

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LOS ANDES

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA



Tesis

Efecto antimicrobiano *in vitro* de tres colutorios orales frente a cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*, Abancay-

2025

Asesora:

Dra. Meza Salcedo, Rocio

Autores:

Rojas Martínez, Katheryn

Huanca Laime, Oscar

Para optar el título profesional de:

Cirujano Dentista

Abancay - Apurímac - Perú

2026

Acta de sustentación



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

Acta N°: 015-2026

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Abancay, a los 05 días de Junio del año 2026, siendo las 08:30 horas, se reunieron los integrantes del Jurado designado por **RESOLUCIÓN DIRECTORAL N°0067-2026-UTEA-FCS-EP.EST.** de la Escuela Profesional de **ESTOMATOLOGÍA**, Facultad de Ciencias de la Salud:

Presidente	:	Mag. Soria Serrano Sonia Margot
Dictaminante	:	Mag. Holgado Flores Franshesca
Replicante	:	Mag. Vargas Mateos Shiovan Yamileth

Para evaluar la sustentación, en la modalidad de:

☒ Tesis ☐ Trabajo de suficiencia profesional

Titulada:

EFFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE TRES COLUTORIOS ORALES FRENTE A CEPAS BACTERIANAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS Y ENTEROCOCCUS FAECALIS, ABANCAY - 2025

Desarrollado por el (los) Bachiller (es):

Br.: Rojas Martinez Katheryn

Br.: Huanca Laime Oscar

Para optar el Título Profesional de:

Cirujano Dentista

Concluido el acto, el Jurado dictaminó que el (la) (los) mencionado(a) (s) bachiller (es) fue (ron) APROBADO(S) ☒ o DESAPROBADO(S) ☐.

Emitiéndose el calificativo final de:

Bachiller (Apellidos y Nombres)	Nota	Detalle (**)
Br. Rojas Martinez Katheryn	18	Aprobado Notable
Br. Huanca Laime Oscar	18	Aprobado Notable

Siendo las 09.30 horas concluyó la sesión, firmando los integrantes del Jurado.

PRESIDENTE : Mag. Soria Serrano Sonia Margot
(Dr. Mg.). (Apellidos y Nombres)

(Firma)

DICTAMINANTE: Mag. Holgado Flores Franshesca
(Dr. Mg.). (Apellidos y Nombres)

(Firma)

REPLICANTE : Mag. Vargas Mateos Shiovan Yamileth
(Dr. Mg.). (Apellidos y Nombres)

(Firma)

Nota: Desaprobado: 0-10; Aprobado: 11-20

(^{*)}): **Mayoría:** Dos integrantes del jurado aprueban o desaprueban; **Unanimidad:** Todos los integrantes del jurado aprueban o desaprueban, Art. 18 RGGAT.

(^{**}): 0 a 10: Desaprobado, 11 a 15: Aprobado, 16 a 18: Aprobado Notable, 19 y 20: Aprobado con Distinción, Art. 18 RGGAT.

Reporte de similitud



Página 2 de 101 - Descripción general de integridad

Identificador de la entrega trn:oid::3117:606698393

22% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 18%  Fuentes de Internet
- 5%  Publicaciones
- 15%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Metadatos

Datos del Autor		
Apellidos y nombres	:	Huanca Laime Oscar Rojas Martinez katheryn
Tipo de documento de Identidad	:	DNI
Número de Documento de Identidad.	:	77667489 73511118
URL ORCID	:	https://orcid.org/0009-0004-7013-9195 https://orcid.org/0009-0005-0857-4476
Datos de la asesora		
Apellidos y nombres	:	Meza Salcedo Rocio
Tipo de documento de Identidad	:	DNI
Número de Documento de Identidad.	:	41068363
URL ORCID	:	https://orcid.org/0000-0003-0538-9177
Datos de la investigación		
Facultad	:	Ciencias de la Salud
Escuela Profesional	:	Estomatología
Línea de Investigación	:	Salud Pública Estomatológica
Rango de años en que realizó la investigación	:	Dieciocho meses
Fuente de financiamiento	:	Autofinanciado
Porcentaje de similitud	:	22%
URL ORCID	:	https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.02.14

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mi familia, especialmente a mis padres, cuyo amor incondicional y apoyo constante me han permitido llegar hasta aquí. Gracias a ellos por su confianza, sacrificio y por enseñarme que la perseverancia y el esfuerzo son los pilares para alcanzar cualquier meta. Sin su acompañamiento y motivación, este logro no habría sido posible.

Bach. Rojas Martínez, Katheryn

Dedico esta tesis a todas las personas que han sido parte fundamental de mi camino académico y personal. A mis seres queridos, quienes siempre me han brindado su apoyo y amor incondicional, motivándome a seguir adelante a pesar de los obstáculos. A mis amigos y compañeros, por su compañía y por las experiencias compartidas que me han ayudado a crecer, y a todos aquellos que, de alguna manera, han creído en mí y me han impulsado a alcanzar esta meta.

Bach. Huanca Laime, Oscar

Agradecimiento

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Universidad Tecnológica de los Andes, por brindarnos una formación académica basada en principios, conocimientos y valores que han contribuido significativamente a nuestra preparación profesional.

De manera especial, agradecemos a la Escuela Profesional correspondiente, por haber sido el espacio académico donde fortalecimos nuestras capacidades, adquirimos nuevos conocimientos y consolidamos nuestra vocación profesional.

Agradecemos a todos los docentes y personal académico de la universidad, por compartir su conocimiento y experiencia, los cuales han sido esenciales para nuestra formación.

Del mismo modo, expresamos nuestro reconocimiento y gratitud a nuestro asesor de tesis, por su orientación, paciencia, compromiso y valiosos aportes durante el proceso de elaboración y culminación del presente trabajo de investigación.

Finalmente, un agradecimiento especial a todas las personas que, sin figurar en estas líneas, de alguna forma directa o indirecta, han influido en el desarrollo de esta tesis. A todos ustedes, nuestro más sincero reconocimiento y gratitud.

Resumen

La investigación se desarrolló en el campo de la estomatología, en el marco de la búsqueda de alternativas terapéuticas eficaces para el control de microorganismos asociados a infecciones de la cavidad bucal. El objetivo del estudio fue determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* de tres colutorios orales frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Para ello, se evaluaron tres tratamientos: gluconato de clorhexidina al 0,12%, cloruro de cetilpiridinio al 0,07% y la combinación de gluconato de clorhexidina al 0,12% con cloruro de cetilpiridinio al 0,05%. Metodológicamente, correspondió a una investigación experimental *in vitro*, de enfoque explicativo, orientada a analizar la acción inhibitoria de los colutorios sobre las cepas bacterianas estudiadas. Los resultados evidenciaron que el gluconato de clorhexidina al 0,12% presentó la mayor eficacia antimicrobiana, con promedios de halo de inhibición de 11,56 mm frente a *Streptococcus mutans* y 14,81 mm frente a *Enterococcus faecalis*. Por su parte, la combinación de gluconato de clorhexidina con cloruro de cetilpiridinio registró halos promedio de 10,63 mm y 14,38 mm, respectivamente. En contraste, el cloruro de cetilpiridinio mostró la menor actividad antimicrobiana, con valores de 7,94 mm frente a *Streptococcus mutans* y 7,69 mm frente a *Enterococcus faecalis*. En comparación con los controles negativo y positivo, los colutorios demostraron actividad antimicrobiana significativa. Se concluyó que dicha actividad dependió tanto del tipo de colutorio como de la cepa bacteriana evaluada, siendo el gluconato de clorhexidina la alternativa más eficaz y de mayor relevancia para la práctica estomatológica.

Palabras clave: Caries Dental; *Streptococcus mutans*; *Enterococcus faecalis*; Antisépticos Bucales; Antibacterianos.

Abstract

The study was conducted in the field of stomatology within the context of the search for effective therapeutic alternatives for controlling microorganisms associated with infections of the oral cavity. The aim of the study was to determine the *in vitro* antimicrobial effect of three oral mouthwashes against *Streptococcus mutans* ATCC 25715 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 strains. To this end, three treatments were evaluated: 0.12% chlorhexidine gluconate, 0.07% cetylpyridinium chloride, and a combination of 0.12% chlorhexidine gluconate with 0.05% cetylpyridinium chloride. Methodologically, the study corresponded to an *in vitro* experimental investigation with an explanatory approach, designed to analyze the inhibitory action of the mouthwashes on the bacterial strains under study. The results showed that 0.12% chlorhexidine gluconate exhibited the greatest antimicrobial efficacy, with mean inhibition halos of 11.56 mm against *Streptococcus mutans* and 14.81 mm against *Enterococcus faecalis*. In turn, the combination of chlorhexidine gluconate and cetylpyridinium chloride produced mean inhibition halos of 10.63 mm and 14.38 mm, respectively. In contrast, cetylpyridinium chloride showed the lowest antimicrobial activity, with values of 7.94 mm against *Streptococcus mutans* and 7.69 mm against *Enterococcus faecalis*. Compared with the negative and positive controls, the mouthwashes demonstrated significant antimicrobial activity. It was concluded that this activity depended on both the type of mouthwash and the bacterial strain evaluated, with chlorhexidine gluconate emerging as the most effective alternative and the most relevant for stomatological practice.

Keywords: Mouthwashes ; *Streptococcus mutans*; *Enterococcus faecalis*; Dental caries; Anti-Bacterial Agents

Índice General

Portada	i
Acta de sustentación	ii
Reporte de similitud.....	iii
Metadatos	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Resumen.....	vii
Abstract	viii
Índice General	ix
Índice de tablas	xi
Índice de anexos	xii
I. Introducción	12
II. Planteamiento del problema	13
2.1 Descripción de la realidad problemática	13
2.2 Formulación del problema de investigación	16
2.2.1 Problema General.....	16
2.2.2 Problemas Específicos.....	16
2.3 Justificación y delimitación.....	16
2.3.1 Justificación de la investigación	16
2.3.2 Delimitación de la investigación.....	18
2.4 Objetivos	19
2.4.1 Objetivo General	19
2.4.2 Objetivos Específicos.	19
2.5 Hipótesis.....	20
III. Marco teórico.....	21
3.1 Antecedentes de Investigación	21

3.1.1 Antecedentes a nivel internacional.....	21
3.1.2 Antecedentes a nivel nacional.....	24
3.1.3 Antecedentes a nivel regional y local.....	30
3.2 Bases teóricas	30
3.3 Definición de términos.....	42
IV. Metodología	44
4.1 Tipo y nivel de investigación	44
4.2 Diseño de investigación	44
4.3 Operacionalización de Variables	45
4.3.1 Variable Dependiente.....	45
4.3.2 Variable Independiente.....	45
4.4 Población y muestra.....	47
4.5 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	48
4.5.1 Técnica	48
4.5.2 Instrumento para la recolección de datos	48
4.6 Validación	49
4.7 Métodos y técnicas para la presentación y análisis de datos.....	49
V. Resultados y discusión	56
Discusiones.....	64
VI. Conclusiones	68
VII. Recomendaciones.....	69
VIII. Referencias	70
IX. Anexos	78

Índice de tablas

Tabla 1. Efecto antimicrobiano “ in vitro ” del gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a las cepas <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715 y <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en Abancay,2025.	56
Tabla 2. Efecto antimicrobiano “ in vitro ” del cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a las cepas <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715 y <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en Abancay,2025.	57
Tabla 3. Efecto antimicrobiano “ in vitro ” del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a las cepas <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715 y <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en Abancay,2025.....	58
Tabla 4. Efecto antimicrobiano in vitro de tres colutorios orales frente a las cepas <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715 y <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en Abancay,2025.	59
Tabla 5. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Duncan del efecto antimicrobiano in vitro de tres colutorios orales y el control positivo frente a las cepas <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715 y <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212, Abancay, 2025.	61
Tabla 6. Análisis de varianza (ANOVA) de un factor del efecto antimicrobiano in vitro de tres colutorios orales frente a la cepa <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715, Abancay, 2025.	62
Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) de un factor del efecto antimicrobiano in vitro de tres colutorios orales frente a la cepa <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212, Abancay, 2025.	63

Índice de anexos

Anexo 1. Matriz de Consistencia	78
Anexo 2. Ficha de Resultados	80
Anexo 3. Validación de Instrumento	81
Anexo 4. Cálculo de la Validación de instrumento	87
Anexo 5. Evidencia Fotográfica	89

I. Introducción

La salud bucal es un componente esencial del bienestar general, y el control de las infecciones bacterianas en la cavidad oral juega un papel fundamental en la prevención de enfermedades dentales y periodontales. *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* son dos bacterias comunes en la flora bucal que, cuando no se controlan adecuadamente, pueden ser responsables de caries dentales y otras infecciones orales. El uso de agentes antimicrobianos en colutorios orales ha demostrado ser una estrategia eficaz para reducir la proliferación de estas bacterias y, por ende, mejorar la salud bucal.

En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo principal determinar el efecto antimicrobiano "*in vitro*" de tres colutorios orales frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Los colutorios evaluados incluyen el gluconato de clorhexidina al 0,12%, el cloruro de cetilpiridinio al 0,07%, y la combinación de ambos compuestos. Cada uno de estos colutorios se someterá a pruebas "*in vitro*" para comparar su capacidad para inhibir el crecimiento de las cepas bacterianas seleccionadas.

El estudio también busca explorar las diferencias en la efectividad de los colutorios utilizados por separado y en combinación, para determinar cuál ofrece el mejor desempeño en la reducción de la carga bacteriana. Con base en los resultados obtenidos, se espera proporcionar información relevante para mejorar las estrategias de prevención y tratamiento de infecciones bucales, contribuyendo al desarrollo de productos más eficaces y seguros para la higiene bucal.

II. Planteamiento del problema

2.1 Descripción de la realidad problemática

En el mundo actual, las enfermedades orales continúan siendo un problema de salud pública que afecta a millones de personas, particularmente las infecciones dentales causadas por bacterias patógenas. Entre las principales bacterias asociadas con enfermedades dentales, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* juegan roles cruciales en la formación de caries y en infecciones endodónticas, respectivamente. Estos microorganismos pueden ser resistentes a algunos tratamientos convencionales, lo que ha impulsado la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, como los colutorios orales con propiedades antibacterianas. Sin embargo, la eficacia de estos productos sigue siendo objeto de debate, especialmente frente a cepas resistentes o difíciles de erradicar. ¹

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2021 se estimó que la caries dental no tratada en dientes permanentes afecta a aproximadamente 2.500 millones de personas, constituyéndose como la enfermedad oral más prevalente a nivel mundial. ²

En el contexto internacional, diversas investigaciones han demostrado que las infecciones orales son prevalentes en muchas partes del mundo, especialmente en países en desarrollo, donde el acceso a servicios odontológicos es limitado. En México, Ortega Luis (2020) encontró que la prevalencia de caries en cuanto a las aplicaciones de fluoruro si tiene un impacto relacionado al control y/o prevención de lesiones cariosas, aunque cabe mencionar que afectan otros factores los cuales impiden que los resultados sean 100% confiables, recomendando el uso de colutorios quincenalmente para la prevención y control de lesiones cariosas. ³

El desarrollo de caries dental se correlaciona con una disbiosis de la biopelícula dental. Una de las estrategias más eficaces para su prevención o control es la aplicación de enjuagues

bucales, en Colombia , Ramírez et al., (2024) encontraron actividad antimicrobiana muy similares en cuatro enjuagues bucales comerciales contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* y *Candida albicans*, estos hechos respaldan la afirmación de que complementar el cepillado con el uso de enjuagues bucales podría aumentar la acción antimicrobiana in vivo sobre los microorganismos que se encuentran dentro de la biopelícula dental.¹

En el contexto nacional, en Tacna, Calizaya (2024) manifiesta que los colutorios disponibles en el mercado de Tacna tienen efecto antibacteriano por presentar halos de inhibición frente a *Streptococcus mutans*, lo que sugiere que los profesionales de la salud dental podrían influir en las decisiones de los consumidores al elegir productos para el cuidado bucal. Es importante destacar que, aunque estos enjuagues pueden ser efectivos, no deben sustituir prácticas fundamentales de higiene oral, como el cepillado regular y el uso del hilo dental.⁴

El Ministerio de Salud (Minsa) considera las enfermedades de la cavidad oral como un problema de salud pública, afectando al 90% de la población nacional y al 50% de la mundial. Estas enfermedades son prevenibles y tratables mediante higiene adecuada y evaluación bucal oportuna⁵. En Trujillo, Calderón (2020) demostró que la clorhexidina 2% tiene un efecto antimicrobiano sobre cultivos de cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, esta bacteria se puede encontrar con frecuencia en tratamientos de endodoncia fallidos con su capacidad para sobrevivir en un ambiente que carece de nutrientes.⁶

En este sentido, la efectividad de los colutorios antibacterianos en combatir estas infecciones ha sido evaluada en múltiples estudios clínicos, pero los resultados varían, lo que genera incertidumbre sobre su uso generalizado, en Piura, Huamán y Jamanca (2021) demostraron el efecto antibacteriano *in vitro* de tres colutorios orales comerciales sobre la cepa *S. mutans*, no obstante, ninguno de ellos superó el efecto alcanzado por la clorhexidina al 0,12%, que fue utilizada como control positivo.⁷

La respuesta terapéutica ha sido tradicionalmente limitada a tratamientos convencionales, como antibióticos orales, sin una evaluación exhaustiva de las alternativas como los colutorios. Además, el uso de colutorios antibacterianos se ha incrementado en la población, pero la información sobre su efectividad frente a las cepas resistentes que circulan en la región es escasa, lo que plantea la necesidad de estudios específicos sobre su actividad en las cepas prevalentes en el país.

En Abancay, una ciudad que, aunque posee una cobertura sanitaria razonable, enfrenta desafíos relacionados con las enfermedades orales, especialmente en las zonas rurales donde el acceso a los servicios de salud bucal es más limitado. La prevalencia de caries y otras infecciones orales en la región está en aumento, debido a factores como los hábitos de higiene bucal inadecuados y la falta de conciencia sobre la prevención. La resistencia bacteriana a los tratamientos convencionales también es un problema emergente en la localidad, lo que subraya la necesidad de evaluar la efectividad de los colutorios antibacterianos disponibles en el mercado.

La falta de investigaciones locales sobre la actividad antibacteriana de los colutorios orales frente a estas cepas bacterianas representa un vacío en el conocimiento científico que podría contribuir a mejorar las estrategias de tratamiento en la región. Un estudio *in vitro* que analice la actividad de estos productos frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* en muestras locales podría proporcionar información vital para optimizar las estrategias de tratamiento en la región y mejorar la salud oral de la población.

2.2 Formulación del problema de investigación

2.2.1 Problema General

¿Cuál es la diferencia entre el efecto antimicrobiano *in vitro* de tres colutorios orales frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025?

2.2.2 Problemas Específicos

- ¿Cuál es el efecto antimicrobiano *in vitro* del Gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025?
- ¿Cuál es el efecto antimicrobiano *in vitro* del Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025?
- ¿Cuál es el efecto antimicrobiano *in vitro* del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025?

2.3 Justificación y delimitación

2.3.1 Justificación de la investigación

- **Relevancia social:** La salud bucal es un componente esencial para el bienestar general de la población, y las infecciones orales representan un problema de salud pública significativo. En particular, las caries dentales y las infecciones endodónticas son responsables de una alta carga de morbilidad en la población mundial. En regiones como Abancay, la

prevalencia de enfermedades orales y la falta de acceso a tratamientos eficaces son preocupaciones importantes. En este contexto, la investigación sobre la efectividad de colutorios orales antimicrobianos se presenta como una estrategia relevante para prevenir y tratar infecciones orales. Los resultados de este estudio pueden ofrecer opciones de tratamiento accesibles, eficaces y de bajo costo, mejorando así la calidad de vida de la población local.

- **Implicancias Prácticas:** La investigación tiene una clara implicancia práctica al proporcionar evidencia sobre la eficacia de diferentes colutorios orales en el control de infecciones causadas por *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Al evaluar su actividad antimicrobiana en condiciones controladas (**in vitro**), se podrán determinar cuáles colutorios tienen un mayor potencial para ser utilizados como parte de la prevención y tratamiento de enfermedades orales comunes. Este estudio podría resultar en la recomendación de productos de uso cotidiano para mejorar la salud bucal, sin necesidad de recurrir a tratamientos más invasivos y costosos, lo que representa un avance significativo en la práctica odontológica preventiva.
- **Valor teórico:** Desde el punto de vista teórico, esta investigación contribuye al campo de la microbiología dental y la odontología preventiva, proporcionando datos científicos sobre la efectividad de colutorios orales frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Aunque existen estudios previos sobre la actividad antibacteriana de algunos colutorios, pocos se han centrado en el análisis comparativo entre colutorios comerciales y utilizando cepas responsables de las caries dentales e infecciones endodónticas. Así, este estudio llena un vacío en la literatura científica,

ofreciendo un análisis exhaustivo de la actividad antimicrobiana y ampliando el conocimiento sobre el uso de colutorios para controlar infecciones orales.

- **Utilidad Metodológica:** Desde el enfoque metodológico, esta investigación proporciona un modelo claro y replicable de cómo evaluar la actividad antimicrobiana de productos de consumo cotidiano, como los colutorios orales, mediante pruebas de laboratorio in vitro. La metodología empleada, que incluye pruebas de difusión en agar, ofreciendo herramientas valiosas para futuras investigaciones en el campo de la microbiología dental. Además, los procedimientos y protocolos utilizados pueden ser adaptados y aplicados en otros estudios relacionados con el uso de productos antibacterianos en la salud bucal, contribuyendo a la estandarización de métodos en la investigación odontológica.

2.3.2 Delimitación de la investigación

- **Espacial:** La investigación se llevó a cabo en las instalaciones de un laboratorio clínico privado de la ciudad de Abancay, provincia de Abancay, departamento de Apurímac.
- **Temporal:** La investigación tuvo lugar en el año 2025, durante el este periodo permitirá realizar todas las pruebas necesarias, incluyendo las mediciones de actividad antimicrobiana y la recopilación de datos sobre la eficacia de los colutorios orales.
- **Social:** El estudio se centra en los efectos antimicrobianos de los colutorios orales frente a las cepas de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* (responsables de infecciones orales como caries y enfermedades endodónticas), como una alternativa accesible para mejorar la salud bucal

de los habitantes de Abancay, especialmente aquellos con acceso limitado a tratamientos más costosos o invasivos.

- **Conceptual:** La investigación se delimita a evaluar el efecto antimicrobiano *in vitro* de tres colutorios orales específicos en comparación con un grupo control que incluye Metanol puro y agua destilada. El estudio se enfoca únicamente en las actividades antimicrobianas de estos productos frente a las cepas estándar de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*.

2.4 Objetivos

2.4.1 Objetivo General

Determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* de tres colutorios orales frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025.

2.4.2 Objetivos Específicos.

- Establecer el efecto antimicrobiano *in vitro* del gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025.
- Establecer el efecto antimicrobiano *in vitro* del cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025.
- Establecer el efecto antimicrobiano *in vitro* del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025.

2.5 Hipótesis

2.5.1 Hipótesis General

Hipótesis alternativa

H1: Existen diferencia en el efecto antimicrobiano *in vitro* de tres colutorios orales frente a cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay,2025.

Hipótesis nula

Ho: No existe diferencia en el efecto antimicrobiano *in vitro* de tres colutorios orales frente a cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay,2025.

2.5.2 Hipótesis específicas

H.E.1: El gluconato de clorhexidina al 0,12% presenta efecto antimicrobiano *in vitro* significativo frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025.

H.E.2: El cloruro de cetilpiridinio al 0,07% presenta efecto antimicrobiano *in vitro* significativo frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025.

H.E.3: El gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con cloruro de cetilpiridinio al 0,05% presenta efecto antimicrobiano *in vitro* significativo frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025.

III. Marco teórico

3.1 Antecedentes de Investigación

3.1.1 Antecedentes a nivel internacional

Ramírez R, García D.; et al (Colombia - 2024) .⁸ Realizaron una investigación y su **objetivo** fue “evaluar la actividad antimicrobiana de 4 enjuagues bucales comerciales contra 4 microorganismos en un modelo de biopelícula in vitro”. **Método:** La cepa *S. mutans* ATCC 35668, *S. salivarius* ATCC 13419, *S. sanguinis* ATCC 10556 y *C. albicans* ATCC 14053. Desarrollaron biopelículas, tanto mono como polimicrobianas, sobre discos de HAp durante 24 horas, que luego fueron tratadas con los enjuagues bucales comerciales mediante dos tipos de tratamiento: efecto inmediato (TEI- 5 minutos) y tratamiento residual (TER- 55 minutos). **Resultados:** Todos los enjuagues mostraron una actividad antimicrobiana similar. Los tratamientos TEI y TER en las biopelículas mono y polimicrobianas presentaron rangos de inhibición entre el 91,9% y el 100%, y entre el 97% y el 100%, respectivamente. **Conclusión:** Los enjuagues bucales demostraron una excelente actividad antimicrobiana sobre las biopelículas, con inhibición superior al 91,9% en el tratamiento TEI y al 97% en el TER. Los enjuagues más efectivos fueron aquellos identificados como uno y dos, los cuales demostraron una mayor eficacia en la acción contra *C. albicans*.

Nwaokorie F, Edet U.; et al (Nigeria - 2024).⁹ El estudio tuvo como **objetivo** “aislar bacterias implicadas en la caries dental y evaluar el potencial antimicrobiano de tres marcas de colutorios”. **Método:** Se realizó un estudio transversal de pacientes con caries dentales activas en Lagos, Nigeria. Las muestras recolectadas de lesiones cariosas se cultivaron en agar selectivo Mitis Salivarius incubado anaeróbicamente y caracterizado. Los aislados puros de *Streptococcus sp.* de tipo salvaje se sometieron a un ensayo

antimicrobiano contra tres enjuagues bucales de uso común obtenidos dentro del área de estudio. **Resultados:** Se obtuvieron sesenta y seis aislamientos bacterianos que se identificaron como *Streptococcus* sp (74,2%), *Enterococcus* (21,2%) y los no identificados (4,6%). De los 49 *Streptococcus* sp, 18 (36,7%) eran *S. mutans*, 16 (32,7%) eran *S. salivarius* y 15 (30,6%) eran *S. mitis*. El ensayo antimicrobiano reveló varias zonas que estaban concentradas y eran dependientes del tipo de enjuague bucal. A máxima concentración (solución madre comercial al 100%), el enjuague bucal que contenía 0,2% de clorhexidina dio una actividad más antiestreptocócica, seguido del enjuague bucal que contenía 0,03% de triclosán. **Conclusión:** Los enjuagues bucales comerciales pueden tener actividades antibacterianas contra *S. mutans*, *S. salivarius* y *S. mitis*. La fórmula que contiene 0,2 % de clorhexidina mostró una mayor actividad inhibidora contra el *Streptococcus* sp de tipo salvaje aislado.

Mensitieri F, Caggiano M., et al (Italia -2023) .¹⁰ Realizaron un artículo científico y su **objetivo** fue “comparar la actividad antimicrobiana y antibiofilm de tres formulaciones comerciales diferentes de colutorios bucal que contienen gluconato de clorhexidina (CHG) en la misma concentración (0,2%) sobre el principal agente etiológico de la placa dental, *Streptococcus mutans*”. **Metodología:** Se midieron la concentración inhibitoria mínima (MIC) y la concentración bactericida mínima (MBC) para evaluar la actividad antimicrobiana de los enjuagues bucales sobre las células planctónicas. Se evaluaron tanto el título celular total como la viabilidad en biopelículas precrecidas de *S. mutans* después del tratamiento con formulaciones en diferentes puntos de tiempo y concentraciones, utilizando violeta de cristal (CV) y ensayo de colorante de tetrazolio (MTT). Los **resultados** mostraron que, aunque solo se encontraron ligeras diferencias en los valores de MIC y MBC en las bacterias planctónicas, el efecto antibiofilm de las diferentes formulaciones exhibió una amplia variación cuando se

trataron biofilms maduros. En **conclusión**, las tres formulaciones de enjuague bucal con la misma concentración de CHG mostraron diferente eficacia en términos de efectos antimicrobianos y antibiofilm, que se volvieron más significativos cuando se evaluaron en biofilms maduros.

Gómez M. (México - 2023) .¹¹ Realizó un estudio con el **objetivo** de “determinar cuál colutorio induce mayores halos de inhibición, Periokin® al 0,20% o Perioxidin al 0,12% sobre *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*”. **Métodos:** Se llevó a cabo un diseño experimental in vitro, utilizando un total de 60 discos de papel de 6 mm, estos discos fueron inoculados con tres cepas bacterianas: 20 discos fueron expuestos a *Streptococcus mutans*, 20 a *Staphylococcus aureus* y 20 a *Enterococcus faecalis*. De estos, 10 discos fueron tratados con Periokin® al 0,20% y 10 discos con Perioxidin® al 0,12%. Posteriormente, se procedió a medir los halos de inhibición con el objetivo de evaluar la actividad antibacteriana de ambos colutorios. **Resultados:** Evidenciaron una diferencia significativa en los halos de inhibición generados por Periokin® al 0,20 % y Perioxidin® al 0,12 % frente a *Streptococcus mutans* ($p < 0,0001$). **Conclusiones:** la eficacia antibacteriana de colutorios con clorhexidina estuvo condicionada tanto por la concentración del agente activo como por la cepa bacteriana evaluada.

Oporto G, Rodríguez C.; et al (Chile 2021) .¹² Realizaron una investigación para una publicación científica con el siguiente **objetivo** “comparar el efecto antibacteriano de ocho enjuagues bucales comerciales (MW) diferentes contra dos cepas de *Streptococcus mutans* (SM) utilizando el **método** de difusión en pozos de agar”. Los ocho MW comerciales seleccionados contenían varios ingredientes activos en distintas concentraciones, siendo los principales el gluconato de clorhexidina, cloruro de

cetilpiridinio, fluoruro de sodio, lactato de zinc, vitamina B5 y agua superoxidada. Los **resultados** mostraron que siete de las fórmulas comerciales presentaron actividad antibacteriana, mientras que la fórmula con agua oxigenada no mostró efecto inhibidor. La fórmula de clorhexidina exhibió el mayor efecto inhibidor (27,38 mm y 31,52 mm). No se identificaron diferencias estadísticamente significativas al comparar las fórmulas con gluconato de clorhexidina, tanto en su uso individual como combinado con otros ingredientes activos. En **conclusión**, los MW que contenían clorhexidina demostraron el mejor efecto frente a *S. mutans*, pero no mostraron diferencias significativas al comparar su uso exclusivo con su combinación con otros antisépticos.

Chavarría D, Esparza V.; et al (Costa Rica - 2021).¹³ El **objetivo** de este estudio fue “evaluar in vitro, la capacidad antibacteriana y antifúngica de tres enjuagues bucales disponibles comercialmente en Costa Rica, con diferentes concentraciones de clorhexidina, 0,12%, 0,06% y 0,03%”. La **metodología** fue de diseño experimental para medir el efecto antimicrobiano de cada compuesto sobre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Los **resultados in vitro** mostraron resultados relevantes, debido a que todas las especies analizadas corresponden a microorganismos potencialmente presentes en la placa dental. **Conclusión:** Todas las muestras evidenciaron cierto grado de actividad antibacteriana y antifúngica; por consiguiente, se sugirió incorporar enjuagues bucales con bajas concentraciones de clorhexidina en los regímenes de higiene oral, ya que permiten conservar una eficacia antimicrobiana aceptable.

3.1.2 Antecedentes a nivel nacional

Soles J. (Trujillo - 2024).¹⁴ Indica que su estudio ha sido realizado con el **objetivo** de “comparar el efecto antibacteriano, in vitro, entre un colutorio a base de digluconato

de clorhexidina al 0,12% y un colutorio elaborado a base de cloruro de cetilpiridinio al 0,075% sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. **Metodología:** Se trata de un estudio de tipo cuantitativo, observacional, transversal y analítico, con un nivel explicativo y un diseño experimental. La población estuvo compuesta por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, y la muestra incluyó diez repeticiones por cada grupo de estudio. **Resultados** evidencian que el colutorio de clorhexidina al 0,12 % logró un halo de inhibición promedio de 32,3 mm, mientras que el colutorio que contiene cloruro de cetilpiridinio al 0,075 % registró un halo de 22,5 mm. Por otro lado, el grupo control, que fue tratado con metanol puro, mostró un halo de 18,5 mm. **Conclusión:** El colutorio de clorhexidina al 0,12% mostró una mayor actividad antibacteriana que el colutorio elaborado con CPC 0,075 % frente al crecimiento de *S. mutans*.

Villanueva N. (Puno - 2024).¹⁵ El **objetivo** fue “comparar el efecto antibacteriano in vitro de los enjuagues bucales: listerine, colgate plax soft mint, y yodopovidona 0,23% sobre cepas de *Actinomices viscosus* y *Streptococcus mutans* a las 24 y 48h mediante el tamaño del halo inhibitorio”. **Metodología:** Diseño experimental in vitro. La muestra estuvo conformada por 150 cepas de *Actinomices viscosus* y 150 de *Streptococcus mutans* Asimismo, las muestras se distribuyeron en grupos experimentales conformados por Listerine, Colgate Plax Soft Mint y yodopovidona al 0,23 %, además de un control positivo con clorhexidina al 0,12 % y un control negativo con agua destilada. **Resultados:** *Actinomyces viscosus* a las 24 horas, Colgate Plax Soft Mint presentó un halo de inhibición de 21,38 mm, la yodopovidona al 0,23 % alcanzó 19,05 mm y Listerine registró 15,68 mm. Por otro lado, frente a *Streptococcus mutans* se observaron halos de inhibición de 20,37 mm a las 24 horas, así como de 8,97 mm y 8,84 mm a las 48 horas. **Conclusiones:** los enjuagues bucales mostraron actividad antibacteriana sobre *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas; no obstante, Colgate

Plax Soft Mint exhibió el mayor halo de inhibición a las 24 horas, mientras que Listerine registró el menor efecto.

Cayo L. y Mamani L. (Arequipa-2024).¹⁶ Los autores realizaron su estudio con el **objetivo** de “evaluar in vitro de la potencia antibacteriana de dos enjuagues bucales comerciales sobre cultivos de *Streptococcus mutans*, Arequipa – 2023”. **Metodología:** el estudio presentó un diseño experimental *in vitro* de tipo aplicado, con enfoque cuantitativo, nivel explicativo y longitudinal. Para ello, se utilizaron dos enjuagues bucales, Colgate Total 12 y Oral B, en concentraciones de 50 % y 25 % y cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Resultados:** mostraron que Oral B Complete presentó la mayor actividad inhibitoria, con una media de 19,25 mm al 50 % y 21,42 mm al 25 %. En contraste, Colgate Total 12 Clean Mint registró los valores más bajos, con medias de 15,92 mm al 50 % y 14,83 mm al 25 %. Además, se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos enjuagues ($p = 0,000 < \alpha = 0,05$). **Conclusiones:** Oral B Complete al 50 % presentó una mayor potencia antibacteriana frente a la cepa de *S. mutans* en condiciones *in vitro*.

Ruiz M, Terrones W.; et al (Piura - 2023).¹⁷ El **objetivo** de estudio fue “evaluar el potencial antibacteriano de 2 enjuagues bucal a base de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*”. **Metodología** Se llevó a cabo un estudio experimental en el cual se elaboraron dos enjuagues bucales a partir del extracto hidroetanólico de neem, con concentraciones de 25 mg/mL y 50 mg/mL. El potencial antimicrobiano fue evaluado mediante el método de difusión en disco. **Resultados:** indicaron que, en presencia de *Streptococcus mutans*, el enjuague con una concentración de 25 mg/mL de extracto de neem mostró un halo de inhibición de $25,12 \pm 0,798$ mm. Por otro lado, la concentración de 50 mg/mL alcanzó un halo de $29,40 \pm$

1,197 mm. En comparación, el control negativo registró un halo de $8,62 \pm 0,132$ mm, mientras que la clorhexidina al 0,12 % evidenció un halo de $17,64 \pm 0,160$ mm. En lo que respecta a *Enterococcus faecalis*, el enjuague a una concentración de 25 mg/mL mostró un halo de inhibición de $18,23 \pm 1,150$ mm, mientras que la concentración de 50 mg/mL obtuvo un halo de $20,93 \pm 0,487$ mm. **Conclusión:** Los colutorios a base de neem evidenciaron potencial antibacteriano *in vitro* frente a *S.mutans* y *E. faecalis*, por lo que podrían constituir una alternativa promisorio para su control y otros patógenos orales.

Díaz R. (Ica - 2023). ¹⁸ El **objetivo** fue “comparar *in vitro* el efecto antibacteriano de tres colutorios sobre cepas bacterianas orales”. **Metodología:** Se trata de un estudio analítico, longitudinal y diseño experimental. La unidad de análisis estuvo conformada por las cepas bacterianas orales *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. **Resultados:** evidenciaron, mediante la prueba ANOVA, un valor de $p = 0,000$ en cada una de las cepas evaluadas. **Conclusión:** Se determinó la existencia de diferencias estadísticamente significativas en el efecto antibacteriano *in vitro* de los tres colutorios sobre las cepas analizadas. Se observó que el efecto máximo se alcanzó a las 24 horas, presentándose resultados similares entre los colutorios que contienen Clorhexidina (CHX) al 0,12% y Cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0,05%, así como Hexetidina al 0,1%. Por otro lado, el colutorio que contenía Fluoruro de sodio al 0,02% mostró el menor rendimiento.

Vásquez R. (Trujillo - 2022) . ¹⁹ Su **objetivo** “comparar el efecto antibacteriano de cuatro marcas de enjuagues bucales comercializados en el distrito de Trujillo sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo – 2019”. **Metodología:** Tipo cuantitativo, experimental y transversal. El efecto antibacteriano fue evaluado a través de observaciones experimentales, utilizando el método de Kirby-Bauer. **Resultados:**

mostraron que el diámetro promedio de los halos de inhibición fue de 24,03 mm para Listerine® Cuidado Total, 18,14 mm para Oral-B® Complete, 14,11 mm para Dento® Mental Natural y 6,0 mm para Tottus® Blanqueador, observándose significancia estadística ($p < 0,05$). **Conclusión:** El efecto antimicrobiano de las cuatro marcas de enjuagues difiere significativamente, siendo Listerine® Cuidado Total el más eficaz sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Acero L. (Puno - 2022)²⁰. Realizó un estudio con el objetivo de “evaluar la acción antibacteriana de colutorios de uso ortodóntico sobre el *Streptococcus mutans* en pacientes con aparatología ortodóntica fija”. **Metodología:** Tuvo un diseño cuasiexperimental, comparativo, longitudinal y cuantitativo, de tipo simple ciego, con una muestra de 20 pacientes distribuida en dos grupos para el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC), además de un control positivo y otro negativo para determinar el halo inhibitorio. **Resultados:** mostraron que los colutorios Vitis® Orthodontic y Ortolacer redujeron el recuento de UFC de *Streptococcus mutans* en un 48,3 % ($p < 0,001$) y 53,2 % ($p < 0,001$), respectivamente. Asimismo, Vitis® Orthodontic presentó una mayor acción antibacteriana que Ortolacer ($p = 0,009$) y generó un halo inhibitorio significativamente superior en condiciones de anaerobiosis a las 24 y 48 horas ($p < 0,05$). **Conclusiones:** Los colutorios bucales Vitis® Orthodontic y Ortolacer reducen el recuento de UFC y ejercen efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans*, siendo Vitis® Orthodontic el más efectivo en términos de acción antibacteriana y formación de halo inhibitorio.

Huamán E. (Puno - 2022)⁷. Su **objetivo** fue “evaluar el efecto antibacteriano in vitro de tres colutorios orales comerciales sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. **Metodología:** Tipo cuantitativo y diseño experimental, con una cepa estándar de *S.*

mutans ATCC 25175. Los colutorios comerciales evaluados fueron; Vitis encías®, Dentodex, Listerine®. Para la evaluación del efecto antibacteriano, se empleó el método estandarizado por el Clinical Laboratory Standards Institute, el cual consiste en la difusión en pozo de agar. Los **resultados** indicaron que los halos de inhibición promedio fueron 12,15 mm para Vitis encías®, 13,61 mm para Dentodex® y 13,45 mm para Listerine®, mientras que el control positivo presentó un halo promedio de 15,51 mm. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre Dentodex® y Listerine®, indicando un efecto antibacteriano similar, aunque sí se identificaron diferencias significativas al comparar los colutorios con el control positivo. Se **concluyó** que los tres colutorios ejercen efecto antibacteriano sobre la cepa estándar de *S. mutans*, aunque ninguno superó la eficacia de la Clorhexidina 0,12 % utilizada como referencia positiva.

Sánchez M. (Chiclayo - 2020) ²¹. Su **objetivo** fue “comparar el efecto antibacteriano in vitro de cuatro colutorios bucales comercializados en Chiclayo y un control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. **Metodología:** Tipo cuantitativo y diseño experimental La actividad antibacteriana se determinó mediante los métodos de difusión en disco y en pocillo de agar. **Resultados:** mostraron que los colutorios A y B no generaron halos de inhibición, indicando ausencia de efecto antibacteriano, mientras que los colutorios C y D produjeron halos promedio de 12,2 mm y 8,4 mm, respectivamente. En comparación con el control positivo, se evidenció una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,005$). **Conclusión:** los colutorios A y B carecen de acción antibacteriana frente a *S. mutans* ATCC 25175 y deben considerarse cosméticos, mientras que los colutorios C y D presentan actividad antibacteriana, aunque inferior a la generada por el gluconato de clorhexidina 0,12 %.

3.1.3 Antecedentes a nivel regional y local

No se encontraron investigaciones de este tipo en nuestra región, es por ello la iniciativa de esta investigación.

3.2 Bases teóricas

3.2.1 La Caries Dental y principales microorganismos relacionados

La caries dental es una de las enfermedades infecciosas crónicas más comunes en el mundo.²² La cavidad oral es un entorno ecológico complejo y la caries dental se forma por la acción combinada de bacterias-huésped-alimento-tiempo. La caries se forma a través de una serie de actividades orales, como la formación de biopelículas y el metabolismo bacteriano de los azúcares dentro de la placa dental para producir ácido, seguido de la desmineralización ácida del esmalte dental. La "Hipótesis de la placa ecológica" es la teoría principal de la etiología de la enfermedad de caries, en la que la aparición de caries dental involucra una variedad de microorganismos en la placa dental, la placa entre la superficie del diente y el entorno oral, y la alteración del equilibrio ecológico. Los sitios de unión para los microorganismos cariogénicos y otros son proporcionados por la matriz de polisacáridos extracelulares, que es producida por bacterias cariogénicas en biopelículas.^{23,24}

Cientos de microorganismos están presentes en la boca. De hecho, las sondas de ARN ribosómico 16S (ARNr) confirmaron la amplia diversidad de especies de microbioma oral y de caries, el primero se compone principalmente de bacterias, hongos, virus, micoplasma, protozoos, clamidia, arqueas y el último se refiere principalmente a *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Haemophilus* y *Rothia*²⁵. Una variedad de microorganismos interactúa y se restringen entre sí, formando un ecosistema equilibrado. El microbiota oral, de la cual la mayoría son bacterias simbióticas, comprende

microorganismos beneficiosos y dañinos. La composición de especies del microbiota gingival cambió de la comunidad de biopelícula de parche simbiótico a la comunidad ecológicamente desregulada dominada por especies ácidas y acidúricas ²⁶. Cuando la sobreproliferación o ausencia de un determinado microorganismo rompe este equilibrio, pueden ocurrir varias enfermedades. La enfermedad bucal, caries dental, no es causada por la introducción de patógenos exógenos en el ambiente bucal, sino por la ruptura o alteración del equilibrio en la estructura de la comunidad microbiana existente en un estado normal de salud. ²⁷

Se ha acumulado evidencia que respalda la contribución de la microbiota bucal a las dos enfermedades orales más prevalentes en los seres humanos: la caries dental y las enfermedades periodontales. Estas condiciones representan factores de riesgo significativos para diversas afecciones sistémicas, tales como tumores, diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares, bacteriemia, parto prematuro y bajo peso al nacer. Se reconoce que los microorganismos orales inducen enfermedades de manera sinérgica, y que las interacciones entre las especies dentro de la comunidad bucal desempeñan un papel fundamental en la patogénesis de estas afecciones. ²⁸

Las bacterias son, sin duda, la forma más dominante de microorganismos que existen en la cavidad bucal humana, y algunos ejemplos son *S. Sanguis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *L. acidophilus*, *S. mitis*, *L. salivarius*, *L. casei*, *Micrococcus* spp, *Staphylococcus* spp, *Neisseria* spp, *Actinomyces* spp, *Peptostreptococcus* spp, *Eubacterium* spp, etc. Entre ellos *Streptococcus* forma por sí solo la mayor asociación en la cavidad oral. ²⁹

3.2.2 Formación y desarrollo del biofilm oral

La caries dental y la patología periodontal representan infecciones de la cavidad bucal en las que las biopelículas desempeñan un papel crucial. Asimismo, estas estructuras se

investigan como modelos experimentales para estudiar la adhesión bacteriana, la formación de biofilms y la resistencia microbiana frente a antibióticos, dada su prevalencia y facilidad de acceso.³⁰

La generación de un biofilm exige la interacción con un fluido compuesto por minerales, moléculas orgánicas y microorganismos. La mayor proporción de estas bacterias exhibe la habilidad para adherirse a superficies y generar biofilm. La etapa inicial del biofilm oral se produce mediante la adsorción de macromoléculas hidrofóbicas sobre la superficie dental, constituyendo Las bacterias predominantes en esta etapa son *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*, las cuales utilizan proteínas de adhesión Pac y glucosiltransferasas. A continuación, el proceso de degradación de la sacarosa favorece la formación de la matriz extracelular, propiciando interacciones electrostáticas entre especies como *Prevotella*, *Veillonella* y *Actinomyces*, las cuales se distinguen por su adhesión a la película adquirida.³¹

El éxito de un microorganismo depende de su capacidad para colonizar nuevas zonas, lo que explica su propagación a lo largo de la cavidad oral. Las principales características de los biofilms bacterianos incluyen la adhesión a superficies, la inducción de infecciones localizadas, la tolerancia frente a tratamientos antimicrobianos y la activación de respuestas inmunitarias.³⁰

Las biopelículas orales pueden inducir diversas afecciones dentro de la cavidad bucal, incluyendo enfermedades periodontales, caries, halitosis y patologías periimplantarias, entre otras. Entre ellas, la caries y la periodontitis constituyen las enfermedades dentales más prevalentes en humanos y se originan a partir de disbiosis de la microbiota bucal.³²

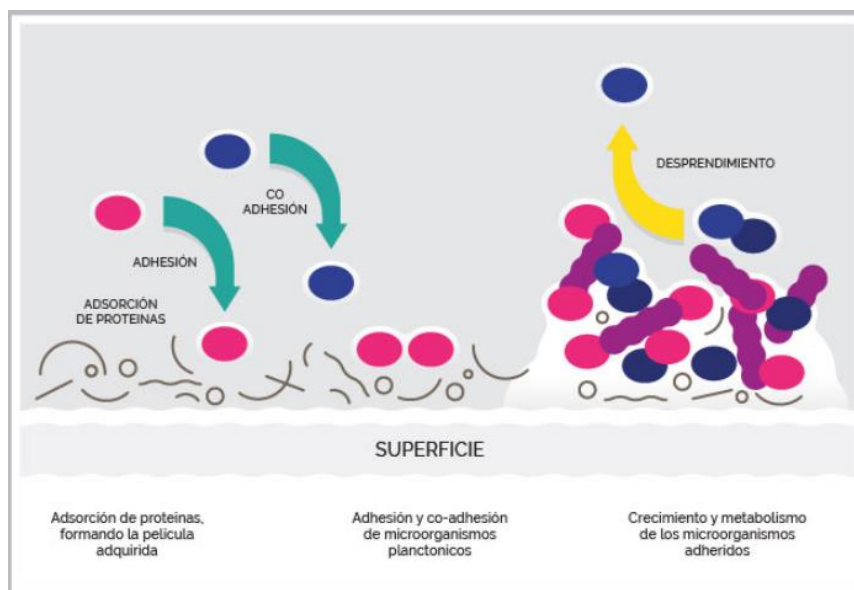


Figura 1. Etapas de formación del biofilm. (Morón 2021)

3.2.3 Bacterias grampositivas y de interés odontológico

En el presente estudio, los géneros bacterianos examinados comprenden *Streptococcus* y *Enterococcus*.

- *Streptococcus mutans*

Esta bacteria representa el principal patógeno vinculado a la caries dental. Esta especie ha sido categorizada en ocho serotipos basándose en sus antígenos: los serotipos c, e y f, que ocupan entre el 40 y 80% de la cavidad oral y se consideran capaces de transmitir genéticamente a otros individuos mediante la saliva; *Streptococcus sobrinus* serotipos d y g; *Streptococcus cricetus* serotipo b; *Streptococcus ferus* serotipo c; *Streptococcus macaca* serotipo b; y *Streptococcus downei* serotipo h.²⁸

El serotipo del *S. mutans* se compone de polímeros de ramnosa y glucosa con enlaces α o β . Los estudios biotecnológicos han permitido su identificación fenotípica y genotípica, lo que ha facilitado el diseño de estrategias dirigidas a la prevención y control de esta bacteria, incluyendo análisis de susceptibilidad antimicrobiana.³³

- ***Transmisión, colonización y estabilidad del Streptococcus mutans en cavidad oral***

La caries dental se origina a través de la transmisión directa o indirecta de *S.mutans*. La transmisión indirecta, menos frecuente, se produce mediante microgotas de saliva que depositan unidades constituyentes de colonias sobre superficies inanimadas, en las cuales la bacteria puede subsistir durante alrededor de 24 horas. Por el contrario, la transmisión directa es más prevalente y demanda un contacto cercano entre los individuos, permitiendo la transferencia de los microorganismos presentes en las gotículas de Flüge al nuevo hospedero.²⁸

Diversos factores inciden en la transmisión, que es más sencilla durante la primera infancia, lo que permite a individuos con alta infección por este microorganismo en interacción con infantes. Los progenitores, particularmente las madres, han sido reconocidos como los principales causantes de la infección temprana en sus descendientes.²⁸

La colonización de ***Streptococcus mutans*** en la biopelícula dental evidencia la presencia de múltiples géneros bacterianos patógenos que constituyen un microbioma complejo, en el que los factores de virulencia interactúan para favorecer la persistencia de la diversidad microbiana sobre la superficie dental. Por lo tanto, resulta relevante analizar la función de los distintos genotipos de ***S. mutans*** dentro del mismo individuo.³⁴

Las principales localizaciones de ***Streptococcus mutans*** incluyen los tejidos duros de la cavidad oral, así como los epitelios de la faringe y el intestino. Su adhesión a las superficies dentales y la capacidad de sintetizar polisacáridos generan subproductos ácidos que alteran el pH local, favoreciendo la colonización de otros microorganismos oportunistas. La producción de ácido, que podría resultar letal para el propio

microorganismo, se contrarresta mediante mecanismos de tolerancia ácida que le permiten mantener su viabilidad frente a condiciones adversas.²⁸

Streptococcus mutans y *Streptococcus sobrinus* son bacterias acidogénicas capaces de sintetizar polisacáridos extracelulares (EPS) mediante enlaces glicosídicos energéticamente favorables derivados de restos de glucosa y fructosa. La producción significativa de EPS a partir de sacarosa constituye un factor clave en la cariogenicidad de *S. mutans*, siendo los homopolisacáridos de glucosa y fructosa los más relevantes.²⁹

En particular, estas especies presentan evidencia que sugiere que una vía importante de transmisión es el contacto directo, ya sea mediante besos o transmisión vertical. Además, la colonización de *S. mutans* en la cavidad oral se ve favorecida por la producción de mutacinas, péptidos con actividad antimicrobiana de amplio espectro capaces de inhibir otras bacterias presentes en el biofilm dental, lo que proporciona a *S. mutans* una ventaja competitiva en su establecimiento.³⁶

- *Enterococcus faecalis*

El género *Enterococcus* comprende bacterias grampositivas, cocos y anaerobias facultativas, las cuales constituyen la flora común de la cavidad oral, el tracto gastrointestinal y el sistema genital de la mujer. Estas especies están vinculadas con la ineficacia del tratamiento endodóntico y con una variedad de patologías sistémicas, que abarcan infecciones del tracto urinario, infecciones derivadas de lesiones quirúrgicas, bacteriemias y endocarditis. Adicionalmente, exhiben una elevada resistencia a los agentes antimicrobianos y poseen una variedad de factores de virulencia, incluyendo sustancias de agregación, proteínas superficiales, gelatinasa, producción de superóxido extracelular, polisacáridos capsulares y factores determinantes de resistencia a los antibióticos.^{37, 38}

Los *Enterococcus* se reconocen como patógenos potenciales en humanos, responsables de aproximadamente el 12 % de las infecciones nosocomiales. En los casos de infecciones endodónticas recurrentes, la especie más frecuentemente aislada es *Enterococcus faecalis* ³⁹. A pesar de la abundante literatura, la incidencia de fracasos endodónticos vinculados a la presencia bacteriana persiste en un nivel elevado. El género *Enterococcus* comprende especies morfológicamente similares a los estreptococos, con *E. faecalis* (80–90 %) y *E. faecium* (5–10 %). Estos microorganismos exhiben elementos microbianos, abarcando tanto infecciones intrarradiculares como extrarradiculares, junto con factores no microbianos, de naturaleza intrínseca o extrínseca. ⁴⁰

No obstante, se debe reconocer que, en la mayoría de las situaciones, el fracaso endodóntico se asocia específicamente con la presencia de *Enterococcus faecalis*. Esta especie se considera un patógeno oportunista relevante, responsable de infecciones nosocomiales y con capacidad para persistir debido a su resistencia intrínseca a diversos antibióticos. Asimismo, la habilidad de los enterococos para incorporar material genético exógeno se identifica como un rasgo fundamental que les permite adaptarse a distintos ambientes. ⁴¹

3.2.4 Colutorios orales

Son formulaciones que se caracterizan por su compatibilidad con los tejidos dentales y mucosas orales, y demuestran eficacia en la reducción de la formación de placa dental, un factor primordial en las patologías cariosas y periodontales. ⁴² Se ha evidenciado que los enjuagues bucales contribuyen a restringir la adhesión de los microorganismos a la biopelícula y a la superficie dental, ejerciendo además un efecto bacteriostático que limita la acumulación de placa. ⁴³

Los colutorios suelen consistir en mezclas de agentes antimicrobianos disueltos en agua o alcohol, e incorporan componentes adicionales como tensioactivos y compuestos aromáticos. La clorhexidina (CHX), el cloruro de cetilpiridinio (CPC), delmopinol, hexetidina (Cu^{2+} , Sn^{2+} y Zn^{2+}), xilitol, triclosán, y aceites esenciales.⁴⁴

- **Gluconato de clorhexidina (CHX)**

Es un agente antiséptico extensamente empleado en la práctica médica, descubierto en Inglaterra en la década de 1950. Actualmente, se considera uno de los compuestos más eficaces para reducir la placa bacteriana en la superficie dental y para disminuir la inflamación gingival y periodontal, constituyendo el estándar de referencia (“gold standard”). La CHX posee un amplio espectro de actividad antibacteriana frente a microorganismos, así como actividad frente a virus, ciertos protozoos y niveles reducidos de *Candida*.⁴⁴

- **Estructura**

Es un compuesto dicatiónico con un pH superior a 3,5, caracterizado por la presencia de dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno, lo que facilita su interacción con aniones. Químicamente, está formada por dos anillos 4-clorofenilo y dos grupos biguanida unidos mediante una cadena de hexametileno ($\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_{10}$). La CHX conserva su estabilidad principalmente en presentación de sal, siendo el digluconato la preparación más utilizada debido a su elevada solubilidad en agua.⁴⁵

- **Mecanismo de acción**

Ejerce su efecto en función de su estructura química; los grupos cloro unidos a cada anillo fenólico confieren al compuesto su carácter catiónico. Esta carga positiva favorece la atracción hacia superficies cargadas negativamente en la cavidad oral,

incluyendo membranas mucosas, biopelículas salivales sobre los dientes, superficies de titanio y diversos componentes de biopelículas.⁴⁴

Además, la CHX impide la generación de nuevas biopelículas y reduce la adsorción de glicoproteínas salivales sobre la superficie dental a través del bloqueo de grupos ácidos libres, como fosfatos, carboxilos y sulfatos. Por otro lado, interfiere con la adhesión bacteriana a la biopelícula ya establecida a través de interacciones con los grupos negativos de las superficies celulares bacterianas. Asimismo, induce desorganización de la placa existente mediante el desplazamiento de calcio de los grupos sulfato, lo que impide la incorporación de bacterias a la biopelícula adquirida.⁴⁶

- **Sustantividad**

La CHX se libera de manera gradual durante un período de 8 a 12 horas. Al día siguiente, es posible restablecer concentraciones bajas del compuesto, lo que resulta relevante para impedir la recolonización bacteriana en la superficie dental. Su alta sustentividad se debe a la rápida absorción por las superficies bacterianas, facilitada por su pH cercano a neutro. La CHX se adhiere al esmalte dental, a las bacterias presentes en la placa y a la biopelícula adquirida, liberándose lentamente y ejerciendo efectos citotóxicos sobre el citoplasma bacteriano, lo que compromete la viabilidad bacteriana.⁴⁷

- **Cloruro de cetilpiridinio (CPC)**

Se utiliza como un antiséptico de amplio espectro, demostrando eficacia frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, así como hongos y virus, de manera comparable a la clorhexidina; sin embargo, exhibe una mayor eficacia frente a las bacterias Gram positivas. El CPC se absorbe de forma eficiente en el pH de la cavidad oral y mantiene un período de acción de 3 a 5 horas tras su aplicación. Además, ejerce actividad antiplaca y contribuye a neutralizar toxinas bacterianas que pueden inducir

inflamación, lo que permite prevenir la gingivitis. De acuerdo con la FDA, se clasifica como un antimicrobiano seguro y eficaz para el control de la gingivitis relacionada con la placa dental, particularmente cuando se emplea en concentraciones que oscilan entre el 0,045 % y el 0,1 %. ⁴⁸

- **Estructura**

El CPC es una molécula de amonio cuaternario perteneciente al grupo de los tensioactivos, con naturaleza monocatiónica y solubilidad tanto en soluciones acuosas como alcohólicas. Presenta propiedades antisépticas y detergentes, y debido a su pH neutro no produce oxidación ni corrosión. La actividad antimicrobiana del CPC se relaciona con la hidrofobicidad de su cadena lateral, alcanzando eficacia máxima cuando la cadena alquílica presenta 12 y 16 átomos de carbono. Asimismo, se logra el efecto antimicrobiano óptimo considerando la longitud de la cadena alquílica: 12–14 átomos de carbono frente a bacterias Gram positivas y 14–16 átomos de carbono frente a bacterias Gram negativas. ⁴⁹

- **Mecanismo de acción**

El cloruro de cetilpiridinio (CPC) es un surfactante catiónico con carga positiva neta, atribuible a la disposición de sus zonas polar y no polar, lo que facilita su adhesión a superficies bacterianas cargadas negativamente. La región no polar presenta características análogas a los fosfolípidos de la membrana celular, permitiendo la inserción en la membrana bacteriana, lo que provoca alteraciones estructurales, desequilibrio osmótico y eventual pérdida de contenido citoplasmático, conduciendo a la muerte celular. Además, el CPC ejerce actividad antigingival al neutralizar toxinas proinflamatorias bacterianas y se integra a lipopolisacáridos para alterar su estructura y reducir la viabilidad bacteriana. ^{49,50}

- **Sustantividad**

La sustantividad del cloruro de cetilpiridinio (CPC) oscila entre 3 y 5 horas, una duración que es inferior a la de la clorhexidina (CHX). Esta disminución en la persistencia se asocia con su carácter monocatiónico, lo cual podría justificar su eficacia antiplaca relativamente disminuida en comparación con la CHX. La fusión de principios activos con otros compuestos puede potenciar la sustantividad o producir efectos sinérgicos; no obstante, estas fluctuaciones obstaculizan la determinación exacta de la eficacia clínica de los enjuagues bucales.^{43,51}

- **Metodologías para la Evaluación de la Actividad Antimicrobiana.**

Las pruebas de susceptibilidad microbiana representan métodos esenciales en el campo de la investigación, aunque los hallazgos pueden fluctuar en múltiples factores involucrados en su desarrollo. Estos ensayos deben ser estandarizados y sometidos a controles de calidad que garanticen su reproducibilidad. A pesar de la ausencia de una regulación concreta para evaluar la capacidad inhibitoria de los colutorios, como ocurre con los antibióticos, la mayoría de los métodos se basa en los utilizados para determinar la resistencia o susceptibilidad bacteriana a antibióticos. La valoración de la eficacia de los colutorios en el tratamiento de bacterias y hongos suele emplear procedimientos similares, diferenciándose principalmente en la preparación del inóculo, el medio de cultivo, la temperatura y el tiempo de incubación.^{52,53}

- **Método de Difusión**

La técnica se basa en el método originalmente descrito por Bauer et al. (método de Kirby-Bauer), que ha sido estandarizado y recomendado actualmente por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad del NCCLS, Estados Unidos. El propósito es cuantificar el impacto de diversas sustancias, evaluadas individualmente, sobre cepas bacterianas

aisladas de procesos infecciosos. El procedimiento se fundamenta en la proporción entre la concentración requerida para inhibir una cepa bacteriana y el diámetro del halo de inhibición detectado en la superficie de una placa de agar, preparada con un medio de cultivo apropiado y sembrada de manera homogénea con la bacteria a ser sometida a prueba. La aplicación de la sustancia se realiza a través de un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro o en un pozo impregnado con una cantidad determinada del componente.⁵⁴

- Escala de Duraffourd

La escala de Duraffourd es un sistema empleado en microbiología para clasificar el grado de sensibilidad de un microorganismo frente a una sustancia química, como colutorios, extractos vegetales o antibióticos, a partir de la medición del halo de inhibición en ensayos de difusión en agar. Según esta escala, la actividad antimicrobiana se categoriza como sumamente sensible (halo > 20 mm), muy sensible (14–19 mm), sensible (8–13 mm), nula o sin actividad (≤ 8 mm). Este criterio permite comparar de manera estandarizada la eficacia inhibitoria de distintas sustancias frente a cepas bacterianas específicas.⁵⁵

Este método se ha aplicado ampliamente en estudios de fitoterapia, odontología y microbiología experimental para determinar la eficacia de productos naturales o farmacológicos. La ventaja de esta escala es su simplicidad y utilidad comparativa para ensayos *in vitro*, especialmente en investigaciones preliminares donde se requiere determinar rápidamente la acción inhibitoria de un agente sobre bacterias patógenas como *Streptococcus mutans* o *Enterococcus faecalis*. Su uso ha sido validado en numerosos estudios como un criterio confiable para categorizar la actividad antimicrobiana observada en placas de Petri.⁵⁴

3.3 Definición de términos

- ***Streptococcus mutans***: Es un microorganismo del género *Streptococcus* que se encuentra en el grupo viridans de los *Streptococcus* morfológicamente son cocos gran positivos, a veces forman cadenas, no esporulados e inmóviles.³⁵
- ***Enterococcus faecalis***: Es la especie más representativa del género *Enterococcus* y forma parte de la flora normal humana, localizándose principalmente en la mucosa intestinal y genital. No obstante, también puede aislarse en infecciones dentales.³⁷
- **Colutorio**: Se puede obtener a partir de una materia prima seca, en este caso el propóleo, sumergiéndolo en contacto con el disolvente etanol, tras lo cual dicho disolvente se elimina mediante un método físico.⁴²
- **Caries dental**: Enfermedad crónica y multifactorial que afecta a los dientes, caracterizada por la desmineralización del esmalte debido a la acción de los ácidos producidos por bacterias en la biopelícula dental. Si no se trata, puede progresar hacia la formación de cavidades en el diente.²
- **Eficacia antibacteriana**: es la disposición que tienen determinar esta sustancia para inhibir la evolución o aumento de bacterias en un tipo y sector definido. Pero no puede producir la muerte de ellas.²¹
- **Bacterias gram positivas**: estas bacterias se pintan de color azul con la tinción Gram porque este queda prendido en su pared celular rica en peptidoglucano (estructura entrecruzada son gruesas en formas de malla que están alrededor la célula).³⁹
- **Bacterias gram negativas**: estas bacterias tienen una mureína que es difícil retener colorante cristal violeta, y las células se tiñen con un colorante de contraste (fucsina) y adquiere color rojo.³⁷

- **Cepa:** es un grupo de células iguales o clones obtenidos por propagación de una única célula hija, elegida y aislada. Las cepas suelen denominarse colonias puras.

40

- **Efecto antimicrobiano in vitro:** produce la muerte de una bacteria específica o impide que se multiplique. esto se observa durante formación de barreras alrededor de la base.²¹
- **Escala de Duraffourd:** Sistema utilizado para evaluar la efectividad de diferentes antisépticos bucales en función de su capacidad antimicrobiana.⁵⁵
- **Clorhexidina:** Antiséptico de amplio espectro utilizado para controlar la placa bacteriana y prevenir enfermedades periodontales.⁴⁷
- **Cloruro de cetilpiridinio:** Agente antimicrobiano utilizado en enjuagues bucales para reducir la acumulación de placa y combatir bacterias orales.⁴⁹

IV. Metodología

4.1 Tipo y nivel de investigación

Tipo: La presente investigación fue de tipo aplicada, dado que su objetivo fue abordar un problema específico, centrándose en la búsqueda y consolidación del conocimiento para su posterior aplicación, lo que contribuye al enriquecimiento de las ciencias estomatológicas.⁵⁶

Nivel: Corresponde al nivel explicativo, ya que se buscó identificar las causas de los eventos y fenómenos, enfocándose en explicar por qué ocurre un fenómeno y bajo qué condiciones se manifiesta, así como en analizar la relación entre dos o más variables.⁵⁷

4.2 Diseño de investigación

El diseño del estudio fue experimental *in vitro*, dado que las variables objeto de análisis fueron manipuladas para evaluar los efectos esperados. Además, se empleó un enfoque transversal, ya que los datos se recopilaron en un único periodo temporal, según lo establecido por el investigador. Finalmente, el estudio se caracterizó como prospectivo, dado que el análisis se realizó conforme a la ocurrencia de los hechos en un tiempo específico.⁵⁶

Donde:

Grupo A: Corresponde a *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Grupo B: Corresponde a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Control Negativo: Corresponde a Agua destilada

Control Positivo: Corresponde a Metanol puro

O1: Corresponde al Colutorio 1 (Gluconato de clorhexidina al 0,12%)

O2: Corresponde al Colutorio 2 (Cloruro de cetilpiridinio al 0,07%)

O3: Corresponde al Colutorio 3 (Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% en combinación con Gluconato de clorhexidina al 0,12%.)

4.3 Operacionalización de Variables

4.3.1 Variable Dependiente

- Efecto Antimicrobiano

4.3.2 Variable Independiente

- Colutorios

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ITEM	ESCALA DE MEDICIÓN	VALORES
Variable dependiente Efecto Antimicrobiano	Capacidad de una sustancia para inhibir o eliminar el crecimiento de microorganismos patógenos. ²¹	Halo de inhibición	Medida en la que los colutorios orales inhiben el crecimiento de las cepas bacterianas <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Enterococcus faecalis</i> en un estudio in vitro.	Diámetro del halo de inhibición(mm)	Zonas de inhibición (medidas en milímetros) de las cepas bacterianas en placas de agar.	De razón (mm)	Escala de Duraffourd Nula: (-) ≤8mm Sensible: (+) 8-13 mm Muy sensible : (++) 14-19mm Sumamente sensible (+++) > 20 mm
Variable independiente Colutorios	Soluciones acuosas viscosas que contienen agentes antimicrobianos con que se emplean para la higiene oral. ⁴²	Gluconato de clorhexidina	Tipos de colutorios utilizados en el estudio, como aquellos con ingredientes activos que inhiben bacterias con una determinada concentración para fines terapéuticos.	Concentración de la solución	Composición del colutorio	Ordinal	0,12%
		Cloruro de cetilpiridinio					0,07%
		Gluconato de clorhexidina en combinación con Cloruro de cetilpiridinio					0,12% + 0,05%

4.4 Población y muestra

Población: Según Hernández et al., la población se define como un conjunto de individuos u objetos que comparten características comunes.⁵⁶ El conjunto poblacional abarca todas las placas Petri con cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Abancay 2025.

Muestra:

Para establecer el tamaño de la muestra se hace uso de la siguiente fórmula para el tamaño de muestra comparando medias, dada por:

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

Donde:

n = tamaño de la muestra

$Z_{\alpha/2}$ = 1,96 Valor de la distribución normal corresponde al error tipo I ($\alpha/2$) del 5%

Z_{β} = 0,842 Valor de la distribución normal corresponde al error tipo II (β) del 10%

DE = 1,0 Desviación estándar estimada de la variable en estudio

d = Margen de error permisible (precisión). Establecido por el investigador.

$$n = \frac{(1,96 + 0,842)^2 2(1,0)^2}{1}$$

$$n = 16$$

Por lo tanto, la muestra fue de 16 repeticiones en placas petri con agar Müller Hinton-Sangre con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 para cada colutorio.

Criterios de selección:**Inclusión:**

- Placas Petri que cumplieron con una siembra adecuada de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 antes de enfrentarse con los tres colutorios orales.
- Placas Petri que cumplieron con una siembra adecuada de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 antes de enfrentarse con los tres colutorios orales.

Exclusión:

- Placas Petri con algún tipo de degeneración o quiebra.
- Placas Petri que luego del desarrollo de incubación se encontraron contaminados por otros microorganismos.

4.5 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos**4.5.1 Técnica**

En el presente trabajo, la recolección de datos se realizó por medio de la técnica de observación directa. Esta metodología consiste en la observación sistemática de fenómenos, comportamientos, eventos o situaciones en su contexto natural, permitiendo recopilar información de manera no intrusiva, sin intervenir en el entorno observado.

4.5.2 Instrumento para la recolección de datos

Para la recolección de datos se utilizó una ficha de registro de datos de llenado simple, elaborada para consignar de manera ordenada y sistemática los valores correspondientes al efecto antibacteriano de los colutorios orales evaluados. En dicha ficha se registraron los diámetros de los halos de inhibición obtenidos frente a las cepas bacterianas en estudio.⁵⁸

El instrumento fue tomado como referencia del estudio realizado por Huamán y Jamanca, titulado “Efecto antibacteriano *in vitro* de tres colutorios orales comerciales sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175” (2021)⁷, y posteriormente adaptado de acuerdo con los objetivos, variables y condiciones metodológicas de la presente investigación.

4.6 Validación

Para garantizar la validez del instrumento de recolección de datos, se utilizó el juicio de expertos, evaluando principalmente la pertinencia, claridad y relevancia de cada ítem en relación con las variables en estudio. El instrumento fue revisado por tres profesionales con amplia experiencia en el área: una bióloga microbióloga Chipana Linares María Isabel, y dos cirujanos dentistas: Mg. Soria Serrano Sonia Margoth y Mg. Vargas Mateos Shiovan Yamileth, ambos con el grado de Magíster en la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Tecnológica de los Andes.

Cada experto evaluó los indicadores y criterios incluidos en la ficha, lo que permitió calcular el índice de validez de contenido mediante el V de Aiken. El valor obtenido para el índice de validez fue de 1,0 lo que indica un alto nivel de acuerdo entre los jueces respecto a la adecuación y relevancia de los ítems del instrumento con los objetivos del estudio. Este resultado respalda la validez del contenido del instrumento, asegurando que mide adecuadamente las variables planteadas en la investigación (Anexo 3 y 4).

4.7 Métodos y técnicas para la presentación y análisis de datos

Se trabajó con dos cepas bacterianas, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*, las cuales fueron sometidas a tres colutorios, correspondientes al grupo experimental. Como grupo control, se utilizaron dos sustancias adicionales (Metanol y agua destilada). Posteriormente, se registró su comportamiento antibacteriano a las 24 horas tras el enjuague

con dichos productos. Se detalla el proceso de obtención, viabilización, siembra y réplica de ambos microorganismos, así como la obtención de los enjuagues bucales empleados en la investigación. Finalmente, se presentó una descripción detallada de los procedimientos y métodos utilizados, en concordancia con los objetivos del estudio.

- **Obtención de los colutorios**

Los colutorios orales comerciales fueron adquiridos en farmacias de la ciudad de Abancay, según su marca comercial: Vitis® (cloruro de cetilpiridinio al 0,075%), Perio-Aid® (gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con cloruro de cetilpiridinio al 0,05%) y Oralgene® (gluconato de clorhexidina al 0,12%). Al momento de la compra, se constató la vigencia de la fecha de vencimiento, así como la integridad del empaque de cada producto. Luego de su adquisición, los colutorios fueron conservados en sus envases originales, sellados y en condiciones adecuadas de limpieza, hasta su traslado al laboratorio para su posterior procesamiento.

- **Obtención de cepa**

Las cepas utilizadas en la evaluación del efecto antibacteriano fueron *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Dichas cepas fueron obtenidas mediante el Laboratorio GenLab del Perú S.A.C. y facilitadas por el Laboratorio de Microbiología del Centro Médico “Niño Jesús de las Américas”, donde se llevó a cabo su procesamiento en el marco de los procedimientos experimentales del presente estudio.

Las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fueron manipuladas bajo estrictas condiciones de bioseguridad y asepsia, utilizando materiales estériles y manteniendo una identificación clara de

cada muestra. El personal empleó indumentaria de protección adecuada y trabajó en un área desinfectada, evitando la contaminación cruzada y asegurando la confiabilidad de los resultados. Cada cepa fue procesada por separado, siguiendo protocolos estandarizados para el manejo seguro de microorganismos.

Las colonias bacterianas fueron evaluadas macroscópica y microscópicamente para garantizar su pureza y morfología adecuada, mediante observación de características culturales y coloración de Gram. Posteriormente, se prepararon suspensiones bacterianas homogéneas que sirvieron como inóculos estandarizados, evitando la exposición prolongada al ambiente y utilizando material estéril independiente para cada microorganismo. Esta etapa permitió obtener cultivos viables y uniformes, esenciales para la evaluación antibacteriana de los colutorios.

Finalmente, los inóculos se sembraron sobre medios de agar sangre de manera controlada, asegurando una distribución uniforme y evitando alteraciones en la superficie del medio. Los colutorios fueron aplicados siguiendo el diseño experimental, y las placas fueron incubadas bajo condiciones óptimas para el desarrollo bacteriano y la posterior medición de los halos de inhibición. Todos los materiales y áreas de trabajo fueron desinfectados o descartados siguiendo normas de bioseguridad, garantizando la integridad de los experimentos y la seguridad del personal.

- **Preparación de la Cepa**

Las cepas de *S. mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 se cultivaron en tubos de ensayo que contienen medio de sangre agar y se incubaron en condiciones microaerofílicas a 37°C para obtener colonias jóvenes. Después de 48 horas se obtuvieron nuevas colonias de *Streptococcus mutans* ATCC

25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Una vez que se han desarrollado las cepas de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*, se procede a realizar un análisis desde el punto de vista macroscópico. En este análisis, se observaron los aspectos culturales de las colonias, tales como el borde, la forma, la elevación y el color en ambos casos. Una vez completada la identificación macroscópica, se procede a realizar la coloración de Gram, la cual permitirá observar la estructura morfológica de la bacteria con el fin de asegurar que las colonias sean las adecuadas. Posteriormente, se llevó a cabo el aislamiento correspondiente de las colonias en una solución líquida, seguido de la replicación de *S. mutans* y *E. faecalis* en medio de cultivo de agar sangre. Con el fin de asegurar la calidad de las colonias y la pureza, se preparan los inóculos que serán sembrados y aplicados mediante los diferentes enjuagues bucales a través del halo de inhibición.

- **Preparación del inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 al 0,5 de McFarland**

En condiciones estériles, se tomó, utilizando un asa de siembra, una porción de una colonia aislada del Agar Sangre y se inoculó en 5 mL de suero fisiológico estéril, con el objetivo de obtener una población bacteriana cuyo nivel de turbidez cumpla con el estándar de 0,5 de escala de McFarland.⁵⁸

- **Inoculación de las cepas en placas petri**

Posteriormente, se estandarizó la suspensión del inóculo. Para ello, se empleó un hisopo estéril, el cual fue introducido en la suspensión de suero fisiológico que contenía las cepas de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Seguidamente, las bacterias fueron sembradas en placas Petri con agar Mueller Hinton suplementado con sangre, mediante la técnica de diseminación en dos

direcciones con ayuda del hisopo. Después, se procedió a identificar las placas correspondientes a cada grupo experimental según los colutorios orales evaluados: cloruro de cetilpiridinio al 0,07%, gluconato de clorhexidina al 0,12% y la combinación de cloruro de cetilpiridinio al 0,05% con gluconato de clorhexidina al 0,12%. Asimismo, se rotularon los grupos control positivo y control negativo, empleándose metanol y suero fisiológico, respectivamente.

- Prueba de Susceptibilidad: Preparación de los “pocitos”

Se prepararon pocillos esféricos (diámetro 5 mm) sobre la placa inoculada con un espesor de agar que imite la forma del pocillo, se depositará con una micropipeta 10uL de Gluconato de clorhexidina al 0,12%, 10uL de Cloruro de cetilpiridinio al 0,07%, 10uL de Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% en combinación con Gluconato de clorhexidina al 0,12% ,10uL de suero fisiológico y 10ul de metanol según se indicó el rotulo de las placas, la misma serie para ambas cepas.

- Serie 1: Gluconato de clorhexidina al 0,12%- 16 repeticiones
- Serie 2: Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% - 16 repeticiones
- Serie 3: Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% en combinación con Gluconato de clorhexidina al 0,12%- 16 repeticiones
- Serie 4: Metanol - 16 repeticiones
- Serie 5: Solución Salina - 16 repeticiones

Luego el medio inoculado se colocó en una jarra anaeróbica e incubó a 37 °C por 24 horas. Después de 24 horas, se leyó la zona de inhibición con una regla milimétrica y se registro en la ficha de recolección de datos (Anexo 2).

Para la interpretación de los resultados de la evaluación cuantitativa se tomó como referencia los diámetros de halo de inhibición, mientras que el resultado de la evaluación cualitativa se basa en la escala de sensibilidad según Duraffourd.

Nula:(-) $\leq 8\text{mm}$

Sensible:(+) 8-13 mm

Muy sensible :(++) 14-19mm

Sumamente sensible(+++)> 20 mm

Análisis de Datos

Para el análisis de los datos obtenidos en el presente estudio, la información recolectada fue organizada inicialmente en una hoja de cálculo de Microsoft Excel, con la finalidad de ordenar, verificar y sistematizar los valores correspondientes a los diámetros de los halos de inhibición producidos por los colutorios orales evaluados. Posteriormente, los datos fueron procesados mediante el programa estadístico SPSS versión 27, lo que permitió realizar el análisis descriptivo e inferencial de los resultados.

En primer lugar, se efectuó el análisis descriptivo de las variables de estudio mediante tablas de frecuencia y medidas estadísticas como la media y la desviación estándar. Estas medidas permitieron describir el comportamiento de los datos y comparar de manera inicial el efecto antimicrobiano de los tres colutorios orales frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los diámetros de los halos de inhibición producidos por los tres colutorios, se aplicó el análisis de varianza de un factor (ANOVA). Esta prueba permitió comparar

las medias de los tratamientos evaluados y establecer si el efecto antimicrobiano difería entre los grupos. Se trabajó con un nivel de significancia de 0,05; por tanto, cuando el valor de significancia fue menor a dicho nivel, se rechazó la hipótesis nula y se consideró la existencia de diferencias estadísticamente significativas.

Asimismo, debido a que los resultados del ANOVA evidenciaron diferencias significativas entre los colutorios evaluados frente a ambas cepas bacterianas, se justificó la aplicación de una prueba post hoc, como la prueba de Duncan, con el propósito de identificar específicamente entre qué grupos o tratamientos se presentaron dichas diferencias. De esta manera, el análisis estadístico permitió interpretar con mayor precisión la eficacia antimicrobiana de los colutorios orales comerciales frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*.

V. Resultados y discusión

Tabla 1. Efecto antimicrobiano “in vitro” del gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025.

Microorganismo	Sustancia de Prueba	Promedio (mm)	Duraffourd	DE	Min (mm)	Máx (mm)
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715	Clorhexidina 0,12%	11,56	(+)	0,82	10,0	12,5
	Control positivo (Metanol)	24,81	(+++)	0,66	23,5	26
	Control negativo (Agua destilada)	6,0	(-)	0	6,0	6,0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Clorhexidina 0,12%	14,81	(++)	0,91	13	16
	Control positivo (Metanol)	24,88	(+++)	0,56	24	26
	Control negativo (Agua destilada)	6,0	(-)	0	6,0	6,0

Fuente: Elaboración propia de los investigadores.

La Tabla 1 presenta el efecto antimicrobiano *in vitro* del gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, mediante el diámetro del halo de inhibición. La clorhexidina mostró actividad antimicrobiana en ambas cepas, con un promedio de 11,56 mm para *S. mutans* y 14,81 mm para *E. faecalis*. Según la clasificación de Duraffourd, fue positiva (+) frente a *S. mutans* y moderadamente sensible (++) frente a *E. faecalis*, evidenciando mayor efecto en esta última. El control positivo registró los mayores halos en ambas cepas, con 24,81 mm y 24,88 mm, respectivamente. En cambio, el control negativo presentó 6,0 mm en ambos casos, sin variación, lo que indica ausencia de actividad antimicrobiana y confirma que la inhibición observada se debió al principio activo evaluado por el ensayo microbiológico utilizado durante la investigación experimental.

Tabla 2. Efecto antimicrobiano “in vitro” del cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay,2025.

Microorganismo	Sustancia de Prueba	Promedio (mm)	Duraffourd	DE	Min (mm)	Máx (mm)
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715	Cloruro de cetilpiridinio 0,07%	7,94	(+)	0,65	7,00	9,00
	Control positivo (Metanol)	24,81	(+++)	0,66	23,5	26,0
	Control negativo (Agua destilada)	6,0	(-)	0	6,0	6,0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Cloruro de cetilpiridinio 0,07%	7,69	(+)	0,60	7,00	9,00
	Control positivo (Metanol)	24,88	(+++)	0,56	24	26
	Control negativo (Agua destilada)	6,0	(-)	0	6,0	6,0

Fuente: Elaboración propia de los investigadores.

La Tabla 2 muestra el efecto antimicrobiano *in vitro* del cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, evaluado mediante el diámetro del halo de inhibición. Se observa que este colutorio presentó actividad antimicrobiana frente a ambas cepas, con un promedio de 7,94 mm para *S. mutans* y 7,69 mm para *E. faecalis*. Según la clasificación de Duraffourd, en ambos casos la sensibilidad fue positiva (+), lo que indica un efecto antimicrobiano leve.

Tabla 3. Efecto antimicrobiano “in vitro” del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025.

Microorganismo	Sustancia de Prueba	Promedio (mm)	Duraffourd	DE	Min (mm)	Máx (mm)
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715	CHX 0.12% + CCP 0,05%	10,63	(+)	0,53	9,50	11,50
	Control positivo (Metanol)	24,81	(+++)	0,66	23,5	26,0
	Control negativo (Agua destilada)	6,0	(-)	0	6,0	6,0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	CHX 0.12% + CCP 0,05%	14,38	(+)	0,62	13,00	15,00
	Control positivo (Metanol)	24,88	(+++)	0,56	24	26
	Control negativo (Agua destilada)	6,0	(-)	0	6,0	6,0

Fuente: Elaboración propia de los investigadores.

La Tabla 3 muestra el efecto antimicrobiano *in vitro* de la combinación de gluconato de clorhexidina al 0,12% + cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, evaluado mediante el diámetro del halo de inhibición. Se observa que esta combinación presentó actividad antimicrobiana en ambas cepas, con un promedio de 10,63 mm para *S. mutans* y 14,38 mm para *E. faecalis*. Según la clasificación de Duraffourd, en ambos casos la sensibilidad fue positiva (+), evidenciando mayor efecto frente a *Enterococcus faecalis*.

Tabla 4. Efecto antimicrobiano in vitro de tres colutorios orales frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en Abancay, 2025.

Microorganismo	Sustancia de Prueba	Promedio (mm)	Duraffourd	DE	Min (mm)	Máx (mm)
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715	Clorhexidina 0,12%	11,56	(+)	0,82	10,0	12,5
	Cloruro de cetilpiridinio 0,07%	7,94	(+)	0,65	7,00	9,00
	CHX 0.12% + CCP 0,05%	10,63	(+)	0,53	9,50	11,50
	Control positivo (Metanol)	24,81	(+++)	0,66	23,5	26,0
	Control negativo (Agua destilada)	6,0	(-)	0	6,0	6,0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Clorhexidina 0,12%	14,81	(++)	0,91	13	16
	Cloruro de cetilpiridinio 0,07%	7,69	(+)	0,60	7,00	9,00
	CHX 0.12% + CCP 0,05%	14,38	(+)	0,62	13,00	15,00
	Control positivo (Metanol)	24,88	(+++)	0,56	24	26
	Control negativo (Agua destilada)	6,0	(-)	0	6,0	6,0

Fuente: Elaboración propia de los investigadores

La Tabla 4 presenta el efecto antimicrobiano *in vitro* de tres colutorios orales frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, evaluado mediante el diámetro del halo de inhibición. En *Streptococcus mutans*, el mayor promedio correspondió a la clorhexidina al 0,12% con 11,56 mm, seguido de la combinación CHX 0,12% + CCP 0,07% con 10,63 mm, y finalmente el cloruro de cetilpiridinio al 0,07% con 7,94 mm; los tres se clasificaron como sensibilidad positiva (+). En *Enterococcus faecalis*, la

clorhexidina al 0,12% presentó el mayor promedio con 14,81 mm y sensibilidad moderada (++) , seguida de la combinación CHX + CCP con 14,38 mm y del cloruro de cetilpiridinio al 0,07% con 7,69 mm, ambos con sensibilidad positiva (+).

Asimismo, el control positivo (metanol) presentó los mayores halos de inhibición en ambas cepas, con promedios de 24,81 mm y 24,88 mm, respectivamente, clasificándose como muy sensible (+++). Por el contrario, el control negativo (agua destilada) mostró un valor constante de 6,0 mm, sin variación, lo que indica ausencia de actividad antimicrobiana.

En conjunto, se concluye que la clorhexidina al 0,12% fue el colutorio con mayor efecto antimicrobiano frente a ambas cepas, especialmente contra *Enterococcus faecalis*; la combinación CHX + CCP mostró un efecto intermedio, mientras que el cloruro de cetilpiridinio al 0,07% presentó la menor actividad antimicrobiana.

Tabla 5. Comparación múltiple de medias mediante la prueba de Duncan del efecto antimicrobiano in vitro de tres colutorios orales y el control positivo frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Abancay, 2025.

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25715	ni	Grupos para alfa = 0.05(mm)			
		G1	G2	G3	G4
CCP 0,07%	16	7,94			
CHX+CCP 0,12%+0,05%	16		10,63		
CHX 0,12%	16			11,56	
Control positivo	16				24,81
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212					
CCP 0,07%	16	7,69			
CHX+CCP 0,12%+0,05%	16		14,38		
CHX 0,12%	16			14,81	
Control positivo	16				24,88

Fuente: Elaboración propia de los investigadores.

La Tabla 5 muestra los resultados de la prueba de Duncan aplicada para comparar los promedios de halo de inhibición entre los tratamientos evaluados. En la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25715, se observa que el CCP 0,07% presentó el menor promedio (7,94 mm), seguido de la combinación CHX+CCP 0,12%+0,05% (10,63 mm), luego la CHX 0,12% (11,56 mm) y finalmente el control positivo (24,81 mm), conformando grupos diferentes, lo que evidencia diferencias significativas entre ellos. De igual forma, en *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, el CCP 0,07% mostró el menor promedio (7,69 mm), seguido de CHX+CCP (14,38 mm), CHX 0,12% (14,81 mm) y el control positivo (24,88 mm), también en grupos distintos. En consecuencia, la clorhexidina al 0,12% presentó mayor efecto antimicrobiano que los demás colutorios en ambas cepas.

Tabla 6. Análisis de varianza (ANOVA) de un factor del efecto antimicrobiano in vitro de tres colutorios orales frente a la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25715, Abancay, 2025.

FV	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática (mm)	F	Sig.
Entre grupos	113,292	2	56,646	123,591	<0,001
Dentro de grupos	20,625	45	0,458		
Total	133,917	47			

Fuente: Elaboración propia de los investigadores.

La Tabla 6 presenta el análisis de varianza (ANOVA) de un factor aplicado a los diámetros de halo de inhibición de los tres colutorios orales frente a la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25715. Se observa que el valor de significancia fue $p < 0,001$, menor al nivel de significancia de 0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tratamientos evaluados.

Asimismo, el valor de $F = 123,591$ evidencia una variabilidad importante entre los grupos en comparación con la variabilidad dentro de los grupos. En ese sentido, los colutorios no mostraron el mismo efecto antimicrobiano frente a *Streptococcus mutans*. Por tanto, se infiere que al menos uno de los tratamientos presentó un efecto inhibitorio significativamente diferente respecto de los demás, justificando la aplicación de una prueba post hoc, como Duncan, para identificar entre qué grupos se encuentran dichas diferencias.

Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) de un factor del efecto antimicrobiano in vitro de tres colutorios orales frente a la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Abancay, 2025.

FV	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática (mm)	F	Sig.
Entre grupos	510,292	2	255,146	485,992	<0,001
Dentro de grupos	23,625	45	0,525		
Total	533,917	47			

Fuente: Elaboración propia de los investigadores.

La Tabla 7 presenta el análisis de varianza (ANOVA) de un factor aplicado a los diámetros de halo de inhibición de los tres colutorios orales frente a la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Se observa que el valor de significancia fue $p < 0,001$, menor al nivel de significancia de 0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tratamientos evaluados.

Asimismo, el valor de $F = 485,992$ indica que la variabilidad entre los grupos fue considerablemente mayor que la variabilidad dentro de los grupos, evidenciando que los colutorios no presentaron el mismo efecto antimicrobiano frente a *Enterococcus faecalis*. En consecuencia, se infiere que al menos uno de los tratamientos mostró un efecto inhibitorio significativamente diferente respecto de los demás, lo que justifica la aplicación de una prueba post hoc, como Duncan, para identificar entre qué tratamientos se encuentran dichas diferencias.

Discusiones

Respecto al primer objetivo específico, se determinó que el gluconato de clorhexidina al 0,12% presentó efecto antimicrobiano frente a ambas cepas evaluadas, con un halo promedio de 11,56 mm en *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y 14,81 mm en *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Estos hallazgos evidenciaron que la clorhexidina mostró mayor acción inhibitoria sobre *E. faecalis* que sobre *S. mutans*, alcanzando incluso una sensibilidad moderada en la primera cepa.

Estos resultados concordaron con lo reportado por Chavarría y Esparza¹³, quienes señalaron que las formulaciones con clorhexidina presentaron actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* y otros microorganismos orales. Asimismo, Nwaokorie et al.⁸ concluyeron que los colutorios con clorhexidina mostraron mayor actividad inhibitoria frente a cepas de *Streptococcus*, mientras que Gómez¹¹ sostuvo que la efectividad de la clorhexidina dependió de la concentración y del tipo de cepa bacteriana evaluada. En la misma línea, Oporto et al.¹² encontraron que los colutorios con gluconato de clorhexidina produjeron el mayor efecto inhibitor frente a *S. mutans*.

No obstante, los valores de halo obtenidos en la presente investigación fueron menores a los descritos por Soles¹⁴, quien reportó 32,3 mm para clorhexidina al 0,12% frente a *S. mutans*, y también menores a los de Ruiz et al.¹⁷, quienes hallaron 17,64 mm para *S. mutans* y 16,50 mm para *E. faecalis* con clorhexidina al 0,12%. Esta diferencia pudo atribuirse a variaciones en la técnica, formulación comercial, capacidad de difusión del producto en el agar, condiciones experimentales y comportamiento biológico de las cepas empleadas. Aun así, en términos cualitativos, los resultados mantuvieron la misma tendencia: la clorhexidina conservó actividad antimicrobiana relevante frente a ambos microorganismos.

En relación con el segundo objetivo específico, se estableció que el cloruro de cetilpiridinio al 0,07% presentó efecto antimicrobiano frente a *S. mutans* y *E. faecalis*, con halos promedio de 7,94 mm y 7,69 mm, respectivamente. Aunque ambos valores evidenciaron sensibilidad positiva, la magnitud del efecto fue menor en comparación con la clorhexidina y con la combinación de ambos principios activos, lo que indicó una actividad inhibitoria más limitada del CPC cuando se utilizó de forma aislada. Estos resultados concordaron con Soles¹⁴, encontró que el CPC al 0,075% tuvo efecto antibacteriano frente a *S. mutans*, aunque fue inferior al de la clorhexidina al 0,12%. De igual forma, Oporto et al.¹² indicaron que distintas fórmulas comerciales mostraron acción antibacteriana, pero que aquellas que contenían clorhexidina lograron mejores resultados que otras formulaciones con diferentes activos.

Sin embargo, existió una diferencia en la magnitud respecto a Soles¹⁴, quien reportó un halo promedio de 22,5 mm para CPC al 0,075% en *S. mutans*, valor ampliamente superior al observado en este estudio. Esta discrepancia sugirió que el desempeño del cetilpiridinio no solo depende de su concentración nominal, sino también de la formulación del colutorio, excipientes, tiempo de contacto, cepa analizada y condiciones microbiológicas del ensayo. Por ello, aunque el CPC mostró efecto antimicrobiano en la presente investigación, su potencia fue considerablemente más baja que la de la clorhexidina.

Con respecto al tercer objetivo específico, se observó que la combinación de gluconato de clorhexidina al 0,12% con cloruro de cetilpiridinio presentó efecto antimicrobiano frente a ambas cepas, con halos promedio de 10,63 mm para *S. mutans* y 14,38 mm para *E. faecalis*.

Estos resultados mostraron que la combinación tuvo un comportamiento intermedio, superior al CPC aislado pero ligeramente inferior a la clorhexidina sola, especialmente en *S. mutans*. En *E. faecalis* también se mantuvo cercana a la clorhexidina, aunque sin superarla.

Estos hallazgos concordaron parcialmente con Oporto et al.¹², quienes señalaron que las formulaciones con clorhexidina mostraron el mejor efecto contra *S. mutans* y que no existieron diferencias significativas entre la clorhexidina sola y su combinación con otros ingredientes activos. Aunque en la presente investigación la combinación no superó a la clorhexidina sola, sí mantuvo un efecto cercano, lo que reforzó la idea de que la presencia de clorhexidina continúa siendo determinante en la actividad antimicrobiana. Asimismo, Mensitieri et al.¹⁰ afirmaron que formulaciones con la misma concentración de CHX podían exhibir distinta eficacia antimicrobiana y antibiofilm, lo cual respaldó que la asociación con otros compuestos no necesariamente incrementa el efecto inhibitorio.

Por otro lado, los resultados difirieron parcialmente de Díaz¹⁸, quien concluyó que la combinación CHX 0,12% + CPC 0,05% se ubicó entre los colutorios con mayor efecto antibacteriano y mostró diferencias significativas frente a otros tratamientos. En el presente estudio, aunque la combinación fue efectiva, no alcanzó el mayor efecto, pues fue superada por la clorhexidina al 0,12% en ambas cepas. Esta diferencia pudo deberse al tipo de colutorios comparados, a las condiciones de laboratorio o a la distinta respuesta de las cepas frente a los principios activos.

En cuanto al objetivo general, se determinó que los tres colutorios evaluados presentaron efecto antimicrobiano *in vitro* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; sin embargo, el mayor efecto correspondió a la clorhexidina al 0,12%, seguida por la combinación CHX + CPC, mientras que el cloruro de cetilpiridinio al 0,07% mostró la menor actividad antimicrobiana. Además, el análisis de Duncan evidenció grupos

diferenciados entre los tratamientos, y el ANOVA mostró diferencias estadísticamente significativas para ambas cepas ($p < 0,001$), con valores de $F = 123,591$ para *S. mutans* y $F = 485,992$ para *E. faecalis*. También se observó que *E. faecalis* fue más sensible que *S. mutans* frente a la clorhexidina y la combinación.

Estos resultados concordaron con Díaz¹⁸, quien encontró diferencias estadísticamente significativas entre tres colutorios frente a cepas orales, y con Soles¹⁴, quien reportó que la clorhexidina al 0,12% fue superior al cetilpiridinio frente a *S. mutans*. También coincidieron con Nwaokorie et al.⁸ y Oporto et al.¹², quienes sostuvieron que las formulaciones con clorhexidina presentaron mayor actividad inhibitoria que otros colutorios. En consecuencia, la presente investigación reforzó la evidencia de que la clorhexidina continúa siendo el antiséptico de mayor eficacia entre los colutorios evaluados.

No obstante, los valores absolutos de los halos fueron menores a los descritos en algunos antecedentes, como los de Soles¹⁴, Oporto et al.¹² y Ruiz et al.¹⁷. A pesar de ello, la tendencia del comportamiento antimicrobiano fue semejante, ya que los estudios comparados también mostraron diferencias entre formulaciones y confirmaron que la respuesta antibacteriana dependió de la concentración, la composición del colutorio, el método de evaluación y la cepa bacteriana utilizada. Por tanto, se interpretó que las discrepancias fueron principalmente cuantitativas, mas no contradictorias en la dirección general de los resultados.

VI. Conclusiones

- Se determinó que los tres colutorios orales evaluados (gluconato de clorhexidina al 0,12%, cetilpiridinio al 0,07% y gluconato de clorhexidina al 0,12% con cloruro de cetilpiridinio al 0,05%) presentaron efecto antimicrobiano in vitro frente a las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25715 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; sin embargo, su eficacia no fue homogénea, ya que existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos aplicados.
- Se estableció que el gluconato de clorhexidina al 0,12% mostró el mayor efecto antimicrobiano frente a ambas cepas bacterianas, alcanzando promedios de halo de inhibición de 11,56 mm en *Streptococcus mutans* y 14,81 mm en *Enterococcus faecalis*, por lo que fue considerado el colutorio más eficaz del estudio.
- Se comprobó que el cloruro de cetilpiridinio al 0,07% presentó efecto antimicrobiano, aunque en menor magnitud que los demás tratamientos, con promedios de 7,94 mm frente a *Streptococcus mutans* y 7,69 mm frente a *Enterococcus faecalis*, evidenciando una menor capacidad inhibitoria.
- Se evidenció que la combinación de gluconato de clorhexidina al 0,12% con cloruro de cetilpiridinio al 0,05% también presentó actividad antimicrobiana frente a ambas cepas, con halos promedio de 10,63 mm en *Streptococcus mutans* y 14,38 mm en *Enterococcus faecalis*; no obstante, su efecto fue inferior al de la clorhexidina al 0,12% sola.

VII. Recomendaciones

- Uso preferente de la clorhexidina al 0,12%, dado que el gluconato de clorhexidina al 0,12% mostró la mayor efectividad antimicrobiana, se recomienda su uso preferente en productos colutorios para combatir cepas de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*, especialmente en situaciones donde se busque una reducción eficaz de estas bacterias en la cavidad bucal.
- Evaluar la combinación de tratamientos, la combinación de gluconato de clorhexidina y cloruro de cetilpiridinio al 0,05% mostró efectos sinérgicos. Se recomienda realizar más estudios para explorar su potencial como opción de tratamiento para una mayor efectividad en la reducción bacteriana, sobre todo en *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*.
- Considerar el cloruro de cetilpiridinio como opción complementaria, aunque el cloruro de cetilpiridinio mostró una menor efectividad en comparación con los otros tratamientos, sigue siendo útil como un tratamiento complementario o preventivo, especialmente cuando se busque una acción antimicrobiana moderada para el mantenimiento de la higiene bucal.
- Se recomienda expandir las pruebas de estos colutorios a otras cepas bacterianas relevantes en la salud bucal para obtener un panorama más amplio de su efectividad. Esto ayudará a validar su uso en el tratamiento de otras infecciones orales comunes, como las causadas por *Porphyromonas gingivalis* o *Fusobacterium nucleatum*.

VIII. Referencias

1. Chenicheri S, R U, Ramachandran R, Thomas V, Wood A. Insight into Oral Biofilm: Primary, Secondary and Residual Caries and Phyto-Challenged Solutions. Open Dent J. 2017 Jun 30;11:312-333. doi: 10.2174/1874210601711010312.
2. World Health Organization. Salud bucodental. WHO. 2024, November 6. Disponible: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
3. Ortega L. Prevalencia de caries dental en escolares de 6-12 años de edad con factor a exposición de colutorio de fluoruro. [Internet]. 2020. Disponible: <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/38986>
4. Calizaya C. Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano de enjuagues bucales comercializados en Tacna, Perú sobre cepas de *Streptococcus mutans* [Internet]. 2023. Disponible: <http://hdl.handle.net/20.500.12969/3128>
5. Minsa. Caries dental, gingivitis y periodontitis son enfermedades bucales con mayor prevalencia en menores entre 3 y 15 años [Internet]. 2025 [cited 2025 Feb 27]. Disponible: <https://www.gob.pe/es/n/567307>
6. Calderón A. Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano del yoduro de potasio yodado al 2% frente a la clorhexidina 2% como solución antiséptica en los tratamientos de conductos con *Enterococcus faecalis* en el laboratorio de la Universidad Nacional de Trujillo 2019. [Internet]. 2022 . <https://hdl.handle.net/20.500.13032/27489>
7. Huaman E., Jamanca L. Efecto antibacteriano in vitro de tres colutorios orales comerciales sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Internet]. 2021. Disponible: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/62705>

8. Nwaokorie F, Edet U, Odeniyi O, Ndu U, Alabi O, Umeizudike K. Actividad antimicrobiana in vitro de enjuagues bucales seleccionados sobre especies de *Streptococcus* aisladas de pacientes adultos con caries dental. Babcock Univ. Med. J. 2024;7(2):73-85. Disponible: <https://doi.org/10.38029/babcockuniv.med.j..v7i2.442>
9. Ramírez R, García D, Gamboa F. Evaluación comparativa del efecto antimicrobiano inmediato y residual de enjuagues bucales sobre biopelículas asociadas a caries dental. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. [Internet]. 2024 Jan 22;52(2). Disponible: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/106166>
10. Mensitieri, F.; Caggiano, M.; et al. Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana y antibiofilm de diferentes formulaciones de enjuague bucal que contienen clorhexidina contra *Streptococcus mutans*. Appl. Sci. 2023, 13, 7531. <https://doi.org/10.3390/app13137531>
11. Gomez M. Evaluación del efecto antibacteriano de diferentes concentraciones de clorhexidina en colutorios ante *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro. Ri-nguaqmx [Internet]. 2023; Available from: <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/11070>
12. Oporto G, Rodriguez C, Chuhuaicura P. Antibacterial Effect of Commercial Mouthwashes on *Streptococcus mutans*: An in vitro study [Internet]. Vol. 15, Int. J. Odontostomat. 2021; 15: 908–14. Available from: <https://www.scielo.cl/pdf/ijodontos/v15n4/0718-381X-ijodontos-15-04-908.pdf>
13. Chavarría D., Esparza V, Ramírez K. Antibacterial and Antifungal Capacity of Three Commercially Available Mouthwashes with Different Concentrations of Chlorhexidine. Odovtos - International Journal of Dental Sciences [Internet]. 2021 Aug 13;380–91. Available from: <https://doi.org/10.15517/ijds.2021.48079>

14. Soles J. Comparación del efecto antibacteriano, in vitro, entre un colutorio a base de digluconato de clorhexidina al 0.12% y un colutorio elaborado a base de cloruro de cetilpiridinio al 0.75% sobre el crecimiento de *streptococcus mutans* ATCC 25175 Trujillo-2021. 2021; Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.13032/35405>
15. Villanueva N. Efecto antibacteriano in vitro de enjuagues bucales sobre *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus mutans*, Puno 2023. 2024. UNAP. Available from: <https://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/22069>
16. Cayo L., Mamani L. Evaluación in vitro de la potencia antibacteriana de dos enjuagues bucales comerciales sobre cultivos de *Streptococcus mutans*, Arequipa - 2023 [Internet]. 2024. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12394/14046>
17. Ruiz M, Terrones W, Cueva D, Sánchez M, Cabrejo J. Potencial antibacteriano de un enjuague bucal a base de *Azadirachta indica* (neem) sobre patógenos orales. *Rev Cubana Med Milit* [Internet]. 15 de mayo de 2023 [citado 28 de febrero de 2025];52(2):e02302386. Disponible en: <https://revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/2386>
18. Diaz , R. Comparación in vitro del efecto antibacteriano de tres colutorios sobre cepas bacterianas orales. Tesis 2023.UPSJB. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14308/4797>
19. Vasquez R. Efecto antibacteriano de cuatro marcas de enjuagues bucales comercializados en el distrito de Trujillo sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo – 2019. 2022. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.13032/26858>
20. Acero L, Centeno G., et al . Acción antibacteriana de colutorios de uso ortodóntico sobre *Streptococcus Mutans*. *Vive Rev. Salud*. 2022 Ago ; 5(14): 552-564. Disponible en: <https://doi.org/10.33996/revistavive.v5i14.168>.

21. Sánchez , M. Comparación del efecto antibacteriano in vitro de cuatro colutorios bucales comercializados en Chiclayo sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Internet]. 2020. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12802/7603>
22. Aas J, Griffen A, et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008 Jan 24;46(4):1407–17. Available from: <https://doi.org/10.1128/jcm.01410-07>
23. Cruz S., Díaz P., et al. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Rev Cubana Estomatol*. 2017 Mar; 54(1): 84-99. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-750720170001000008&lng=es.
24. Abello G, Hernández L. Caries dental: de la placa ecológica a las decisiones clínicas. *Universitas Odontologica*. 2020 Oct 29;39. Available from: <https://doi.org/10.11144/javeriana.uo39.cdpe>
25. Burcham Z, Garneau N, et al. Patterns of oral microbiota diversity in adults and children: A crowdsourced population study. 2020. *Sci. Rep.* 10:2133. doi: 10.1038/s41598-020-59016-0
26. Dashper, S., Mitchell H., et al. Temporal development of the oral microbiome and prediction of early childhood caries. 2019. *Sci. Rep.* 9:19732. doi: 10.1038/s41598-019-56233-0
27. Valm, A. The structure of dental plaque microbial communities in the transition from health to dental caries and periodontal disease. 2019. *J. Mol. Biol.* 431, 2957–2969. doi: 10.1016/j.jmb.2019.05.016

28. Machado T, Reyes B. Streptococcus mutans, principal cariogénico de la cavidad bucal. Prog [revista en Internet]. 2021 [citado 28 Feb 2025]; 4 (3) . Disponible en: <https://revprogaleno.sld.cu/index.php/progaleno/article/view/233>
29. Mallya P, Mallya S. Microbiology and clinical implications of dental caries – a review. J Evolution Med Dent Sci 2020;9(48):3670-3675, DOI: 10.14260/jemds/2020/805
30. Morón M. Oral biofilms and their consequences in dental caries and periodontal disease. Ciencia e Innovación en Salud [Internet]. 2021 Aug. 17. Available from: <https://revistas.unisimon.edu.co/index.php/innovacionsalud/article/view/4754>
31. Robertsson C, Svensäter G, et al. Synergistic metabolism of salivary MUC5B in oral commensal bacteria during early biofilm formation. Microbiology Spectrum. 2023 Oct 19;11(6). Available from: <https://doi.org/10.1128/spectrum.02704-23>
32. Brown J, Johnston W, et al. Polymicrobial oral biofilm models: simplifying the complex. Journal of Medical Microbiology . 2019 Sep 24;68(11):1573–84. Available from: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001063>
33. Paladines S, Villavicencio B, et al. Serotipos prevalentes de *Streptococcus mutans* en América Latina.. Rev ADM. 2023;80(4):214-219. doi:10.35366/112311.
34. AlEraky, D, Madi, M., et al . Predominance of non-*Streptococcus mutans* bacteria in dental biofilm and its relation to caries progression. 2021. *Saudi journal of biological sciences*, 28(12), 7390–7395. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.052>
35. Babaeekhou L, Ghane M, et al. Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus distribution in the saliva and plaque of Iranian population: Higher prevalence of S. mutans serotypes f and k. International Journal of Dental Hygiene, 2020 Dec 26;19(2):193–200. Available from: <https://doi.org/10.1111/idh.12485>

36. Bojanich M, Orlietti M. Virulence factors of *Streptococcus mutans* related to dental caries. Rijeka: IntechOpen. 2020. pp. 1-16.
37. Blancas B, De Lourdes M, et al. Study of the ultrastructure of *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus mutans* incubated with salivary antimicrobial peptides. *Clinical and Experimental Dental Research*. 2021 May 5;7(3):365–75. Available from: <https://doi.org/10.1002/cre2.430>
38. Rodríguez C, Oporto G. Clinical implications of *Enterococcus faecalis* microbial contamination in root canals of devitalized teeth: Literature review. *Revista Odontológica Mexicana Órgano Oficial De La Facultad De Odontología UNAM*. 2015 Jul 1;19(3):e177–82. <https://doi.org/10.1016/j.rod mex.2016.02.024>
39. Reyes N, Sánchez J, Salas M, Salvatierra A, Díaz N, Ramos D. *Enterococcus faecalis*: patógeno de relevancia en los fracasos de tratamiento endodóntico. *KIRU*. 2020, 17(3): p. 169-5.
40. Molina N, Sáenz, J., et al. Factores de resistencia microbiana de *Enterococcus Faecalis* asociado a fracasos endodónticos: Microbial resistance factors of *enterococcus faecalis* associated with endodontic failures. *Revista Científica Especialidades Odontológicas UG*. 2022. 5. 23-29. DOI: 10.53591/eoug.v5i2.1426.
41. Geraldes C, Tavares L, Gil S, Oliveira M. *Enterococcus* Virulence and Resistant Traits Associated with Its Permanence in the Hospital Environment. *Antibiotics (Basel)*. 2022 Jun 26;11(7):857. doi: 10.3390/antibiotics11070857
42. Oktay Y, Musa U, Kerem G. Ingredients in Commercially Available Mouthwashes, *International Dental Journal*, Volume 74, Issue 2, 2024, Pages 223-241. <https://doi.org/10.1016/j.identj.2023.08.004>

43. Lee S, Won K, Kyung J, et al. “Potencial antibacteriano y antiinflamatorio de la composición de enjuagues bucales a base de extractos naturales” . 2021. *Ciencias Aplicadas* 11, no. 9: 4227. <https://doi.org/10.3390/app11094227>
44. Szymańska J, Olejnik E. Active ingredients of mouthwashes. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*. 2021 Jan 15;77(6):825–32
45. McGrath C, Clarkson J, et al. Effectiveness of Mouthwashes in Managing Oral Diseases and Conditions: Do They Have a Role? *International Dental Journal*. 2023 Nov 1;73:S69–73. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.identj.2023.08.014>
46. Utria J, Pérez E, Rebolledo M, Vargas A. Características de las soluciones de clorhexidina al 2% y al 0,2% en preparaciones cavitarias en odontología: una revisión. *Duazary*. 2018 May 1;15(2):181.
47. Olivares I.; Donoso C.; et al. Rol de la clorhexidina en sus diferentes formatos para la prevención de la alveolitis seca: Revisión sistemática exploratoria. *Int. J. Odontostomat.*, 18(1):12-18, 2024.
48. Brookes Z, McGrath C, McCullough M. Antimicrobial Mouthwashes: An Overview of Mechanisms—What Do We Still Need to Know? *International Dental Journal* [Internet]. 2023 Nov 1;73(2):S64–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00206539230045>
49. Mao X, Auer DL, Buchalla W, et al. Cloruro de cetilpiridinio: mecanismo de acción, eficacia antimicrobiana en biopelículas y posibles riesgos de resistencia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(8) doi: 10.1128/AAC.00576-20. e00576–20
50. Lee JE, Lee JM, Lee Y, et al. Efectos antiplaca y de control del sangrado de un enjuague bucal con cloruro de cetilpiridinio y ácido tranexámico en pacientes con gingivitis. *J Periodontal Implant Sci*. 2017;47(3):134–142. doi: 10.5051/jpis.2017.47.3.134

51. Jiao Y, Niu LN, et al. Materiales biomédicos basados en amonio cuaternario: estado del arte, aspectos toxicológicos y resistencia antimicrobiana. *Prog Polym Sci.* 2017;71:53–90. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2017.03.001
52. Bakht, N., Humaira, F., Madiha, A., & Haq, I.U. Recent Trends and Methods in Antimicrobial Drug Discovery from Plant Sources. (2015). *Austin J Microbiol.*, 1(1), 1002.
53. Cowan, M. Plant products as antimicrobial agents. (1999). *Clinical microbiologyreviews*, 12(4), 564-82
54. Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas M, Verde-Star M. Investigación en plantas de importancia médica. 2016. <http://dx.doi.org/10.3926/oms.313>
55. Duraffourd, C., Lapraz, J. & d' Hervicourt. Cuadernos de fitoterapia clínica. Elsevier Masson; 1986.
56. Hernández R., Mendoza, C (2018). Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. *Rev Univ Digit Cienc Soc [Internet]*. 2019 Jan 31;10(18):92–5.
57. Díaz VP, Calzadilla A. Artículos científicos, tipos de investigación y productividad científica en las ciencias de la salud. *Rev Cienc Salud. [Internet]*. 2016 Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/recis/v14n1/v14n1a11.pdf>
58. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th Edición. CLSI. 2018;p. 1-296. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/freeresources/access-our-free-resources/>

/RV DQH[RV SDQHO IRWRJUiILFR \ RWURV GRFXPHQW
 UHSRVLWRULR GLJLWDO LQVWLWXFLRQDO HQ OD %LE
 \$QGHV