

EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Camellia sinensis* (TÉ VERDE) SOBRE *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, CUSCO 2018

Aranibar C. *

RESUMEN

Objetivo Establecer el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, Cusco 2018. **Materiales y Métodos:** Investigación de tipo experimental, de ámbito laboratorial in vitro, de corte longitudinal, enfoque cuantitativo y la técnica fue la observación del proceso microbiológico. Se elaboró el extracto etanólico de *Camellia sinensis* (té verde) a las concentraciones de 100%, 75% y 50%. El medio de cultivo para *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 fue Agar MRS. La técnica fue la prueba de Kirby Bauer disco difusión en 40 placas petri con 5 discos de papel en cada una de las placas, haciendo un total de 200 muestras. Se inoculó 10 µl de cada sustancia y se midieron los halos de inhibición en mm tanto a las 48, 72 y 96 horas, se evaluó según la escala de Duraffourd. **Resultados:** El extracto etanólico de *Camellia sinensis* (té verde) al 100% tuvo una mediana de 14,5850 mm a las 48 horas, 13,9400 mm a las 72 horas y 13,1400 mm a las 96 horas. El extracto etanólico de *Camellia sinensis* (té verde) al 75% tuvo una mediana de 11,3700 mm a las 48 horas, 10,5750 mm a las 72 horas y 10,0100 mm a las 96 horas. El extracto etanólico de *Camellia sinensis* (té verde) al 50% tuvo una mediana de 10,1100 mm a las 48 horas, 9,5000 mm a las 72 horas y 8,6050 mm a las 96 horas. **Conclusión:** El extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 100%, 75% y 50% tiene efecto antibacteriano sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Palabras clave: *Camellia sinensis*, *Lactobacillus acidophilus*, efecto antibacteriano.

ABSTRACT

Objective: Establish the antibacterial effect of the ethanolic extract of *Camellia sinensis* (green tea) on *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, Cusco 2018. **Materials and Methods:** Experimental type research, laboratory in vitro, longitudinal cut, quantitative approach and the technique was the observation of the microbiological process The ethanolic extract of *Camellia sinensis* (green tea) was elaborated at concentrations of 100%, 75% and 50%. The culture medium for *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 was MRS agar. The technique was tested by Kirby Bauer disc diffusion in 40 petri dishes with 5 paper discs in each of the plates, making a total of 200 samples. 10 µl of each substance was inoculated and the halos of inhibition were measured in mm both at 48, 72 and 96 hours, it was evaluated according to the Duraffourd scale. **Results:** The ethanol extract of *Camellia sinensis* (green tea) at 100% had a median of 14.5850 mm at 48 hours, 13.9400 mm at 72 hours and 13.1400 mm at 96 hours. The ethanol extract of *Camellia sinensis* (green tea) at 75% had a median of 11.3700 mm at 48 hours, 10.5750 mm at 72 hours and 10.0100 mm at 96 hours. The ethanol extract of *Camellia sinensis* (green tea) at 50% had a median of 10,1100 mm at 48 hours, 9,5000 mm at 72 hours and 8,6050 mm at 96 hours. **Conclusion:** The ethanol extract of *Camellia sinensis* (green tea) at 100%, 75% and 50% has antibacterial effect on *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Keywords: *Camellia sinensis*, *Lactobacillus acidophilus*, antibacterial effect.

INTRODUCCIÓN

La caries dental se encuentra entre las enfermedades de la cavidad oral más prevalentes a nivel mundial, considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un problema de salud pública en el mundo moderno y el Perú no es la excepción, constituyendo una de las causas principales de pérdida de piezas dentarias afectando la salud general de las

personas que la padecen (1,2,3). La caries dental se presenta como una enfermedad de origen multifactorial, ya que existe una interacción entre huésped, tiempo y microorganismos como: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp. y *Actinomyces* sp que representan los microorganismos de mayor relevancia asociados al proceso de la caries dental (2,4).

Lactobacillus acidophilus son bacilos gram-positivos, anaerobios facultativos, acidógenos, acidúricos y con un pH cercano a 5 para favorecer su crecimiento. Es un gran productor de ácido láctico, igual que el *Streptococcus mutans* (5). No tienen afinidad por superficies lisas, por lo que este tipo de microorganismos aparecen una vez que la lesión ya se ha establecido y siempre en lesiones que son progresivas, también aparecen en situaciones de retención de la cavidad bucal como obturaciones desbordantes, bandas ortodóncicas, prótesis, entre otros (6).

Tal como lo expresa Bernardi et al, en el año 2012, indica que a la actualidad, la cura de enfermedades a través de fármacos de origen vegetal derivados de plantas constituyen aproximadamente el 25% (7).

El té, como bebida es un producto muy consumido solo superado por el agua y sus propiedades medicinales son a la actualidad ampliamente estudiadas. Las propiedades de la *Camellia sinensis* (Té verde) para el ámbito odontológico tienen una gran importancia por lo que se debe conocer su efecto antibacteriano (8,9) frente a microorganismos encontrados en el proceso cariogénico ya que dentro de sus principales compuestos se encuentran una gran cantidad de polifenoles (10,11), catequinas y flavonoides (12). De tal manera el té verde pueda ser utilizado en productos odontológicos.

Antibiograma: Método in vitro que determinan la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específicas y estandarizadas (13,14,15).

Prueba de Kirby Bauer: Método más común por los laboratorios de microbiología es el de difusión en agar, estandarizado para microorganismos de crecimiento rápido y algunos fastidiosos. Este método incorpora el antibacteriano a discos de papel de filtro. Su introducción permitió agilizar la determinación de la sensibilidad de las cepas bacterianas frente a un número importante de antibacterianos de forma simultánea (16).

In vitro: Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. Este tipo de investigación apunta a describir los efectos de una variable experimental en un subconjunto de las partes constitutivas de un organismo (17).

MATERIAL Y METODOS:

La investigación fue de tipo experimental, de ámbito

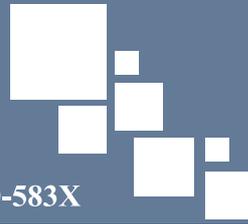
laboratorial in vitro, de corte longitudinal, enfoque cuantitativo y la técnica fue la observación del proceso microbiológico. Para la presente investigación se tuvo como población a 40 placas petri con 5 discos de papel en cada placa, en las cuales estaban distribuidas las tres concentraciones del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (100, 75 y 50%), clorhexidina al 0,12% (control positivo) y agua destilada (control negativo) haciendo un total de 200 muestras. Se tuvo como criterio de inclusión a las placas petri inoculadas con cepas de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 que no presenten contaminación en el proceso microbiológico. Variable independiente: Extracto Etanólico de *Camellia sinensis*. Variable dependiente: Efecto antibacteriano sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Variable interviniente: Tiempo. Para la preparación del extracto etanólico de *Camellia sinensis* se siguió el siguiente protocolo: Obtención de la planta de *Camellia sinensis*, (fig.01) proceso de secado de la planta, mezclado de la hoja molida de *Camellia sinensis* seca con alcohol etanólico a 70°, macerar el extracto por 20 días, agitando la mezcla 15 minutos diarios, dilución a las concentraciones deseadas (100, 75 y 50%), filtrado de la mezcla; todo este proceso se realizó bajo estrictas condiciones de bioseguridad. (fig.02)



Figura N° 01 Recolección de la planta de *Camellia Sinensis*, en el distrito de Huayopata, Cusco



Figura N°02 Extracto Etanolico de *Camellia sinensis*. (100, 75 y 50%)



La aplicación de la parte experimental del estudio. Se realizó en los Laboratorios de Ciencias Básicas de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Andina del Cusco. La cepa pura de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, fue obtenida de Genlab Perú SAC. El medio de cultivo utilizado para la prueba final fue el Agar MRS (Man, Sharpe, Rogosa). (fig.03)

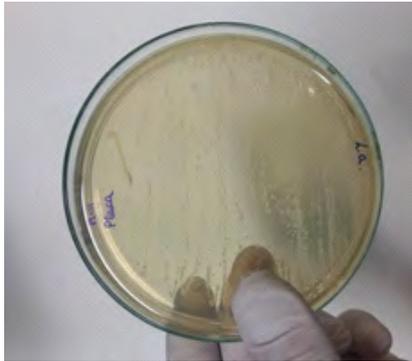


Figura N°03

La técnica utilizada fue la prueba de Kirby Bauer, en la que se colocó 5 discos de papel inoculados con 10 µL de cada una de las sustancias.



Figura N° 04

(Extracto etanólico de *Camellia sinensis* al 100, 75 y 50%, clorhexidina al 0,12 % y agua destilada) en cada una de las 40 placas petri.

Previo a la incubación se hizo uso de placas de Anaerocult, con el fin de crear un ambiente de anaerobiosis y favorecer el crecimiento de la cepa.



Figura N°05

Se incubó a 35°C a las 48, 72 y 96 horas. Después de cada tiempo indicado de incubación se procedió a determinar el diámetro de los halos de inhibición (mm) sobre el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 alrededor de cada disco; se utilizó un vernier digital para este fin.



Figura N°06

El procedimiento se realizó a las 48 horas y se repitió a las 72 horas y a las 96 horas. Y se evaluó según la escala de Duraffourd

ESCALA DE DURAFFOURD	
CATEGORIA	PUNTAJE
Nula (-)	< 8 mm
Sensible (+)	Entre 9 y 14 mm
Muy Sensible (++)	Entre 15 y 20 mm
Sumamente Sensible (+++)	>20 mm

Escala de Duraffourd para interpretar el efecto antibacteriano

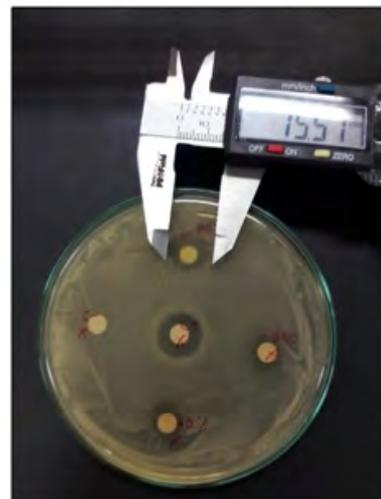


FIGURA N° 07 Medición del halo de inhibición de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 con la aplicación de cada una de las sustancias, medidas con un vernier digital en milímetros.

RESULTADOS

TABLA N° 01 efecto antibacteriano del extracto etanólico de Camellia sinensis (TÉ VERDE) sobre Lactobacillus acidophilus ATCC 4356, Cusco 2018 según frecuencia y porcentaje

TIEMPO	EXTRACTO	ESCALA DE DURAFFOURD							
		NULA (-)		SENSIBLE (+)		MUY SENSIBLE (**)		SUMAMENTE SENSIBLE (***)	
		F	P	F	P	F	P	F	P
HORAS	%								
48	100%	0	0%	13	32.5%	27	67.5%	0	0%
72		0	0%	19	47.5%	21	52.5%	0	0%
96		0	0%	13	32.5%	27	67.5%	0	0%
48	75%	0	0%	40	100%	0	0%	0	0%
72		0	0%	40	100%	0	0%	0	0%
96		0	0%	40	100%	0	0%	0	0%
48	50%	0	0%	40	100%	0	0%	0	0%
72		3	7.5%	37	92.5%	0	0%	0	0%
96		8	20%	32	80%	0	0%	0	0%

Interpretación: Se observó que la concentración del extracto etanólico que mejor efecto tuvo fue al 100%, que según la escala de Duraffourd obtuvo un efecto antibacteriano muy sensible a las 48 horas en un 67.5% y Sensible en un 32.5%, a las 72 horas obtuvo un efecto antibacteriano muy sensible en un 52.5% y Sensible en un 47.5%, a las 96 horas obtuvo un efecto antibacteriano muy sensible en un 67.5% y Sensible en un 32.5%. La siguiente concentración fue la del extracto etanólico de Camellia sinensis al 75%, que según la escala de Duraffourd obtuvo un efecto antibacteriano sensible tanto a las 48, 72 y 96 horas.

La concentración del extracto etanólico de Camellia sinensis al 50% según la escala de Duraffourd obtuvo un efecto antibacteriano Sensible a las 48 horas, a las 72 horas indica que el 92.5% obtuvo un efecto antibacteriano de sensible y el 7.5% obtuvo un efecto antibacteriano nulo, a las 96 horas indica que el 80% obtuvo un efecto antibacteriano de sensible y el 20% obtuvo un efecto antibacteriano nulo.

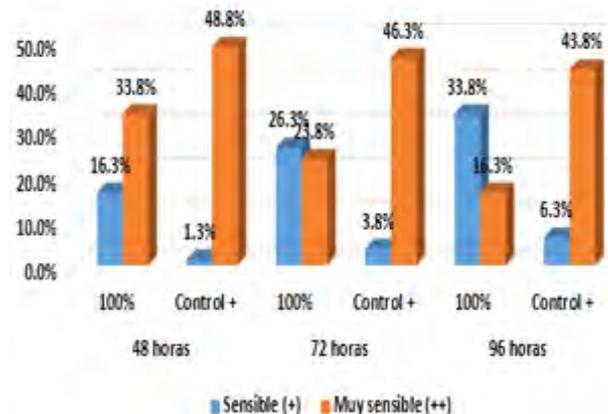
TABLA N° 02 Comparación del extracto etanólico de Camellia sinensis (TÉ VERDE) AL 100% con el gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 a las 48, 72 y 96 HORAS.

EXTRACTO ETANOLICO DE CAMELLIA SINENSIS AL 100%		
ESCALA DURAFFOURD	PORCENTAJE	MEDIANA
NULA	0%	13,9400
SENSIBLE	50,8 %	
MUY SENSIBLE	49,2 %	
SUMAMENTE SENSIBLE	0%	
TOTAL	100,0 %	

GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0,12%		
ESCALA DURAFFOURD	PORCENTAJE	MEDIANA
NULA	0%	16,3400
SENSIBLE	7,5	
MUY SENSIBLE	92,5	
SUMAMENTE SENSIBLE	0%	
TOTAL	100,0	

Interpretación: En la tabla se observa que el extracto etanólico de Camellia sinensis al 100%, presenta con 50,08 % un efecto antibacteriano sensible y 49.2% muy sensible mientras que el Gluconato de clorhexidina al 0,12% presenta con 7.5% un efecto antibacteriano sensible y 92.5% muy Sensible, por lo tanto el Gluconato de clorhexidina al 0,12% tiene mayor efecto antibacteriano frente al extracto etanólico de Camellia sinensis (Té verde) al 100%.

GRAFICO N° 01 Comparación del extracto etanólico de Camellia sinensis (TÉ VERDE) AL 100% con el gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 a las 48 horas, 72 horas y 96 horas según porcentajes.



Interpretación: En el grafico se observa la comparación del extracto etanólico de *Camellia sinensis* al 100% y el gluconato de clorhexidina al 0,12% en porcentajes. Mostrando la barra color azul el efecto sensible y la barra color naranja el efecto muy sensible.

DISCUSIÓN:

Figueroa A, Figueroa M, Torres F, Obando G, en el 2017, concluyen que el extracto de té verde tiene efecto antibacteriano frente a *S. mutans*, y fungiestático para *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. Sin embargo no mencionan a ningún microorganismo del genero *Lactobacillus*. Resultados a los que si se llega a determinar en el presente estudio, indicando que el extracto etanólico de *Camellia sinensis* al 100%, 75% y 50% tiene efecto antibacteriano frente a *Lactobacillus acidophilus*.

Anita P, Sivasamy S, Madan P, Nanda I, Ethiraj S; en el 2015, concluyen que el extracto de té verde tiene efecto antibacteriano frente a las cepas de *S. Mutans* y *L. acidophilus*. Indica que se desarrolló un halo de inhibición máximo de 18.33 mm y mínimo de 14.67 frente a *S. Mutans* y un halo de inhibición máximo de 12.67 y 7.33 mm para *L. acidophilus*. Dichos resultados concuerdan con la presente tesis ya que se demostró el efecto antibacteriano de la *Camellia sinensis* frente a *Lactobacillus acidophilus*. En la presente investigación se desarrolló un halo de inhibición máximo de 16.94 mm y un mínimo de 11.68 mm.

Pauca Y, en el año 2016, realiza una investigación en la cual indica que la *Camellia sinensis* tiene efecto antibacteriano frentes a *Streptococcus mutans* y *Candida sp*, sin embargo no mencionan a *Lactobacillus acidophilus*, lo cual si se investigó en el presente estudio y se comprueba que *Camellia sinensis* tiene efecto también frente a este microorganismo.

CONCLUSION:

El extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 100%, 75% y 50% tiene efecto antibacteriano sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. El Gluconato de clorhexidina al 0,12% presenta mejor efecto antibacteriano que el extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 100%, 75% y 50% tanto a las 48, 72 y 96 horas. Se encontró diferencia significativa del efecto antibacteriano en relación al tiempo tanto en el extracto etanólico de *Camellia sinensis* al 100%, 75%, 50% y en el Gluconato de clorhexidina al 0,12%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Garcés J, García E, Salas L. *Streptococcus mutans* and dental caries Rev. CES Odont [Internet]. 2013 [Citado 05 Marzo 2018]; 26(1): 44-56. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>
- 2) Duque J, Pérez J, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Rev Cub Estomatol [Internet]. 2006 [Citado 05 Marzo 2018]; 43(1):1-12. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000100007
- 3) Chica V. Efecto Antibacteriano del extracto de hojas de neem sobre cepas de *Streptococcus mutans* Estudio in vitro [Tesis]. Quito: Universidad Central de Ecuador. Facultad de Odontología. 2018.
- 4) Alzohairy M. Therapeutics Role of *Azadirachta indica* (Neem) and Their Active Constituents in Diseases Prevention and Treatment. Hindawi Publishing Corporation [Internet]. 2016 [Citado 06 Marzo 2018]; 1(1): 1-11. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2016/7382506/>
- 5) Tanzer J, Livingston J, Thompson A. The microbiology of primary dental caries in humans. J Dent Educ [Internet]. 2001 [Citado el 21 Mar 2018]; 65 (01): 1028-1037. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11699974>
- 6) Higashida, B. Odontología Preventiva. Ciudad de México: Editorial Mc Graw Hill; 2009.
- 7) Bernardi N, Meurer M, Arantes V. Estudo da atividade antibacteriana de extratos vegetais de *Azadirachta indica* "Neem" frente a cepa padrão de *Streptococcus pyogenes* atcc 19615. Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR [Internet]. 2012 [Citado 06 Marzo 2018]; 16(3): 117-122.
- 8) Nakata H et al. Efecto antimicrobiano in vivo de la infusión de la *Camellia sinensis* sobre bacterias orales, odontología San Marquina 2007, 12-14.
- 9) Mukhtar H, Ahmad N. Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health, Am J. Clin Nutr. 2000; 71 SUPPL: 1698-1702.
- 10) Alvarado V, Moromi H. Plantas medicinales: efecto antibacteriano in vitro de plantago major l, erythroxyllum novogranatense, plowman var truxillense y camellia sinensis sobre bacterias de importancia estomatológica. Odontología. San Marquina 2010; 13(2): 21-5.
- 11) Moromi H, et al. Efecto antimicrobiano in vivo de la infusión de camellia sinensis sobre bacterias orales. Odontología. Sanmarquina 2007; 10(2): 12-14.

- 12) Thomsom A. Terapéutica dental, 4ta. Edición, Editorial Ripano, Texas, 2008.
- 13) Pedrique M. Determinacion de la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos (Antibiograma). Trujillo: Universidad Cesar Vallejo, Facultad de Ciencias de la Salud. 2002.
- 14) Thornsberry C. "The agar diffusion antimicrobial susceptibility test", in Balows, A., Atlanta: Editorial Springfield, IL, Charles C. Thomas; 1974
- 15) Bernal M, Guzman M. Antibiograma de discos. Normalizacion de la Tecnica de Kirby – Bauer. Rev Biomedica [Internet]. 1984 [Citado el 24 Mar 2018]; 4 (03): 112 – 121. Disponible en: <https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/.../1917%3A%3A3Apd>
- 16) Cona E. Condiciones para un buen estudio de suceptibilidad mediante test de difusión en agar. Rev Chil Infect [Internet]. 2002 [Citado el 25 Mar 2018]; 19 (02): 77-81. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v19s2/art01.pdf>
- 17) In vitro [Internet] España: Wikipedia la enciclopedia libre; 2017 [Citado el 27 Mar 2018]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=In_vitro&oldid=104132687
- 18) Bauer A, Kirby W, Sherris J, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol [Internet]. 1966 [Citado el 22 Mar 2018], 45 (4): 493 – 6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5325707>

AUTOR: Carlos Francisco Aranibar Zuniga
E-MAIL: xcarlosdk5@gmail.com
CELULAR: 972703039
CIRUJANO DENTISTA

Recibido: 25 de Febrero 2019

Aceptado: 30 de Abril 2019