

Efectividad *in vitro* e *in vivo* de un gel a base de *Camellia sinensis* “té verde” frente a microorganismos de importancia en procesos periodontales.

Hilda Moromi Nakata,¹
Margot Gutiérrez llave,¹
Lita Ortiz Fernández,¹ Elba
Martinez Cadillo,¹ Katia
Medina Calderon,¹
Donald Ramos Perfecto¹
P, Julio Ruiz Quiroz,²
Yuri Castro Rodríguez³

Effectiveness *in vitro* and *in vivo* of a *Camellia sinensis* “green tea” based gel against microorganisms of importance in periodontal processes.

Resumen

Las enfermedades periodontales después de la caries dental, son los problemas más prevalentes en lo que a salud bucal se refiere. La gingivitis y la periodontitis son resultados de la presencia de las bacterias y sus productos capaces de alterar los tejidos así como de la respuesta del hospedero. Diversos estudios se han desarrollado utilizando productos naturales en el país, por ejemplo, la uña de gato, muña, propóleo, coca, el té verde comprobándose su acción antimicrobiana y en este último caso también acción anticancerígena. El propósito del estudio fue determinar la efectividad *in vivo* de un gel elaborado con carboximetilcelulosa y extracto alcohólico de té verde, *é in vitro* sobre microorganismos relacionados con la enfermedad periodontal como: *Prevotella loeschi*, *Peptostreptococcus anaerobius* y *Capnocytophaga*. 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 sólo 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 y 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 ATCC de *P. loechi*, *P. anaerobius* a diversas concentraciones utilizadas, pero que el gel sólo manifiesta un efecto en el sitio de contacto. Hubo evidencia de mejoras en los índices gingivales en los pacientes tratados con el gel con extracto hasta las 2 semanas de evaluación.

Palabras clave: *Gingivitis*, *Camellia sinensis*, *Carboximetilcelulosa*, *Fitoterapia*

Abstract

Periodontal diseases after dental caries are the most prevalent in the dental health is concerned. The gingivitis and periodontitis are the result of the presence of bacteria and their products capable of altering the tissue and the host response. Studies on action of *Camellia sinensis* (green tea) on microorganisms of periodontal disease, demonstrates the beneficial effects of this product and the application potential in different areas. Therefore the purpose of the study was to determine the *in vivo* effectiveness of a gel made from carboximetilcelulosa and alcoholic extract of green tea, and *in vitro* on microorganisms associated with periodontal disease: *P. loeschi*, *P. anaerobius* and *Capnocytophaga*. The results show the presence of halos of inhibition of green tea extract at concentrations of 100 %, 75 %, 50 % and 25 %, the gel was observed only action on the site of contact, no halo. Regarding the results in patients showed an improvement in gingival index (Loe and Silness) after exposure to gel with green tea extract for up to 2 weeks. We conclude that green tea extract has antibacterial action on ATCC strains of *P. loechi*, *P. anaerobius* various concentrations used, but the gel shows only an effect on the site of contact. There was evidence of improvements in the gingival index in patients treated with the gel extract up to 2 weeks of evaluation.

Key words: *Gingivitis*, *Camellia sinensis*, *Carboximetilcelulose*, *Phytotherapy*

¹Docentes de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos

²Docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos

³Estudiante de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Correspondencia:

Mg. Hilda Moromi Nakata
Facultad de Odontología
Av. Germán Amézaga s/n, Lima, 1 Perú
Teléfono: 6197000 anexo 3401

Fecha de recepción: 22-08-11

Fecha de aceptación: 28-10-11

Introducción

Siendo la caries dental y las enfermedades periodontales los principales problemas de salud bucal y que los productos naturales están igualmente recibiendo atención de científicos en relación a los beneficios, no sólo en la salud general sino también en su posible aplicación en la salud bucal, se han realizado muchos trabajos al respecto.

La periodontitis crónica se inicia y sustenta en el biofilm de la placa gingival, la misma que en cualquier edad la modificación de los factores genéticos y externos pueden modificar la patogénesis, y por tanto puede presentarse casos de recurrencia¹ El origen es polimicrobiano y es de curso lento; los microorganismos más relacionados son *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia* y *Actinobacillus*

actinoinomycentencomitans. Otros, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter* spp *Eikenella corrodens*, *Selenomonas Peptostreptococcus* spp. y *Treponema denticola*.² En el control y la prevención de estas enfermedades relacionadas con la placa, se utilizan una serie de métodos mecánicos, productos químicos de uso comercial, etc. En la actualidad se da mucha importancia al uso de los productos naturales como

uso alternativo ó complementario para el control y la prevención de diversas enfermedades. El té verde (*Camellia sinensis*) con sus constituyentes: polifenoles, taninos, fluor, etc, y atribuibles factores inmunoestimulantes. Estudios diversos se ha desarrollado en relación a la prevención de la caries dental por el efecto sobre los microorganismos. Estan los resultados de acción antibacteriana con la infusión a base de té sobre microflora salival mixta y *Streptococcus mutans* (Ney Paredes); sobre la placa cariogénica, especialmente contra *S. muntans* y *Lactobacillus*.³⁻⁸ Estudios del té verde y otros productos naturales sobre microorganismos periodontales y sus actividades metabólicas¹⁰⁻¹³ demuestran el efecto beneficioso. Otros estudios con extractos de té verde mostraron fuerte inhibición de bacterias como *Escherichia coli*, *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus mutans*. Efectos antibacteriales de extractos de té verde y té verde comparados con amoxicilina, cephadrinea y eugenol, han demostrados ser eficaces matando bacterias relacionados con placa y proceso periodontales, específicamente: *A. actinomycentencomintas*, *A. viscosus*, *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, en 30 segundos, al igual que a

Candida albicans.⁹⁻¹³ Las ventajas de los productos naturales son sus mínimos efectos secundarios.

El objetivo del estudio fue elaborar un gel a base de carboximetilcelulosa, extracto de té verde y agua destilada, y luego enfrentar el producto elaborado con cepas patrones ATCC de bacterias relacionados con la patología periodontal, para establecer el efecto antibacteriano *in vitro* e *in vivo*.

El estudio fue de tipo experimental longitudinal. Para el procedimiento *in vitro* se utilizó la técnica del cultivo en agar por el método de difusión con discos, y para *in vivo* se seleccionó pacientes considerando los criterios de inclusión, constituyendose cada uno en caso y control a la vez.

Material y método

Procedimiento del estudio *in vivo*

Se examinaron cinco pacientes (cuatro varones y una mujer), con la característica de tener en diferentes cuadrantes, cuadros inflamatorios de la encía (Gingivitis). Una vez identificadas las lesiones,

se procedió a instruirlos en su fisioterapia dental y luego a realizarle un Índice Gingival (Loe y Silness) determinando el grado según índice. Luego se procedió a aislar la zona para colocar, el gel a evaluar, subgingivalmente en una determinada zona de un cuadrante y el placebo en otra zona de otro cuadrante. Se dejó el gel por un minuto. Y luego se retiró el aislamiento relativo, recomendando al paciente que no consuma nada por 30 minutos.

Procedimiento *in vitro*:

Para establecer la acción antibacteriana del gel con extracto de té verde, se procedió a la activación de las cepas de *P. loeschi* y *P. anaerobius* en Agar Shaedler en condiciones de anaerobiosis.

Luego a partir del cultivo se procedió a realizar la estandarización del inóculo según Mac farland 0,5 y se sembraron en el medio de Shaedler para la realización de la prueba, se colocaron los discos con las muestras del extracto a concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % y del gel al 2 %

Preparación del gel de té verde

Para la preparación del gel se utilizó carboximetil celulosa en concentración de 1,5 g, con agua destilada y extracto de té verde a concentraciones de 1 %, 1,5 %, 2 % y 5 %, mezclando todos los ingredientes con agua hirviendo poco a poco hasta que tenga la apariencia de gel, luego agregar paulatinamente el extracto, hasta su incorporación total.

Preparación de los extractos de "te"

Las hojas de "te" fueron secadas en estufa a 40 °C y pulverizadas. La extracción se realizó por maceración a temperatura ambiente con etanol al 95 %. Se usó 10 g de la muestra pulverizada por 90 mL del solvente. Se dejó macerar por una semana y luego se procedió a filtrar el macerado, para la posterior evaporación a sequedad en ratavapor a temperatura menor a 40 °C.¹⁴

Discusión

Estudios del té verde y otros productos naturales sobre microorganismos periodontales y sus actividades metabólicas,¹⁰⁻¹³ demuestran el efecto beneficioso.

Efectos antibacteriales de extractos de té verde y té verde comparados con amoxicilina, cephadrinea y eugenol, han demostrados ser eficaces matando bacterias relacionados con placa y proceso periodontales, específicamente: *A. actinomycentencomintas*, *A. viscosus*, *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, en 30

Resultados

Efecto *in vivo*:

Se observó mejoría en el índice gingival en tres de los cinco pacientes.

Pacientes	Índice gingival en la zona de aplicación	
	Inicio	Dos semanas después
Paciente 1	Grado 2	Grado 1
Paciente 2	Grado 2	Grado 1
Paciente 3	Grado 1	Grado 0
Paciente 4	Grado 2	Grado 2
Paciente 5	Grado 1	Grado 1

Efecto *in vitro*

Estudios del té verde y otros productos naturales sobre microorganismos periodontales y sus actividades metabólicas,¹⁰⁻¹³ demuestran el efecto beneficioso.



Fig 1. *P. loeschi*. Extracto alcohólico de té verde.



Fig 2. *P. anaerobius*. Extracto alcohólico de té verde.

segundos, al igual que a *Candida albicans*.¹⁴ Las ventajas de los productos naturales son sus mínimos efectos secundarios.

Las evidencias de los efectos *in vivo* del gel con té verde, sugieren un efecto benéfico, tanto así que en tres de los cinco pacientes se notó una mejoría clínica, hasta las dos semanas post tratamiento. Este hallazgo no es posible contrastarlo, dado que no hay estudios similares. Sin embargo en un ensayo clínico que se realizó para ver los efectos tóxico con aceite de hojas de té verde, contenido en un gel sobre la placa dental y gingivitis crónica aplicado con cepillo de diente dos veces al día, no se encontró ninguna reacción adversa, y el grupo tratado mostró una significativa reducción del índice gingival a cuatro y ocho semanas de observación.¹⁵

En cuanto al estudio *in vitro*, el efecto del gel no se hizo evidente por no observarse el halo de inhibición sólo el efecto en el área de contacto. Se puede ensayar una explicación, en el sentido de la poca difusión del gel en dicho medio. Por ello la aplicación del gel en el sitio de la zona donde se evidencia la inflamación de la encía fue el sitio correcto. Este comportamiento tampoco se puede contrastar, por la misma razón anotada en el estudio *in vivo*

Conclusiones

El extracto alcohólico de té verde y el gel de te verde mostraron efecto antibacteriano; sin embargo, en el segundo estuvo limitado al sitio de contacto del gel con el cultivo bacteriano en el medio Agar Schaedler.

Hasta por dos semanas de observación se notó una mejoría de las condiciones

de los tejidos blandos de los pacientes a quienes se aplicó gel con extracto de te verde.

Referencias bibliográficas

1. Paredes SN. Efecto antibacteriano in vitro de la infusión de *Camellia sinensis* y *Mentostachys mollis* sobre flora salival mixta. [tesis de titulación] Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2006
2. Axelsson P, Sweden K. Diagnosis and Risk prediction of periodontal diseases. Slovakia: Quintessence publishing Co, Inc; 2002.
3. Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Edit. Medica Panamericana; 2009: 260p.
4. Didier PF. Green tea Health Benefits. www.green-tea-dminternational.com/Bz//ky-Green-tea-health.html.
5. Rosen MS, Elvin-Lewis M, Beck FM, Beck EX. Anticariogenic effects of tea in rats. *J. Dent Res.* 1984;63(5):658-660
6. Anónimo: Bacteriology; White tea has an inhibitory effect of various pathogenic bacteria (2) Obesity; fitness & Wellness Weeks Weeks. Atlanta Jun 26; 2004 pag 86
7. , Chung JK, Yang G, Chhabra SK, Lee M. Tea and tea polyphenols in cancer prevention. *J. Nutr* 2000;130: 472-8.
8. Mukhtar H, Ahmad N. Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. *Am. J Clin Nutr.* 2000;7(suppl):1698S-1702S.
9. Moromi NH y Martínez CE. Efecto del te verde en la formación de placa bacteriana por *Streptococcus mutans*. *Odontol Sanmarquina.* 2006;9(2):23-24.
10. Moromi NH, Martínez CE, Villavicencio GJ, Burga SJ, Ramos PD. Efecto antimicrobiano in vitro de *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. *Odontol Sanmarquina* 2007;10(1):18-20.
11. Okamoto M, Sugimoto K, Leung P, Nakayama K, Kamaguchi A, Maeda N. A Inhibitory effect of green tea catechins on cysteine proteinases in *Porphyromonas gingivalis* Oral Microbiology an Immunology 2004;19(2):118-120.
12. Okamoto M, Leung KP, Ansai T, Sugimoto A, Maeda N. Inhibitory effects of green tea catechins on protein tyrosine phosphatase in *Prevotella intermedia*. *Oral Microbiology Immunology* 2003;18:192-195.
13. Osawa K et al. The inhibitory effect of plant extracts on the collagenolytic activity and cytotoxicity of human gingival fibroblasts by *Porphyromonas gingivalis* crude enzyme. *Bull Tokyo Dent Coll.* 1998;31:7-14
14. Ruiz J. & Roque M. Actividad Antimicrobiana de Cuatro Plantas del Nor-Oriente Peruano. *Ciencia e Investigación* 2009;12(1):41-47
15. Soukoulis S, Hirsch R. The effects of a tea tree oil-containing gel on plaque and chronic gingivitis. *Australian Dental Journal* 2004;49(2):78-83