

Reporte de Análisis de Similitud

Archivo:	1A_Santana Romero Karina Marly_Título Profesional_2022
Fecha del Análisis:	06 /09/2022
Operador del Programa Informático:	Diaz Mendiola, Karina del Pilar
Correo del Operador del Programa Informático:	kdiaz@unfv.edu.pe
Porcentaje:	18%
Asesor:	Ladera Castañeda, Marysela Irene
Título:	"COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE DOS ENJUAGUES BUCALES (CLORURO DE CETILPIRIDINIO Y CLORHEXIDINA) FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS ATCC 10231".
Enlace:	https://secure.urd.com/view/137048169-146903-161908

Jefe de la Oficina de Grados
y Gestión del Egresado:



AMÉRICO ALEJANDRO MUNAYCO MAGALLANES



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE DOS ENJUAGUES
BUCALES (CLORURO DE CETILPIRIDINIO Y CLORHEXIDINA) FRENTE A
LA *CANDIDA ALBICANS* ATCC 10231**

Línea de investigación: Salud Pública

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Santana Romero, Karina Marly

Asesora

Ladera Castañeda, Marysela Irene

ORCID: 0000-0001-5390-8256

Jurado

Alvitez Temoche, Daniel Augusto

Meneses Gómez, Nadia Carolina

Galarza Valencia, Diego Javier

Lima – Perú

2023

AGRADECIMIENTO

A mí asesora Dra. Esp. Ladera Castañeda Marysela Irene por su ayuda y consejos durante el desarrollo de mi tesis.

A mi universidad por brindarme todos los conocimientos para poder desempeñarme en mi carrera profesional.

DEDICATORIA

A Dios y mi familia por el apoyo que me brindaron durante mi vida universitaria y que lo siguen haciendo hasta la actualidad.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTO	ii
DEDICATORIA	iii
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Descripción y formulación del problema	2
1.2 Antecedentes	4
1.3 Objetivos	10
- Objetivo general	10
- Objetivos específicos	10
1.4 Justificación	11
1.5 Hipótesis	12
II. MARCO TEÓRICO	13
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	13
III. MÉTODO	21
3.1 Tipo de investigación	21
3.2 Ámbito temporal y espacial	21
3.3 Variables	21
3.4 Población y muestra	22
3.5 Instrumentos	23

3.6	Procedimientos	23
3.7	Análisis de datos	27
IV.	RESULTADOS	28
V.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	38
VI.	CONCLUSIONES	42
VII.	RECOMENDACIONES	43
VIII.	REFERENCIAS	44
IX.	ANEXOS	52

RESUMEN

Objetivo: comparar la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas. **Método:** experimental, longitudinal, comparativo y prospectivo; en el cual se evaluaron 37 de halos de inhibición por cada grupo (enjuagues bucales a base de cloruro de cetilpiridinio y a base de clorhexidina). El análisis de inhibición se realizó con cepas de *Candida albicans* inoculadas en placas Petri con agar Mueller Hinton mediante el método de difusión y los halos fueron medidos a las 24, 48 y 72 horas. **Resultados:** se encontró que el enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio presentó media y desviación estándar en los halos de inhibición de $26,01 \pm 4,05$; $23,88 \pm 4,49$; $22,7 \pm 4,49$ mm a las 24, 48 y 72 horas respectivamente. Mientras que el enjuague bucal a base de clorhexidina presentó media y desviación estándar en halos de inhibición de $61,97 \pm 7,09$; $56,45 \pm 7,97$; $53,16 \pm 8,08$ mm a las 24, 48 y 72 horas respectivamente. Además, se observó que los halos de inhibición del enjuague bucal a base de clorhexidina fueron significativamente de mayor tamaño ($p = 0,000$), en comparación con los halos de inhibición del cloruro de cetilpiridinio. **Conclusión:** los dos enjuagues bucales tienen actividad antifúngica, siendo significativamente mayor la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de clorhexidina.

Palabras clave: enjuague bucal, actividad antifúngica, candida albicans.

ABSTRACT

Objective: to compare the antifungal activity of cetylpyridinium chloride-based mouthwash with chlorhexidine-based mouthwash on *Candida albicans* ATCC 10231 at 24, 48 and 72 hours. **Method:** experimental, longitudinal, comparative and prospective; in which 37 inhibition halos were evaluated for each group (cetylpyridinium chloride-based and chlorhexidine-based mouthwashes). The inhibition analysis was carried out with *Candida albicans* strains inoculated in Petri dishes with Mueller Hinton agar using the diffusion method and the halos were measured at 24, 48 and 72 hours. **Results:** it was found that the cetylpyridinium chloride-based mouthwash presented mean and standard deviation in the inhibition halos of 26.01 ± 4.05 ; 23.88 ± 4.49 ; 22.7 ± 4.49 mm at 24, 48 and 72 hours respectively. While the chlorhexidine-based mouthwash presented mean and standard deviation in inhibition halos of 61.97 ± 7.09 ; 56.45 ± 7.97 ; 53.16 ± 8.08 mm at 24, 48 and 72 hours respectively. In addition, it was observed that the inhibition halos of the chlorhexidine-based mouthrinse were significantly larger ($p = 0.000$), compared to the inhibition halos of cetylpyridinium chloride. **Conclusion:** the two mouthwashes have antifungal activity, the antifungal activity of the chlorhexidine-based mouthwash being significantly higher.

Keywords: mouthwash, antifungal activity, *candida albicans*.

I. INTRODUCCIÓN

Las micosis orales, afectan principalmente a las mucosas, y son causadas en mayor medida por el patógeno oportunista *Candida albicans*. A menudo se presentan más en los usuarios con dentaduras postizas, personas de edad avanzada, en pacientes diabéticos y en personas inmunodeprimidas (Rodríguez et al., 2002).

Candida albicans es un microorganismo comensal de los seres humanos: habita en el tracto gastrointestinal, la mucosa oral y vaginal de la mayoría de las personas sanas. En ocasiones, se comporta como un patógeno oportunista, provocando así infecciones mucosas sintomáticas. *Candida albicans* se caracteriza por varios tipos de células de desarrollo, que incluyen levaduras y formas filamentosas (pseudohifas e hifas). Los filamentos son distintos de las células en forma de levadura en la estructura de la pared celular, las proteínas de la pared celular, los programas de transcripción y el reconocimiento con el sistema inmunológico (D'Ostiani et al., 2000; Van der Graaf et al., 2005)

Entre varios mecanismos, la hidrofobicidad de la superficie celular desempeña un papel importante en la adhesión de *Candida albicans* a superficies inertes. Esta capacidad de adhesión es uno de los principales factores predisponentes a las infecciones bucales, ya que en el interior de la cavidad bucal suelen estar presentes materiales abióticos como la base acrílica, los brackets metálicos de ortodoncia y las superficies de las restauraciones dentales. Por lo tanto, la capacidad de *Candida albicans* para adherirse a materiales inertes de este tipo explicaría por qué la estomatitis por *Candida* y otras infecciones orales por hongos afectan aproximadamente al 67% de los usuarios de prótesis dentales de edad avanzada (Hägg, 2004; Bürgers et al., 2009; Figueiral et al., 2007).

No sólo la *Candida albicans* puede unirse a materiales inertes, también puede unirse a superficies bióticas en la cavidad oral, epitelio mucoso y superficie dentaria, por medio de mecanismos adicionales; como interacciones entre receptores epiteliales y adhesinas de *Candida* (Matsuura et al., 2015; Moyes et al., 2015).

La candidiasis oral-faríngea, asociado principalmente con *Candida albicans*, es común entre los pacientes con Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), donde se considera un marcador del desarrollo de la enfermedad en individuos con Virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Además, la candidiasis oral-faríngea a menudo se asocia con el cáncer oral, puede desarrollarse en personas que usan prótesis dentales (especialmente en personas de edad avanzada) y con frecuencia afecta a pacientes diabéticos, así como a pacientes terminales que no producen suficiente saliva. En varios casos, la candidiasis oral se puede prevenir mediante una buena higiene bucal, incluido el uso diario de cepillo de dientes y enjuagues bucales (Kim y Sudbery, 2011; Paulone et al., 2017).

Es importante recalcar que en la actualidad los enjuagues dentales a base de Cloruro de cetilpiridinio (CPC) se vienen incorporando en mayor medida como parte de la higiene oral diaria de las personas a raíz de la reciente enfermedad por coronavirus 2019 (COVID 19), ya que se ha demostrado los beneficios frente a la infección por SARS COV-2, pero poco o nada se dispone de información sobre los efectos de estos enjuagues bucales sobre la candidiasis oral (Muñoz-Basagoiti, 2021).

1.1 Descripción y formulación del problema

La salud bucal es importante porque la boca es la puerta de entrada al cuerpo humano, contribuye a la salud general de todas las personas y es un componente esencial de la calidad de vida (Diaz-Reissner et al., 2017).

El desequilibrio de la microbiota en la cavidad oral facilita la aparición de enfermedades en los tejidos orales blandos y duros y es fundamento básico de la odontología actual, ya que la salud oral contribuye a la salud general y es un componente esencial de la calidad de vida. El rol microbiano en el desarrollo de enfermedades bucodentales ha sido ampliamente descrito en la literatura (Hands Schuh et al., 2020).

También los hongos pueden desempeñar un papel relevante en la aparición de lesiones cariosas. Se ha planteado la hipótesis de que *Candida albicans*, en particular, contribuye significativamente a la patogenia de la caries, especialmente en niños, adolescentes y adultos jóvenes, debido a su acidogenicidad, capacidad para formar hifas y secretar enzimas que degradan la dentina (Klinke, 2009; Raja et al., 2010).

Además, *Candida albicans* es la levadura más importante y prevalente en la mucosa oral; se asocia a candidiasis oral, principalmente en individuos inmunocomprometidos. Las lesiones producidas por *Candida albicans* pueden ser confundidas con otras lesiones de etiología diferente, por lo que su diagnóstico debe ser preciso (Hands Schuh et al., 2020).

Se han realizado numerosos estudios sobre el género *Candida* en un intento de encontrar opciones de tratamientos terapéuticos que pueden mejorar la calidad de vida del paciente. Sin embargo, muchos aspectos aún deben ser descubiertos (Rodríguez et al., 2002).

Una adecuada higiene bucal como el uso regular y correcto del cepillo de dientes, la pasta de dientes y el enjuague bucal ayudan a prevenir las infecciones bucales. Siendo demostrado mediante diversos estudios que la persistencia de las micosis se ve afectada por los enjuagues bucales, siempre que contengan digluconato de clorhexidina (Paulone et al., 2017).

Sin embargo, actualmente se vienen comercializando una gran variedad de enjuagues bucales ya que las empresas siempre están buscando nuevas formulaciones con la intención de aumentar los beneficios terapéuticos sobre las demás, los efectos de muchos de estos nuevos

agentes aún no han sido estudiados como el cloruro de cetilpiridinio (CPC) sobre la *Candida albicans*.

El objetivo de esta investigación es comparar la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague a base de clorhexidina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas, por lo cual se formula la siguiente pregunta:

¿Cuál es la diferencia en la actividad antifúngica sobre *Candida albicans* ATCC 10231, entre el enjuague a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague a base de clorhexidina?

1.2 Antecedentes

Hands Schuh et al. (2020) en Chile realizaron un estudio con el objetivo de evaluar y comparar la eficacia antifúngica de seis enjuagues bucales comerciales frente a aislamientos de *C. albicans* y *R. mucilaginosa*. Se utilizaron los enjuagues bucales formulados (solos o en combinación) con clorhexidina (CHX) 0,12%; CHX 0,1%; CHX 0,05%; cloruro de cetilpiridinio (CPC) 0,075%; CPC 0,05% y aceites esenciales. Fueron utilizados diez aislamientos de *C. albicans* y otros diez de *R. mucilaginosa*. Mediante el método de difusión en placa con agar Mueller Hinton (modificado) se midieron los halos de inhibición previa incubación a 32 °C. Los resultados de este estudio indican que enjuagues bucales con CHX 0,1%; CHX 0,12%; CHX 0,05% + CPC 0,05%; CHX 0,12% + CPC 0,05% y CPC 0,075% ejercen un efecto antifúngico frente a *C. albicans* y *R. mucilaginosa*. CHX 0,1% dio lugar a la mayor zona de inhibición para *C. albicans* y *R. mucilaginosa* ($25,65 \pm 2,39$ mm y $40,05 \pm 3,31$ mm). El enjuague con aceites esenciales no tuvo actividad antifúngica alguna. El análisis estadístico no mostró diferencia entre los enjuagues bucales CHX 0,1%; CHX 0,12% y CHX 0,12% + CPC 0,05% ($p = 0,0001$) frente a *C. albicans* y *R. mucilaginosa*. Llegando a la

conclusión de que los enjuagues bucales con CHX mostraron una mejor actividad antifúngica contra *C. albicans* y *R. mucilaginosa* que los restantes enjuagues estudiados.

Barbosa et al. (2019) en Brasil realizaron un estudio con el objetivo de investigar la actividad antifúngica de 3 enjuagues bucales comerciales que contienen 0,12% de clorhexidina, 0,07% de cetilpiridinio o 0,075% de cetilpiridinio contra la levadura planctónica y sésil (modo de biopelícula). Se aislaron cuarenta y tres levaduras *Candida* de 32 de 70 pacientes seleccionados, y los factores de virulencia de las especies *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* fueron investigados por la reacción en cadena de la polimerasa y proteinasa en placas. Concentración mínima inhibitoria (CMI), y el ensayo de biopelícula in vitro evaluó la actividad antifúngica de antisépticos. *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* se detectaron en mono y culturas mixtas. Solo *C. albicans* mostró genes relacionados con la adhesión y las proteinasas (ALS2, ALS3, SAP1 y SAP3). La actividad aspartato proteinasa se encontró en el 60,46% de los aislamientos. Las formulaciones antisépticas exhibieron una CMI inferior al 1,25% hacia las levaduras en el modo planctónico. Según el ensayo XTT ((2,3-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil) -2H-tetrazolio-5-carboxanilida) Como resultado, la mayoría de los aislados de *Candida* y todos los cultivos mixtos formaron biopelículas en 24 horas. Las formulaciones antisépticas también fueron activas contra las biopelículas. La mayoría de los factores de virulencia investigados aquí (ALS2, ALS3, SAP1 y SAP3) ocurrieron en la mayoría de *Candida spp.* aislados, especialmente en *C. albicans*. Las formulaciones de enjuague bucal probadas fueron eficaces contra todos los aislados de levadura en los modos de crecimiento planctónico y sésil.

Fu et al. (2014) realizaron un estudio con el objetivo de investigar la capacidad antifúngica de siete enjuagues bucales de venta libre contra *Candida albicans* y *Candida krusei*. Los siete enjuagues bucales estudiados fueron Listerine®, solución de clorhexidina

compuesta, solución de povidona yodada (PV-I), cetilpiridinio solución de cloruro, Colgate® Plax, Crest® Prohealth y NaHCO₃. La capacidad antifúngica de cada enjuague bucal contra ATCC 90028, ATCC 6258 y 10 aislados clínicos de *Candida albicans* se probaron mediante pruebas de difusión de disco, el método de microdilución en caldo y las pruebas de biopelícula con dos ensayos de reducción de XTT diferentes. Fluconazol se utilizó como control positivo, y los experimentos se realizaron por triplicado. Como resultados se obtuvo que la clorhexidina y cloruro de cetilpiridinio tenía las zonas de inhibición más grandes para ATCC 90028 y ATCC 6258 ($18,6 \pm 3,5$ y $19 \pm 1,6$ mm, respectivamente). El cloruro de cetilpiridinio fue el más eficaz en inhibiendo todas las cepas planctónicas de *Candida albicans* y ATCC 6258 con la concentración mínima inhibitoria (CMI). A medida que aumentaba la madurez de las biopelículas, el cambio en la CMI de células sésiles de los enjuagues bucales fue mucho más pequeño que el del fluconazol. Para las biopelículas maduras, clorhexidina, PV-I y cloruro de cetilpiridinio produjo las mayores reducciones en el metabolismo (60–80%). Dando como conclusión que la mayoría de estos siete enjuagues bucales actividad antifúngica significativa para *Candida albicans* y *Candida krusei*.

Aroonrerk y Dhanesuan (2007) realizaron un estudio con el objetivo de determinar las actividades inhibitoras de *Candida* de enjuagues bucales comerciales con varios ingredientes activos: fluoruro (FLO), cloruro de cetilpiridinio (CPC), gluconato de clorhexidina (CHX), triclosán (TRI) y extractos de hierbas: Twin Lotus (TLO) y Herbric concentrado (HBC). Las actividades de *Candida* incluyeron el crecimiento, la formación de tubos germinativos y la adhesión de *Candida albicans* a mucosa bucal. Este estudio mostró que los enjuagues bucales TRI, TLO y CHX tenían efectos inhibidores del crecimiento de *Candida albicans* con la CMI de 1/64, 1/64 y 1/32, respectivamente. Los enjuagues bucales CHX, TRI, TLO, HBC y CPC tenían la capacidad de inhibir la adhesión de *Candida albicans* ATCC 10231 en

aproximadamente 85, 80, 70, 65 y 55%, respectivamente. Se inhibió la formación de tubos germinativos, o conversión micelial, de *Candida albicans* aproximadamente en un 90, 85 y 80% después del tratamiento con un 20% de enjuagues bucales que contienen CHX, TRI y CPC, respectivamente. El enjuague bucal con fluoruro mostró la más débil de todas las actividades inhibitorias. Llegando a la conclusión de que los enjuagues bucales con CHX y triclosán eran efectivos en la reducción de las actividades de cándida oral.

Shrestha et al. (2011) con el objetivo de evaluar el efecto antifúngico de enjuagues bucales que contienen clorhexidina y timol. Las actividades fungistáticas de clorhexidina y timol que contienen los enjuagues bucales se evaluaron mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la actividad fungicida se determinó mediante un ensayo de muerte por tiempo. El enjuague bucal que contenía clorhexidina fue capaz de matar todas las cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis* en tiempos más cortos en comparación con el enjuague bucal que contenía timol. La clorhexidina mostró una CMI de 1:32 para ambas especies de *Candida*, mientras que Listerine respectivamente mostró CMI de 1:8 y 1:16 para *C. albicans* y *C. tropicalis*. Los agentes antifúngicos utilizados en el estudio tuvieron buena actividad in vitro contra las dos especies de cándida. Los enjuagues bucales que contenían clorhexidina mostraron actividades antifúngicas y fungicidas superiores en comparación con el enjuague bucal que contenía timol. Ambos agentes antifúngicos pueden sugerirse para su uso como agentes antifúngicos tópicos.

Guerrero (2017) realizaron un estudio con el objetivo de evaluar el grado de efectividad de los cuatro colutorios más utilizados en el mercado sobre las bacterias más comunes presentes en prótesis acrílicas, *Cándida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*. Fue un estudio experimental in vitro, para evaluar la efectividad de colutorios comerciales con los siguientes principios activos: hexetidina (100mg), triclosan (90 ppm), clorhexidina (0,12%) y

cloruro de cetilpiridinio (0,05g) a más del control positivo con bicarbonato de sodio, en la eliminación de los microorganismos anteriormente citados. Se confeccionaron 120 cubos de acrílico de termocurado de (25 x 25 x 3 mm) para el estudio. Cada microorganismo se sembró en un Erlenmeyer durante 24 horas, después de la inoculación, cada cepa se colocó en cinco Erlenmeyer (uno por grupo) en el que luego se introdujo un colutorio diferente durante 10 horas, se retiró el exceso del colutorio de los cubos de acrílico para obtener la muestra que fue colocada en cajas petri a fin de realizar el conteo de bacterias mediante microscopía como un indicador del efecto inhibitorio de cada colutorio sobre las cepas estudiadas. Los datos obtenidos se sometieron a análisis descriptivo e inferencial que permitió, comparar la cantidad de colonias presentes, valorándolas de acuerdo a parámetros establecidos por el especialista microbiólogo a cargo. A partir de estas valoraciones se aplicaron pruebas no paramétricas de chi cuadrado. Como resultado se obtuvo que el valor de la media frente a *Staphylococcus Aureus* fue clorhexidina, seguido por hexetidina y luego bicarbonato. Frente a *Streptococcus Mutans* el más exitoso fue hexetidina seguido por bicarbonato y luego clorhexidina. Finalmente, frente a *Candida albicans*, tanto la clorhexidina como la hexetidina fueron muy efectivas. En conclusión, todos los colutorios empleados sobre los cubos de acrílico fueron eficientes siendo el triclosan el menos efectivo.

Sreenivasan et al. (2012) realizaron un estudio con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana de dos enjuagues bucales de cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0,05% con o sin alcohol con un enjuague bucal de clorhexidina y un enjuague bucal con fluoruro sin CPC. Se utilizaron dos enfoques diferentes para evaluar actividad antimicrobiana. Primero, la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue determinado para cada enjuague bucal frente a un panel de 25 microorganismos que incluyen especies asociadas a caries dental, gingivitis y periodontitis. Segundo, placa dental supragingival obtenida de 15 adultos se incubó con los

cuatro enjuagues bucales para evaluar la actividad antimicrobiana sobre microorganismos en biopelículas orales. Ambos enjuagues bucales CPC exhibieron CMI más bajos, es decir, mayor cantidad de actividad antimicrobianos contra bacterias gramnegativas orales, especialmente patógenos periodontales y especies implicadas en la halitosis como *Aggregatibacter actinomycescomitans*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Solobacterium moorei* que el enjuague bucal de control. Pruebas ex vivo en los microorganismos de la placa supragingival demostraron una mayor actividad antimicrobiana de los enjuagues bucales CPC (> 90% de muerte, $P < 0,001$) y el enjuague con clorhexidina (> 98% de muerte, $P < 0,05$) en comparación con el fluoruro de control enjuague bucal. Si bien el enjuague bucal de clorhexidina fue más eficaz, los enjuagues bucales conteniendo 0,05% de CPC formulado con o sin alcohol de amplio espectro demostró actividad antimicrobiana contra cepas de laboratorio y placa bacteriana supragingivales en comparación con un enjuague bucal de control sin CPC.

LeBel et al. (2020) en Canadá realizaron un estudio con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana contra patógenos orales importantes asociados con caries dental, enfermedad periodontal y candidiasis de los enjuagues bucales a base de cloruro de cetilpiridinio (CPC) que contienen fluoruro de sodio y xilitol (X-PUR Opti-Rinse 0,05% NaF y X-PUR Opti-Rinse 0,2% NaF). La actividad antimicrobiana se determinó mediante un ensayo de difusión en disco, un ensayo de dilución en microplacas y los protocolos estándar europeos para antisépticos. Las propiedades microbicidas se evaluaron frente a cultivos planctónicos y de biopelículas. Se utilizó un modelo de células epiteliales orales para evaluar la biocompatibilidad de los enjuagues bucales y su capacidad para atenuar la secreción de citocinas. Se encontró que los enjuagues bucales basados en CPC eran altamente activos contra los microorganismos probados. Más específicamente, los enjuagues bucales cumplieron con la

norma europea NF EN 1040 y NF EN 1275 definida como una reducción $\log_{10} \geq 5$ ($\geq 99,999\%$ de muerte) para las bacterias y una reducción de $\log_{10} \geq 4$ ($\geq 99,99\%$ de muerte) para los hongos, respectivamente. Los enjuagues bucales basados en CPC también fueron bactericidas contra las biopelículas de *S. mutans*, *S. sobrinus* y *P. gingivalis*. Dando como conclusión que los enjuagues bucales a base de CPC suplementados con fluoruro de sodio (0,05% o 0,2%) y xilitol (10%) fueron altamente activos contra patógenos orales importantes.

1.3 Objetivos

- **Objetivo general**

- Comparar la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas.

- **Objetivos específicos**

- Comparar los valores de los diámetros de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas.
- Comparar de los valores de los diámetros de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas.
- Comparar los valores de la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24 horas.

- Comparar los valores de la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 48 horas.
- Comparar los valores de la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 72 horas.

1.4 Justificación

Debido a que existen estudios que se han enfocado en la actividad antifúngica de diversos tipos de tratamiento de la candidiasis oral, los resultados del presente trabajo de investigación permitirán aumentar la evidencia científica de una posible alternativa de tratamiento basada en enjuagues bucales a base de Cloruro de Cetilpiridinio frente a la *Candida albicans*.

La divulgación de los resultados de esta investigación informará a la comunidad sobre los nuevos enjuagues bucales que tienen actividad antifúngica y que podrían ser más aceptables por su facilidad de administración al ser de uso tópico y de sabor agradable en los pacientes que sean propensos a una candidiasis bucal.

El enjuague bucal a base de Cloruro de Cetilpiridinio es una alternativa que cobra relevancia especialmente en pacientes en los cuales el sistema inmunológico está comprometido por diversos motivos como trasplantes de órganos, patologías infecciosas, etc., lo que los hace más propensos a enfermedades oportunistas como la candidiasis, es así que en la atención odontológica también se deben identificar estos riesgos y brindar un tratamiento preventivo con los agentes que actualmente tenemos en nuestro medio.

1.5 Hipótesis

Existe diferencia entre la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio y el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 *Candida albicans*

Es un microorganismo comensal del ser humano que habita en el tracto gastrointestinal, mucosa oral y vaginal de la mayoría de las personas sanas. En ocasiones se comporta como un patógeno oportunista, causando así infecciones conocida como candidiasis mucosas sintomáticas (Edwards, 1991).

Candida albicans es la especie más relevante por producir infecciones orales, comprende entre el 60 % y 70 % de los aislamientos de la cavidad oral (Abaci, 2011).

Se caracteriza por desarrollarse en varias formas de células, las de levadura y las formas filamentosas (pseudohifas e hifas). Los filamentos son distintos de las células en forma de levadura en la estructura de la pared celular, proteínas de la pared celular, programas de transcripción y reconocimiento / interacción con el sistema inmunológico (Edwards, 1991).

Por modelos ex vivo de candidiasis, se ha demostrado que la forma hifal del hongo causa más daño tisular que la forma de levadura, ya que otorga a los hongos la capacidad para adherirse a las superficies epiteliales, formar biopelículas, provocar proinflamatorios, producción de citocinas y evita la fagocitosis y / o la muerte intracelular (Jayatilake et al., 2006).

Entre varios mecanismos, la hidrofobicidad de la superficie celular juega un papel importante en la adhesión de *Candida albicans* a superficies inertes. Esta capacidad de adhesión es uno de los principales factores predisponentes a las infecciones orales, en los materiales abióticos como la base acrílica para dentaduras postizas, aparatos de ortodoncia

metálicos y superficies de restauraciones dentales que están presentes dentro de la cavidad oral (He et al., 2006; Hägg et al., 2004; Bürger et al., 2009).

Candida albicans no solo es capaz de unirse a materiales inertes, sino que también puede unirse a superficies bióticas de la cavidad bucal (epitelio de la mucosa y superficie de los dientes mediante mecanismos adicionales, como interacciones entre receptores epiteliales y adhesinas de *Candida* (Moyes et al., 2015).

Candida spp. tienen la capacidad de adherirse y formar una espesa de Matriz extracelular con múltiples capas sobre superficies poliméricas, donde se desarrollan comunidades de biofilms (Souza et al., 2009).

Estas comunidades brindan protección contra el estrés ambiental, resistencia antimicrobianos, cooperación metabólica y regulación de la expresión génica (Schaller et al., 2002).

La higiene puede conducir a la acumulación de biopelículas que no es compatible con la salud de una persona. Las biopelículas juegan un papel relevante en las enfermedades humanas porque las infecciones fúngicas culminan en una alta mortalidad y la presencia de biopelículas complica aún más el diagnóstico y hace que el tratamiento clínico difícil (Flemming y Wingender, 2010).

2.1.2 Infección por *Candida albicans*

Las células epiteliales producen una variedad de citocinas en respuesta a la infección por *Candida*, que incluyen Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), Factor estimulante de colonias de macrófagos de granulocitos (GM-CSF), interleucina-1 α (IL-1 α), interleucina-1 β (IL-1 β) e interleucina-6 (IL-6), así como las quimiocinas reguladas en la

activación, células T normales expresadas y secretadas (RANTES), interleucina-8 (IL-8) y proteína inflamatoria de macrófagos 3 α (MIP3 α) (Schaller et al., 2002).

La candidiasis oral-faríngea, principalmente es asociada con especies de *Candida albicans*. Asociándose con los pacientes con SIDA, donde se considera un marcador del desarrollo de la enfermedad en pacientes con VIH. También se asocia a menudo con el cáncer oral, puede desarrollarse en personas que usan prótesis dentales (especialmente en personas mayores), y con frecuencia afecta a pacientes diabéticos, así como a pacientes terminales que no producen suficiente saliva (Kim y Sudbery, 2011).

2.1.3 Enjuagues bucales

Los enjuagues bucales son soluciones ampliamente utilizadas para enjuagar la boca, especialmente antes de la cirugía oral, debido a su capacidad para reducir el número de microorganismos en la cavidad bucal y unidades formadoras de colonias en aerosoles dentales (Kosutic et al., 2009).

En la década de 1880, Willoughby D. Miller (dentista capacitado en microbiología) fue el primero en sugerir el uso de un enjuague bucal antimicrobiano que contenga compuestos fenólicos para combatir inflamación (Jackson, 2000).

En las últimas décadas, el uso de enjuagues bucales se ha convertido en habitual, generalmente después del control mecánico de la biopelícula de placa. Los enjuagues bucales son un vehículo ideal en el que incorporar productos químicos y es apreciado por el público por su facilidad de uso, reducción de biopelícula de placa y efecto de refrescante aliento (Moran, 2000).

2.1.3.1 Clorhexidina. Es un antiséptico de amplio espectro que actúa contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, aerobios, anaerobios facultativos y hongos aumentando la permeabilidad de la pared celular bacteriana, causando su lisis, siendo utilizado en odontología para reducir la placa dental y tratar la enfermedad periodontal (Milstone et al., 2008).

La evidencia también indica un efecto in vitro contra virus desarrollados en lípidos como influenza A, para influenza, herpes virus 1, citomegalovirus y hepatitis B (Bernstein et al., 1990).

La clorhexidina tiene gran afinidad por las superficies dentarias y tisulares y ello sirve como depósito incluso después del enjuague o la irrigación con el agente. Debido a su alta sustentividad se considera el «gold standard» de los antisépticos (Enrile y Santos-Aleman, 2005).

Sin embargo, realizar enjuagues más duraderos con un producto que contenga la clorhexidina puede causar decoloración de los dientes y lengua, aumento de la formación de sarro, transitorios cambios en el sentido del gusto y alteración de la flora bucal. Es por eso que se recomiendan utilizar a largo plazo los aceites esenciales en lugar de la clorhexidina (Charles et al., 2004).

A) Mecanismo de acción. La clorhexidina es una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno, la que la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que genera eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos. Suele mantenerse más estable en forma de sal y la preparación más común es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua (Fardai y Tumbull, 1986).

Se une a la membrana celular bacteriana, produciendo a bajas concentraciones aumento de la permeabilidad con filtración de componentes intracelulares incluido el potasio (efecto bacteriostático), y en altas concentraciones produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (efecto bactericida). En boca se adsorbe rápidamente a las superficies, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita, liberándose gradualmente en 8-12 horas en su forma activa. Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo (Bascones y Morante, 2006).

Su pH óptimo se encuentra entre 5,5 y 7 y es en función del pH que ejerce su acción frente a diferentes bacterias. Con un pH entre 5,0 y 8,0 es activa frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Milstone et al., 2008).

El desarrollo de resistencias es muy escaso. En un periodo de 2 años no se desarrollan resistencias ni presencia de oportunistas o efectos adversos en la cavidad oral (Bascones y Morante, 2006).

B) Concentraciones. La clorhexidina suele presentarse en dos concentraciones, al 0,12% y al 0,2%, se recomienda realizar un buche con 10 ml de producto a una concentración del 0,2% y de 15 ml al 0,12%, esto es debido a la dosis total de clorhexidina ya que 10 ml al 0,2 % libera 20 mg y 15 ml al 0,12% libera 18 mg, observándose que los resultados con ambas formulaciones son igual de efectivos (Bascones y Morante, 2006).

Las formulaciones de distintos enjuagues antisépticos se desarrollaron inicialmente en soluciones alcohólicas. Las últimas investigaciones van encaminadas a conseguir una formulación de clorhexidina en medio no alcohólico igual de efectiva que la formulación de la

misma en solución alcohólica. Como se ha conseguido una combinación de clorhexidina al 0,12% sin alcohol a la que se añade cetilpiridinio al 0,5% (nueva formulación de Perio Aid), resultando igual de efectiva en el control de la formación de nueva placa que clorhexidina con alcohol al 0,12% (Perio Aid) y que clorhexidina con alcohol al 0,2% (Corsodyl) (Van Strydonck, 2004).

C) Toxicidad y efectos secundarios. No se ha descrito toxicidad sistémica por aplicación tópica o ingestión, ni hay evidencias de teratogenia en el modelo animal. Sin embargo, se han descrito en muy raras ocasiones ciertas sensibilizaciones al fármaco lo mismo que los efectos colaterales sistémicos por la ingestión del compuesto (Bascones y Morante, 2006).

2.1.3.2 Cloruro del cetilpiridinio (CPC). Es un compuesto de amonio cuaternario monocatiónico que consiste en nitrógeno cuaternario conectado con una o más cadenas laterales hidrofóbicas, cuyo uso es seguro para uso en humanos. Su actividad antimicrobiana se correlaciona con la hidrofobicidad de la cadena lateral y muestra un efecto máximo si la cadena alquílica contiene de 12 a 16 átomos de carbono (Maris, 1995).

Se ha utilizado CPC 0,05% para reducir la placa dental y la gingivitis como alternativa en pacientes que desarrollan irritación de las mucosas y manchas relacionadas con CHX (Gerba, 2015; Silva et al., 2009).

También se ha demostrado el efecto antiviral de la CPC en pacientes con influenza, reduciendo significativamente la duración y la gravedad de la tos y el dolor de garganta (Feres et al., 2010).

A) Mecanismo de acción. La membrana bacteriana lleva una carga negativa natural debido a su composición de ácido lipoteicoico (LTA; Gram-positivo) o lipopolisacáridos (LPS; Gram-negativo), respectivamente, y los fosfolípidos de la propia membrana de bicapa lipídica, neutralizados por contraiones como el Mg^{2+} y Ca^{2+} . Esto plantea un posible punto de interacción de los compuestos de amonio cuaternario cargados positivamente con las bacterias al sustituir inicialmente estos iones, en el caso de CPC, con un ion piridina cargado positivamente. La cola de hexadecano se integra a la membrana lipídica y la desorganiza (Gilbert y Moore, 2005).

A bajas concentraciones, el CPC afecta a la célula interfiriendo con su osmorregulación y su homeostasis, lo que se demuestra de manera medible por la fuga de K^+ y pentosa en *Saccharomyces cerevisiae*, que podría iniciar la autólisis por activación de ribonucleasas latentes intracelulares. A altas concentraciones, la CPC conduce a la desintegración de las membranas con fuga de contenido citoplasmático. Las consecuencias son el daño de las proteínas y los ácidos nucleicos, así como la lisis de la pared celular por enzimas autolíticas (Denyer y Stewart, 1998).

A diferencia de las bacterias Gram-positivas con una composición bastante simple de la pared celular, las bacterias Gram-negativas tienen una composición más compleja de la pared celular, con una membrana externa y un periplasma que suele representar un obstáculo para la penetración de compuestos con un peso molecular superior a 600 Da. Dado que la masa molecular de CPC es de 339 Da, también es activa frente a bacterias Gram-negativas. Además, los compuestos de amonio cuaternario en general mejoran su eficacia antimicrobiana en bacterias Gram-negativas al aumentar automáticamente su tasa de entrada a través de la pared celular dañada (McDonnell y Russell, 1999).

Por lo tanto, la susceptibilidad a la CPC es independiente de la cantidad de CPC unida por las bacterias, como ya se demostró en 1975 para *Escherichia coli*. Las propiedades tensioactivas de los compuestos de amonio cuaternario como el CPC mejoran aún más su eficacia a nivel microbiológico, ya que pueden cubrir superficies irregulares de manera uniforme (Mao et al., 2020).

B) Concentraciones. Los productos de Cloruro del Cetilpiridinio están altamente recomendados y de fácil acceso en el mercado, formulados como único compuesto activo en diferentes concentraciones, pero también en combinación con otros compuestos activos, siendo de especial relevancia la formulación de 0,05% junto con clorhexidina al 0,12%, que ha mostrado un importante impacto microbiológico como enjuague único o con un uso de 2 semanas, y también la encontramos en concentraciones de 0,05% evaluado durante 6 meses o como 0,03% evaluado durante 1 año (Gerba, 2015).

III. MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

Experimental, longitudinal, comparativo y prospectivo.

3.2 Ámbito temporal y espacial

Laboratorio de Análisis de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en enero del año 2022.

3.3 Variables

Variable dependiente

- Efecto antifúngico: halos de inhibición

Variable independiente

- Enjuague a base de cloruro del cetilpiridinio.
- Enjuague a base de clorhexidina.

Operacionalización de variables

Variables	Definición	Indicador	Escala	Valores
Efecto antifúngico	Capacidad que presenta una sustancia o fármaco para inhibir y/o producir la muerte de un hongo.	Medición del halo de inhibición.	Razón	0-X mm

Enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio	Soluciones líquidas, acuosas o hidroalcohólicas, que contienen principios activos similares a los de los dentífricos y en base a Cloruro cetilpiridinio.	Sustancia con efecto antifúngico	Nominal	- Enjuague bucal a base de CPC 0,07% (Vitis CPC Protect)
Enjuague bucal a base de clorhexidina	Soluciones líquidas, acuosas o hidroalcohólicas, que contienen principios activos similares a los de los dentífricos y en base a clorhexidina.	Sustancia con efecto antifúngico	Nominal	-Enjuague bucal a base de chlorhexidina Digluconato 0,12% (Periogard)

3.4 Población y muestra

La población fueron todas las placas petri con cultivo de *Candida albicans*.

La muestra para cada grupo de evaluación fue constituida según la fórmula para comparar medias y datos de un estudio piloto.

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \cdot (2s^2)}{d^2}$$

Donde:

α = Probabilidad de cometer un error tipo I

β = Probabilidad de cometer un error tipo II

Z_{α} = 1,96 (95%)

Z_{β} = 1,28 (90%)

s = desviación estándar

d = diferencia

$$n = \frac{(1,96 + 1,28)^2(2)(6.67)^2}{(5)^2}$$

$$n = \frac{(10,4976)(2)(44,4889)}{25}$$

$$n = 37,36$$

$$n = 37$$

3.5 Instrumentos

- Ficha de recolección de datos (Anexo B)

3.6 Procedimientos

3.6.1 Preparación de materiales

- Las placas Petri se envolvieron en papel craft y se esterilizaron por calor seco en una estufa a 180°C por 2 horas.

- Las puntas para las micropipetas, los viales de vidrio y los tubos con tapa rosca se esterilizaron con calor húmedo en autoclave a 121°C y 15 lb/pg² durante 15 minutos.

3.6.2 Preparación de los medios de cultivo

- Se preparó 20ml de caldo Sabouraud según las instrucciones del fabricante (30 gramos para 1 litro de agua destilada) en dos tubos de ensayo y se esterilizó en autoclave.

- Se preparó 100ml de agar Sabouraud según las instrucciones del fabricante (65 gramos para 1 litro de agua destilada) en un frasco de vidrio y se esterilizó en autoclave. El agar ya esterilizado se enfrió en baño María a 45-50°C y se vertió en placas Petri estériles.

- Se preparó 200 ml de agar Mueller Hinton en un frasco de vidrio de acuerdo a las instrucciones del fabricante (34 gramos para 1 litro de agua destilada). Se autoclavó el agar a 121°C y 15 lb/pg² durante 15 minutos. Inmediatamente después de autoclavar se llevó a Baño María a 45 - 50°C. Una vez temperado se vertió el preparado fresco y tibio a placas Petri de vidrio estériles, para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm, esto corresponde a 25-30 ml para placas de 90 mm de diámetro. El agar ya plaqueado se dejó solidificar a temperatura ambiente. El pH de cada lote de agar Mueller Hinton tuvo un pH entre 7,0-7,6. Esta medición se realizó sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes de autoclavar.

- Se preparó 100ml de suero fisiológico estéril, para ello se pesó 900 mg de cloruro de sodio grado bacteriológico y se completó con agua destilada hasta un volumen de 10ml, se esterilizó en autoclave. Luego se añadió volúmenes de 10ml a 4 tubos estériles.

3.6.3. Activación de la cepa

- Las cepas se encontraban refrigeradas entre 4-8°C en placas con agar Sabouraud

- Para cada cepa se tomó una colonia con el asa bacteriológica y se sembró en tubos con caldo Sabouraud estéril y se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas.

- La turbidez demostró el crecimiento de las cepas. Se sembró del caldo Sabouraud a placas con agar Sabouraud. Se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas.

3.6.4 Preparación de la muestra

Los enjuagues bucales se utilizaron de forma directa, por lo que no hubo diluciones.

- PerioGard

- VITIS CPC Protect

3.6.5 Preparación del inóculo

- A partir de colonias puras de los microorganismo *Candida albicans* se tomó una cierta cantidad de colonias y se diluyó en tubos de ensayo conteniendo 10 ml de suero fisiológico estéril (cloruro de sodio 0,9%) de tal manera que la soluciones resultantes tuvieron una turbidez correspondiente al tubo N°1 de la escala de MacFarland (escala turbidimétrica que consiste en una serie de tubos con turbidez creciente que permite hallar la concentración aproximada de una solución bacteriana) el cual corresponde a una concentración de 3×10^8 ufc/ml.

- A partir de esta solución se realizó diluciones de 1 en 3, para ello de estas soluciones preparadas se tomó 3 ml y se diluyeron a un volumen total de 9 ml. con suero fisiológico. Las soluciones resultantes tuvieron una concentración de 1×10^8 ufc/ml.

- Luego de ello se tomó 100 μ L y se diluyeron a un volumen total de 10 ml. con suero fisiológico en tubos con tapa rosca, todos los materiales usados deben ser estériles y también el área de trabajo. Las soluciones resultantes tuvieron una concentración de 1×10^6 ufc/ml.

3.6.6 Inoculación de las placas

- Se agregó 100 μL de cada inóculo bacteriano preparado (1×10^6 ufc/ml) a 5 placas con agar Mueller Hinton y con la ayuda de una espátula de Drigalsky se esparcieron los inóculos por todas las placas de tal manera que se obtenga un crecimiento homogéneo, para lo cual se deslizó el asa en la placa en forma paralela y bien compacta abarcando toda la superficie de la misma. Luego se repitió el procedimiento rotando la placa 60° en dos oportunidades más.

- Deben extremarse los cuidados en sembrar las placas de borde a borde, porque de lo contrario puede haber problemas en la realización de las lecturas. Se dejó secar 3 a 5 minutos antes de hacer los pocillos.

3.6.6 Formación de los pocillos

- Se esterilizó el sacabocados con alcohol y se flameó en el mechero, luego con mucho cuidado se hizo los pocillos, se hizo 4 por cada placa.

- Los pocillos estuvieron a más de 15 mm del borde de la placa y deben distribuirse de tal manera que no haya superposición de los halos de inhibición.

3.6.7 Sembrado de las muestras y controles

- Se usó 5 placas para las muestras de enjuagues bucales y controles, 1 pocillo para 1 muestra y 2 pocillos para los controles positivos y negativos en cada placa.

- Como muestras se trabajó con Vitis CPC. En 37 placas se sembró 40 μL .

- Como control negativo se usó NaCl 0.9%. En 37 placas se sembró 40 μL .

- Como control positivo se usó Periogard. En 37 placas se sembró 40 μL .

3.6.8 Incubación

- Las 5 placas de las muestras y los controles se llevaron a una incubadora a 37°C durante 24 horas.

3.6.9 Medición de halos

Después de 24, 48 y 72 horas de incubación, cada placa fue examinada. Las zonas de inhibición resultantes deben ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento bacteriano. Los diámetros de la zona de inhibición completa se midieron en milímetros pasando por el centro de cada pocillo. La medición se realizó por triplicado para cada pocillo con un vernier digital que mide hasta centésima de milímetro. Los valores de las mediciones por triplicado se promediaron y se redondearon para reportarlo como un número natural.

Los resultados obtenidos fueron registrados en la ficha de recolección de datos.

3.7 Análisis de datos

Los datos fueron procesados y analizados mediante el programa SPSS versión 24. Para el análisis univariado, se procedió a obtener el valor mínimo, valor máximo, media y desviación estándar. Para conocer si los datos presentaron distribución normal se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk. Se utilizó la prueba estadística del análisis de varianza para medidas repetidas para comparar cada grupo en los diferentes tiempos de medición y la prueba post hoc de Bonferroni; y la prueba de U de Mann Whitney para la comparación de ambos grupos. Se consideró un nivel de significancia del 0,05. Los resultados son presentados en tablas y figuras.

IV. RESULTADOS

Este estudio fue realizado cultivos de *Candida albicans* ATCC 10231, en los cuales se observó la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina.

Tabla 1

Comparación de los valores de los diámetros de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas

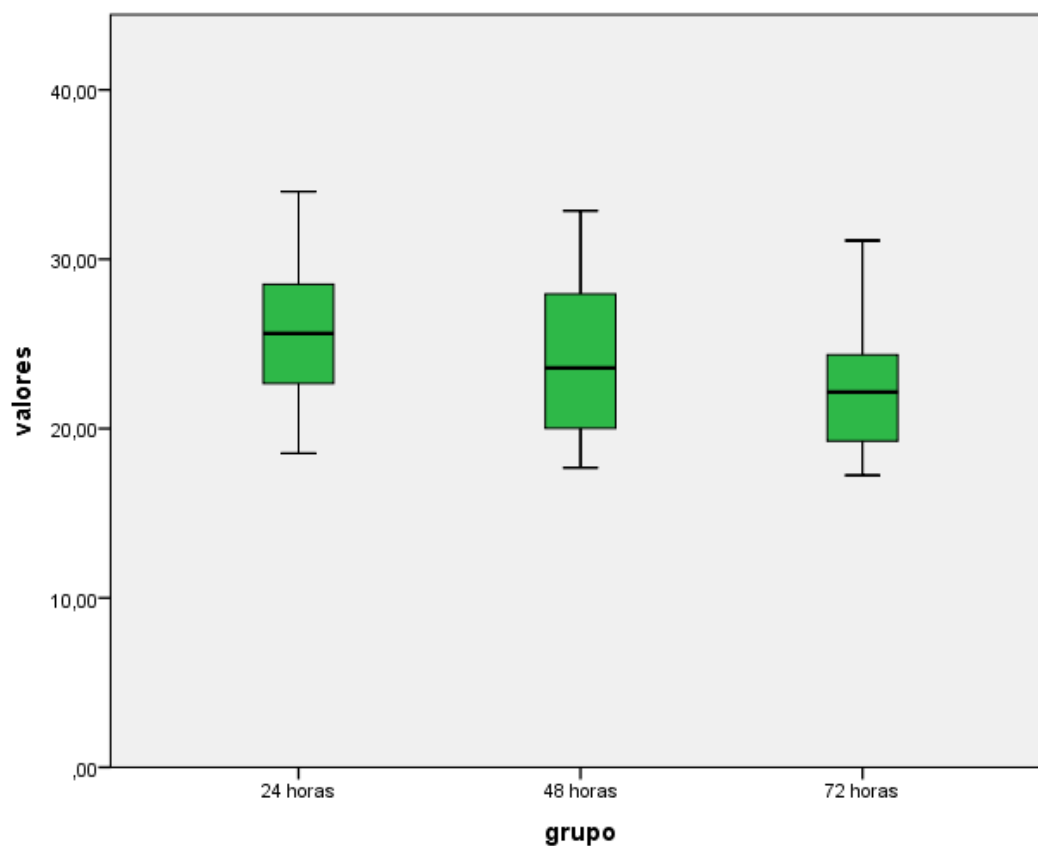
Enjuague buccal	24 horas		48 horas		72 horas		p*
	Media	DS	media	DS	media	DS	
Cloruro de Cetilpiridinio	26,01	4,05	23,88	4,49	22,70	4,49	0,000

Fuente: base de datos

*Prueba ANOVA de medidas repetidas

Figura 1

Comparación de los valores de los diámetros de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de Cloruro de Cetilpiridinio sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas



Nota. El enjuague bucal a base de Cloruro de Cetilpiridinio presentó halos de inhibición con una media de $26,01 \pm 4,05$ mm a las 24 horas, $23,88 \pm 4,49$ mm a las 48 horas y $22,70 \pm 4,49$ mm a las 72 horas. Se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,000$) al comparar los diámetros de los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas.

Tabla 2

Comparación de forma múltiple los valores de los diámetros de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de Cloruro de Cetilpiridinio sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas

			p*
24 horas	48 horas		0,000
	72 horas		0,000
48 horas	72 horas		0,000

Fuente: base de datos

*Prueba de Bonferroni

Nota. Se encontró diferencias estadísticamente significativas al comparar los diámetros de los halos de inhibición a las 24 horas y 48 horas ($p = 0,000$); a las 24 horas y 72 horas ($p = 0,000$); y a las 48 horas y 72 horas ($p = 0,000$).

Tabla 3

Comparación de los valores de los diámetros de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de Clorhexidina sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas

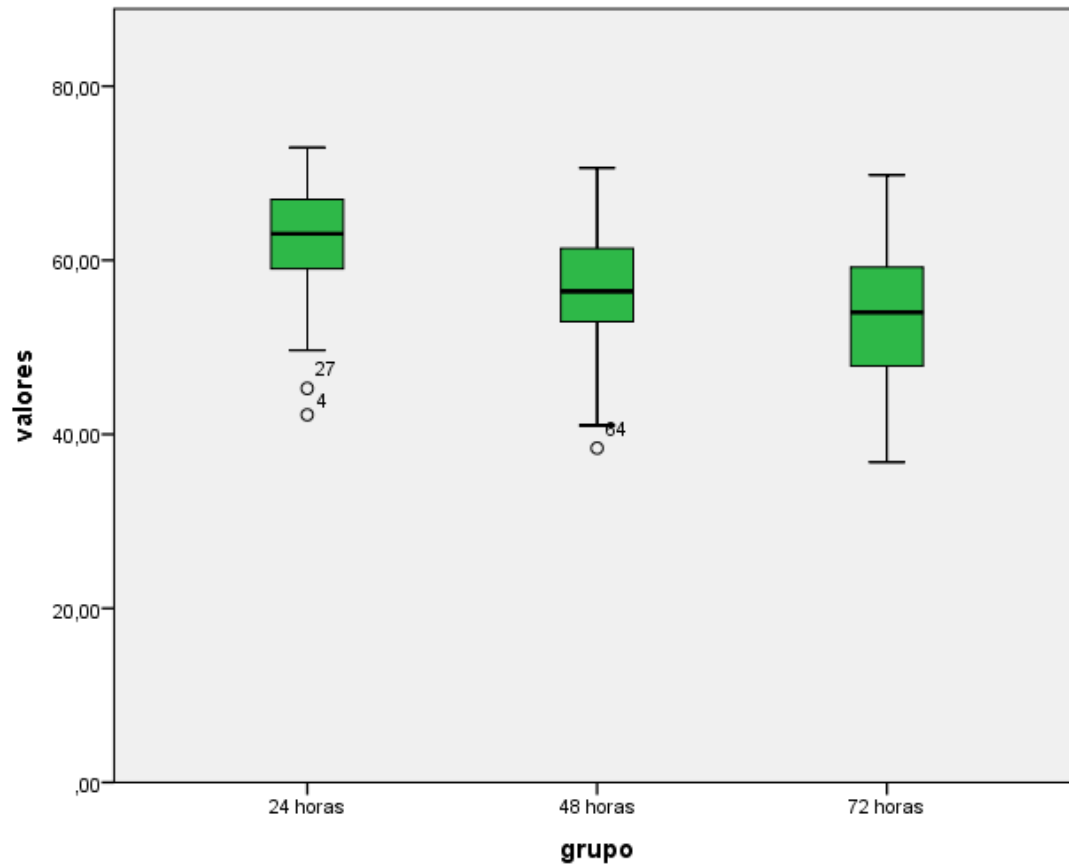
Enjuague buccal	24 horas		48 horas		72 horas		p*
	media	DS	media	DS	media	DS	
Clorhexidina	61,97	7,09	56,45	7,97	53,16	8,08	0,000

Fuente: base de datos

*Prueba ANOVA de medidas repetidas

Figura 2

Comparación de los valores de los diámetros de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de Clorhexidina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas



Nota. El enjuague bucal a base de clorhexidina presentó halos de inhibición con una media de $61,97 \pm 7,09$ mm a las 24 horas, $56,45 \pm 7,97$ mm a las 48 horas y $53,16 \pm 8,08$ mm a las 72 horas. Se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,000$) al comparar los diámetros de los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas.

Tabla 4

Comparación de forma múltiple los valores de los diámetros de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de Clorhexidina sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas

		p*
24 horas	48 horas	0,000
	72 horas	0,000
48 horas	72 horas	0,000

Fuente: base de datos

*Prueba de Bonferroni

Nota. Se encontró diferencias estadísticamente significativas al comparar los diámetros de los halos de inhibición a las 24 horas y 48 horas ($p=0,000$); a las 24 horas y 72 horas ($p=0,000$); y a las 48 horas y 72 horas ($p=0,000$).

Tabla 5

Actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de Cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 24 horas

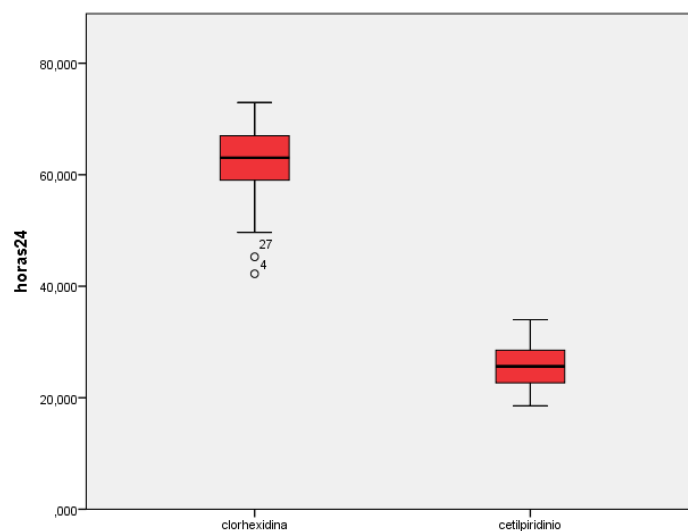
Enjuagues	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	p*
Cloruro de Cetilpiridinio	37	22,82	32,21	26,01	4,05	0,000
Clorhexidina	37	42,24	72,94	61,97	7,09	

Fuente: base de datos

*Prueba U Mann Whitney

Figura 3

Valores de la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de Cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de Clorhexidina sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 24 horas



Nota. El enjuague bucal a base de cloruro de Cetilpiridinio presentó halos de inhibición con una media de 26,01 mm, y el enjuague bucal a base de clorhexidina presentó halos de inhibición con una media de 61,97 mm, lo que constituye una mayor actividad antifúngica de este último, siendo la diferencia entre estos valores estadísticamente significativa $p = 0,000$ a las 24 horas.

Tabla 6

Actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de Cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 48 horas

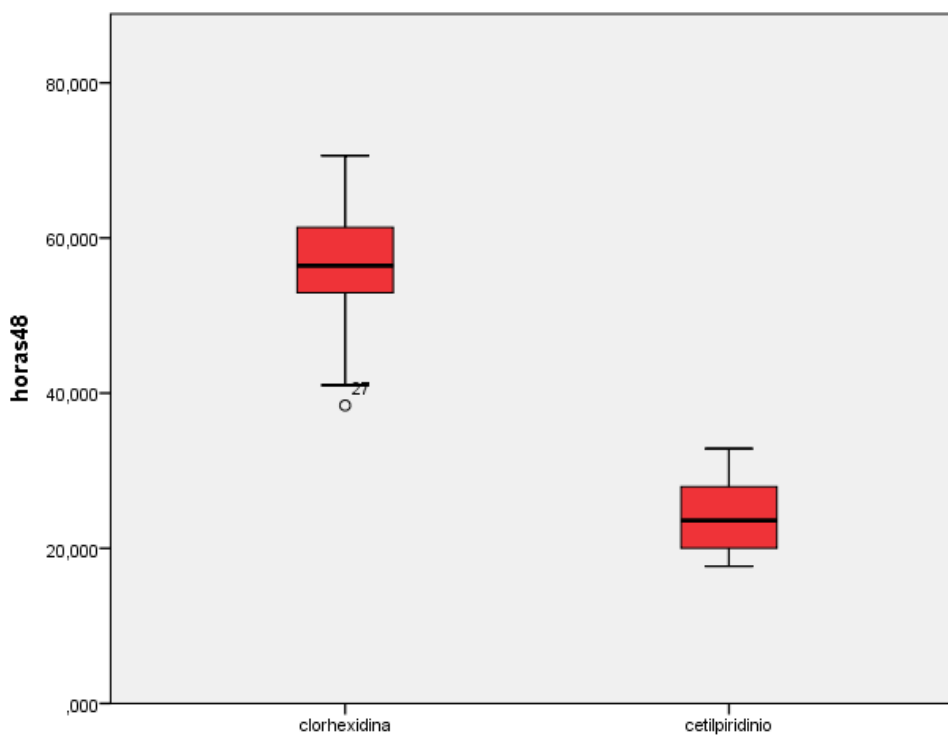
Enjuagues bucales	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	p*
Cloruro de Cetilpiridinio	37	20,72	31,60	23,88	4,49	0,000
Clorhexidina	37	38,41	70,62	56,45	7,97	

Fuente: base de datos

*Prueba U Mann Whitney

Figura 4

Valores de la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de Cloruro de Cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 48 horas



Nota. El enjuague bucal a base de Cloruro de Cetilpiridinio presentó halos de inhibición con una media de $23,88 \pm 4,49$ mm, y el enjuague a base de Clorhexidina presentó halos de inhibición con una media de $56,45 \pm 7,97$ mm, lo que constituye una mayor actividad antifúngica de este último, siendo la diferencia entre estos valores estadísticamente significativa $p = 0,000$ a las 48 horas.

Tabla 7

Actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de Cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 72 horas

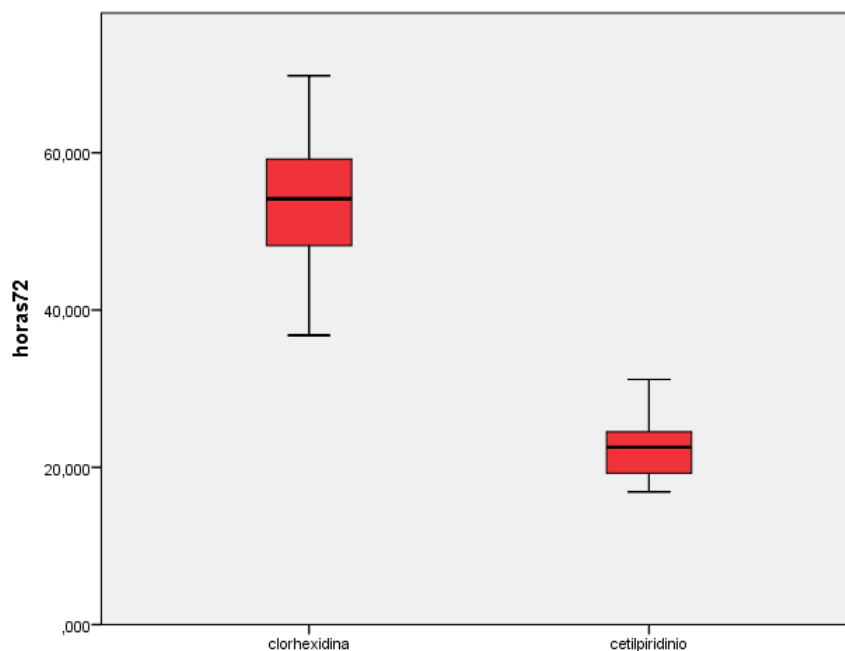
Enjuagues bucales	n	Mínimo	Máximo	media	Desviación estándar	p*
Cloruro de Cetilpiridinio	37	20,42	31,16	22,70	4,17	0,000
Clorhexidina	37	36,79	69,80	53,16	8,08	

Fuente: base de datos

*Prueba U Mann Whitney

Figura 5

Valores de la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de Cloruro de Cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de Clorhexidina sobre la Candida albicans ATCC 10231 a las 72 horas



Nota. El enjuague bucal a base de Cloruro de Cetilpiridinio presentó halos de inhibición con una media de $22,70 \pm 4,17$ mm, y el enjuague bucal a base de Clorhexidina presentó halos de inhibición con una media de $53,16 \pm 8,08$ mm, lo que constituye una mayor actividad antifúngica de este último, siendo la diferencia entre estos valores estadísticamente significativa $p = 0,000$ a las 72 horas.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En los últimos años los enjuagues bucales se vienen usando con fines cosméticos y medicinales ya que han ido incorporando dentro de sus componentes agentes antimicóticos y antimicrobianos que han surgido como una alternativa útil en el tratamiento de las patologías orales, como es el caso del enjuague bucal de Cloruro de Cetilpiridinio, el cual, se viene usando en distintas concentraciones para reducir la placa dental y la gingivitis (Gerba, 2015; Silva et al., 2009). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue comparar la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas.

Los resultados del presente estudio reportan que el enjuague bucal a base de Cloruro de Cetilpiridinio al 0,07% muestra halos de inhibición con una media de $26,01 \pm 4,05$ mm a las 24 horas, $23,88 \pm 4,49$ mm a las 48 horas y $22,70 \pm 4,49$ mm a las 72 horas frente a *Candida albicans* ATCC 10231, encontrándose diferencias estadísticamente significativas al comparar estos diámetros de los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas. Estos resultados coinciden con lo obtenido por Handschuh et al. (2020) y Fu et al. (2014), quienes encontraron actividad antifúngica contra *Candida albicans* a las 48 horas, utilizando enjuagues de cloruro de cetilpiridinio al 0,075% y 0,1% respectivamente. Esto probablemente se deba a que en estas investigaciones se han utilizado concentraciones similares de cloruro de cetilpiridinio y la misma metodología en la ejecución, es así que se evidencian las propiedades del cloruro de cetilpiridinio no solo como antiviral, sino como un antimicrobiano de potencial antifúngico por tal motivo se viene utilizando actualmente para reducir la placa dental y la gingivitis como alternativa en pacientes que desarrollan irritación de las mucosas (Gerba, 2015; Silva et al., 2009).

A si mismo los resultados del presente estudio muestran que el enjuague bucal a base de clorhexidina al 0,12% generó halos de inhibición con una media de $61,97 \pm 7,09$ mm a las 24 horas, $56,45 \pm 7,97$ mm a las 48 horas y $53,16 \pm 8,08$ mm a las 72 horas, encontrándose diferencias estadísticamente significativas al comparar estos diámetros de los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas. Estos resultados coinciden con los estudios de Handschuh et al. (2020), Fu et al. (2014), Aroonrerk y Dhanesuan (2007), Shrestha et al. (2011) y Sreenivasan et al. (2012) en los cuales también se encontró actividad antifúngica de este enjuague en las diferentes marcas y concentraciones de enjuagues bucales, esto puede deberse a que la clorhexidina hasta el momento sigue siendo uno de los mejores antisépticos con propiedades antimicrobianos, antifúngico, y antivirales, que actúa aumentando la permeabilidad de la pared celular bacteriana, causando su lisis de amplio espectro por lo cual aún se viene utilizado en odontología con mucha frecuencia para reducir la placa dental y tratar la enfermedad periodontal.

De manera similar, el enjuague bucal a base de Cloruro de Cetilpiridinio presentó halos de inhibición de menor media que el enjuague bucal a base de Clorhexidina, lo que constituye una mayor actividad antifúngica de este último, siendo la diferencia entre estos valores estadísticamente significativa a las 72 horas.

Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran que el enjuague con clorhexidina al 0,12% (Periogard) muestra una mejor actividad antifúngica contra *Candida albicans* que el enjuague de cloruro de cetilpiridinio al 0,07% (Vitis CPC Protect), ya que el enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio presentó halos de inhibición con una media menor al enjuague bucal a base de clorhexidina, lo que constituye una mayor actividad antifúngica de este último, siendo la diferencia entre estos valores estadísticamente

significativa a las 24, 48 y 72 horas. Estos resultados coinciden con los resultados reportados por Handschuh et al. (2020), Aroonrerk y Dhaneuan (2007), Shrestha et al. (2011) y Sreenivasan et al. (2012), en los cuales, la clorhexidina obtuvo mayor actividad antifúngica, lo que apoya a la evidencia existente años atrás por la cual se ha venido utilizado como coadyuvante en el tratamiento de la candidosis oral, por poseer una alta sustentividad y ser de amplio espectro al actuar contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, aerobios, anaerobios facultativos y hongos, por lo que se le considera el «gold standard» de los antisépticos (Enrile y Santos-Aleman, 2005). Sin embargo, los resultados obtenidos en la presente investigación difieren con lo reportados en el estudio de Fu et al. (2014) en el cuál, se demostró que el cloruro de cetilpiridinio fue el enjuague más eficaz para inhibir todas las cepas de *Candida albicans*, probablemente porque ambos estudios se realizaron con diferentes marcas y concentraciones de enjuagues bucales, y en el estudio de Fu et al. (2014) el enjuague basado en cloruro de cetilpiridinio se usó en concentración de 0,1%, y el enjuague de clorhexidina (0,12 %) tenía un componente adicional el cuál era el metronidazol (0,02%).

Los resultados del presente estudio sugirieron que los enjuagues bucales que contienen Clorhexidina y Cloruro de cetilpiridinio podrían controlar la colonización e infección por *Candida albicans* ATCC 10231. Este estudio podría ser útil como guía para seleccionar tipos de enjuagues bucales, sin embargo, ya que los enjuagues bucales están disponibles comercialmente, se debe considerar también otras propiedades como la inhibición bacteriana, su propiedad citotóxica, y el tiempo de uso ya que los enjuagues bucales con alto contenido de alcohol pueden quemar las delicadas membranas mucosas de la boca y en usos prolongados de ciertos enjuagues bucales a base de clorhexidina pueden manchar y oscurecer los dientes.

Dentro de las limitaciones que presentó esta investigación la principal fue que el estudio experimental fue de tipo in vitro, por lo cual los resultados que se obtuvieron no se podrán extrapolar al escenario clínico. Además, solo se trabajó con una cepa de *Candida albicans*, existiendo también otros tipos y sobre todo sería de importancia conocer el comportamiento de estos enjuagues bucales en cepas clínicas obtenidas de pacientes con dicha condición de nuestra región geográfica para obtener resultados más específicos, ya que una cepa puede tener distintas variantes dependiendo de la región geográfica.

Basados en los resultados de la presente investigación y debido a las ventajas del enjuague a base de cloruro de cetilpiridinio en comparación con la clorhexidina se recomienda tener en cuenta la inclusión de los enjuagues bucales como uso preventivo de candidiasis oral ya que se demuestra su capacidad de actividad antifúngica de manera prolongada. Además, se debe seguir evaluando los efectos de estos enjuagues bucales con nuevos agentes y componentes adicionales sobre otros microorganismos bucales que afecten la salud bucodental.

VI. CONCLUSIONES

- La mayor actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio fue a las 24 horas.
- La mayor actividad antifúngica del enjuague bucal a base de clorhexidina fue a las 24 horas.
- A las 24 horas, el enjuague bucal a base de clorhexidina presentó mayor actividad antifúngica que el enjuague a base de cloruro de cetilpiridinio sobre la *Candida albicans* ATCC 10231.
- A las 48 horas, el enjuague bucal a base de clorhexidina presentó mayor actividad antifúngica que el enjuague a base de cloruro de cetilpiridinio sobre la *Candida albicans* ATCC 10231.
- A las 72 horas, el enjuague bucal a base de clorhexidina presentó mayor actividad antifúngica que el enjuague a base de cloruro de cetilpiridinio sobre la *Candida albicans* ATCC 10231.

VII. RECOMENDACIONES

- Continuar con este tipo de investigaciones evaluando los nuevos enjuagues bucales que aparezcan en el mercado nacional.
- Realizar este tipo de investigación con otros tipos de microorganismos bucales como bacterias que produzcan caries dental o enfermedad periodontal.
- Realizar este tipo de estudio en un modelo in vivo, para tener mayor evidencia de la eficacia de estos enjuagues bucales.

VIII. REFERENCIAS

- Abaci, O. (2011). Investigation of extracellular phospholipase and proteinase activities of Candida species isolated from individuals denture wearers and genotypic distribution of Candida albicans strains. *Current microbiology*, 62(4), 1308–1314. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9858-0>
- Aroonrerk, N. y Dhanesuan, N. (2007). Candida inhibitory effects of six commercial mouthwashes. *Annals of Microbiology*, 57(3), 449-452. <https://doi.org/10.1007/BF03175088>
- Barbosa, A. H., Damasceno, J. L., Casemiro, L. A., Martins, C. H., Pires, R. H. y Candido, R. C. (2019). Susceptibility to Oral Antiseptics and Virulence Factors Ex Vivo Associated with Candida spp. Isolated from Dental Prostheses. *Journal of prosthodontics*, 28(4), 398-408. <https://doi.org/10.1111/jopr.13037>
- Bascones, A, y Morante, S. (2006). Antisépticos orales: Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 18(1), 21-29. <https://scielo.isciii.es/pdf/peri/v18n1/original3.pdf>
- Bernstein, D., Schiff, G., Echler, G., Prince, A., Feller, M. y Briner, W. (1990). In vitro virucidal effectiveness of a 0.12%-chlorhexidine gluconate mouthrinse. *Journal of dental research*, 69(3), 874–876. <https://doi.org/10.1177/00220345900690030901>
- Bürger, R., Schneider-Brachert, W., Rosentritt, M., Handel, G. y Hahnel, S. (2009). Candida albicans adhesion to composite resin materials. *Clinical oral investigations*, 13(3), 293–299. <https://doi.org/10.1007/s00784-008-0226-4>
- Charles, C. H., Mostlrm, K. M., Bartels, L. L. y Mankodi, S. M. (2004). Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an essential oil

- mouthrinse: 6- month clinical trial. *Journal of clinical periodontology*, 31(10), 878–884. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2004.00578.x>
- Denyer, S.P. y Stewart, G. (1998). Mechanisms of action of disinfectants. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 41(3-4), 261–268. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(98\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(98)00023-7)
- Díaz-Reissner, C. V., Casas-García, I. y Roldán-Merino, J. (2017). Calidad de Vida Relacionada con Salud Oral: Impacto de Diversas Situaciones Clínicas Odontológicas y Factores Socio-Demográficos. Revisión de la Literatura. *International journal of odontostomatology*, 11(1), 31-39. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2017000100005>
- D'Ostiani, C. F., Del Sero, G., Bacci, A., Montagnoli, C., Spreca, A., Mencacci, A., Ricciardi-Castagnoli, P. y Romani, L. (2000). Dendritic cells discriminate between yeasts and hyphae of the fungus *Candida albicans*. Implications for initiation of T helper cell immunity in vitro and in vivo. *The Journal of experimental medicine*, 191(10), 1661–1674. <https://doi.org/10.1084/jem.191.10.1661>
- Edwards, J. E. (1991). Invasive *Candida* infections: evolution of a fungal pathogen. *The New England Journal of Medicine*, 324, 1060–1062. <https://doi.org/10.1056/nejm199104113241511>
- Enrile, F. J. y Santos-Aleman, A. (2005). Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica. *Revista del Ilustre Consejo General de Colegios de Odontólogos y Estomatólogos de España*, 10(4), 445-452. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1138-123X2005000400006&lng=es&tlng=es

- Fardai, O. y Turnbull, R. (1986). A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *Journal of the American Dental Association*, 112 (6),863-9.
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.1986.0118>
- Feres, M., Figueiredo, L. C., Faveri, M., Stewart, B. y de Vizio, W. (2010). The effectiveness of a preprocedural mouthrinse containing cetylpyridinium chloride in reducing bacteria in the dental office. *Journal of the American Dental Association*, 141, 415–22.
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.2010.0193>
- Figueiral, M. H., Azul, A., Pinto, E., Fonseca, P. A., Branco, F. M. y Scully, C. (2007). Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors - a large cohort. *Journal of oral rehabilitation*, 34(6), 448–455.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2007.01709.x>
- Flemming, H. y Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 623-633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>
- Fu, J., Wei, P., Zhao, C., He, C., Yan, Z. y Hua, H. (2014). In vitro antifungal effect and inhibitory activity on biofilm formation of seven commercial mouthwashes. *Oral Diseases*, 20, 815–820. <https://doi.org/10.1111/odi.12242>
- Gerba, C. P. (2015). Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. *Applied and Environmental Microbiology*, 81, 464–9. <https://doi.org/10.1128/aem.02633-14>
- Gilbert, P. y Moore, L. E. (2005). Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of applied microbiology*, 99(4), 703–715.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x>
- Guerrero, D. (2017). *Efecto de diferentes colutorios sobre microorganismos presentes en prótesis acrílicas: estudio in vitro*. [Tesis de Posgrado, Universidad central del

Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/13214/1/T-UCE-0015-724-2017.pdf>

Hägg, U., Kaveewatcharanont, P., Samaranayake, Y. H. y Samaranayake, L. P. (2004). The effect of fixed orthodontic appliances on the oral carriage of *Candida* species and Enterobacteriaceae. *European journal of orthodontics*, 26(6), 623–629. <https://doi.org/10.1093/ejo/26.6.623>

Handschuh, R. A., Silva, E. N., Urrutia, M. y Godoy-Martínez, P. (2020). Actividad antifúngica de los enjuagues bucales frente a *Candida albicans* y *Rhodotorula mucilaginosa*: un estudio in vitro. *Revista Iberoamericana de Micología*, 37(2), 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2019.10.006>

He, X. Y., Meurman, J. H., Kari, K., Rautemaa, R. y Samaranayake, L. P. (2006). In vitro adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses*, 49, 80–4. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2006.01189.x>

Jackson, R. J. (1997). Metal salts, essential oils and phenols--old or new?. *Periodontology* 2000, 15, 63–73. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1997.tb00106.x>

Jayatilake, J. A., Samaranayake, Y. H., Cheung, L. K. y Samaranayake, L. P. (2006). Quantitative evaluation of tissue invasion by wild type, hyphal and SAP mutants of *Candida albicans*, and non-*albicans* *Candida* species in reconstituted human oral epithelium. *Journal of oral pathology and medicine*, 35(8), 484–491. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2006.00435.x>

- Kim, J., y Sudbery, P. (2011). *Candida albicans*, a major human fungal pathogen. *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, 49(2), 171–177. <https://doi.org/10.1007/s12275-011-1064-7>
- Klinke, T., Kneist, S., de Soet, J.J., Kuhlisch, E., Mauersberger, S., Forster, A. y Klimm, W. (2009). Acid production by oral strains of *Candida albicans* and lactobacilli. *Caries Research*, 43, 83–91. <https://doi.org/10.1159/000204911>
- Kosutic, D., Uglesic, V., Perkovic, D., Persic, Z., Solman, L., Lupi-Ferandin, S., Knezevic, P., Sokler, K., y Knezevic, G. (2009). Preoperative antiseptics in clean/contaminated maxillofacial and oral surgery: prospective randomized study. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 38(2), 160–165. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2008.11.023>
- LeBel, G., Vaillancourt, K., Morin, M.P. y Grenier, D. (2020). Antimicrobial Activity, Biocompatibility and Anti-inflammatory Properties of Cetylpyridinium Chloride-based Mouthwash Containing Sodium Fluoride and Xylitol: An In Vitro Study. *Oral Health and Preventive Dentistry*, 18(1), 1069-1076. <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.b871071>
- Maris, P. (1995). Modes of action of disinfectants. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 14(1), 47–55. <https://doi.org/10.20506/rst.14.1.829>
- Mao, X., Auer, D. L., Buchalla, W., Hiller, K. A., Maisch, T., Hellwig, E., Al-Ahmad, A., y Cieplik, F. (2020). Cetylpyridinium Chloride: Mechanism of Action, Antimicrobial Efficacy in Biofilms, and Potential Risks of Resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64(8), 1-14. <https://doi.org/10.1128/AAC.00576-20>

- Matsuura, E., Godoy, J. S., Bonfim-Mendonça, P., de Mello, J. C., Svidzinski, T. I., Gasparetto, A. y Maciel, S. M. (2015). In vitro effect of Paullinia cupana (guaraná) on hydrophobicity, biofilm formation, and adhesion of *Candida albicans* to polystyrene, composites, and buccal epithelial cells. *Archives of oral biology*, *60*(3), 471–478. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.05.026>
- McDonnell, G. y Russell, A. D. (1999). Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical microbiology reviews*, *12*(1), 147–179. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.1.147>
- Milstone, A. M., Passaretti, C. L. y Perl, T. M. (2008). Chlorhexidine: expanding the armamentarium for infection control and prevention. *Clinical infectious diseases*, *46*(2), 274–281. <https://doi.org/10.1086/524736>
- Moran, J. M. (1997). Chemical plaque control--prevention for the masses. *Periodontology 2000*, *15*, 109–117. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1997.tb00110.x>
- Moyes, D. L., Richardson, J. P. y Naglik, J. R. (2015). *Candida albicans*-epithelial interactions and pathogenicity mechanisms: scratching the surface. *Virulence*, *6*(4), 338–346. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1012981>
- Muñoz-Basagoiti, J., Perez-Zsolt, D., León, R., Blanc, V., Raïch-Regué, D., Cano-Sarabia, M., Trinité, B., Pradenas, E., Blanco, J., Gispert, J., Clotet, B. y Izquierdo-Useros, N. (2021). Mouthwashes with CPC Reduce the Infectivity of SARS-CoV-2 Variants In Vitro. *Journal of dental research*, *100*(11), 1265–1272. <https://doi.org/10.1177/00220345211029269>

- Paulone, S., Malavasi, G., Ardizzoni, A., Orsi, C. F., Peppoloni, S., Neglia, R. G. y Blasi, E. (2017). *Candida albicans* survival, growth and biofilm formation are differently affected by mouthwashes: an in vitro study. *The new microbiologica*, 40(1), 45–52. https://www.newmicrobiologica.org/PUB/allegati_pdf/2017/1/45.pdf
- Paulone, S., Malavasi, G., Ardizzoni, A., Orsi, C., Peppoloni, S., Neglia, R. G. y Blasi, E. (2017). *Candida albicans* survival, growth and biofilm formation are differently affected by mouthwashes: an in vitro study. *The New Microbiologica*, 40, 45–52. http://www.newmicrobiologica.org/PUB/allegati_pdf/2017/1/45.pdf
- Raja, M., Hannan, A. y Ali, K. (2010). Association of oral candidal carriage with dental caries in children. *Caries research*, 44(3), 272–276. <https://doi.org/10.1159/000314675>
- Rodríguez, J., Miranda, J., Morejón, H. y Santana, J. (2002). Candidiasis de la mucosa bucal: Revisión bibliográfica. *Revista Cubana de Estomatología*, 39(2), 187-233. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000200007&lng=es&tlng=es.
- Saville, S. P., Lazzell, A. L., Monteagudo, C. y Lopez-Ribot, J. L. (2003). Engineered control of cell morphology in vivo reveals distinct roles for yeast and filamentous forms of *Candida albicans* during infection. *Eukaryotic cell*, 2(5), 1053–1060. <https://doi.org/10.1128/EC.2.5.1053-1060.2003>
- Schaller, M., Mailhammer, R., Grassl, G., Sander, C. A., Hube, B. y Korting, H. C. (2002). Infection of human oral epithelia with *Candida* species induces cytokine expression correlated to the degree of virulence. *Journal of Investigative Dermatology*, 118, 652–7. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2002.01699.x>

- Shrestha, A., Rimal, J., Rao, A., Simon, P., Doshi, D. y Krishna, G. (2011). In vitro antifungal effect of mouth rinses containing chlorhexidine and thymol. *Journal of Dental Sciences* 6(1), 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2011.02.001>
- Sreenivasan, P.K., Haraszthy, V.I. y Zambon, J.J. (2013). Antimicrobial efficacy of 0.05% cetylpyridinium chloride mouthrinses. *Letters in Applied Microbiology*, 56(1), 14-20. <https://doi.org/10.1111/lam.12008>
- Silva, M. F., dos Santos, N. B., Stewart, B., DeVizio, W. y Proskin, H. M. (2009). A clinical investigation of the efficacy of a commercial mouthrinse containing 0.05% cetylpyridinium chloride to control established dental plaque and gingivitis. *The Journal of clinical dentistry*, 20(2), 55–61. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19591338/>
- Souza, R. D., Mores, A. U., Cavalca, L., Rosa, R. T., Samaranayake, L. P. y Rosa, E. A. (2009). Cell surface hydrophobicity of *Candida albicans* isolated from elder patients undergoing denture-related candidosis. *Gerodontology*, 26(2), 157–161. <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2008.00229.x>
- Van der Graaf, C. A., Netea, M. G., Verschueren, I., van der Meer, J. W. y Kullberg, B. J. (2005). Differential cytokine production and Toll-like receptor signaling pathways by *Candida albicans* blastoconidia and hyphae. *Infection and immunity*, 73(11), 7458–7464. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.11.7458-7464.2005>
- Van Strydonck, D. A., Demoor, P., Timmerman, M. F., van der Velden, U. y van der Weijden, G. A. (2004). The anti-plaque efficacy of a chlorhexidine mouthrinse used in combination with toothbrushing with dentifrice. *Journal of clinical periodontology*, 31(8), 691–695. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2004.00546.x>

IX. ANEXOS

Anexo A: Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología
¿Cuál es la diferencia en la actividad antifúngica sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, entre el enjuague a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague a base de clorhexidina?	<p>Objetivo general</p> <p>Comparar la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Comparar los valores de los diámetros de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio sobre la <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas. - Comparar de los valores de los diámetros de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas. - Comparar los valores de la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 a las 24 horas. - Comparar los valores de la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 a las 48 horas. - Comparar los valores de la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio con el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 a las 72 horas. 	Existe diferencia entre la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de cloruro de cetilpiridinio y el enjuague bucal a base de clorhexidina sobre la <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas.	<p>Variable Dependiente</p> <p>Efecto antifúngico: halos de inhibición</p> <p>Variable Independiente</p> <ul style="list-style-type: none"> • Enjuague a base de cloruro del cetilpiridinio. • Enjuague a base de clorhexidina. 	<p>Tipo de investigación</p> <p>Experimental, longitudinal, comparativo y prospectivo.</p> <p>Ámbito temporal y espacial</p> <p>Laboratorio de Análisis de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en enero del año 2022.</p> <p>Población y Muestra</p> <p>La población fueron todas las placas petri con cultivo de <i>Candida albicans</i>.</p> <p>La muestra para cada grupo de evaluación fue constituida según la fórmula para comparar medias y datos de un estudio piloto</p>


Anexo B: Ficha de Recolección de Datos

LONGITUD DE HALO DE INHIBICIÓN: ENJUAGUE BUCAL A BASE DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO			
	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			
37			

LONGITUD DE HALO DE INHIBICIÓN: ENJUAGUE BUCAL A BASE DE CLORHEXIDINA			
	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			
37			

LONGITUD DE HALO DE INHIBICIÓN: CONTROL NEGATIVO – SUERO FISIOLÓGICO			
	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			
37			


Anexo C: Prueba Piloto



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00609-CPF-2021

ORDEN DE ANÁLISIS	: 006144/2021
SOLICITADO POR	: SANTANA ROMERO KARINA MARLY
DIRECCIÓN	: ---
MUESTRA	: ENJUAGUES BUCALES
NÚMERO DE LOTE	: ---
CANTIDAD	: 04 envases x 500 mL aprox. c/u.
FECHA DE RECEPCIÓN	: 27 de Octubre del 2021
FECHA DE FABRICACIÓN	: ---
FECHA DE VENCIMIENTO	: ---


MICROORGANISMO	ENGUAJES BUCALES			
	Longitud de halos de inhibición (mm) – 24 horas			
	Control positivo (PERIO AID)	Control negativo (NaCl 0.9%)	VITIS CPC protect	PerioGard
<i>Candida albicans</i>	17.69	6	6	24.47
	16.39	6	6	22.73
	17.07	6	6	25.95
	20.18*	6*	9.45*	30.93*
	19.78*	6*	8.36*	29.56*

MICROORGANISMO	ENGUAJES BUCALES			
	Longitud de halos de inhibición (mm) – 48 horas			
	Control positivo (PERIO AID)	Control negativo (NaCl 0.9%)	VITIS CPC protect	PerioGard
<i>Candida albicans</i>	17.07	6	6	23.94
	15.67	6	6	22.01
	16.70	6	6	25.03
	18.96*	6*	8.74*	30.78*
	18.03*	6*	7.91*	28.82*

MICROORGANISMO	ENGUAJES BUCALES			
	Longitud de halos de inhibición (mm) – 72 horas			
	Control positivo (PERIO AID)	Control negativo (NaCl 0.9%)	VITIS CPC protect	PerioGard
<i>Candida albicans</i>	17.03	6	6	23.83
	15.43	6	6	21.67
	16.17	6	6	24.07
	18.83*	6*	8.65*	30.56*
	17.89*	6*	7.88*	28.47*

FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
 ☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
 E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe




UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



- El tamaño de los pocillos es de 6 mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halos de inhibición.
- Volumen inoculado: 8 uL.
- Concentración del inoculo: 1×10^6 UFC/mL
- Control positivo: PERIO.AID (Clorhexidina 0.12% + CPC 0.05%)
- Control negativo: NaCl 0.9%
- (*): volumen inoculado: 40 uL

Lima, 22 de Noviembre del 2021


Q.F. Paul Ivan Gutierrez Elescano
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>




Anexo D: Certificación de la *Candida albicans* ATCC 10231



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Candida albicans Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-1258** Reference Number: ATCC® 10231™* Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2023/4/30 Release Information: Quality Control Technologist: Jackie L. Mackedanz Release Date: 2021/5/12
--	--

Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

☞ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

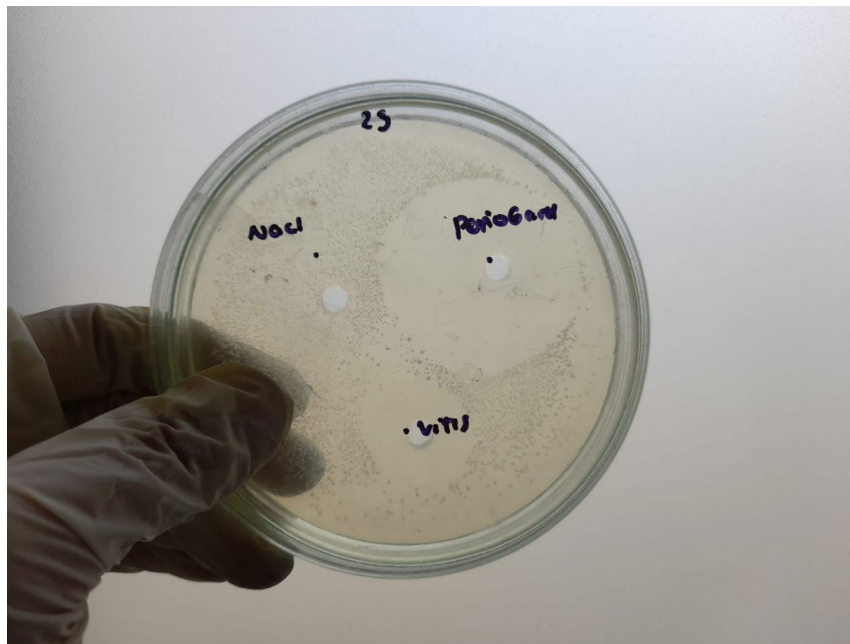


(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

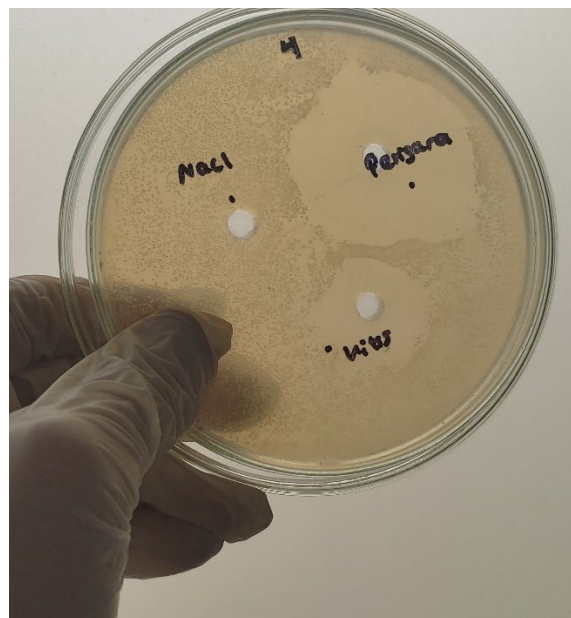
(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



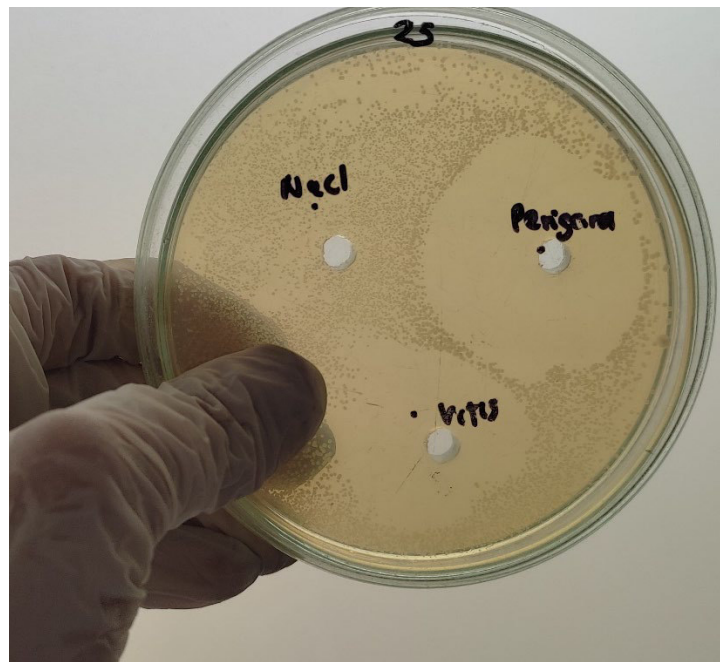
Anexo E: Análisis Microbiológico



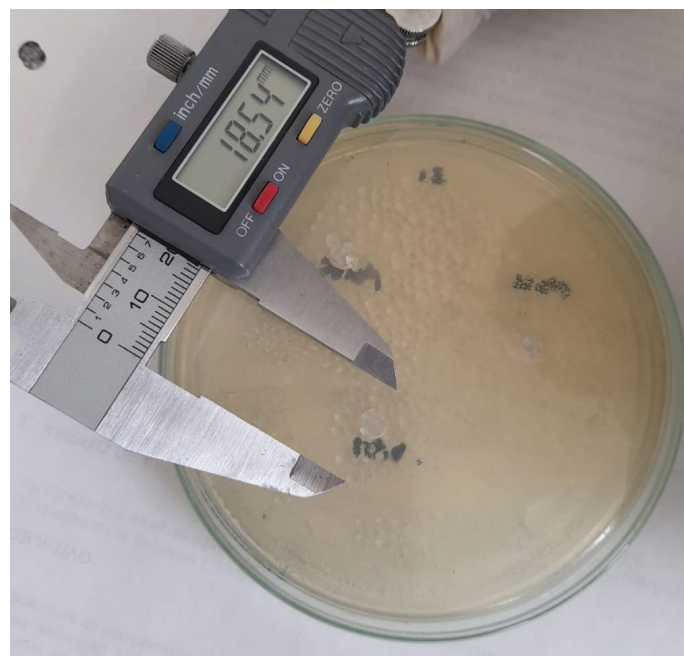
Halos de inhibición de los enjuagues de cloruro de cetilpiridinio (Vitis), cloherxidina (Periogard) y el control negativo (NaCl) a las 24 horas.



Halos de inhibición de los enjuagues de cloruro de cetilpiridinio (Vitis), cloherxidina (Periogard) y el control negativo (NaCl) a las 48 horas.



Halos de inhibición de los enjuagues de cloruro de cetilpiridinio (Vitis), cloherxidina (Perigard) y el control negativo (NaCl) a las 72 horas.



Cuantificación de los halos de inhibición con un vernier digital.

Anexo F: Prueba de normalidad

Prueba de Shapiro Wilk para determinar la distribución de los datos y elegir la prueba estadística para la comparación de los grupos

	Clorhexidina	cloruro de cetilpiridinio
	p*	p*
horas24	0.027	0.750
horas48	0.485	0.014
horas72	0.713	0.022

*Prueba de Shapiro Wilk

$p < 0.05$ no presenta distribución normal

$p > 0.05$ presenta distribución normal

Se determina utilizar la Prueba U Mann Whitney.