



RESULTADOS

Determinación la cantidad de unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales antes de la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis*, luego de cinco (5) días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015.

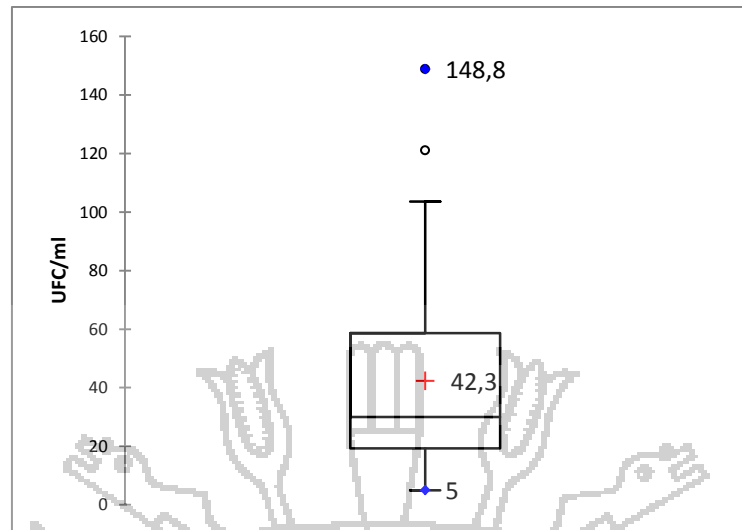
TABLA 1. Unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales antes de la aplicación de infusión de *Camellia sinensis* al 20%, luego de cinco días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015.

ESTADÍSTICOS	UFC/ml
No. de observaciones (Cepillos)	36
Mínimo	5,0
Máximo	148,8
Mediana	30,0
Promedio	42,3
Desviación estándar	33,1

Fuente: Elaboración propia

Se evaluó el nivel de contaminación por *Streptococcus mutans* de 36 cepillos dentales luego de cinco días de uso de los mismos, observándose amplia variación en el grado de contaminación de los cepillos usados por los estudiantes de acuerdo a las UFC de *Streptococcus mutans* observadas en cada muestra, así el valor mínimo observado fue de 5 UFC/ml y un valor máximo de 148,8 UFC/ml; el promedio de UFC observados en los 36 cepillos fue de 42,3 UFC/ml y la mediana de 30 UFC/ml, mientras que se observó una desviación estándar de 33,1 UFC/ml. La cantidad de UFC antes de la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% de todos los cepillos se pueden observar en la matriz de sistematización de datos (ANEXO 4).

FIGURA 1. Unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales antes de la aplicación de infusión de *Camellia sinensis* al 20%, luego de cinco días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015.



En la figura observamos un diagrama de caja y bigotes (Box - plot), el cual indica en el punto más alto (punto azul) la cantidad máxima de UFC de *Streptococcus mutans* observada en los cepillos dentales que es 148,8 UFC/ml, este valor es considerado atípico porque dista del límite superior. A continuación se observa el primer bigote (límite superior) el cual corresponde a la cantidad máxima de UFC según la figura que es 103,6 UFC/ml, seguido del tercer cuartil que corresponde al límite superior de la caja el cual indica el 25% de la muestra. Seguidamente se ubica a la mediana que coincide con el segundo cuartil (línea divisoria de la caja), el cual divide a la distribución en dos partes iguales, es decir, en el 50% por encima y 50% por debajo de la línea, el valor de la mediana es 30 UFC/ml. A continuación se ubica el primer cuartil que corresponde al límite inferior de la caja, por debajo de ésta línea se ubica el 25% de la cantidad de UFC observada, su valor es de 19.3 UFC/ml. Finalmente se ubica el segundo bigote (límite inferior) que corresponde al valor mínimo de UFC observado que es 5 UFC/ml, los valores que se encuentren por debajo se consideran atípicos. Además se observa una + (cruz) que indica el promedio de la distribución de datos que es 42.3 UFC/ml.

Determinación la cantidad de unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales después de la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20%, luego de cinco (5) días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015.

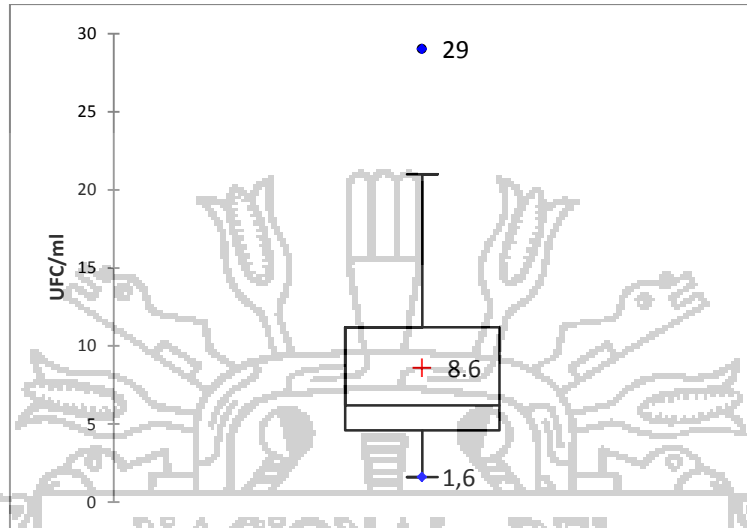
TABLA 2. Unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales después de la aplicación de infusión de *Camellia sinensis* al 20%, luego de cinco días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015.

ESTADÍSTICOS	UFC/ml
No. de observaciones	30
Mínimo	1,6
Máximo	29,0
Mediana	6,2
Promedio	8,6
Desviación estándar	6,3

Fuente: elaboración propia

Se aplicó la infusión de *Camellia sinensis* al 20% sobre 30 cepillos dentales en forma de aerosol después de cada uso de los mismos, tras cinco días de aplicación se hizo el recuento de las UFC halladas de cada muestra (cepillo), obteniéndose un recuento mínimo de 1,6 UFC/ml de *Streptococcus mutans* y un recuento máximo de 29 UFC/ml; con un promedio de 8,6 UFC/ml, una mediana de 6,2 UFC/ml y desviación estándar de 6,3 UFC/ml. Para observar la totalidad de los recuentos obtenidos de los 30 cepillos dentales tras la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% revisar ANEXO 5.

FIGURA 2. Unidades formadoras de colonia de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales después de la aplicación de infusión de *Camellia sinensis* al 20%, luego de cinco días de uso por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno - 2015.



En la figura observamos un diagrama de caja y bigotes (Box - plot), el cual indica en el punto más alto (punto azul) la cantidad máxima de UFC de *Streptococcus mutans* observada en los cepillos dentales tras la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% en 30 cepillos dentales, durante cinco días, que es 29 UFC/ml como valor atípico. A continuación se observa el primer bigote (límite superior) el cual corresponde a la cantidad máxima de UFC según la figura que es 21 UFC/ml, seguido del tercer cuartil con un valor de 11,2 UFC/ml, que corresponde al límite superior de la caja el cual indica el 25% de la muestra. Seguidamente se ubica a la mediana que coincide con el segundo cuartil (línea divisoria de la caja), el cual divide a la distribución en dos partes iguales, es decir, en el 50% hacia arriba y 50% hacia debajo de la línea, el valor de la mediana es 6,2 UFC/ml. A continuación se ubica el primer cuartil que corresponde al límite inferior de la caja, por debajo de ésta línea se ubica el 25% de la cantidad de UFC observada, su valor es de 4,6 UFC/ml. Finalmente se ubica el segundo bigote (límite inferior) que corresponde al valor mínimo de UFC observado que es 1,6 UFC/ml, los valores que se encuentren por debajo se consideran atípicos. Además se observa una + (cruz) que indica el promedio de la distribución de datos que es 8,6 UFC/ml.

Comparación de la actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* frente a un colutorio convencional (clorhexidina 0,12%) y agua potable de uso común, sobre *Streptococcus mutans* según el número de unidades formadoras de colonia en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015.

TABLA 3. Comparación de actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% frente a los controles clorhexidina 0,12% y agua potable sobre *Streptococcus mutans* según UFC en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015.

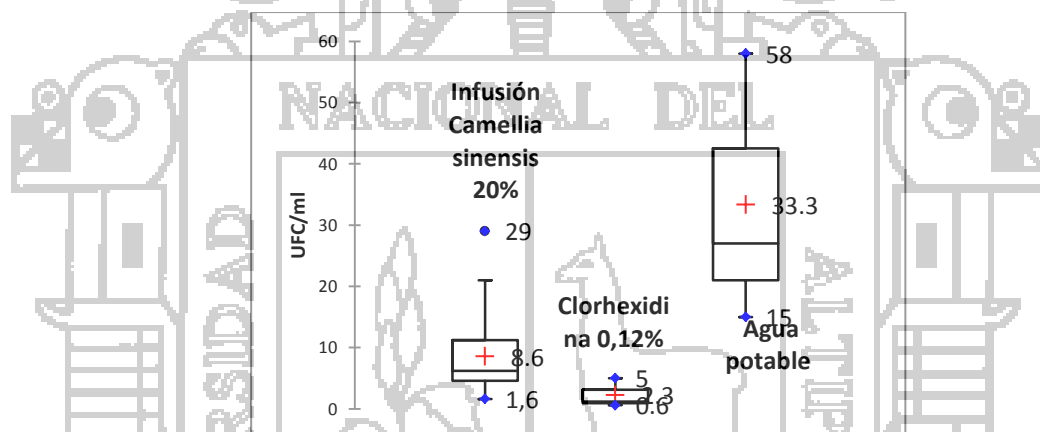
ESTADÍSTICOS	INFUSIÓN <i>Camellia sinensis</i> 20%		CLORHEXIDINA 0,12%		AGUA POTABLE	
	UFC/ml					
	ANTES	DESPUES	ANTES	DESPUES	ANTES	DESPUES
No. de observaciones (Cepillos)	30		3		3	
Mínimo	5,0	1,6	25,4	0,6	18,8	15,0
Máximo	121,8	29,0	148,8	5,0	62,0	58,0
Mediana	30,0	6,2	26,6	1,2	30,0	27,0
Promedio	40,3	8,6	66,9	2,3	36,9	33,3
Desviación estándar	33,1	6,3	40,9	2,4	22,4	22,2

Fuente: Elaboración propia

Para realizar la comparación de la actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20%, clorhexidina 0,12% y agua potable sobre *Streptococcus mutans* en cepillos dentales, se hizo el recuento de UFC/ml halladas en cada cepillo, es decir, antes y después de la aplicación de éstas soluciones. Una vez obtenidos estos datos se hizo la comparación de los mismos. Observándose que en los cepillos dentales a los cuales se

les aplicó la infusión de *Camellia sinensis* al 20% por cinco días, se obtuvo disminución de UFC de *Streptococcus mutans* con un promedio de 8,6 UFC/ml; la clorhexidina 0,12% obtuvo un promedio de reducción de 2,3 UFC/ml; mientras el agua potable presentó un promedio de reducción de 33,3 UFC/ml. Los resultados señalan efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% sobre *Streptococcus mutans* en los cepillos de los estudiantes, ya que hubo disminución de la cantidad de UFC.

FIGURA 3. Comparación de actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% frente a los controles clorhexidina 0,12% y agua potable de uso común sobre *Streptococcus mutans* según UFC en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015



En la figura observamos tres diagramas de caja y bigotes (Box - plot), mediante estos diagramas se realizó la comparación ya que la distribución de los mismos permite evidenciar sus diferencias. En el punto más alto (punto azul) se indica la cantidad máxima de UFC/ml de *Streptococcus mutans* observada en los cepillos dentales tras la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20%, clorhexidina 0,12% y agua potable en los cepillos dentales, durante cinco días, cuyos valores obtenidos con 29, 5 y 58 UFC/ml respectivamente. Se observa además que para el caso de clorhexidina y agua el recuento máximo hallado coincide con el primer bigote (límite superior), lo que no sucede con la infusión de *Camellia sinensis* ya que presenta un valor máximo atípico. Seguidamente se ubica a la mediana (línea divisoria de la caja), el valor de la mediana es 6,2 UFC/ml (infusión de *Camellia sinensis*), 1,2 UFC/ml (clorhexidina) y 27 UFC/ml (agua). Finalmente se ubica el segundo bigote (límite inferior) que corresponde al valor mínimo de UFC observado que es 1,6 UFC/ml (infusión de *Camellia sinensis*), 0,6

UFC/ml (clorhexidina) y 15 UFC/ml (agua). Además se observa una + (cruz) que indica el promedio de la distribución de datos que es 8,6 UFC/ml (infusión de *Camellia sinensis*), 2,3 UFC/ml (clorhexidina) y 33,3 UFC/ml (agua). De acuerdo a estos datos y a la distribución de cajas se evidencia mayor efecto antibacteriano de la clorhexidina, seguido del efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis*; no habiendo efecto antibacteriano notable en el agua.

TABLA 4. Comparación de actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% frente al control positivo clorhexidina 0,12% y agua potable sobre *Streptococcus mutans* según diferencia de UFC en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015.

ESTADÍSTICA	INFUSIÓN <i>Camellia sinensis</i> 20%	CLORHEXIDINA 0.12%	AGUA POTABLE
	UFC/ml		
No. de observaciones	30	3	3
Mínimo	3,4	24,8	3,8
Máximo	92,8	143,5	4
Mediana	23,8	25,4	3
Promedio	31,7	64,6	3,6
Desviación estándar	26,8	38,5	0,2

Fuente: Elaboración propia

Para hallar la diferencia (reducción) entre la cantidad de UFC antes y UFC después de la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20%, clorhexidina 0,12% y agua potable durante cinco días, se restó a cantidad de UFC obtenidas después de la aplicación de las soluciones, a la cantidad de UFC existentes antes de la aplicación. Se encontró una reducción mínima de 3,4 UFC/ml de *Streptococcus mutans* y una reducción máxima de 92,8 UFC/ml; con un promedio de disminución de 31.7 UFC/ml para la infusión de *Camellia sinensis*; mientras que la clorhexidina obtuvo una diferencia mínima de 24,8 UFC/ml y una máxima de 143,5 UFC/ml, con un promedio de reducción de 64,6 UFC/ml; y el agua presentó una diferencia mínima de 3,8 UFC/ml y una máxima de 4 UFC/ml, además un promedio de reducción de 3,6 UFC/ml. Evidenciándose efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% sobre *Streptococcus mutans* ya que se encontró una notable diferencia de UFC tras su

aplicación, sin embargo la clorhexidina 0,12% presenta el mayor efecto antibacteriano según el promedio de reducción de UFC/ml, mientras que el agua mostró el menor efecto antibacteriano en cuanto a la reducción de UFC de *Streptococcus mutans*. La diferencia de todos los cepillos dentales se puede observar en ANEXO 6.

TABLA 5. Comparación de actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% frente al control positivo clorhexidina 0,12% y agua potable de uso común sobre *Streptococcus mutans* según diferencia (%) de UFC en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015.

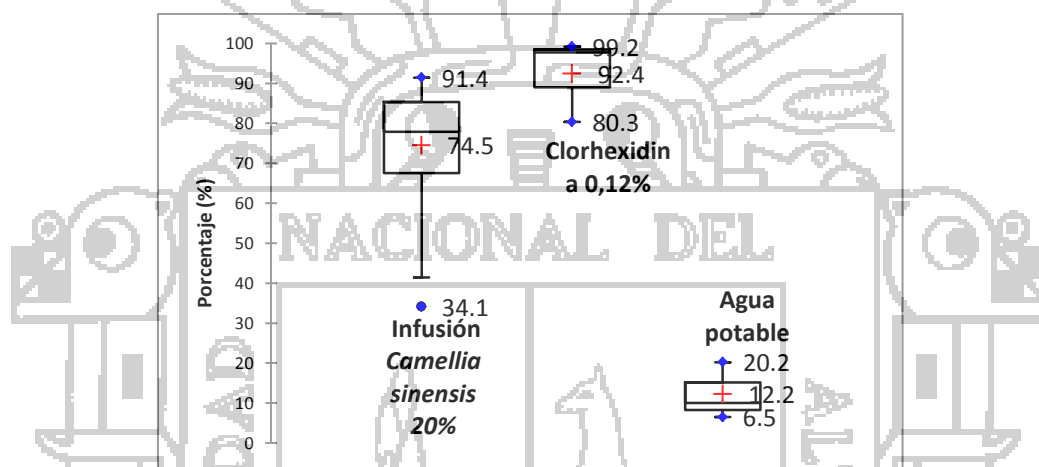
ESTADÍSTICA	INFUSIÓN <i>Camellia sinensis</i> 20%	COLORHEXIDINA 0,12%	AGUA POTABLE
% de reducción de UFC			
No. de observaciones	30	3	3
Mínimo	34.1%	80.3%	6.5%
Máximo	91.4%	99.2%	20.2%
Mediana	77.9%	97.8%	10.0%
Promedio	74.5%	92.4%	12.2%
Desviación estándar	14.5%	10.5%	7.1%

Fuente: Elaboración propia

Representación de la diferencia de UFC de acuerdo a la disminución de UFC en % (porcentaje) en los cepillos dentales después de la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20%, clorhexidina 0,12% y agua potable a chorro por cinco días. Se obtuvo una reducción mínima de 34.1% y una reducción máxima de 91.4% de UFC, con un promedio de 74.5% de UFC para la infusión de *Camellia sinensis* al 20%; la clorhexidina 0.12% presentó una reducción mínima de 80.3%, una reducción máxima de 99.2% y un promedio de 92.4% de UFC; mientras que el agua presentó una reducción mínima de 6.5%, una reducción máxima de 20.2% y un promedio de reducción de 12.2% de UFC de *Streptococcus mutans*. Según los datos obtenidos se evidencia efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% sobre *Streptococcus mutans*, sin embargo la clorhexidina 0.12% presenta el mayor efecto

antibacteriano según el promedio % de UFC, mientras que el agua muestra el menor efecto antibacteriano. La diferencia de todas las muestras se encuentran en el ANEXO 7.

FIGURA 4. Comparación de actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% frente a los controles clorhexidina 0,12% y agua potable de uso común sobre *Streptococcus mutans* según diferencia (%) de UFC en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015



En la figura observamos tres diagramas de caja y bigotes (Box - plot), mediante estos diagramas se realizó la comparación de la actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* y los controles positivo y negativo, según la diferencia (%) en porcentaje de UFC. En el punto más alto (punto azul) y en el bigote superior de cada caja, se indica el porcentaje de la diferencia (reducción) máxima de UFC de *Streptococcus mutans* en los cepillos dentales tras la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20%, clorhexidina 0,12% y agua potable, durante cinco días, cuyos valores son 91.4%, 99.2 % y 20.2% respectivamente. El segundo bigote (límite inferior) indica el porcentaje de la diferencia (reducción) mínima de UFC de *Streptococcus mutans* en los cepillos dentales tras la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20%, clorhexidina 0,12% y agua potable, durante cinco días, cuyos valores son 34.1%, 80.3 % y 6.5% respectivamente. Además se observa una + (cruz) que indica el promedio de la distribución de datos según porcentaje de diferencia (reducción) que es 74.5% (infusión de *Camellia sinensis*), 92.4% (clorhexidina) y 12.2% (agua). De acuerdo a estos datos y a la distribución de cajas se evidencia un mayor efecto

antibacteriano de la clorhexidina, ya que hubo una mayor reducción de UFC, seguido del efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis*; no habiendo efecto antibacteriano notable en el agua.

TABLA 6. Prueba de Kruskal-Wallis para comparar la actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% frente a los controles clorhexidina 0,12% y agua potable sobre *Streptococcus mutans* según diferencia promedio de UFC (%) en cepillos dentales usados por estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, Puno – 2015.

MUESTRA	FRECUENCIA (Cepillos)	PROMEDIO DE DIFERENCIA (UFC/5 ml) %	GRUPOS
Clorhexidina 0.12%	3	92.4%	A
Infusión <i>Camellia sinensis</i> 20%	30	74.5%	A
Agua potable	3	12.2%	B

Promedios con letra diferente son estadísticamente diferentes entre si ($P < 0.05$)

La prueba estadística de Kruskal-Wallis considera similares el efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% y la clorhexidina 0,12% según la diferencia de UFC en promedio de acuerdo al porcentaje (%) los cuales se agrupan (Grupo A) que indica una alta reducción de UFC; mientras el agua presentó el menor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* (Grupo B) ya que la disminución de UFC está muy por debajo del 50%.

DISCUSIÓN

El propósito de esta investigación fue evaluar la actividad antibacteriana de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% sobre *Streptococcus mutans* en cepillos dentales usados por estudiantes. Para determinar la presencia de *Streptococcus mutans* en cepillos dentales se realizó un cultivo en un medio específico (agar mitis salivarius) para *Streptococcus mutans* al igual que en los estudios realizados por Kuhn y colaboradores (2012)⁸, Aguirre M. (2013)¹³, Hernández M. (2011)¹⁴, Aguilera L. y cols. (2009)¹⁶, Loarte M. (2009)¹⁷ y Moromi H. y cols. (2007)²¹, ya que este medio de cultivo es específico para *Streptococcus mutans* lo cual permite el desarrollo de este microorganismo dándole las condiciones idóneas para su crecimiento.

Para este estudio se hizo entrega de cepillos dentales nuevos en la fase de pre intervención y otros cepillos nuevos para la fase de intervención, al igual que en los estudios realizados por Konidala U y cols. (2011)⁴, Kuhn y colaboradores (2012)⁸, Chandradas D. y cols. (2014)⁵, Aguirre M. (2013)¹³ y Loarte M. (2009)¹⁷, asegurando de éste modo que todos los cepillos estén libres de contaminación antes de su uso.

Para determinar el nivel de contaminación de los cepillos dentales antes de la aplicación de la sustancia en estudio se hizo el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus mutans* por cada cepillo al igual que en los estudios realizados por Chandradas D. y cols. (2014)⁵, Philo PN y cols. (2000)⁹, Simabukuro VF y cols. (2011)¹⁰ y Saravia ME y cols. (2000)¹¹ lo cual permitió establecer un punto de partida en función a las UFC existentes previos a la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20%.

El recuento de unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* presente en los cepillos dentales antes de la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% tuvo un rango de 25 -744 UFC/5ml como valor mínimo y máximo respectivamente lo cual difiere con la cantidad de UFC de *Streptococcus mutans* hallada en el estudio de Loarte M. (2009)¹⁷ el cual tuvo un rango de 896 – 14400 UFC/5ml como valor mínimo y máximo respectivamente, su población estuvo constituida por soldados de 18 a 23 años de edad que no presenten caries y si las presentan sean mínimas; lo cual difiere de la población de este estudio que estuvo constituida por estudiantes de 12 a 15 años de edad con presencia de cinco caries activas como mínimo; probablemente la variación en los rangos de UFC de éste estudio y el de Loarte M. esté relacionado con las características

de la población como edad; además por el tiempo de uso de los cepillos dentales que para éste estudio fue de cinco días y para el de Loarte M. fue cuatro semanas (28 días).

Para evaluar el efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% sobre *Streptococcus mutans* se realizó la comparación con un colutorio convencional de clorhexidina al 0,12% y agua potable a chorro al igual que los estudios realizados por Kuhn y colaboradores (2012)⁸, Philo PN y cols. (2000)⁹, Aguirre M. (2013)¹³, Loarte M. (2009)¹⁷, Paredes N. (2009)¹⁹ y López G. (2014)²³, ya que la clorhexidina es un antimicrobiano reconocido usado en odontología para tratamientos periodontales y el agua potable es de uso común en la población.

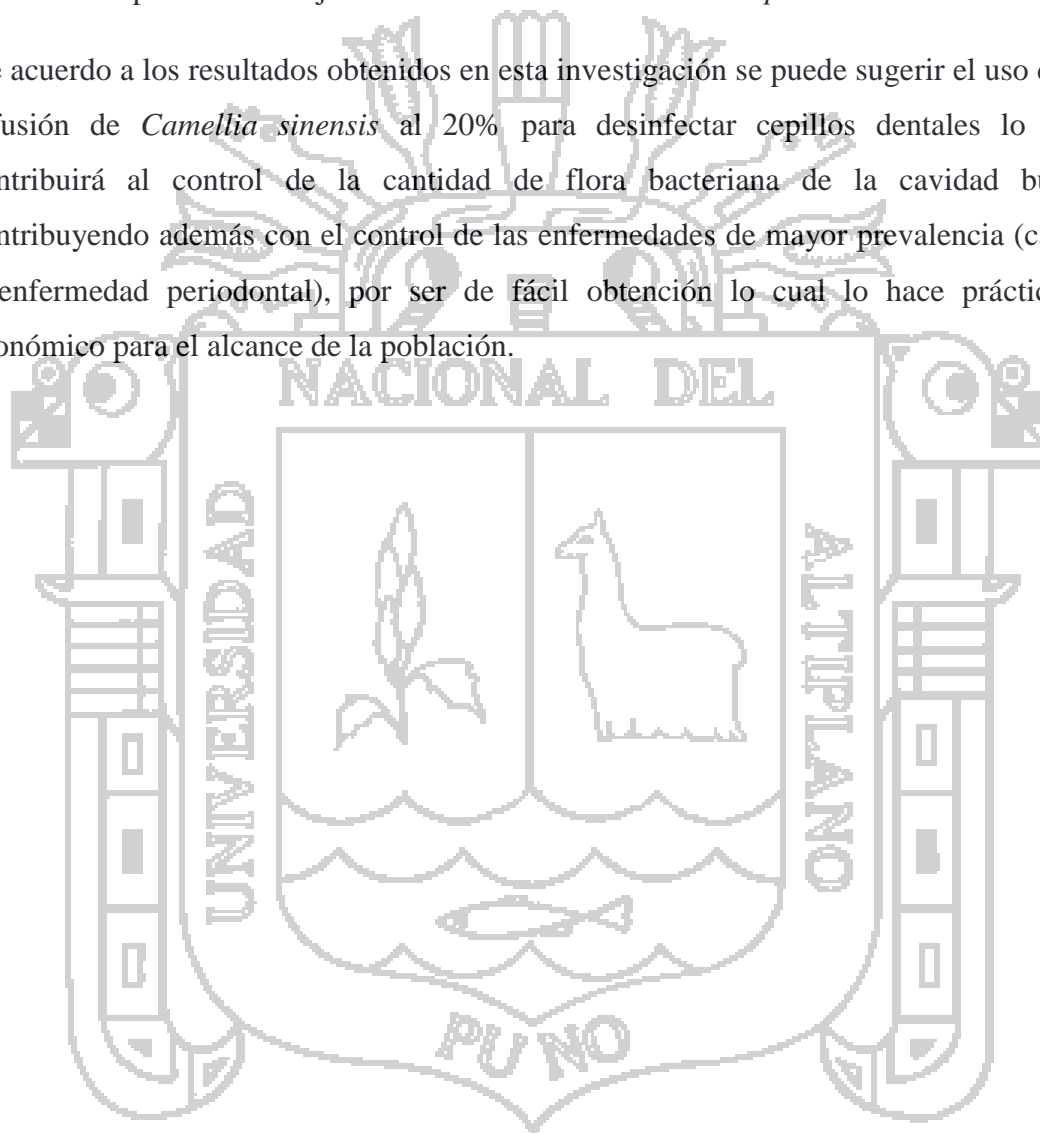
La forma de aplicación del desinfectante del grupo experimental y clorhexidina fue en aerosol y después de cada uso del cepillo al igual que la forma de aplicación del estudio realizado por Kuhn y colaboradores (2012)⁸, Aguirre M. (2013)¹³ y Simabukuro VF y cols. (2011)¹⁰ demostrando que los cepillos dentales a los que se le aplicó el enjuague bucal en forma de aerosol para su descontaminación, presentaron un menor porcentaje de colonización bacteriana de *Streptococcus mutans*, probablemente se prefiera el uso este método de aplicación del antimicrobiano en aerosol por ser práctico para su aplicación.

El tiempo de uso de cada cepillo en las fases de pre intervención e intervención fue de una vez por día durante cinco días consecutivos al cabo de los cuales se recogieron los cepillos al igual que un estudio realizado por Philo PN y cols. (2000)⁹, el cual difiere de los estudios realizados por Kuhn y colaboradores (2012)⁸, donde la fase de intervención tuvo una duración de 14 días de cepillado y un intervalo de 7 días entre tratamientos y del estudio realizado por Aguirre M. (2013)¹³ donde el estudio se realizó en un lapso de tres semanas en intervalos de una semana para cada etapa. El tiempo de uso del cepillo varía de acuerdo a las consideraciones del investigador ya que está demostrado que el cepillo dental se contamina desde el primer uso.

En un estudio realizado por Konidala U y cols. (2011)⁴ el agua como control negativo mostró la menor eficacia en la limpieza de los cepillos de dientes lo cual concuerda con los resultados de este estudio, ya que el agua potable no presenta en su composición algún agente antimicrobiano.

Los resultados obtenidos permiten evidenciar el comportamiento antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% en cepillos dentales usados por estudiantes durante cinco días se observó una disminución del 74.5% de UFC en promedio; coincidiendo con los estudios *in vitro* de Moromi H. y cols. (2007)²¹ y Paredes N. (2009)¹⁹ en los cuales se evidencia el efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* sobre microflora salival mixta y *Streptococcus mutans*. Además se evidenció que la clorhexidina presenta el mejor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación se puede sugerir el uso de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% para desinfectar cepillos dentales lo cual contribuirá al control de la cantidad de flora bacteriana de la cavidad bucal, contribuyendo además con el control de las enfermedades de mayor prevalencia (caries y enfermedad periodontal), por ser de fácil obtención lo cual lo hace práctico y económico para el alcance de la población.



CONCLUSIONES

1. Se evidencia el efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% sobre *Streptococcus mutans* de cepillos dentales de estudiantes de la I.E.S. San Antonio de Padua, habiéndose obtenido una reducción de 74,5% de UFC en relación a la cantidad de UFC obtenidas sin aplicación de la infusión.
2. En la fase de pre-intervención luego de cinco días de uso de los cepillos dentales se determinó una amplia variación en el grado de contaminación de los cepillos por *Streptococcus mutans*, con diversos recuentos de unidades formadoras de colonias, con un rango de 5 a 148,8 UFC/ml como valor mínimo y máximo respectivamente.
3. Luego de cinco días de aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% sobre los cepillos dentales, se evidenció efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* obteniéndose recuentos inferiores a los recuentos iniciales (antes de la aplicación de la infusión).
4. El efecto antibacteriano de la infusión de *Camellia sinensis* al 20% es similar al efecto antibacteriano de la clorhexidina 0,12% sobre *Streptococcus mutans* con una reducción del 74,5% y 92,4% de UFC en promedio respectivamente; el agua potable mostró el menor efecto antibacteriano con una reducción de 12,2% de UFC en promedio ($p < 0.05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Chirinos J. Estudio epidemiológico de las enfermedades bucales más prevalentes en escolares de 6 – 16 años de la provincia de Puno, 2013. [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista] Puno – Perú: Universidad Nacional del Altiplano, 2014
2. Mendoza W. y Contreras Y. Procedimientos aplicados para el cuidado del cepillo dental por los pacientes de Clínica Integral del Adulto VII de la Universidad “José Antonio Páez” en el periodo septiembre – diciembre, 2012. [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista]Venezuela: Universidad “José Antonio Páez”; 2012
3. Karibasappa GN, Nagesh L, Sujatha BK. Evaluación de la contaminación microbiana de la cabeza del cepillo de dientes: Un estudio *in vitro*. J Dent Res india. 2011; 22(1): 2-5
4. García M. Estudio a doble ciego aleatorio, sobre la prevención quimioterapéutica de la caries dental con barnices de clorhexidina y timol en niños de 5 a 8 años. [Tesis para optar grado de Doctor]Madrid-España: Universidad Complutense de Madrid; 2004
5. Konidala U, Nuvvula S, Mohapatra A and Nirmala SVSG. Efficacy of various disinfectants on microbially contaminated toothbrushes due to brushing. Contemp Clin Dent. 2011 Oct-Dec; 2(4): 302–307.
6. Chandrdas D, Jayakumar HL, Chandra M, Katodia L and Sreedevi A. Evaluation of antimicrobial efficacy of garlic, tea tree oil, cetylpyridinium chloride, chlorhexidine, and ultraviolet sanitizing device in the decontamination of toothbrush. Indian J Dent. 2014 Oct-Dec; 5(4): 183–189.
7. Mehta A, Sequeira PS, Bhat G. La contaminación bacteriana y la descontaminación de los cepillos de dientes después de su uso. N S Estado Dent J. 2007 abril; 73 (3): 20-2.
8. Gujjari SK, Gujjari AK, Patel PV y Shubhashini PV. Evaluación comparativa de las técnicas de desinfección ultravioleta y microondas para la descontaminación del cepillo de dientes. J Int Soc Anterior Comunidad Dent. 2011 Ene-Jun; 1 (1): 20-26.

9. Kuhn L, Werner C, Aiache D, Vicente AP y Andrade R. Microbiological contamination of toothbrushes and identification of a contamination protocol using chlorhexidine spray. *Rev Odonto Cienc.* 2012; 27(3):213-217
10. Filho PN, PhD, Macari S, Faria G, Assed S and Ito Y. Microbial contamination of toothbrushes and their decontamination. *Pediatric Dentistry* 2000;22 (5): 381-384
11. Simabukuro VF, Albites AU, Villarroel C, Contreras X, Ramirez YW, Tang SP, Aguilar GD y Alvarez E. Evaluación de la capacidad antimicrobiana del cloruro de cetilpiridinio (CCP) sobre la microflora existente en los cepillos dentales en uso en preescolares con dentición decidua completa. *Científica*, 2011; 8(2): 115-121
12. Saravia ME, Nelson-Filho P, da Silva RA, Faria G, Rossi MA, Ito IY. Viability of *Streptococcus mutans* toothbrush bristles. *J Dent Child (Chic)*. 2008 Jan-Apr; 75 (1):29-32.
13. Cadena E, Delgado J, Peña D, Sánchez P, Gutiérrez S, Contreras A, Jaramillo A, Bonelo A. Contaminación de cepillos dentales denominados antibacteriales. Estudio in vitro. *Rev. estomatol.* 2014; 22(1):9-14.
14. Aguirre. M. Estudio comparativo de agentes químicos utilizados para la desinfección de cepillos dentales. [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista] Quito- Universidad San Francisco de Quito; 2013
15. Hernández M. Aislamiento y cuantificación de *Streptococcus mutans* en saliva en niños de la escuela primaria “Ignacio Ramírez”. [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista] Veracruz-México : Universidad Veracruzana; 2011
16. Salazar VG. *Streptococcus mutans* en placa dentobacteriana como factor de riesgo para la caries en niños de la escuela Ignacio Ramírez. [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista] Veracruz-México : Universidad Veracruzana; 2011
17. Aguilera L, Sánchez C, Neri C y Aceves M. *Streptococcus mutans* en saliva y su relación con caries dental. *Rev. ADM* 2009 Noviembre-Diciembre; 65(6):48-56
18. Loarte M. Eficacia del hipoclorito de sodio al 0.5% comparado con la clorhexidina al 0.12% en la desinfección de cepillos dentales. [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista] Lima-Perú: Universidad Nacional Federico Villareal; 2009

19. Moromi H, Martinez E, Ramos D. Antibacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. *Odontología Sanmarquina* 2009;12(1):25-28
20. Paredes N. Efectividad antibacteriana *in vitro* de una infusión a base de *Camellia sinensis* y *Minthostachys mollis* sobre flora salival mixta. [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista] Lima-Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2009
21. Moromi H, Martinez E, Villavicencio J, Burga J, Ramos D. Efecto antimicrobiano *in vitro* de la *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. *Odontología Sanmarquina* 2007;10(1):18-20
22. Moromi H, Martinez E, Gutierrez M, Ramos D, Nuñez M, Burga J, Tello J, Trevejo I. Efecto antimicrobiano *in vivo* de la infusión de *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. *Odontología Sanmarquina* 2007;10(2):12-14
23. Moromi H, Gutierrez M, Ortíz L, Martinez E, Medina K, Ramos D, Ruiz J, Castro Y. Efectividad *in vitro* e *in vivo* de un gel a base de *Camellia sinensis* “te verde” frente a microorganismos de importancia en procesos periodontales. *Odontología Sanmarquina* 2011;14(2):10-12
24. López G. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de la *Camellia sinensis* (té verde) frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y al *Streptococcus sanguis* (ATCC 10556). [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista] Lima-Perú: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2014
25. Nazar J. Biofilms bacterianos. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello* 2007; 67: 61-72
26. DISPONIBLE EN:
<http://www.colgateprofesional.com.mx/ColgateProfessional/Home/MX/ProfesionalEd/DentalAssistants/OnlineLearning/pdfs/10edic.pdf>. Acceso el 18 de mayo del 2015
27. Serrano J. y Herrera D. La placa dental como biofilm. ¿Cómo eliminarla? *RCOE*, 2005, Vol 10, N°4, 431-439
28. Tórtora G., Funke B. y Case C. Introducción a la microbiología. Madrid: Ed. Panamericana; 2007.
29. DISPONIBLE EN: <http://claudiazambrano.wordpress.com/medios-de-cultivo-solido-y-liquido/pdf>. Acceso el 18 de septiembre del 2015

30. Molina M. Estudio *in vitro* del efecto antibacteriano de la *Minthostachys mollis* griseb (Muña) comparado con la amoxicilina frente a la placa supragingival en la Clínica odontológica de la UNA Puno-2007. [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista]Puno- Perú; Universidad Nacional del Altiplano; 2008
31. Orellana E. Presencia de contaminación fecal en los cepillos dentales utilizados por los pacientes en la unidad de periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala. [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista]Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2005
32. Roldán P. Estudio de Diseño de los cepillos dentales. [Tesis para optar grado de Cirujano Dentista] Costa Rica: Universidad Latinoamericana de Ciencia y Tecnología; 2010
33. Linke H.B., LeGeros R.Z.: Black tea extract and dental caries formation in hamsters. *Int J Food Sci Nutr*54 :89 –95,2003.
34. Staszewski M. Impacto de la interacción entre polifenoles de té verde y proteínas del lactosuero sobre las propiedades biológicas y funcionales de las mezclas. [Tesis para optar Título de doctor en Química industrial] Buenos aires: Universidad de Buenos Aires Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Departamento de Industrias; 2011
35. Okamoto M., Sugimoto A., Legun K.P., Nakayama K., Kamaguchi A., Maeda N.: Inhibitory effect of green tea catechins on cysteine proteinases in *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*19 :118 –120,2004



ANEXO 1

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

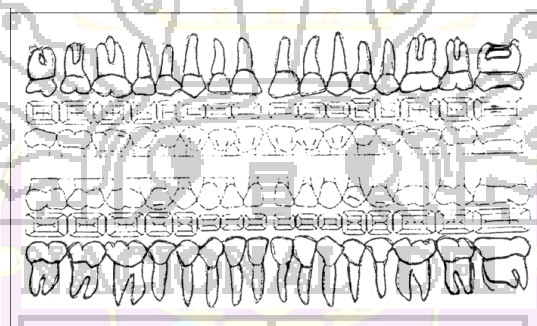
Nombres y apellidos:.....

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN:

Edad: Sexo:

Uso de antibióticos, analgésicos y/o antiinflamatorios: SI NO

Odontograma:

**FASE DE PRE-INTERVENCIÓN:**Cepillos dentales en el medio de cultivo (Agar mitis salivarius) antes de la aplicación de la infusión de *Camellia sinensis*.

Con cinco (05) días de uso: SI NO

N° de UFC**FASE DE INTERVENCIÓN:** Aplicación de la infusión de *Camellia sinensis* (Té verde) al 20%**FASE POST-INTERVENCIÓN:** Luego de la aplicación de la solución de estudio.

Con cinco (05) días de aplicación.

Solución de estudio	N° Unidades formadoras de colonias (UFC) luego de la aplicación de la solución de estudio.
Infusión de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 20%	

ANEXO 2

ASENTIMIENTO INFORMADO

Hola mi nombre es Yessika Gregoria Pumacajia Silvestre soy estudiante de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional del Altiplano; la razón por la que me presento es para informarte que estoy realizando un estudio el cual consiste en evaluar el efecto antibacteriano del Té verde sobre una de las bacterias más importantes en el desarrollo de la caries dental; para lo cual necesito tu colaboración.

Tu participación no es obligatoria; pero si deseas participar recibirás una charla educativa a cerca de medidas de higiene oral, te enseñaré una técnica de cepillado. Te entregaré un cepillo y pasta dental nuevos; con lo cual realizarás tu cepillado por cinco (05) días al cabo de estos cinco días recogeré el cepillo para trasladarlo a un laboratorio donde se realizaran las evaluaciones necesarias. Luego te entregaré otro cepillo dental nuevo; con lo cual realizarás tu cepillado por cinco (05) días más, al cabo de estos cinco días recogeré el cepillo para trasladarlo a un laboratorio donde se realizaran las evaluaciones necesarias.

La participación en este estudio no te generará ningún costo; no perjudicará tu salud; tu identidad es confidencial.

Asentimiento:

“He leído la información de asentimiento y entiendo el contenido.” Por tanto:

 SI acepto NO acepto

Nombre del niño/a

ANEXO 3

CONSENTIMIENTO INFORMADO A LOS PADRES O APODERADO

Mi nombre es Yessika Gregoria Pumacajia Silvestre soy estudiante de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional del Altiplano; la razón por la que me presento ante usted es para informarle que estoy realizando un estudio el cual consiste en evaluar el efecto antibacteriano del Té verde sobre una de las bacterias más importantes en el desarrollo de la caries dental; para lo cual necesito la colaboración de su menor hijo (a), quien recibirá una charla educativa a cerca de medidas de higiene oral, además se le enseñará una técnica de cepillado. Se le hará entrega de un cepillo y pasta dental nuevos; con lo cual realizará su cepillado por cinco (05) días, al cabo de los cuales recogeré los cepillos para realizar las evaluaciones necesarias.

Seguidamente le haré entrega de otro cepillo dental nuevo para que realice su cepillado por cinco (05) días más al cabo de los cuales recogeré los cepillos para realizar las evaluaciones necesarias.

Su hijo (a) no está obligado a participar; la participación en este estudio no le generará ningún costo y tampoco recibirá algún incentivo económico, no perjudicará su salud de su menor hijo (a); la identidad de los participantes no será divulgada pues los datos obtenidos son confidenciales.

En caso de alguna duda o consulta con respecto al estudio usted podrá contactarse con mi persona al número de celular 986696233 o con mi Directora del proyecto Dra. Sonia Macedo Valdivia al número 957497138 o con mi Asesora Dra. Tania Padilla Cáceres al número 958199952.

Consentimiento:

“He leído la información de consentimiento y entiendo el contenido. Por tanto doy consentimiento para la participación de mi menor hijo(a)..... para participar en el estudio.”

Nombres y Apellidos del
padre/apoderado _____

Firma

ANEXO 4

MATRIZ DE SISTEMATIZACIÓN DE DATOS

FRECUENCIA (Cepillos)	UFC/5ml PRE- INTERVENCIÓN	FRECUENCIA (Cepillos)	UFC/5ml PRE- INTERVENCIÓN
1	58	19	387
2	120	20	74
3	150	21	98
4	605	22	115
5	380	23	76
6	300	24	250
7	80	25	428
8	45	26	265
9	120	27	25
10	160	28	185
11	150	29	518
12	276	30	87
13	291	31	744
14	299	32	133
15	97	33	327
16	220	34	310
17	103	35	150
18	86	36	94
MÍNIMO		25 UFC	
MÁXIMO		744 UFC	

ANEXO 5

MATRIZ DE SISTEMATIZACIÓN DE DATOS
Cantidad de UFC de *Streptococcus mutans* después de la aplicación de la infusión
de *Camellia sinensis* al 20%

N° CEPILLOS	N° DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS - UFC/5ml	
	FASE DE PRE-INTERVENCIÓN	FASE POST-INTERVENCIÓN Infusión <i>Camellia sinensis</i> al 20%
1	58	34
2	120	15
3	150	23
4	605	89
5	380	105
6	300	95
7	80	21
8	45	15
9	120	19
10	160	22
11	150	30
12	276	50
13	291	25
14	299	29
15	97	31
16	220	145
17	103	25
18	86	31
19	387	50
20	74	25
21	98	32
22	115	58
23	76	32
24	250	65
25	428	70
26	265	39
27	25	8
28	185	23
29	518	68
30	87	13

ANEXO 6

MATRIZ DE SISTEMATIZACIÓN DE DATOS
Diferencia de UFC antes y después de la aplicación de la Infusión al 20% y
controles.

N° CEPILLOS	FASE DE PRE- INTERVENCIÓN	FASE POST-INTERVENCIÓN					
		Infusión <i>Camellia</i> <i>sinensis</i> 20%	Diferencia ≠	CONTROL POSITIVO Clorhexidina al 0,12%	Diferencia ≠	CONTROL NEGATIVO Agua potable	Diferencia ≠
1	58	34	24				
2	120	15	105				
3	150	23	127				
4	605	89	516				
5	380	105	275				
6	300	95	205				
7	80	21	59				
8	45	15	30				
9	120	19	101				
10	160	22	138				
11	150	30	120				
12	276	50	226				
13	291	25	266				
14	299	29	270				
15	97	31	66				
16	220	145	75				
17	103	25	78				
18	86	31	55				
19	387	50	337				
20	74	25	49				
21	98	32	66				
22	115	58	57				
23	76	32	44				
24	250	65	185				
25	428	70	358				
26	265	39	226				
27	25	8	17				
28	185	23	162				
29	518	68	450				
30	87	13	74				
31	744			6	738		
32	133			3	130		
33	127			25	102		
34	310					290	20
35	150					135	15
36	94					75	19

ANEXO 7

MATRIZ DE SISTEMATIZACIÓN DE DATOS
Diferencia de UFC según porcentaje (%) antes y después de la aplicación de la Infusión al 20% y controles.

N°	FASE DE PRE-INTERVENCIÓN UFC 100%	FASE POST-INTERVENCIÓN					
		Infusión <i>Camellia sinensis</i> 20% UFC %	DIFERENCIA %	CONTROL POSITIVO Clorhexidina al 0,12% UFC %	DIFERENCIA %	CONTROL NEGATIVO Agua potable UFC %	DIFERENCIA %
1	58	34 (58.6%)	24 (41.4%)				
2	120	15 (12.5%)	105 (87.5%)				
3	150	23 (15.3%)	127 (84.7%)				
4	605	89 (14.7%)	516 (85.3%)				
5	380	105 (27.6%)	275 (72.4%)				
6	300	95 (31.6%)	205 (68.4%)				
7	80	21 (26.3%)	59 (73.8%)				
8	45	15 (33.3%)	30 (66.7%)				
9	120	19 (15.8%)	101 (84.2%)				
10	160	22 (13.7%)	138 (86.3%)				
11	150	30 (20%)	120 (80%)				
12	276	50 (18.1%)	226 (81.9%)				
13	291	25 (8.6%)	266 (91.4%)				
14	299	29 (8.7%)	270 (90.3%)				
15	97	31 (31.9%)	66 (68.1%)				
16	220	145 (65.9%)	75 (34.1%)				
17	103	25 (24.3%)	78 (75.7%)				
18	86	31 (36%)	55 (64%)				
19	387	50 (12.9%)	337 (87.1%)				
20	74	25 (33.8%)	49 (66.2%)				
21	98	32 (32.6%)	66 (67.4%)				
22	115	58 (50.4%)	57 (49.6%)				
23	76	32 (42.1%)	44 (57.9%)				
24	250	65 (26%)	185 (74%)				
25	428	70 (16.4%)	358 (83.6%)				
26	265	39 (14.7%)	226 (85.3%)				
27	25	8 (32%)	17 (68%)				
28	185	23 (12.4%)	162 (87.6%)				
29	518	68 (13.1%)	450 (86.9%)				
30	87	13 (14.9%)	74 (85.1%)				
31	744			6 (0.8%)	738 (99.2%)		
32	133			3 (2.2%)	130 (97.8%)		
33	127			25 (19.7%)	102 (80.3%)		
34	310					290 (93.5%)	20 (6.5%)
35	150					135 (90%)	15 (10%)
36	94					75 (79.8%)	19 (20.2%)

ANEXO 8

RESUTADOS DE LA PRUEBA PILOTO

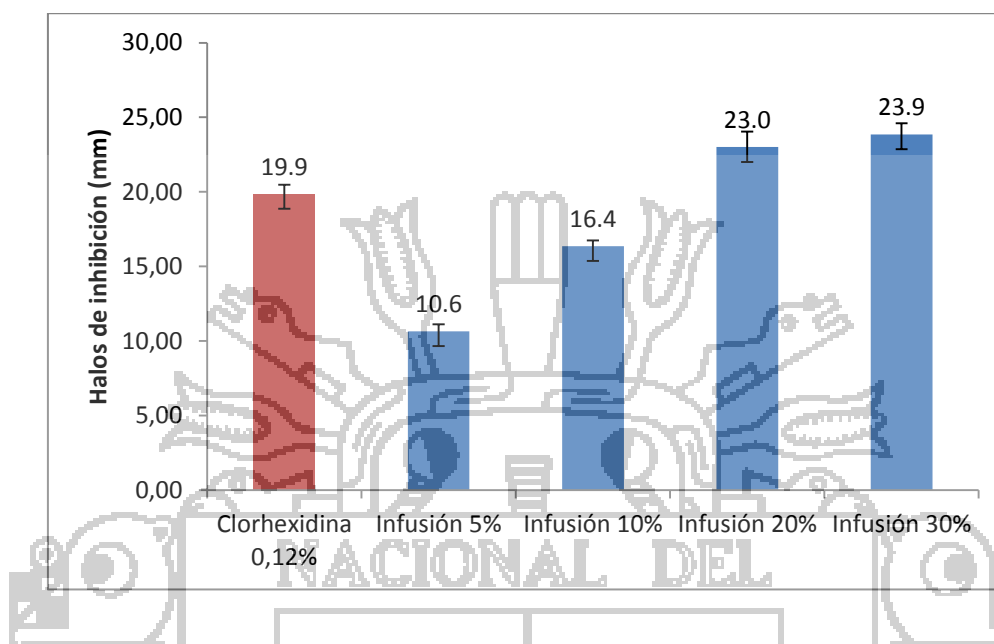
EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LAS INFUSIONES DE *Camellia sinensis* AL 5, 10, 20, 30% FRENTE A LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE *Streptococcus mutans* DE CEPILLOS DENTALES DE ESTUDIANTES DE LA I.E.S. SAN ANTONIO DE PADUA, PUNO - 2015

TABLA 1. EFECTO ANTIBACTERIANO DE LAS INFUSIONES DE *Camellia sinensis* AL 5, 10, 20, 30% FRENTE A LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE *Streptococcus mutans*.

N° DE CEPILLO	HALOS INHIBITORIOS EN mm				
	Clorhexidina 0.12%	Infusión 5%	Infusión 10%	Infusión 20%	Infusión 30%
1	20	10	16	22.5	23
2	21	11	16.5	23	23.5
3	19	11	16	24	24.5
4	20	10	16.5	24	23
5	20	10.5	17	21	24
6	19.5	11	16	23.5	24
7	19.5	11	16.5	23	25
PROMEDIO	19.9	10.6	16.4	23.0	23.9

Fuente: Elaboración propia

FIGURA 1. EFECTO ANTIBACTERIANO DE LAS INFUSIONES DE *Camellia sinensis* AL 5, 10, 20, 30% FRENTE A LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE *Streptococcus mutans*.



Interpretación: En el cuadro y figura 1, se observa que la Clorhexidina 0.12% obtuvo en promedio 19.9 mm de halo inhibitorio, para la infusión de *Camellia sinensis* al 5% se presentó 10.6 mm, en la infusión de *Camellia sinensis* al 10% con 16.4 mm, infusión de *Camellia sinensis* al 20% con 23 mm y la infusión de *Camellia sinensis* al 30% obtuvo 23.9 mm de halo de inhibitorio.

Los resultados indican que la infusión de *Camellia sinensis* al 5 y 10% presentaron en promedio una menor formación de halos de inhibición comparado con la clorhexidina al 0.12%, mientras que las concentraciones de *Camellia sinensis* al 20 y 30% mostraron un mayor diámetro de halo inhibitorio respecto a la Clorhexidina 0.12%. Con lo cual se evidencia su efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*.

TABLA 2. PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS PARA EL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LAS INFUSIONES DE *Camellia sinensis* AL 5, 10, 20, 30% FRENTE A LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE *Streptococcus mutans*.

MUESTRA	FRECUENCIA	PROMEDIO DE LOS RANGOS	GRUPOS
Infusión 5%	7	4.0	A
Infusión 10%	7	11.0	A
Clorhexidina 0,12%	7	18.1	A B
Infusión 20%	7	26.7	B
Infusión 30%	7	30.2	B

Promedios con letra diferente son estadísticamente diferentes entre si ($P < 0.05$)

Se muestran los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis, los mismos indican la existencia de diferencia estadística altamente significativa ($p=0.0001$), las comparaciones múltiples señalan que las infusiones de *Camellia sinensis* al 5 y 10% mostraron la menor formación de halo inhibitorio (Grupo A), mientras que la Clorhexidina 0.12% mostró una inhibición intermedia (A y B), las infusiones de *Camellia sinensis* al 20 y 30% mostraron halo inhibitorio similar y mayor a los anteriores (Grupo B).

Según la prueba estadística se agrupan en: "Grupo A" los halos inhibitorios menores que por tanto no muestran efecto antibacteriano y en un "Grupo B" a aquellos halos inhibitorios mayores los cuales evidencian el efecto antibacteriano.

ANEXO 9

PRIMERA FASE: PRE-INTERVENCIÓN

Presentación y explicación del trabajo de investigación a los estudiantes.



Charla educativa acerca de higiene bucal y técnica de cepillado



Entrega de cepillos dentales nuevos.



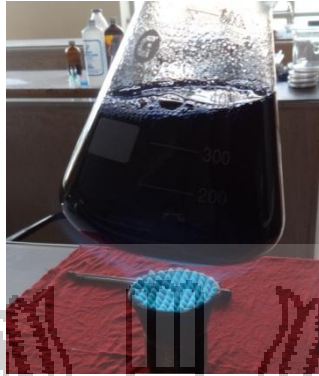
Cepillado de los estudiantes



Procesamiento de muestras



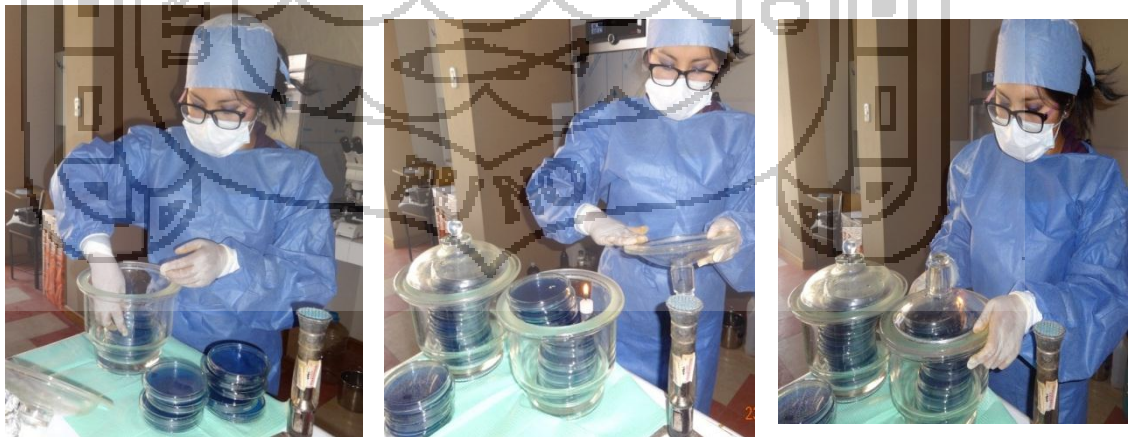
Preparación del agar



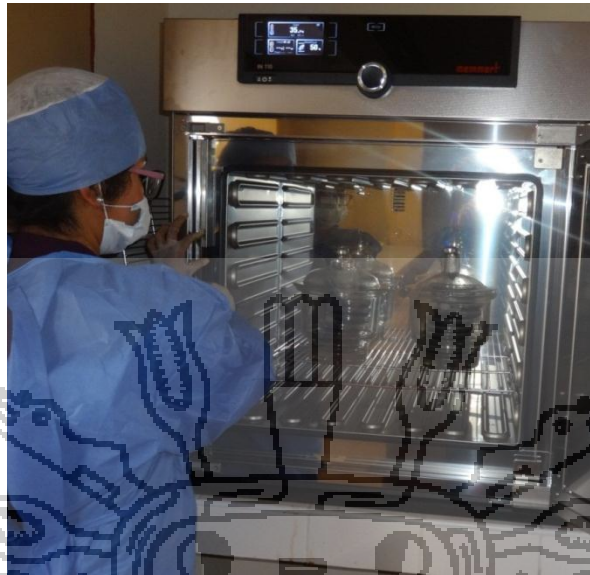
Inoculo 5 ml de la muestra sobre el agar líquido, mezcla de la muestra y el agar.



Muestras en anaerobiosis



Incubación de muestras



Recuento de UFC



SEGUNDA FASE: INTERVENCIÓN

Aplicación de la infusión de *Camellia sinensis*, clorhexidina y agua potable

**TERCERA FASE: POST-INTERVENCIÓN**

Recuento de UFC después de la aplicación de infusión de *Camellia sinensis*, clorhexidina y agua.

