



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

Efecto antibacteriano *in vitro* de tres colutorios orales comerciales
sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
Cirujano Dentista

AUTORAS:

Huaman Asis, Elsa (ORCID: 0000-0001-6343-6598)

Jamanca Sanchez, Lizzel Pamela Guadalupe (ORCID: 0000-0001-5115-4710)

ASESORA:

Mg. Donayre Escriba, Julieta Emperatriz (ORCID: 0000-0001-6876-7804)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades infecciosas y transmisibles

PIURA – PERÚ

2021

Dedicatoria

A mi familia por haber sido mi apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria y a lo largo de mi vida.

A todas las personas que me acompañaron en esta etapa.

A los docentes que me enseñaron y aportaron a mi formación tanto profesional y como ser humano y que ahora ya no se encuentran entre nosotros.

Lizzel Jamanca

A Dios, por haberme dado la vida y permitirme llegar hasta este momento tan importante en mi formación profesional.

A mi madre, que ha sido mi motivación, el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional.

A mis hermanos quienes me brindaron su apoyo para lograr esta meta profesional.

Elsa Huamán

Agradecimiento

Al concluir una etapa maravillosa de mi vida quiero extender un profundo agradecimiento, a quienes hicieron posible este sueño, aquellos que junto a mí caminaron en todo momento y siempre fueron inspiración, apoyo y fortaleza. Esta mención en especial a Dios, mi madre, mis hermanos, mis tíos y a mi hijo.

Mi agradecimiento sincero a los asesores de mi tesis, quienes con su apoyo y enseñanzas hicieron posible la culminación de mi tesis.

Lizzel Jamanca

Un agradecimiento muy especial a mis maestros, personas de gran sabiduría quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro. El proceso no fue sencillo, pero gracias a las ganas transmitidas, a sus conocimientos y dedicación constante, he alcanzado importantes objetivos como culminar el desarrollo de mi tesis con éxito y obtener este gran logro que es mi titulación profesional.

Elsa Huamán

Índice de contenidos

Carátula	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de Tablas.....	vi
Índice de Figuras	vii
Índice de abreviaturas.....	viii
Resumen	ix
Abstract.....	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
III. METODOLOGÍA.....	13
3.1. Tipo y diseño de investigación	13
3.2. Variables y operacionalización	14
3.3. Población, muestra y muestreo	14
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	14
3.5. Procedimientos.....	15
3.6. Método de análisis de datos	17
3.7. Aspectos éticos	17
IV. RESULTADOS	18
V. DISCUSIÓN	23
VI. CONCLUSIONES.....	27
VII. RECOMENDACIONES	28
REFERENCIAS	29
ANEXOS.....	41

Índice de Tablas

Tabla 1. Comparación del efecto antibacteriano in vitro de tres colutorios bucales comerciales y un control positivo sobre <i>S. mutans</i> ATCC 25175.....	19
---	----

Índice de Figuras

Figura 1. Comparación del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de tres colutorios bucales comerciales y un control positivo gluconato de clorhexidina 0.12% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	21
Figura 2. Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del colutorio bucal comercial Vitis encías® y del control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	22
Figura 3. Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del colutorio bucal comercial Dentodex® y del control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	23
Figura 4. Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del colutorio bucal comercial Listerine® y del control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	24

Índice de abreviaturas

OMS: Organización Mundial de la Salud

MINSA: Ministerio de Salud de Perú

ATCC: *American Type Culture Collection*

CLSI: *Clinical & Laboratory Standards Institute*

SPE: Sustancias poliméricas extracelulares

CHX: Clorhexidina

CMI / MIC: Concentración Mínima Inhibitoria

CMB/MBC: Concentración Mínima Bactericida

Resumen

Su objetivo fue evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de tres colutorios orales comerciales sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La presente investigación fue de tipo cuantitativo y diseño experimental, con posprueba y grupo control. La bacteria evaluada fue una cepa estándar de *S. mutans* ATCC 25175. Los colutorios comerciales evaluados fueron; Vitis encías®, Dentodex, Listerine®. El control positivo fue Clorhexidina 0,12% y el control negativo fue Solución salina fisiológica estéril (SSFE). Para la determinación del efecto antibacteriano se utilizó el método estandarizado por el Clinical Laboratory Standard Institute de difusión en pozo de agar. El medio de cultivo utilizado para la evaluación fue el agar mitis salivarius-bacitracina (Himedia®). La siembra del inóculo bacteriano se realizó el método de Kirby-Bauer. La incubación se realizó en estufa microbiológica a 36,5 °C durante 24 horas en aerobiosis. Las zonas de inhibición fueron medidas con vernier marca Starrett®. Los resultados mostraron los halos de inhibición promedio del colutorio Vitis encías® fue de 12.15 mm, el colutorio Dentodex® alcanzó un halo promedio de inhibición de 13.61mm, mientras que Listerine® obtuvo un halo promedio de 13.45 mm. El control positivo, Clorhexidina 0,12 % formo un halo de inhibición promedio de 15.51mm. Se observó que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los colutorios Dentodex® y Listerine® mostrando el mismo efecto antibacteriano. Sin embargo si se observó diferencia estadísticamente significativa entre los colutorios y el control positivo. Se concluye que los tres colutorios presentan efecto antibacteriano sobre la cepa estándar *S. mutans*, sin embargo no superaron el efecto alcanzado por la clorhexidina al 0,12% utilizado como control positivo.

Palabras Clave: *Streptococcus mutans*, antisépticos bucales, antibacterianos, *in vitro*.

Abstract

Its objective was to evaluate the antibacterial effect in vitro of three commercial oral mouthwashes on *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The present investigation was of a quantitative type and experimental design, with post-test and control group. The bacterium evaluated was a standard strain of *S. mutans* ATCC 25175. The commercial mouthwashes evaluated were; Vitis gums®, Dentodex, Listerine®. The positive control was 0.12% Chlorhexidine and the negative control was Sterile Physiological Saline Solution (SSFE). To determine the antibacterial effect, the method standardized by the Clinical Laboratory Standard Institute of agar well diffusion was used. The culture medium used for the evaluation was mitis salivarius-bacitracin agar (Himedia®). The sowing of the bacterial inoculum was carried out using the Kirby-Bauer method. The incubation was carried out in a microbiological oven at 36.5 oC for 24 hours in aerobiosis. The zones of inhibition were measured with a Starrett® brand vernier. The results showed the average inhibition halos of the Vitis gums® mouthwash was 12.15 mm, the Dentodex® mouthwash reached an average inhibition halo of 13.61mm, while Listerine® obtained an average halo of 13.45 mm. The positive control, Chlorhexidine 0.12% formed an average inhibition halo of 15.51mm. It was observed that there is no statistically significant difference between the Dentodex® and Listerine® mouthwashes showing the same antibacterial effect. However, a statistically significant difference was observed between the mouthwashes and the positive control. It is concluded that the three mouthwashes show an antibacterial effect on the standard strain *S. mutans*, however they did not exceed the effect achieved by 0.12% chlorhexidine used as a positive control.

Keywords: *Streptococcus mutans*, oral antiseptics, antibacterials, *in vitro*.

I. INTRODUCCIÓN

Para mantener la salud general es imprescindible tener una buena salud oral.¹ Actualmente, algunas enfermedades bucales se encuentran encabezando la lista de las afecciones más relevantes que agobian a la población mundial, esto debido principalmente a su alta incidencia, prevalencia y distribución.² Es probable que la caries dental no solo sea una de las enfermedades más antiguas de la humanidad sino también la enfermedad crónica más prevalente.³ La caries es considerada una enfermedad ubicua, es el resultado de una compleja interacción entre bacterias productoras de ácido y carbohidratos fermentables que se encuentran adheridas a los dientes.⁴ Con el tiempo, los ácidos de producto de su metabolismo pueden desmineralizar el esmalte y la dentina en las fisuras y las superficies lisas del diente.⁵ De allí la importancia de revertir oportunamente esta condición que para evitar el deterioro en la calidad de vida de las personas que la padecen.⁶

La cavidad bucal contiene una amplia gama de microorganismos dentro de los que encontramos bacterias, hongos, virus, arqueas y protozoarios que en conjunto conforman una comunidad ecológica compleja que influye en la salud oral y sistémica.⁷ Los microorganismos en la superficie de los dientes tienden a formar comunidades de biopelículas de múltiples especies que a menudo están incrustadas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (SPE). Esta acumulación prolongada de placa bacteriana es uno de los factores determinantes para el desarrollo de caries dental.⁸ En la caries dental, la sobreexposición a carbohidratos de la dieta y factores del huésped promueve la producción de SPE y metabolitos ácidos, además de provocar la acumulación de microorganismos acidógenos y acidúricos en la superficie dental.⁹

Si no se elimina la biopelícula y continúa el consumo frecuente de azúcar, se produce un estado de acidificación prolongado y repetido, lo que altera el equilibrio mineral homeostático hacia la desmineralización del esmalte.¹⁰ Bacterias como *Streptococcus mutans* y los lactobacilos se reconocen desde hace mucho tiempo como patógenos asociados con el desarrollo de caries dental.¹¹

Como se ha mencionado, el mejoramiento de la salud oral influye positivamente en la calidad de vida de las personas.¹² Las bacterias orales están inseparablemente entrelazadas con enfermedades que afectarán a todos los humanos en algún momento de la vida como gingivitis, periodontitis y en el caso de *S. mutans* con la caries dental.¹³ El tratamiento y la prevención de estas enfermedades se basan principalmente en la eliminación mecánica de las bacterias.¹⁴ A diferencia de la mayoría de las otras enfermedades mediadas por bacterias, el tratamiento con antibióticos por sí solo puede no ser eficaz.¹⁵

Una parte de los programas de control de caries incluyen el uso de agentes quimioprolácticos para controlar a las bacterias asociadas a la caries dental.¹⁶ Entre los diversos sistemas de administración de antimicrobianos, se encuentran los colutorios bucales que son capaces de prevenir la adhesión bacteriana, la colonización y el metabolismo, imposibilitando la formación de placa dental que es un factor determinante en el inicio y progreso de la caries dental.^{17, 18}

Los colutorios son soluciones acuosas no estériles.¹⁹ Se usan para reducir las bacterias orales, limpiar los restos de alimentos y mitigar la halitosis.²⁰ Dado que muchas personas no pueden eliminar la placa dental adecuadamente y el control mecánico de la placa por sí solo es insuficiente, se puede sugerir el control de la placa química, mediante la aplicación de colutorios.²¹ Algunas investigaciones afirman que el uso de colutorios bucales como agentes antimicrobianos tienen un buen potencial para reducir la carga de *S. mutans* a nivel oral.²²⁻²⁵ Además, son utilizados como vehículos seguros y eficaces de componentes terapéuticos en todas las superficies accesibles en la boca.²⁶

Diversas investigaciones reportan que entre los distintos colutorios orales a los cuales se les evaluó su capacidad antibacteriana, solo aquellos que tenían dentro de su fórmula clorhexidina, redujeron de forma más persistente a *S. mutans* en estudios a nivel in vitro.²⁷ La clorhexidina es una bisguanida catiónica usada como agente quimioproláctico.²⁸ Actúa generando la ruptura de la pared celular bacteriana provocando la precipitación del contenido citoplasmático celular.²⁹ Aunque se usa como Gold Standard para comparar la actividad de otros agentes antimicrobianos, presenta algunas desventajas como alterar la sensación de sabor, la sensibilidad, la mucosa y la lengua. Además, pigmenta los dientes de

color marrón y tiene un sabor desagradable.³⁰ Esto ha conllevado a que se sigan produciendo nuevos colutorios con otros principios activos que podrían estar cumpliendo o no con la propiedad antibacteriana promocionada.

Vista la realidad problemática anterior, la presente investigación se plantea la siguiente interrogante; ¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* de tres colutorios orales comerciales sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

En el mercado peruano hay disponibles varias marcas comerciales de colutorios bucales. Casi todos varían en sus formulaciones, precios y beneficios a nivel oral. Pero si revisamos la bibliografía actual no en todos se ha evaluado y/o comprobado su capacidad antibacteriana contra *S. mutans* responsable en gran medida del desarrollo y progreso de la caries dental. El adquirir un producto que promueva su propiedad antibacteriana o antiplaca y no lo cumpla, sería atentar contra la economía y la salud de los usuarios pues crearía en ellos una falsa seguridad y estarían en riesgo no solo de desarrollar afecciones orales sino complicaciones lo que incrementaría el costo de los tratamientos pues se tendría que recurrir a atención especializada. De allí la importancia de corroborar las propiedades de los colutorios de uso oral disponible en el mercado peruano y principalmente su actividad antibacteriana para garantizar su uso eficiente y seguro y de esta manera salvaguardar la salud oral y la economía de todos los usuarios. Por ello, para responder el problema de investigación planteado, la presente investigación tuvo como objetivo comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de tres colutorios orales comerciales sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El será respondido mediante los siguientes objetivos específicos: Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del colutorio oral *vitis encías*® sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175; determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del colutorio bucal *dentodex*® sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del colutorio bucal *listerine*® sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

II. MARCO TEÓRICO

Nardi, et al²² (2020) en Italia, evaluaron la eficacia *in vitro* de un colutorio a base de aceite de oliva ozonizado frente a *Streptococcus mutans*. Se probaron los enjuagues comerciales *Ialozon Blu*® (IB) con aceite de oliva ozonizado, y *Ialozon Rose*® (IR), con aceite de oliva ozonizado, ácido hialurónico y vitamina E. Se utilizó la cepa CIP103220 de *S. mutans*. La susceptibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método de Kirby-Bauer. Los resultados mostraron que ambas formulaciones mostraron la misma actividad antimicrobiana. El promedio del diámetro de la zona de inhibición fue de 16,5 mm para IB y de 18 mm para IR. Concluyeron que los colutorios formulados con aceite de oliva ozonizados lograron inhibir a *S. mutans*.

Moein, et al²³ (2020) en Brasil. Compararon el efecto antimicrobiano *in vitro* del enjuague bucal de té verde Listerine sobre *Streptococcus mutans* con la de clorhexidina (CHX) al 0,12% y Listerine-Zero. La sensibilidad a los tres colutorios seleccionados se evaluó mediante la prueba de difusión en disco. Los resultados mostraron diferencias significativas entre los tres grupos ($p < 0,001$); clorhexidina al 0,12% fue el enjuague bucal más eficaz, y Listerine-Zero mostró el menor efecto sobre la inhibición del crecimiento de *S. mutans* ($p < 0,004$). Concluyeron que los tres enjuagues bucales inhibieron significativamente el crecimiento de *S. mutans* siendo el efecto del enjuague bucal de té verde Listerine mayor que el de Listerine-Zero pero menor que la clorhexidina al 0.12%.

Abu-Obaid, et al²⁴ (2019) en India. Compararon los efectos antimicrobianos *in vitro* de diferentes enjuagues bucales contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los enjuagues bucales evaluados fueron; uno a base de mezcla de hierbas, a base de arándano, de digluconato de clorhexidina, de extracto de arándano + digluconato de clorhexidina, de digluconato de clorhexidina + alcohol (control positivo). La evaluación microbiológica se realizó mediante la determinación de la CMI, CMB y zona de inhibición. Los resultados mostraron que los enjuagues bucales de la mezcla de hierbas, arándano, arándano rojo + clorhexidina, clorhexidina y clorhexidina + alcohol mostraron zonas de inhibición significativamente aumentadas en 36.38 mm, 36.25 mm, 26.13 mm, 17.75 mm y 12.38 mm, respectivamente. El colutorio de clorhexidina + alcohol mostró una CMI y CMB

significativamente menor que los otros grupos. Concluyeron que el enjuague bucal de la mezcla de hierbas y el de arándano podrían ser una alternativa natural efectiva frente al enjuague bucal de clorhexidina con o sin alcohol para controlar *S. mutans*.

Malvania, et al²⁵ (2019) en India. Tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana del extracto de raíz de regaliz sobre *Streptococcus mutans* en comparación con un enjuague bucal con clorhexidina y fluoruro. La inhibición antibacteriana del extracto se determinó por el método de la zanja de agar. La concentración inhibitoria mínima (MIC) se obtuvo utilizando el método de dilución en caldo y de dilución en agar. Los enjuagues bucales de clorhexidina y fluoruro fueron utilizados como control positivo. La zona media de inhibición del enjuague bucal con clorhexidina, enjuague bucal con flúor, extractos de raíz de regaliz acuoso y etanólico contra *S. mutans* fue de 23 mm, 14,2 mm, 15,8 mm y 22,4 mm, respectivamente. Concluyeron que el efecto antibacteriano producido por el extracto etanólico de raíz de regaliz en *S. mutans* fue comparable al enjuague bucal con clorhexidina.

Elgamily, et al³¹ (2018) en Egipto. Su objetivo fue evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del enjuague bucal de base experimental probiótica contra *Streptococcus mutans*. Se evaluaron tres enjuagues bucales, uno formulado a base de una formulación general, otro que incluía los aditivos probiótico-zamzam y un tercero de marca comercial con hexitol como principio activo contra *S. mutans*. La actividad antibacteriana se determinó mediante el método de difusión en pozos. Reportaron que la cepa probiótica exhibió valores de zonas de inhibición promedio más altos que el agua de zamzam contra *S. mutans*. Con respecto a las zonas de inhibición para los tres enjuagues probados, el enjuague bucal experimental mostró un aumento significativo en la zona de inhibición en comparación al enjuague bucal comercial. Concluyeron que el enjuague bucal experimental probiótico-zamzam fue eficaz en la reducción de *S. mutans* por lo que podría considerarse un ingrediente prebiótico con potencial valor terapéutico.

Dadpe, et al³² (2018) en India. Su objetivo fue determinar la eficacia antibacteriana de diferentes concentraciones del aceite de *Trachyspermum ammi* contra cinco bacterias orales. El control positivo fue el colutorio clorhexidina y las cepas evaluadas fueron *Streptococcus mutans* MTCC 497, *Streptococcus oralis* MTCC

2696, *Lactobacillus acidophilus* MTCC 10307, *Lactobacillus fermentum* MTCC 903 y *Candida albicans* MTC 183. La actividad antibacteriana se evaluó por el método de difusión en disco. Sus resultados mostraron que el aceite de *T. ammi* inhibe moderadamente el crecimiento bacteriano con halos promedios de inhibición de 18.60 ± 0.65 (250 $\mu\text{g/ml}$), 11.60 ± 1.14 (125 $\mu\text{g/ml}$), 14.10 ± 0.55 (250 $\mu\text{g/ml}$), 11.50 ± 0.61 (125 $\mu\text{g/ml}$) y 15.10 ± 0.74 mm (250 $\mu\text{g/ml}$) respectivamente. Establecieron que la CMI y la CMB del aceite fueron más altos que los del gluconato de clorhexidina siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Concluyeron que *T. ammi* puede ser utilizado como un agente terapéutico potencial antiplaca, natural, no tóxico y económico.

Shafiq, et al³³ (2018) en Pakistán. Evaluaron los efectos de varios enjuagues bucales disponibles en Pakistán, contra patógenos orales. Su actividad antibacteriana se determinó mediante ensayos de difusión en pozos de agar y de concentración mínima inhibitoria (MIC). De los 10 enjuagues bucales seleccionados que contenían como agentes antimicrobianos a clorhidrato de bencidamina, gluconato de clorhexidina, cloruro de cetilpiridinio, triclosán y peróxido de hidrógeno, tres lograron inhibir completamente a los patógenos seleccionados dentro de los que se incluye a *Streptococcus mutans* y tres lo hicieron moderadamente. Los otros cuatro productos orales mostraron menor actividad inhibitoria frente a los patógenos orales. Concluyeron que diversas formulaciones son responsables de diferentes actividades antimicrobianas por lo que deberían profundizarse los estudios en este campo.

Haghgoo, et al³⁴ (2017) en Irán. Su objetivo fue comparar los efectos antibacterianos de diferentes concentraciones de extracto de *Cyperus rotundus* y enjuague bucal de clorhexidina (CHX) al 0,2% en *S. mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. La efectividad antibacteriana se evaluó con el método de difusión en disco. Reportaron que la zona de inhibición se incrementó de manera dosis-dependiente pero menor que la clorhexidina. Concluyeron que el extracto de *C. rotundus* tuvo efecto antibacteriano de tipo bactericida y bacteriostático sobre *S. mutans* y *L. acidophilus* pero menor que el efecto producido por la clorhexidina.

George, et al³⁵ (2017) en India. Su objetivo fue determinar la eficacia antibacteriana in vitro de extractos acuosos y etanólicos de té verde, té negro y té oolong contra

S. mutans en comparación con clorhexidina al 0,2%. Para la comparación se utilizó clorhexidina al 0,2% disponible comercialmente como enjuague bucal. La actividad antimicrobiana se determinó mediante el método de difusión de pozos de agar. La media de los halos de inhibición de los extractos acuosos y etanólicos de té verde, té negro, té oolong y clorhexidina resultó ser de 16,33 (14) mm, 10,33 (9) mm, 19,66 (20,66) mm y 22 (22) mm respectivamente. Concluyeron que el efecto inhibidor de la clorhexidina es casi similar al del extracto acuoso y etanólico del té oolong.

Müller, et al³⁶ (2017) en Austria. Evaluaron *in vitro* la citotoxicidad y actividad antimicrobiana de los enjuagues bucales. Se examinaron doce enjuagues bucales con respecto a su actividad antimicrobiana y citotóxica. La actividad antimicrobiana se evaluó frente a cinco cepas bacterianas mediante difusión por disco. Reportaron que los enjuagues bucales que contienen 0,2% de clorhexidina y cocamidopropil betaína mostraron una fuerte actividad antimicrobiana. Los enjuagues bucales que contenían cloruro de cetilpiridinio mostraron actividad antimicrobiana moderada. Concluyeron que a nivel *in vitro* los enjuagues bucales tienen efectos antimicrobianos heterogéneos y que según sus respectivas propiedades podrían ser elegidos para reducir la carga microbiana o con fines cosméticos.

Pathan, et al³⁷ (2017) en India. Su objetivo fue evaluar el efecto antimicrobiano del enjuague bucal a base de hierbas y el enjuague bucal de clorhexidina (CHX) en microorganismos seleccionados en una prueba *in vitro* y un modelo *ex vivo*. El efecto antimicrobiano se determinó frente a cepas estándar de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Fusobacterium nucleatum*. Las pruebas *in vitro* incluyeron la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante dilución en caldo y difusión en agar. Reportaron que la CIM no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los enjuagues bucales. El método de dilución en agar mostró que la clorhexidina fue más eficaz en comparación con el enjuague bucal a base de hierbas contra las cepas evaluadas. Concluyeron que la clorhexidina mostró niveles más altos de acción antimicrobiana que el enjuague bucal a base de hierbas contra especies bacterianas.

Sudheer, et al³⁸ (2017) en la India. Evaluaron la actividad antimicrobiana de colutorios con; timol, clorhexidina, clorhexidina + triclosán, cloruro de cetilpiridinio,

Belleric myrobalan, povidona yodada; contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*. Los colutorios se probaron en cuatro concentraciones diferentes 1:4 (25%), 1:1 (50%), 3:4 (75%) y al (100%). La actividad antimicrobiana se determinó mediante el método de difusión de pozos de agar. Los resultados mostraron que la clorhexidina + triclosán fue el enjuague bucal más eficaz contra *S. aureus* con halos de inhibición en el rango de 30 mm a 35,33 mm y contra *S. mutans* con halos de inhibición en el rango de 19 mm a 27,5 mm, seguido de cloruro de cetilpiridinio, clorhexidina, timol, myrobalan Belleric. La povidona yodada no mostró actividad antimicrobiana. Concluyeron que el colutorio con clorhexidina + triclosán muestra una excelente actividad antimicrobiana.

Luls, et al³⁹ (2016) en Portugal. El objetivo fue determinar la actividad antibacteriana de un aceite esencial y un enjuague bucal de delmopinol sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* y bacterias inespecíficas de la placa dental aeróbica y anaeróbica. Las bacterias fueron aisladas a partir de placa bacteriana. La capacidad antibacteriana de los enjuagues bucales y del control positivo (clorhexidina al 0,2%) se determinó mediante la prueba de difusión en disco. Reportaron que la CMI del enjuague preparado era inferior que las concentraciones comerciales de aceites esenciales y enjuagues bucales de delmopinol. Establecieron que el delmopinol tiene propiedades antibacterianas significativas in vitro sobre bacterias aerobias pero no significativas contra *S. mutans*. Concluyeron que el efecto antibacteriano mostrado por la clorhexidina y los aceites esenciales es estadísticamente similar y mejor que el mostrado por delmopinol frente a bacterias aerobias.

Mruthyuenjaya, et al⁴⁰ (2016) en India. Su objetivo fue determinar la eficacia antimicrobiana in vitro de diferentes enjuagues bucales contra los patógenos orales. Evaluaron un total de siete enjuagues bucales para determinar su actividad antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* MTCC 890, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Candida albicans* ATCC 10231 mediante el ensayo de difusión en agar. Reportaron como resultados que el enjuague bucal con gluconato de clorhexidina y triclosán como ingredientes principales mostró una zona máxima de inhibición (P = 0,003) contra *S. mutans* y *E. coli* a una dilución 1:16 y el enjuague bucal con gluconato de clorhexidina y cloruro de zinc mostró una zona máxima de inhibición

en 1:16 dilución contra *C. albicans* entre los siete enjuagues bucales estudiados. También observaron que la zona de inhibición de todos los enjuagues bucales disminuyó con el aumento de la dilución. Concluyeron que los enjuagues bucales de clorhexidina combinado con otros principios activos son más efectivos.

Actualmente existen una variedad de enfermedades orales que afectan a la población mundial.⁴¹ Las circunstancias en que viven las personas y su nivel de acceso a ciertos recursos y oportunidades también juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad oral.⁴² Si estas enfermedades no son controladas afectan negativamente la boca con consecuencias a nivel de todo el cuerpo. Diversas investigaciones han dado cuenta de la implicancia de Las enfermedades orales en otros aspectos de la vida, incluidas las relaciones personales, la autoconfianza, el rendimiento escolar y laboral.⁴³

La caries dental es considerada la enfermedad humana crónica transmisible más prevalente en el planeta tierra y un importante problema de salud global.⁴⁴ La caries dental es generalizada debido a la gran ingesta de carbohidratos fermentables, la falta de estrategias preventivas efectivas y el acceso limitado a la atención médica oral adecuada en muchas partes del mundo.⁴⁵ Esta enfermedad se produce por la interacción entre los microorganismos de la placa dental dentro de los que destaca *Streptococcus mutans* y los restos de carbohidratos presentes en la dieta y cuyos productos de su metabolismo – los ácidos – con el tiempo desintegran el esmalte de la superficie dental.⁴⁶

A pesar del progreso científico en la práctica de la odontología, la caries dental aún persiste como la enfermedad bucal más común del ser humano.⁴⁷ Las estimaciones de prevalencia de la caries dental la sitúan en un rango que va desde el 60% hasta el 98% dependiendo del país.⁴⁸ Los costos humanos debido a edentulismo y económicos de esta enfermedad aún siguen siendo problemas que los sistemas de salud en el mundo no logran resolver.⁴⁹

Mientras que la prevalencia de caries está disminuyendo en general en el mundo desarrollado debido a la creciente conciencia de las fuentes de alimentos cariogénicos y la mejora general en la higiene bucal y los sistemas de prestación de atención dental, en los países en vías de desarrollo se está incrementando

principalmente debido a la disponibilidad fácil y barata de carbohidratos fermentables.⁵⁰

Los principales determinantes etiológicos de la caries dental, encontramos los asociados al huésped como son el diente y la saliva, la dieta, principalmente la ingesta de carbohidratos fermentables y los microorganismos de la placa dental donde destacan la especie *Streptococcus mutans* y los géneros *Lactobacillus* spp y *Actinomyces* spp. Se conoce que los microorganismos denominados cariogénicos producen glucano insoluble en agua a partir de sacarosa, que, además de facilitar la adhesión microbiana a la superficie dental, sirve como fuente nutricional y matriz para un mayor desarrollo de la placa.⁵¹

Streptococcus mutans, como su nombre lo dice, son un conjunto de bacterias con forma de coco que tienden a agruparse formando cadenas. Son gram positivos, catalasa negativos y anaerobios facultativos. Presentan metabolismo fermentativo cuyo producto final es principalmente ácido láctico. Crecen artificialmente en medios enriquecidos a una temperatura óptima de 36 °C. Existen muchos reportes sobre el papel de *S. mutans* en el inicio y progreso de la caries dental. Existe una correlación positiva entre la progresión de lesiones cariosas y los recuentos de *S. mutans* en saliva y a menudo pueden aislarse de la superficie del diente inmediatamente antes del desarrollo de la caries.⁵²

Distintas investigaciones se vienen realizando desde hace varios años con la finalidad de dar solución a la problemática de la salud oral que radica principalmente en el control de la placa dental de forma general y de manera particular en el control de los principales microorganismos involucrados en su desarrollo. Es así que a finales del siglo XIX se desarrollaron los primeros colutorios orales.⁵³ Un colutorio es un producto acuoso que puede contener componentes activos farmacológicos entre otros componentes que contribuyen con la obtención de una completa higiene, una reducción eficiente de la placa dental y proporcionar el máximo frescor finalizada la higiene oral cotidiana. El uso de enjuagues bucales antimicrobianos cumple una importante función en la conservación de la higiene bucal, principalmente al reducir el número de microorganismos de la placa dental.⁵⁴

Entre los colutorios disponibles encontramos a la clorhexidina que es eficaz en la reducción de placas dentales y microorganismos patógenos, incluido *S. mutans*. El

mecanismo de acción de la clorhexidina incluye interacciones con componentes celulares externos y la membrana citoplasmática, induciendo la fuga de componentes intracelulares e interacciones con componentes citoplasmáticos. El daño a las capas celulares externas por sí solo es insuficiente para inducir la muerte celular.⁵⁵

Otro colutorio de uso frecuente, generalmente recomendado como parte del régimen de higiene bucal en el hogar, es Listerine®. Estudios anteriores han encontrado que Listerine es un enjuague bucal eficaz en la reducción de placas dentales y recuentos bacterianos orales. Si bien no es un reemplazo del cepillado diario y el uso de hilo dental, los colutorios bucales pueden ser una adición útil a la rutina diaria de higiene bucal para algunas personas debido a su facilidad para llegar a áreas a las que no se puede acceder fácilmente con un cepillo de dientes.⁵⁶

Los colutorios bucales se clasifican de forma general en; cosméticos y terapéuticos. El enjuague bucal cosmético puede controlar la halitosis por periodos cortos de tiempo dejando un sabor agradable, pero no tiene una aplicación química o biológica más allá de su beneficio temporal. Entonces, si un producto no mata las bacterias asociadas con el mal aliento, entonces su beneficio se considera únicamente cosmético. El enjuague bucal terapéutico, por el contrario, tiene ingredientes activos destinados a ayudar a controlar o reducir afecciones como mal aliento, gingivitis, placa y caries. Los ingredientes activos que pueden usarse en enjuagues bucales terapéuticos incluyen: cloruro de cetilpiridinio; clorhexidina; aceites esenciales; fluoruro y peróxido. Se agrega cloruro de cetilpiridinio para reducir el mal aliento. La clorhexidina y los aceites esenciales se incorporan para ayudar a controlar la placa y la gingivitis. El fluoruro es un agente que ayuda a prevenir la descomposición. El peróxido está presente en varios enjuagues bucales blanqueadores.⁵⁷⁻⁶⁰

Los colutorios Terapéuticos además de refrescar el aliento y enmascarar la halitosis como lo hacen los enjuagues bucales cosméticos, están formulados con ingredientes activos que ayudan a prevenir o tratar afecciones específicas de salud bucal. Disponible sin receta médica o con receta médica, se ha demostrado que los enjuagues orales terapéuticos ayudan a prevenir las caries, la xerostomía y la placa dental. Los dentistas a menudo prescriben enjuagues orales terapéuticos a

pacientes que tienen problemas de salud bucal, y también se recomiendan para personas que no pueden cepillarse debido a impedimentos físicos o razones médicas.⁶¹

Dependiendo de la condición de salud oral específica que se está abordando, los componentes en los enjuagues orales terapéuticos pueden incluir: Antimicrobianos como el cloruro de cetilpiridinio, clorhexidina y compuestos fenólicos, que reducen la proporción bacteriana oral para ayudar a controlar la halitosis, reducir la placa y la gingivitis.⁶² El compuesto cuaternario cloruro de cetilpiridinio (CPC) es un agente tensioactivo catiónico y tiene un amplio espectro antimicrobiano, con una rápida destrucción de los patógenos grampositivos y la levadura en particular. Se sugiere que la interacción con las bacterias se produce por la alteración de la función de la membrana, la fuga de material citoplasmático y, en última instancia, el colapso del equilibrio intracelular.⁶³

Por su parte el gluconato de clorhexidina es un compuesto de biguanida que se usa como agente antiséptico con actividad antibacteriana tópica. Es una molécula cargada positivamente y reacciona con la superficie celular microbiana cargada negativamente, destruyendo así la integridad de la membrana celular. Posteriormente, el gluconato de clorhexidina penetra en la célula y provoca una fuga de componentes intracelulares que conduce a la muerte celular. Dado que las bacterias gram positivas tienen una carga más negativa, son más sensibles a este agente.⁵⁵

Compuestos astringentes; como el ácido cítrico y cloruro de zinc, que proporcionan un sabor agradable y constriñen los tejidos orales para crear una capa protectora de tejido firme entre las capas inferiores de tejido y los elementos. Agentes anti-sarro, como el citrato de zinc, que reducen la acumulación de sarro (la acumulación pegajosa de saliva, alimentos y bacterias que se adhiere a los dientes). Nutrientes micelizados: como la vitamina A micelizada, vitamina E y betacaroteno, nutrientes que han sufrido cambios celulares, lo que resulta en una absorción más rápida a través de las membranas celulares para aumentar la efectividad general de un producto. Agentes analgésicos Como las Anodinas, que alivian el dolor y los agentes amortiguadores, que pueden aliviar el dolor de los tejidos blandos, reducir la acidez y disolver la acumulación de película en el revestimiento de la boca.⁶⁴

Otros componentes incluyen cloruro de cetlyperadium como agente antibacteriano para ayudar a controlar las bacterias anaerobias, un tipo de bacteria que no vive ni crece en un ambiente que contiene oxígeno, en la boca. Fluoruro, que fortalece los dientes y previene la caries dental. Hexetidina, que ayuda a aliviar las encías irritadas y sangrantes. El xilitol, un sustituto natural del azúcar, que ha demostrado reducir la caries dental e incluso revertir la caries dental existente.⁶⁵

El cirujano dentista puede sugerir el uso de un enjuague bucal sin alcohol si usa prótesis o presenta xerostomía, pues esta condición puede agravar los problemas asociados con la retención y la alimentación de quienes usan prótesis, así como contribuir a la caries dental en pacientes con dientes. Por lo tanto, el uso de enjuagues orales sin alcohol también es útil para pacientes con dientes. Los enjuagues orales terapéuticos sirven como una medida adicional, útil como complemento, pero no esencial en la higiene y salud oral.⁶⁶

Como se ha observado, el uso de enjuagues bucales es un complemento importante de otros procedimientos destinados a mantener una correcta higiene bucal. Se ha reportado que diversos enjuagues no solo presentan propiedades antibacterianas y antifúngicas^{67, 68}, sino que también se les atribuye capacidad antiprotozoaria sobre *Trichomonas tenax* y *Entamoeba gingivalis*.⁶⁹

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

Investigación cuantitativa por que los resultados obtenidos a partir de las mediciones serán datos numéricos que serán analizados estadísticamente para contrastar la hipótesis.⁷⁰

Será de diseño experimental verdadero con post prueba únicamente y grupo control. Prospectivo, porque el fenómeno estudiado aún no ha ocurrido. Por tanto, los datos son recolectados en el presente. Transversal porque el fenómeno será estudiado por única vez en un solo momento y en su totalidad.⁷¹

3.2. Variables y operacionalización

Variable independiente: Colutorios orales comerciales

Definición conceptual: Producto terapéutico en formulación acuosa generalmente viscosa empleado de forma tópica para el tratamiento de enfermedades orales.⁷²

Definición operacional: Colutorios orales en su presentación comercial de *vitis encías*®, *dentodex*® y *listerine*®.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano

Definición conceptual: Capacidad que presentan algunas sustancias químicas o biológicas de impedir el desarrollo de bacterias de forma temporal (efecto bacteriostático) o permanente (efecto bactericida).⁷³

Definición operacional: Diámetro en mm de halos de inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 por acción de los colutorios orales.

3.3. Población, muestra y muestreo

La población estuvo constituida por una cepa estándar *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y los colutorios *vitis encías*® con principio activo es Cloruro de Cetilpiridinio 0.05%, *dentodex*® con principio activo Gluconato de clorhexidina 0.12% y *listerine*® con principio activo Eucaliptol 0.09 g.

La muestra en investigaciones experimentales se traduce al cálculo de unidades de ensayo (Anexo 3).

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Los métodos para la evaluación del efecto antibacteriano de tres colutorios orales comerciales frente a *Streptococcus mutans* fueron los recomendados por el *Clinical and laboratory estándar institute* (CLSI). Para la estandarización del inóculo bacteria se utilizó el método espectrofotométrico. La siembra del inóculo bacteriano en las placas servidas con los medios de cultivo se realizó por el método de dispersión en superficie con hisopo. La evaluación del efecto antibacteriano de los colutorios se efectuó por el método de difusión en pocillo o pozo de agar.⁷⁴

3.5. Procedimientos

Adquisición de colutorios orales comerciales:

Los colutorios orales comerciales fueron adquiridos en farmacias de la ciudad de Lima mediante su marca comercial, y fueron los siguientes: *vitis encías*®, *dentodex*® y *listerine*®. Durante su compra se verificó su fecha de vencimiento y las condiciones del empaque. Después de adquirirlos fueron preservados sellados y en un lugar limpio antes de su transporte al laboratorio para su procesamiento.

Adquisición y preparación de medios de cultivo:

Los medios de cultivo utilizados en la presente investigación fueron de la marca MERCK®. Se adquirieron de la empresa Merck Peruana S.A. ubicado en Av. Los Frutales 220, Distrito de Ate, Lima-Perú. Se utilizó Caldo soya tripticasa para la reactivación de la cepa liofilizada de *S. mutans* ATCC 25175 y para la evaluación de la actividad antimicrobiana se empleó el medio Agar Mitis Salivarius bacitracina (Himedia®). Las preparaciones de los medios de cultivo se realizaron según las especificaciones del fabricante disponibles en el envase. Fueron hidratados con agua destilada y luego esterilizado en autoclave. Una vez enfriado fue servido en placas de plástico estériles y preservadas en refrigeración hasta el momento de su utilización.

Adquisición y reactivación de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175

La cepa certificada de *S. mutans* ATCC 25175 se adquirió de la empresa Genlab® en estado liofilizado por lo que fue necesaria su reactivación. Esta se llevó a cabo en medio líquido soya tripticasa (Merck®). Primero se retiró el vial del empaque de almacenamiento y se colocó sobre una gradilla a temperatura ambiente. Se destapó el empaque y se le incorporó el medio de cultivo líquido preparado previamente y a temperatura ambiente. Se llevó a incubación por 14 horas a 36.5°C en condición de aerobiosis. Después del tiempo de incubación se sembró con un asa bacteriológica estéril una alicuota en una placa con agar mitis salivarius bacitracina por la técnica de estría en cuatro cuadrantes. La placa fue incubada durante 24 horas en las mismas condiciones que el caldo de reactivación.

Estandarización del inóculo de *S. mutans*

A partir de las unidades formadoras de colonias (UFC) que desarrollaron en la placa donde fue sembrada la bacteria reactivada se prepararon dos suspensiones bacterianas en solución salina fisiológica estéril para estandarizar el inóculo bacteriano a la concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (05 del nefelómetro de McFarland). Este proceso se realizó en un espectrofotómetro marca ÚNICO a una longitud de onda de 625 nm y en condiciones de esterilidad. La absorbancia fue estandarizada a 0,09. Una vez preparado y estandarizado el inóculo fue utilizado en los siguientes 15 minutos como recomienda el método.⁷⁴

Evaluación del efecto antibacteriano por el método de difusión en pocillo

Las placas petri servidas previamente con agar mitis salivarius bacitracina y solidificadas se dejaron a temperatura ambiente antes de su utilización. Una vez listas las placas fueron rotuladas con los datos de los grupos experimentales correspondientes para evitar errores durante los ensayos. Inmediatamente después se realizó la siembra del inóculo por dispersión en

superficie con hisopo estéril. Posteriormente se realizaron los pocillos con un sacabocado estéril con un diámetro de 6 mm. La cantidad de pocillos por placa fue de tres que corresponden a un grupo experimental (colutorio), el control positivo (Gluconato de clorhexidina 0,12%) y un control negativo solución salina fisiológica estéril. A cada pocillo se le incorporó 100 μ L de cada sustancia a evaluar con ayuda de una micropipeta de rango variable. Una vez culminada la inoculación y la incorporación de las sustancias antimicrobianas, las placas fueron colocadas invertidas en la estufa microbiológica a 36 °C durante 24 horas para su posterior lectura de resultados. Los resultados se obtuvieron a partir de la medición de los halos de inhibición formados alrededor de los pocillos de los colutorios orales comerciales evaluados. La medición se realizó con un vernier calibrador universal mecánico de la marca “Starrett”.

3.6. Método de análisis de datos

Los resultados obtenidos fueron tabulados en el programa Excel y analizados en el paquete estadístico Spss v.26. Se obtuvieron datos promedios y la desviación estándar. Para determinar la normalidad de los datos se ejecutó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. A los datos normales se realizó análisis paramétrico con ANOVA unidireccional. La comparación de las medias de los resultados y su significación estadística fue determinada mediante análisis post hoc de Tukey con un nivel de confianza del 95%.

3.7. Aspectos éticos

En la presente investigación se respetaron las normas establecidas en los manuales de bioseguridad del laboratorio de Microbiología y Laboratorio clínico de la Universidad César Vallejo, filial Piura. Así mismo se realizó una correcta eliminación de residuos sólidos y líquidos biocontaminados para evitar el riesgo de exposición de otras personas según las recomendaciones de la organización mundial de la salud (OMS) y del Ministerio de Salud

(MINSA). Para ellos todo material o residuo contaminado fue esterilizado en autoclave antes de su eliminación.^{75, 76}

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de tres colutorios bucales comerciales y un control positivo sobre *S. mutans* ATCC 25175.

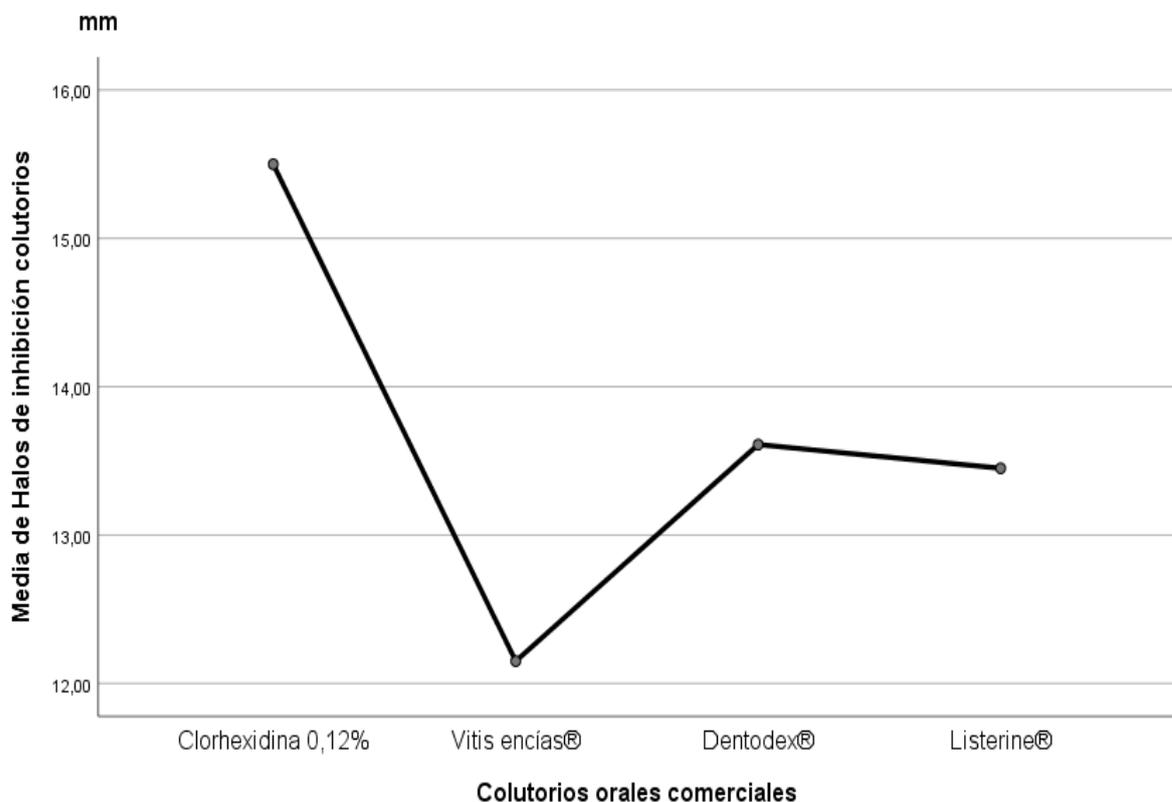
(I) Colutorios orales comerciales	(J) Colutorios orales comerciales	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.
Clorhexidina 0,12%	Vitis encías®	3,35000*	0,25209	0,000
	Dentodex®	1,89000*	0,25209	0,000
	Listerine®	2,05000*	0,25209	0,000
Vitis encías®	Clorhexidina 0,12%	-3,35000*	0,25209	0,000
	Dentodex®	-1,46000*	0,25209	0,000
	Listerine®	-1,30000*	0,25209	0,000
Dentodex®	Clorhexidina 0,12%	-1,89000*	0,25209	0,000
	Vitis encías®	1,46000*	0,25209	0,000
	Listerine®	,16000	0,25209	0,920
Listerine®	Clorhexidina 0,12%	-2,05000*	0,25209	0,000

Vitis encías®	1,30000*	0,25209	0,000
Dentodex®	-,16000	0,25209	0,920

Fuente: Análisis estadístico de datos

En la tabla 1 muestra la comparación del efecto antibacterianos de 3 colutorios bucales y un control positivo clorhexidina 0,12% sobre *S. mutans* ATCC 25175 mediante la prueba de Tukey. Se observa que no existe diferencia significativa entre los colutorios Listerine® y Dentodex®, lo que indicaría que ambos presentan el mismo efecto antibacteriano. Sin embargo, si existe diferencia estadísticamente significativa de todos los colutorios evaluados, respecto al control positivo ($p < 0.005$).

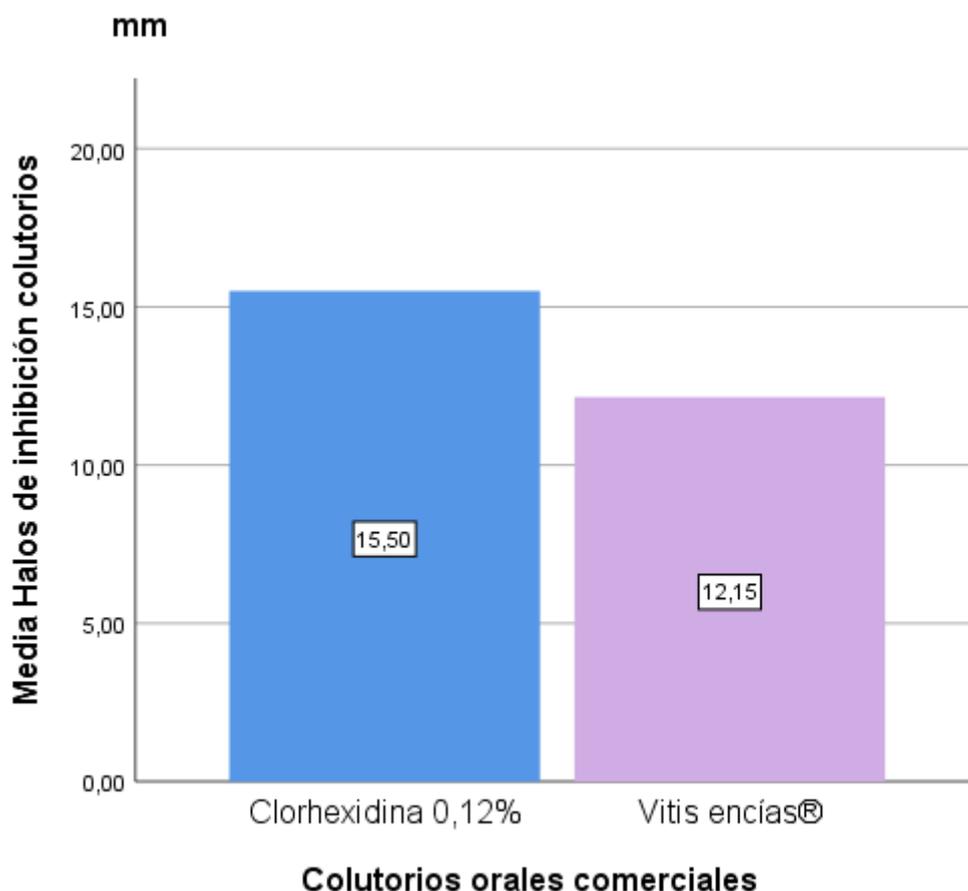
Figura 1. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de tres colutorios bucales comerciales y un control positivo gluconato de clorhexidina 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Fuente: Análisis de datos.

La Figura 1 muestra la gráfica de comparación de medias de los halos de inhibición en mm de los colutorios bucales evaluados sobre sobre *S. mutans* ATCC 25175. Se aprecia que el control positivo Clorhexidina al 0,12% formó el mayor halo de inhibición ($15,5\pm 0,54$ mm), seguido del colutorio Dentodex® ($13,61\pm 0,57$) y Listerine® ($13,45\pm 0,45$) que presentan estadísticamente el mismo efecto ($p>0.005$). Se observa que el colutorio Vitis encías® fue el que presentó menor efecto antibacteriano con halo de inhibición promedio de $12.15\pm 0,68$ mm.

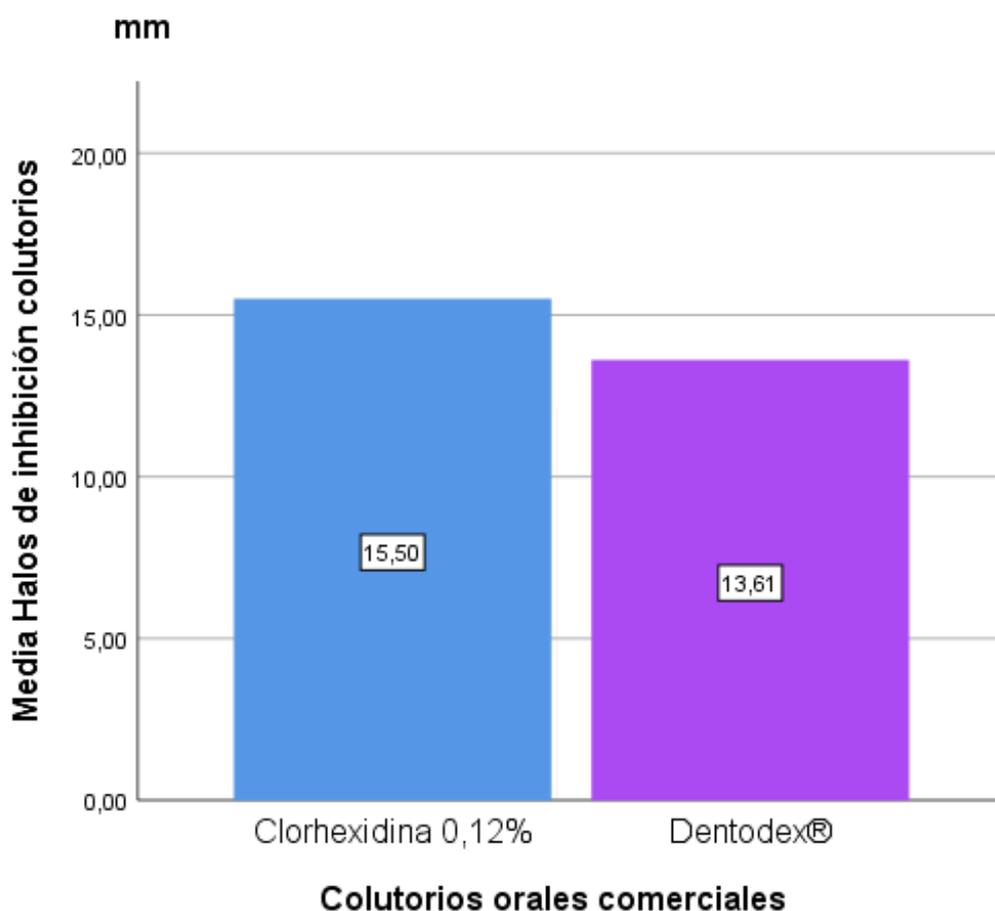
Figura 2. Efecto antibacteriano *in vitro* del colutorio bucal comercial Vitis encías® y del control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Fuente. Base de datos.

La Figura 2 muestra el efecto antibacteriano del colutorio bucal comercial Vitis encías® comparado con el control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% expresado mediante la media del diámetro de las zonas de inhibición. Se aprecia que la zona de inhibición promedio del colutorio Vitis encías® fue de 12,15 mm menor al alcanzado por el control positivo que fue 15,50 mm.

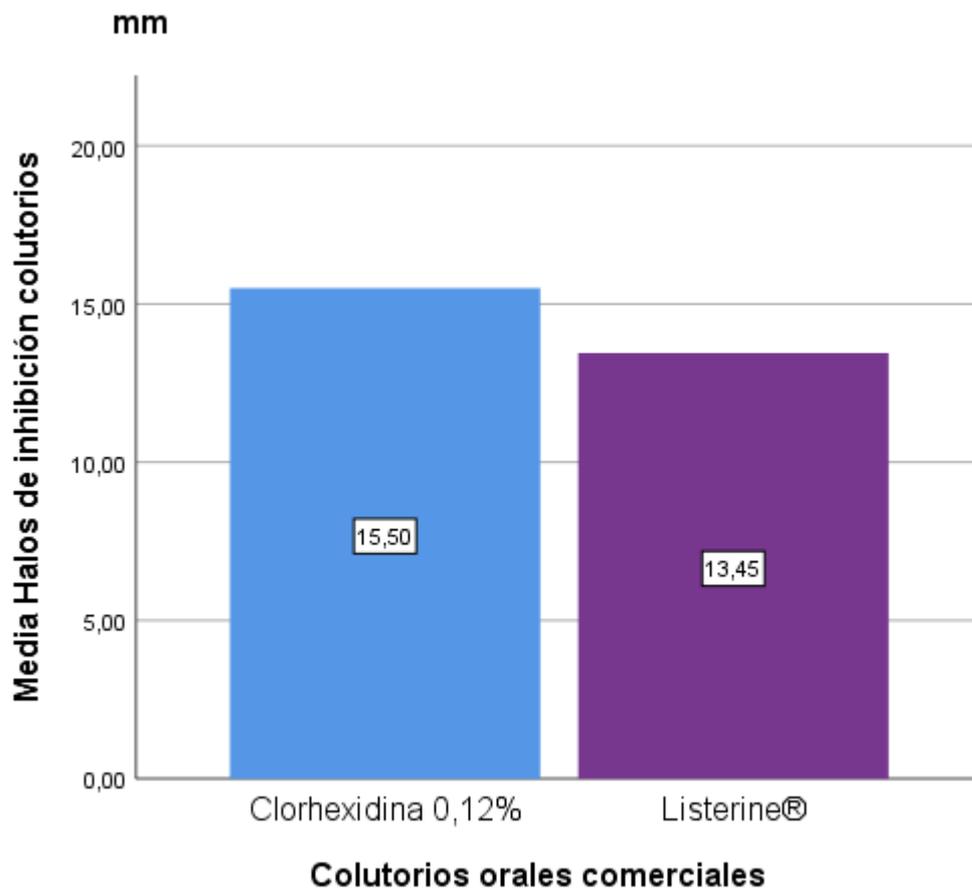
Figura 3. Efecto antibacteriano *in vitro* del colutorio bucal comercial Dentodex® y del control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Fuente. Base de datos.

La Figura 3 muestra el efecto antibacteriano del colutorio bucal comercial Dentodex® comparado con el control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% expresado mediante la media del diámetro de las zonas de inhibición. Se aprecia que la zona de inhibición promedio del colutorio Dentodex® fue de 13,61 mm pero no logró superar al alcanzado por el control positivo que fue 15,50 mm.

Figura 4. Efecto antibacteriano *in vitro* del colutorio bucal comercial Listerine® y del control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Fuente. Base de datos.

La Figura 4 muestra el efecto antibacteriano del colutorio bucal comercial Listerine® comparado con el control positivo gluconato de clorhexidina 0,12% expresado mediante la media del diámetro de las zonas de inhibición. Se aprecia que la zona de inhibición promedio del colutorio Listerine® fue de 13,45 mm pero no logró superar al alcanzado por el control positivo que fue 15,50 mm.

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se evaluó el efecto antibacteriano de tres colutorios orales comerciales frente a una cepa estándar de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el método de difusión en pozo de agar. Este método permite la medición de zonas de inhibición alrededor del pozo que viene a ser el área de difusión de los antimicrobianos que para la presente investigación fueron los colutorios Vitis encías®, Dentodex®, Listerine® y un control positivo Gluconato de clorhexidina 0,12%. El diámetro promedio de los halos de inhibición reportados fueron; para Vitis encías® $12,15 \pm 0,68$ mm, para Dentodex® $13,61 \pm 0,57$, para Listerine® $13,45 \pm 0,45$ y para clorhexidina (Control positivo) fue $15,50 \pm 0,54$ mm. El análisis estadístico pos-hoc de Tukey mostró que no existe diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre el efecto antibacteriano de los colutorios Dentodex® y Listerine® por tanto tenían el mismo efecto. Sin embargo si hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tres colutorios cuando se compararon con el control positivo Gluconato de clorhexidina 0,12% pero ninguno de los efectos antibacteriano logrados por los tres colutorios logró igualar o superar el efecto producido por la clorhexidina.

Se ha establecido que la concentración mínima bactericida (CMB) de la clorhexidina es 128 µg/mL⁷⁷ lo cual es equivalente a 0,128 mg/mL y dicha concentración es ampliamente superada por el 0,12% (Equivalente a 1200 mg/mL) del producto evaluado como control positivo. Es por ello que se tomó como patrón que el efecto antibacteriano alcanzado por la clorhexidina al 0,12% correspondía a un efecto bactericida. En ese sentido, Nardi, et al²², evaluaron la eficacia *in vitro* de los comerciales Ialozon Blu® (IB) con aceite de oliva ozonizado, y Ialozon Rose® (IR), con aceite de oliva ozonizado, ácido hialurónico y vitamina E. Reportaron que ambas formulaciones mostraron la misma actividad antimicrobiana contra *S. mutans*, con halos de inhibición promedio de 16,5 mm para IB y de 18 mm para IR. Estos resultados permiten enunciar que la incorporación de una sustancia antimicrobiana adicional a la formulación de los colutorios orales no siempre garantiza el incremento del potencial antimicrobiano pues como podemos ver, los promedios de halos de inhibición reportados por Nardi et al, no son muy diferentes a los encontrados en la presente investigación, aun cuando estos preparados tenían aceites esenciales y ozono, dos sustancias antimicrobianas conocidas ampliamente.

Por otra parte, Moein, et al²³ compararon el efecto antimicrobiano *in vitro* de un colutorio de té verde y Listerine sobre *S. mutans* con el de clorhexidina al 0,12% y Listerine-Zero. Reportaron que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos ($p < 0,001$); así mismo establecieron que los tres colutorios bucales inhibieron significativamente el crecimiento de *S. mutans* sin embargo, la clorhexidina al 0,12% fue el colutorio más eficaz ($p < 0,004$) y su efecto supero a las otras dos preparaciones. Estos resultados se relacionan con los obtenidos en la presente investigación, pues también se reporta que el mayor efecto antibacteriano fue ocasionado por la Clorhexidina y a pesar que los tres colutorios evaluados mostraron efectividad antibacteriana no lograron superar el efecto del control positivo. Esta semejanza en los resultados se fundamentaría en que los componentes antibacterianos presentes en los colutorios evaluados por Moein, et al²³ fueron ingredientes de dos de los colutorios evaluados en el presente estudio.

Al respecto, Abu-Obaid, et al²⁴, compararon los efectos antimicrobianos *in vitro* de enjuagues bucales a base de mezcla de hierbas, a base de arándano, de digluconato de clorhexidina, de extracto de arándano + digluconato de clorhexidina, de digluconato de clorhexidina + alcohol utilizado como control positivo contra *S. mutans* ATCC 25175. Reportando que los enjuagues bucales de la mezcla de hierbas genero una halo promedio de inhibición de 36.38 mm, el colutorio de arándano formó un halo de 36.25 mm, el colutorio de arándano rojo + clorhexidina un halo de 26.13 mm, la clorhexidina un halo de inhibición promedio de 17.75 mm y finalmente el control positivo un halo de inhibición de 12.38 mm. Estos resultados difieren de los obtenidos en la presente investigación si comparamos los diámetros de halos de inhibición con los alcanzados por los colutorios evaluados en el presente estudio, aún así, nos permite entender que el efecto antibacteriano de la clorhexidina expresado en diámetro de halos de inhibición es relativamente constante pues su valor fue cercano al obtenido en el presente estudio (15.50 mm). Como se puede apreciar también, los extractos vegetales provenientes de plantas con potencial antibacteriano logran potenciar el efecto de la clorhexidina y sería una alternativa a futuro a ser considerada más constantemente en la producción de colutorios y otros productos de uso bucal.

Precisamente al respecto, Malvania, et al²⁵ determinaron la actividad antibacteriana del extracto de raíz de regaliz sobre *S. mutans* en comparación con un colutorio bucal con clorhexidina y fluoruro, considerando a estos últimos como controles positivos. Reportaron que el colutorio bucal con clorhexidina generó halos promedios de inhibición de 23 mm, el colutorio con flúor halos de inhibición de 14,2 mm, el extracto acuoso de raíz de regaliz halo de inhibición promedio de 15,8 mm y el extracto etanólico zonas de inhibición de 22,4 mm contra *S. mutans*. Establecieron que el extracto etanólico tenía un potencial antibacteriano semejante al de la clorhexidina. Estos resultados difieren de los obtenidos en la presente investigación, principalmente en lo relacionado al diámetro promedio de los halos de inhibición que se obtuvo con la clorhexidina pues muestran halos superiores a los obtenidos en el presente estudio. Esto pudo deberse a la diferencia de concentración de la clorhexidina, pues en el estudio de Malvania, et al²⁵, se utilizó clorhexidina al 0,2 % mientras que en el presente estudio se empleó clorhexidina a la concentración de 0,12 %.

Así mismo, Elgamily, et al³¹ evaluaron la eficacia antibacteriana *in vitro* de tres colutorios orales, uno formulado a base de una formulación general, otro que incluía los aditivos probiótico-zamzam y un tercero de marca comercial con hexitol como principio activo contra *S. mutans*. Reportaron que el enjuague bucal experimental probiótico mostró un aumento significativo en la zona de inhibición (halo inhibición promedio de 18,8 mm) en comparación al enjuague bucal comercial (halo de inhibición promedio de 12,7 mm). Estos resultados difieren a los obtenidos en el presente estudio. Cabe recalcar que el hexitol utilizado como componente en el control positivo de este estudio es una mezcla obtenida a partir de la clorhexidina más ácido clorhídrico, quizá esta mezcla pudo interferir en la potencia del efecto antibacteriano del control positivo toda vez que *S. mutans* es una bacteria acidofílica y acidúrica, y quizá pudo sobrevivir por más tiempo a la naturaleza ácida de esta mezcla.

Por su parte, Dadpe, et al³² determinaron la eficacia antibacteriana de diferentes concentraciones del aceite de *Trachyspermum ammi* contra cinco bacterias orales incluida *S. mutans* MTCC 497. Utilizaron clorhexidina como control positivo. Reportaron que la CMI del extracto de *T. ammi* fue 250 µg/mL para *S. mutans* con un halo de inhibición promedio de 18.60 mm. Mientras que la clorhexidina también a 250 µg/mL generó un halo de inhibición promedio de 16.20 mm. Estos resultados se relacionan con los obtenidos en el presente estudio respecto al control positivo pues ambos halos son muy cercanos. Como se había mencionado anteriormente, si no existe una variación en la concentración de la clorhexidina ni en el microorganismo, su efecto antibacteriano de tipo bactericida es constante. Y esto se fundamenta también con los resultados reportados por Shafiq, et al³³, Sudheer, et al³⁸ y Mruthyuenjaya, et al⁴⁰ quienes evaluaron los efectos de varios colutorios orales contra patógenos orales incluido *S. mutans*. Reportaron que los colutorios que tenían como principio activo antimicrobiano al clorhidrato de bencidamina más gluconato de clorhexidina, gluconato de clorhexidina y triclosán más peróxido de hidrógeno, inhibieron completamente a *S. mutans*. Esto también fue confirmado por Haghgoo, et al³⁴, George, et al³⁵ y Pathan, et al³⁷ quienes mientras comparaban los efectos antibacterianos de diferentes concentraciones de extractos vegetales y el colutorio bucal de clorhexidina al 0,2% sobre *S. mutans*

reportaron que dichos extractos presentaban efecto antibacteriano pero que no lograron superar al efecto producido por la clorhexidina que fue significativamente superior.

Como se ha podido observar, la mayoría de estudios destacan que los colutorios comerciales o preparados mediante formulaciones caseras si bien es cierto presentan actividad antibacteriana sobre diversos microorganismos de interés estomatológico no logran superar el efecto antibacteriano de tipo bactericida producido por Gluconato de clorhexidina a sus concentraciones de 0,12 %, 0,2% y 2 %. Así como lo demostró Müller, et al³⁶ quienes evaluaron la actividad antimicrobiana de doce enjuagues bucales reportando que aquellos enjuagues bucales que contenían clorhexidina al 0,2% muestran una fuerte actividad antimicrobiana.

VI. CONCLUSIONES

1. Se comparó el efecto antibacteriano in vitro de tres colutorios orales comerciales sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 estableciéndose que los colutorios Dentodex® y Listerine® presentan el mismo efecto antibacteriano y no existe diferencia estadísticamente significativa entre ellos, sin embargo todos fueron diferentes al control gluconato de clorhexidina al 0,12% y no superaron su efecto antibacteriano.
2. Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del colutorio oral vitis encías® sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 estableciéndose que es de tipo bactericida pero no supera al control clorhexidina al 0,12%.
3. Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del colutorio bucal dentodex® sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 estableciéndose que es de tipo bactericida pero no supera al control clorhexidina al 0,12%.
4. Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del colutorio bucal listerine® sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 estableciéndose que es de tipo bactericida pero no supera al control clorhexidina al 0,12%.

VII. RECOMENDACIONES

1. Tamizar todos los colutorios orales que se comercializan en territorio peruano y evaluar su efecto antibacteriano en relación al (los) tipos de principios activos que contengan a fin de esclarecer si cumplen la función de control microbiano.
2. Evaluar todos los colutorios orales sobre distintos grupos microbianos según su interés en los procesos patológicos bucales, por ejemplo sobre bacterias cariogénicas y bacterias periodontopatógenos.
3. Evaluar el grado de toxicidad de los colutorios orales que se comercializan en territorio peruano, pues se ha visto que el efecto antibacteriano es dependiente de la concentración del antimicrobiano y si esta concentración es elevada en el colutorio podría ser tóxica para el ser humano.
4. Evaluar la efectividad antibacteriana de todos los colutorios que se comercializan en territorio peruano pero a nivel de modelos de boca artificial o in vivo mediante estudios clínicos pues se sabe que el efecto in vitro no siempre se repite a nivel in vivo y se podría estar garantizando un efecto obtenido a nivel in vitro y que no es real en condiciones in vivo. Por ello los modelos artificiales nos acercarán un poco más a la realidad.

REFERENCIAS

1. Dörfer C, Benz C, Aida J, Campard G. The relationship of oral health with general health and NCDs: a brief review. *Int Dent J* [Internet]. 2017 [Citado 01 Feb 2021]; 67(2):14-18. Disponible en: doi: 10.1111/idj.12360.
2. Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, Daly B, Venturelli R, Mathur MR, et al. Oral diseases: a global public health challenge. *Lancet* [Internet]. 2019 [Citado 01 Feb 2021]; 394(10194):249-260. Disponible en: doi: 10.1016/S0140-6736(19)31146-8.
3. Rathee M, Sapra A. Dental Caries. 2020 Jun 3. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [Citado 01 Feb 2021]; Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31869163/>
4. Bowen WH. Dental caries - not just holes in teeth! A perspective. *Mol Oral Microbiol* [Internet]. 2016 [Citado 01 Feb 2021]; 31(3):228-33. Disponible en: doi: 10.1111/omi.12132.
5. Kanzow P, Wegehaupt FJ, Attin T, Wiegand A. Etiology and pathogenesis of dental erosion. *Quintessence Int* [Internet]. 2016 [Citado 01 Feb 2021]; 47(4):275-8. Disponible em: doi: 10.3290/j.qi.a35625.

6. Chaffee BW, Rodrigues PH, Kramer PF, Vítolo MR, Feldens CA. Oral health-related quality-of-life scores differ by socioeconomic status and caries experience. *Community Dent Oral Epidemiol* [Internet]. 2017 [Citado 01 Feb 2021]; 45(3):216-224. Disponible en: doi: 10.1111/cdoe.12279.
7. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome. *Arch Microbiol* [Internet]. 2018 [Citado 01 Feb 2021]; 200(4):525-540. Disponible en: doi: 10.1007/s00203-018-1505-3.
8. Cugini C, Shanmugam M, Landge N, Ramasubbu N. The Role of Exopolysaccharides in Oral Biofilms. *J Dent Res* [Internet]. 2019 [Citado 01 Feb 2021]; 98(7):739-745. Disponible en: doi: 10.1177/0022034519845001.
9. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2018 [Citado 01 Feb 2021]; 16(12):745-759. Disponible en: doi: 10.1038/s41579-018-0089-x.
10. Hong J, Whelton H, Douglas G, Kang J. Consumption frequency of added sugars and UK children's dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* [Internet]. 2018 [Citado 01 Feb 2021]; 46(5):457-464. Disponible en: doi: 10.1111/cdoe.12413.
11. Reis ACM, Regis WFM, Rodrigues LKA. Scientific evidence in antimicrobial photodynamic therapy: An alternative approach for reducing cariogenic bacteria. *Photodiagnosis Photodyn Ther* [Internet]. 2019 [Citado 01 Feb 2021]; 26:179-189. Disponible en: doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.03.012.
12. Thomson WM, Broder HL. Oral-Health-Related Quality of Life in Children and Adolescents. *Pediatr Clin North Am* [Internet]. 2018 [Citado 01 Feb 2021]; 65(5):1073-1084. Disponible en: doi: 10.1016/j.pcl.2018.05.015.
13. Bandara HMHN, Panduwawala CP, Samaranayake LP. Biodiversity of the human oral mycobiome in health and disease. *Oral Dis* [Internet]. 2019 [Citado 01 Feb 2021]; 25(2):363-371. Disponible em: doi: 10.1111/odi.12899.
14. Digel I, Kern I, Geenen EM, Akimbekov N. Dental Plaque Removal by Ultrasonic Toothbrushes. *Dent J (Basel)* [Internet]. 2020 [Citado 01 Feb 2021]; 8(1):28. Disponible em: doi: 10.3390/dj8010028.

15. Qiu W, Zhou Y, Li Z, Huang T, Xiao Y, Cheng L, et al. Application of Antibiotics/Antimicrobial Agents on Dental Caries. *Biomed Res Int* [Internet]. 2020 [Citado 01 Feb 2021]; 2020:5658212. Disponible en: doi: 10.1155/2020/5658212.
16. Coll PP, Lindsay A, Meng J, Gopalakrishna A, Raghavendra S, Bysani P, et al. The Prevention of Infections in Older Adults: Oral Health. *J Am Geriatr Soc* [Internet]. 2020 [Citado 01 Feb 2021]; 68(2):411-416. Disponible en: doi: 10.1111/jgs.16154.
17. Coelho ASEC, Paula ABP, Carrilho TMP, da Silva MJRF, Botelho MFRR, Carrilho EVVF. Chlorhexidine mouthwash as an anticaries agent: A systematic review. *Quintessence Int* [Internet]. 2017 [Citado 01 Feb 2021]; 48(7):585-591. Disponible en: doi: 10.3290/j.qi.a38353.
18. Bescos R, Ashworth A, Cutler C, Brookes ZL, Belfield L, Rodiles A, et al. Effects of Chlorhexidine mouthwash on the oral microbiome. *Sci Rep* [Internet]. 2020 [Citado 01 Feb 2021]; 10(1):5254. Disponible en: doi: 10.1038/s41598-020-61912-4.
19. Baena-Santillán ES, Piloni-Martini J, Santos-López EM, Gómez-Aldapa CA, Rangel-Vargas E, Castro-Rosas J. Comparison of the Antimicrobial Activity of *Hibiscus sabdariffa* Calyx Extracts, Six Commercial Types of Mouthwashes, and Chlorhexidine on Oral Pathogenic Bacteria, and the Effect of *Hibiscus sabdariffa* Extracts and Chlorhexidine on Permeability of the Bacterial Membrane. *J Med Food* [Internet]. 2021 [Citado 01 Feb 2021]; 24(1):67-76. Disponible en: doi: 10.1089/jmf.2019.0273.
20. Aydin M, Dericci MÇ, Keskek SO, Demir YI, Yeler D. Instant and freshness effect of mouth rinses on type 1 (oral) halitosis. *Acta Odontol Latinoam* [Internet]. 2019 [Citado 01 Feb 2021]; 32(2):79-87. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31664298/>
21. Takenaka S, Ohsumi T, Noiri Y. Evidence-based strategy for dental biofilms: Current evidence of mouthwashes on dental biofilm and gingivitis. *Jpn Dent Sci Rev* [Internet]. 2019 [Citado 01 Feb 2021]; 55(1):33-40. Disponible en: doi: 10.1016/j.jdsr.2018.07.001.

22. Nardi GM, Fais S, Casu C, Mazur M, Di Giorgio R, Grassi R, et al. Mouthwash Based on Ozonated Olive Oil in Caries Prevention: A Preliminary In-Vitro Study. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2020 [Citado 01 Feb 2021]; 17(23):9106. Disponible en: doi: 10.3390/ijerph17239106.
23. Moein N, Alavi F N, Salari A, Mojtahedi A, Tajer A. Effect of Listerine Mouthwash with Green Tea on the Inhibition of Streptococcus Mutans: A Microbiologic Study. *Pesqui. Bras Odontopediatria Clín Integr* [Internet]. 2020 [Citado 01 Feb 2021]; 20: e5477. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/pboci.2020.106>.
24. Abu-Obaid E, Salama F, Abu-Obaid A, Alanazi F, Salem M, Auda S. Comparative Evaluation of the Antimicrobial Effects of Different Mouthrinses against Streptococcus Mutans: An in Vitro Study. *J Clin Pediatr Dent* [Internet]. 2019 [Citado 01 Feb 2021]; 43(6):398-407. Disponible en: doi: 10.17796/1053-4625-43.6.7.
25. Malvania EA, Sharma AS, Sheth SA, Rathod S, Chovatia NR, Kachwala MS. In Vitro Analysis of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) Root Extract Activity on Streptococcus mutans in Comparison to Chlorhexidine and Fluoride Mouthwash. *J Contemp Dent Pract* [Internet]. 2019 [Citado 01 Feb 2021]; 20(12):1389-1394. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32381838/>
26. Cantore S, Ballini A, Mori G, Dibello V, Marrelli M, Mirgaldi R, et al. Anti-plaque and antimicrobial efficiency of different oral rinses in a 3-day plaque accumulation model. *J Biol Regul Homeost Agents* [Internet]. 2016 [Citado 01 Feb 2021]; 30(4):1173-1178. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28078871/>
27. James P, Worthington HV, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2017 [Citado 01 Feb 2021]; 3(3):CD008676. Disponibl en: doi: 10.1002/14651858.CD008676.pub2.
28. Steinsapir KD, Woodward JA. Chlorhexidine Keratitis: Safety of Chlorhexidine as a Facial Antiseptic. *Dermatol Surg* [Internet]. 2017 [Citado

- 01 Feb 2021]; 43(1):1-6. Disponible en: doi: 10.1097/DSS.0000000000000822.
29. Brookes ZLS, Bescos R, Belfield LA, Ali K, Roberts A. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. *J Dent* [Internet]. 2020 [Citado 01 Feb 2021]; 103:103497. Disponible en: doi: 10.1016/j.jdent.2020.103497.
30. Ernst CP, Canbek K, Dillenburger A, Willershausen B. Clinical study on the effectiveness and side effects of hexetidine and chlorhexidine mouthrinses versus a negative control. *Quintessence Int* [Internet]. 2005 [Citado 01 Feb 2021]; 36(8):641-52. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16161468/>
31. Elgamily H, Mosallam O, El-Sayed H, Mosallam R. Antibacterial effectiveness of probiotic-based experimental mouthwash against cariogenic pathogen: An in vitro study. *Eur J Dent* [Internet]. 2018 [Citado 01 Feb 2021]; 12(1):7-14. Disponible en: doi: 10.4103/ejd.ejd_253_17.
32. Dadpe MV, Dhore SV, Dahake PT, Kale YJ, Kendre SB, Siddiqui AG. Evaluation of antimicrobial efficacy of *Trachyspermum ammi* (Ajwain) oil and chlorhexidine against oral bacteria: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* [Internet]. 2018 [Citado 01 Feb 2021]; 36(4):357-363. Disponible en: doi: 10.4103/JISPPD.JISPPD_65_18.
33. Shafiq HB, Amin U, Nawaz S. Comparative analysis of various antimicrobial agents present in locally available mouthwashes against oral pathogens. *Pak J Pharm Sci* [Internet]. 2018 [Citado 01 Feb 2021]; 31(5):1881-1887. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30150184/>
34. Haghgoo R, Mehran M, Zadeh HF, Afshari E, Zadeh NF. Comparison Between Antibacterial Effect of Chlorhexidine 0.2% and Different Concentrations of *Cyperus rotundus* Extract: An In vitro Study. *J Int Soc Prev Community Dent* [Internet]. 2017 [Citado 01 Feb 2021]; 7(5):242-246. Disponible en: doi: 10.4103/jispcd.JISPCD_157_17.
35. George DE, Shetty R, Shetty PJ, Gomes LA. An In vitro Study to Compare the Effect of Different Types of Tea with Chlorhexidine on

- Streptococcus mutans. J Clin Diagn Res [Internet]. 2017 [Citado 01 Feb 2021]; 11(9):ZC05-ZC07. Disponible en: doi: 10.7860/JCDR/2017/26581.10538.
36. Müller HD, Eick S, Moritz A, Lussi A, Gruber R. Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of Oral Rinses In Vitro. Biomed Res Int [Internet]. 2017 [Citado 01 Feb 2021]; 2017:4019723. Disponible en: doi: 10.1155/2017/4019723.
37. Pathan MM, Bhat KG, Joshi VM. Comparative evaluation of the efficacy of a herbal mouthwash and chlorhexidine mouthwash on select periodontal pathogens: An in vitro and ex vivo study. J Indian Soc Periodontol [Internet]. 2017 [Citado 01 Feb 2021]; 21(4):270-275. Disponible en: doi: 10.4103/jisp.jisp_382_16.
38. A. Sudheer , NVV Satya Bhushan , U. Siva Kalyan , Kho Chai Chiang y S. Prameela. To evaluate the antimicrobial efficacy of six mouthwashes against staphylococcus aureus and streptococcus mutans? In invitro study. Int J Adv Res [Internet]. 2017 [Citado 05 Feb 2021]; 5(3): 2275-2280. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/3752>
39. Luls HS, Luis LS, Bernardo M. In vitro study of the effect of an essential oil and a delmopinol mouth rinse on dental plaque bacteria. Indian J Dent Res [Internet]. 2016 [Citado 05 Feb 2021]; 27(6):648-651. Disponible en: doi: 10.4103/0970-9290.199602.
40. Mruthyuenjaya RK, Venugopal S, Sateesh CP, Bennadi D, Renushree B V. Antimicrobial efficacy of commercially available mouthrinses: An in vitro study. J Indian Assoc Public Health Dent [Internet]. 2016 [Citado 05 Feb 2021]; 14:463-8. Disponible en: <https://www.jiaphd.org/text.asp?2016/14/4/463/195841>
41. Jin LJ, Lamster IB, Greenspan JS, Pitts NB, Scully C, Warnakulasuriya S. Global burden of oral diseases: emerging concepts, management and interplay with systemic health. Oral Dis [Internet]. 2016 [Citado 05 Feb 2021]; 22(7):609-19. Disponible en: doi: 10.1111/odi.12428.
42. Soofi M, Pasdar Y, Karami Matin B, Hamzeh B, Rezaei S, Kazemi Karyani A, et al. Socioeconomic-related inequalities in oral hygiene behaviors: a

- cross-sectional analysis of the PERSIAN cohort study. *BMC Oral Health* [Internet]. 2020 [Citado 05 Feb 2021]; 20(1):63. Disponible en: doi: 10.1186/s12903-020-1036-6.
43. Kaur P, Singh S, Mathur A, Makkar DK, Aggarwal VP, Batra M, et al. Impact of Dental Disorders and its Influence on Self Esteem Levels among Adolescents. *J Clin Diagn Res* [Internet]. 2017 [Citado 05 Feb 2021]; 11(4):ZC05-ZC08. Disponible en: doi: 10.7860/JCDR/2017/23362.9515.
44. Twetman S. Prevention of dental caries as a non-communicable disease. *Eur J Oral Sci* [Internet]. 2018 [Citado 05 Feb 2021]; 126 Suppl 1:19-25. Disponible en: doi: 10.1111/eos.12528.
45. Hujoel PP, Lingström P. Nutrition, dental caries and periodontal disease: a narrative review. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2017 [Citado 05 Feb 2021]; 44 (18):S79-S84. Disponible en: doi: 10.1111/jcpe.12672.
46. Sharma R, Singh NN, Sreedhar G. Dermatoglyphic findings in dental caries and their correlation with salivary levels of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* in school-going children in and around Moradabad. *J Oral Maxillofac Pathol* [Internet]. 2018 [Citado 05 Feb 2021]; 22(3):360-366. Disponible en: doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_110_18.
47. Machineni L. Effects of biotic and abiotic factors on biofilm growth dynamics and their heterogeneous response to antibiotic challenge. *J Biosci* [Internet]. 2020 [Citado 05 Feb 2021]; 45:25. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32020907/>
48. Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, Green D, Lavery D, Dietrich T. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis - a comprehensive review. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2017 [Citado 05 Feb 2021]; 44 (18):S94-S105. Disponible en: doi: 10.1111/jcpe.12677.
49. Meier T, Deumelandt P, Christen O, Stangl GI, Riedel K, Langer M. Global Burden of Sugar-Related Dental Diseases in 168 Countries and Corresponding Health Care Costs. *J Dent Res* [Internet]. 2017 [Citado 05 Feb 2021]; 96(8):845-854. Disponible en: doi: 10.1177/0022034517708315.

50. Antunes JL, Toporcov TN, Bastos JL, Frazão P, Narvai PC, Peres MA. Oral health in the agenda of priorities in public health. *Rev Saude Publica* [Internet]. 2016 [Citado 05 Feb 2021]; 50:57. Disponible en: doi: 10.1590/S1518-8787.2016050007093.
51. Mosaddad SA, Tahmasebi E, Yazdanian A, Rezvani MB, Seifalian A, Yazdanian M, et al. Oral microbial biofilms: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2019 [Citado 05 Feb 2021]; 38(11):2005-2019. Disponible en: doi: 10.1007/s10096-019-03641-9.
52. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2019 [Citado 05 Feb 2021]; 7(1):10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018. Disponible en: doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018.
53. Fischman SL. The history of oral hygiene products: how far have we come in 6000 years? *Periodontol* [Internet]. 2000. 1997 [Citado 05 Feb 2021]; 15:7-14. Disponible en: doi: 10.1111/j.1600-0757.1997.tb00099.x.
54. Cortelli J Ro, Thénoux R E. The effect of mouthrinses against oral microorganisms. *Braz. oral res* [Internet]. 2007 [Citado 05 Feb 2021]; 21(spe): 23-28. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S1806-83242007000500005>.
55. Chye RML, Perrotti V, Piattelli A, Iaculli F, Quaranta A. Effectiveness of Different Commercial Chlorhexidine-Based Mouthwashes After Periodontal and Implant Surgery: A Systematic Review. *Implant Dent* [Internet]. 2019 [Citado 05 Feb 2021]; 28(1):74-85. Disponible en: doi: 10.1097/ID.0000000000000854.
56. Alshehri FA. The use of mouthwash containing essential oils (LISTERINE®) to improve oral health: A systematic review. *Saudi Dent J* [Internet]. 2018 [Citado 05 Feb 2021]; 30(1):2-6. Disponible en: doi: 10.1016/j.sdentj.2017.12.004.
57. Okuda K, Adachi M, Iijima K. The efficacy of antimicrobial mouth rinses in oral health care. *Bull Tokyo Dent Coll* [Internet]. 1998 [Citado 05 Feb 2021]; 39(1):7-14. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9663026/>

58. O'Mullane DM, Baez RJ, Jones S, Lennon MA, Petersen PE, Rugg-Gunn AJ, et al. Fluoride and Oral Health. *Community Dent Health* [Internet]. 2016 [Citado 05 Feb 2021]; 33(2):69-99. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27352462/>
59. Ortega KL, Rech BO, El Haje GLC, Gallo CB, Pérez-Sayáns M, Braz-Silva PH. Do hydrogen peroxide mouthwashes have a virucidal effect? A systematic review. *J Hosp Infect* [Internet]. 2020 [Citado 05 Feb 2021]; 106(4):657-662. Disponible en: doi: 10.1016/j.jhin.2020.10.003.
60. Rösing CK, Cavagni J, Gaio EJ, Muniz FWMG, Ranzan N, Oballe HJR, et al. Efficacy of two mouthwashes with cetylpyridinium chloride: a controlled randomized clinical trial. *Braz Oral Res* [Internet]. 2017 [Citado 05 Feb 2021]; 31:e47. Disponible en: doi: 10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0047.
61. Khanjani Pour-Fard-Pachekenari A, Rahmani A, Ghahramanian A, Asghari Jafarabadi M, Onyeka TC, Davoodi A. The effect of an oral care protocol and honey mouthwash on mucositis in acute myeloid leukemia patients undergoing chemotherapy: a single-blind clinical trial. *Clin Oral Investig* [Internet]. 2019 [Citado 05 Feb 2021]; 23(4):1811-1821. Disponible en: doi: 10.1007/s00784-018-2621-9.
62. Haps S, Slot DE, Berchier CE, Van der Weijden GA. The effect of cetylpyridinium chloride-containing mouth rinses as adjuncts to toothbrushing on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg* [Internet]. 2008 [Citado 05 Feb 2021]; 6(4):290-303. Disponible en: doi: 10.1111/j.1601-5037.2008.00344.x.
63. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 9552081, Chlorhexidine gluconate; [Citado 05 Feb 2021]; Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorhexidine-gluconate>
64. Claffey N. Essential oil mouthwashes: a key component in oral health management. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2003 [Citado 05 Feb 2021]; 30(5):22-4. Disponible en: doi: 10.1034/j.1600-051x.30.s5.8.x.

65. Sykes LM, Comley M, Kelly L. Availability, indications for use and main ingredients of mouthwashes in six major supermarkets in Gauteng. *S Afr dent j* [Internet]. 2016 [Citado 05 Feb 2021]; 71(7): 308-313. Disponible en: http://www.scielo.org.za/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0011-85162016000700006&lng=en.
66. Claffey N. Essential oil mouthwashes: a key component in oral health management. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2003 [Citado 05 Feb 2021]; 30(5):22-4. Disponible en: doi: 10.1034/j.1600-051x.30.s5.8.x.
67. Moroz J, Kurnatowski P. The in vitro activity of selected mouthrinses on standard strains of fungi. *Ann Parasitol* [Internet]. 2017 [Citado 05 Feb 2021]; 63(4):331-339. Disponible en: doi: 10.17420/ap6304.120.
68. Ardizzoni A, Pericolini E, Paulone S, Orsi CF, Castagnoli A, Oliva I, Strozzi E, Blasi E. In vitro effects of commercial mouthwashes on several virulence traits of *Candida albicans*, viridans streptococci and *Enterococcus faecalis* colonizing the oral cavity. *PLoS One* [Internet]. 2018 [Citado 05 Feb 2021]; 13(11):e0207262. Disponible en: doi: 10.1371/journal.pone.0207262.
69. Moroz J, Kurnatowska AJ, Kurnatowski P. The in vitro activity of selected mouthrinses on the reference strains of *Trichomonas tenax* and *Entamoeba gingivalis*. *Ann Parasitol* [Internet]. 2019 [Citado 05 Feb 2021]; 65(3):257-265. Disponible en: doi: 10.17420/ap6503.208.
70. Díaz VP, Calzadilla A. Artículos científicos, tipos de investigación y productividad científica en las ciencias de la salud. *Rev Cienc Salud*. [Internet]. 2016 [citado el 05 Feb 2021]; 14(1): 115-121. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/recis/v14n1/v14n1a11.pdf>
71. Vetter TR. Fundamentals of Research Data and Variables: The Devil Is in the Details. *Anesth Analg* [Internet]. 2017 [citado el 05 Feb 2021]; 125(4):1375-1380. Disponible en: doi: 10.1213/ANE.0000000000002370.
72. Yousefimanesh H, Amin M, Robati M, Goodarzi H, Otoufi M. Comparison of the Antibacterial Properties of Three Mouthwashes Containing Chlorhexidine Against Oral Microbial Plaques: An in vitro Study. *Jundishapur J Microbiol*

- [Internet]. 2015 [citado el 05 de Feb 2021]; 8(2):e17341. Disponible en: doi: 10.5812/jjm.17341.
73. Li J, Xie S, Ahmed S, Wang F, Gu Y, Zhang C, Chai X, Wu Y, Cai J, Cheng G. Antimicrobial Activity and Resistance: Influencing Factors. *Front Pharmacol* [Internet]. 2017 [citado el 05 de Feb 2021]; 8:364. Disponible en: doi: 10.3389/fphar.2017.00364.
74. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th Edición. CLSI. [citado 05 Feb 2021]. 2018;1-296. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/free-resources/access-our-free-resources/>
75. Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. Tercera Edición. OMS. [citado 05 Feb 2021]. 2005;1-223. Disponible en: https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf
76. Ministerio de Salud Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos de Bioseguridad en Laboratorios de Ensayo, Biomédicos y Clínicos. Tercera Edición. Cepredim. [citado 05 Feb 2021]. 2005; 1-109. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1669.pdf>
77. Oosterwaal PJ, Mikx FH, van den Brink ME, Renggli HH. Bactericidal concentrations of chlorhexidine-digluconate, amine fluoride gel and stannous fluoride gel for subgingival bacteria tested in serum at short contact times. *J Periodontal Res* [Internet]. 1989 [citado 20 Feb 2021]; 24(2):155-60. Disponible en: doi: 10.1111/j.1600-0765.1989.tb00871.x.

ANEXOS

ANEXO 1

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADORES	ESCALA
Efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> .	Capacidad que presentan algunas sustancias químicas o biológicas de impedir el desarrollo de bacterias de forma temporal (efecto bacteriostático) o permanente (efecto bactericida). ⁷³	Diámetro en mm de halos de inhibición del crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 por acción de los colutorios orales.	Halo de inhibición en mm	0 mm = Sin efecto < 10 mm = Efecto bacteriostático ≥ 11 mm = Efecto bactericida	De razón
Colutorios orales comerciales	Producto terapéutico en formulación acuosa generalmente viscosa empleado de forma tópica para el tratamiento de enfermedades orales. ⁷²	Colutorios orales en su presentación comercial de vitis encías®, dentodex® y listerine®.	Marcas comerciales	Vitis encías® Dentodex® Listerine®.	Nominal

ANEXO 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



SCIENCE EXPERIMENT
Research Laboratory

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

REPETICIONES	HALOS DE INHIBICIÓN EN mm				
	Vitis encías®	Dentodex®	Listerine®	Clorhexidina	SSFE
1	11,9	14,1	13,4	15,5	0
2	12,5	12,8	12,8	16,2	0
3	12,7	12,6	13,2	14,9	0
4	13,0	13,5	14,1	15,3	0
5	11,3	14,2	13,5	16,1	0
6	12,4	13,4	13,5	15,8	0
7	11,8	14,2	13,4	16,0	0
8	10,9	13,9	14,2	15,6	0
9	12,2	14,0	12,9	14,9	0
10	12,8	13,4	13,5	14,7	0

Rubi J. Espinola Aguirre
Biólogo Microbiólogo
C.B.P 8258



SCIENCE EXPERIMENT
Research Laboratory

Av. La Marina # 1326 Int. 2 Urb. La Perla Trujillo. Telf. 983771019

ANEXO 3

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

La muestra en investigaciones experimentales se traduce al cálculo de unidades de ensayo, mediante la siguiente fórmula:

$$n = \frac{w - w^2 \cdot Z_{\beta} + 1,4 \cdot Z_{\alpha}^2}{w^2}$$

$$n = \frac{0.80 - 0.80^2 \cdot 0.842 + 1,4 \cdot 1.96^2}{0.80^2}$$

$$n = \frac{0.80 - 0.64 \cdot 0.842 + 1,4 \cdot 3.8416}{0.64}$$

$$n = \frac{0.80 - 0.53888 + 5.37824}{0.64}$$

$$n = 9$$

Dónde:

n: Número mínimo de repeticiones presentes en el estudio.

Z α : Valor designado al nivel de confianza.

Z β : Valor designado al valor estadístico.

W: La diferencia mínima observable.

Siendo, Z α = 1.96; Z β = 0.842 y W = 0.80 (80%). Si sustituimos los valores en la fórmula se obtiene como resultado 9; número de repeticiones necesarias.


Estadística
Docente : Jc. Miguel Ángel Rincón Espinoza
LICENCIADO EN ESTADÍSTICA
COESPE N° 1035

ANEXO 4

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Estadísticos descriptivos			
GRUPOS	N	Media	Desv. estandar
Halo de inhibición clorexidina	10	15,500	,5375
Halo de inhibición Vitis encías®	10	12,1500	,67536
Halo de inhibición Dentodex®	10	13,6100	,57242
Halo de inhibición Listerine®	10	13,4500	,44535
N válido (por lista)	10		

Resumen de procesamiento de casos						
GRUPOS	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	%	N	%	N	%
Halo de inhibición clorexidina	10	50,0%	10	50,0%	20	100,0%
Halo de inhibición Vitis encías®	10	50,0%	10	50,0%	20	100,0%
Halo de inhibición Dentodex®	10	50,0%	10	50,0%	20	100,0%
Halo de inhibición Listerine®	10	50,0%	10	50,0%	20	100,0%

Descriptivos			
Halo de inhibición clorexidina		Estadístico	Error estándar
Media		15,500	,1700
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	15,116	
	Límite superior	15,884	
Media recortada al 5%		15,506	
Mediana		15,550	
Varianza		,289	
Desviación estándar		,5375	
Mínimo		14,7	
Máximo		16,2	
Rango		1,5	
Rango intercuartil		1,1	
Asimetría		-,215	,687
Curtosis		-1,434	1,334
Media		12,1500	,21357
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11,6669	
	Límite superior	12,6331	
Media recortada al 5%		12,1722	
Mediana		12,3000	
Varianza		,456	
Desviación estándar		,67536	
Mínimo		10,90	
Máximo		13,00	
Rango		2,10	
Rango intercuartil		1,05	
Asimetría		-,682	,687

Curtosis		-,360	1,334
Media		13,6100	,18102
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13,2005	
	Límite superior	14,0195	
Media recortada al 5%		13,6333	
Mediana		13,7000	
Varianza		,328	
Desviación estándar		,57242	
Mínimo		12,60	
Máximo		14,20	
Rango		1,60	
Rango intercuartil		,88	
Asimetría		-,718	,687
Curtosis		-,669	1,334
Media		13,4500	,14083
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13,1314	
	Límite superior	13,7686	
Media recortada al 5%		13,4444	
Mediana		13,4500	
Varianza		,198	
Desviación estándar		,44535	
Mínimo		12,80	
Máximo		14,20	
Rango		1,40	
Rango intercuartil		,53	
Asimetría		,377	,687
Curtosis		-,073	1,334

Descriptivos								
Halos de inhibición colutorios								
Grupos	N	Media	Desv. Estandar	Desv. Error	95% del nivel de confianza de la media		Mínimo	Máximo
					Lím. Inf.	Lím. Sup.		
Clorhexidina 0,12%	10	15,50	,53748	,169	15,1155	15,8845	14,70	16,20
Vitis encías®	10	12,15	,67536	,213	11,6669	12,6331	10,90	13,00
Dentodex®	10	13,61	,57242	,181	13,2005	14,0195	12,60	14,20
Listerine®	10	13,45	,44535	,140	13,1314	13,7686	12,80	14,20
Total	40	13,67	1,32578	,209	13,2535	14,1015	10,90	16,20

Prueba de homogeneidad de varianzas				
Halos de inhibición colutorios	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	,976	3	36	,415
Se basa en la mediana	,805	3	36	,499
Se basa en la mediana y con gl ajustado	,805	3	32,297	,500
Se basa en la media recortada	,930	3	36	,436

ANOVA					
Halos de inhibición colutorios	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	57,111	3	19,037	59,912	,000
Dentro de grupos	11,439	36	,318		
Total	68,550	39			

Pruebas post hoc

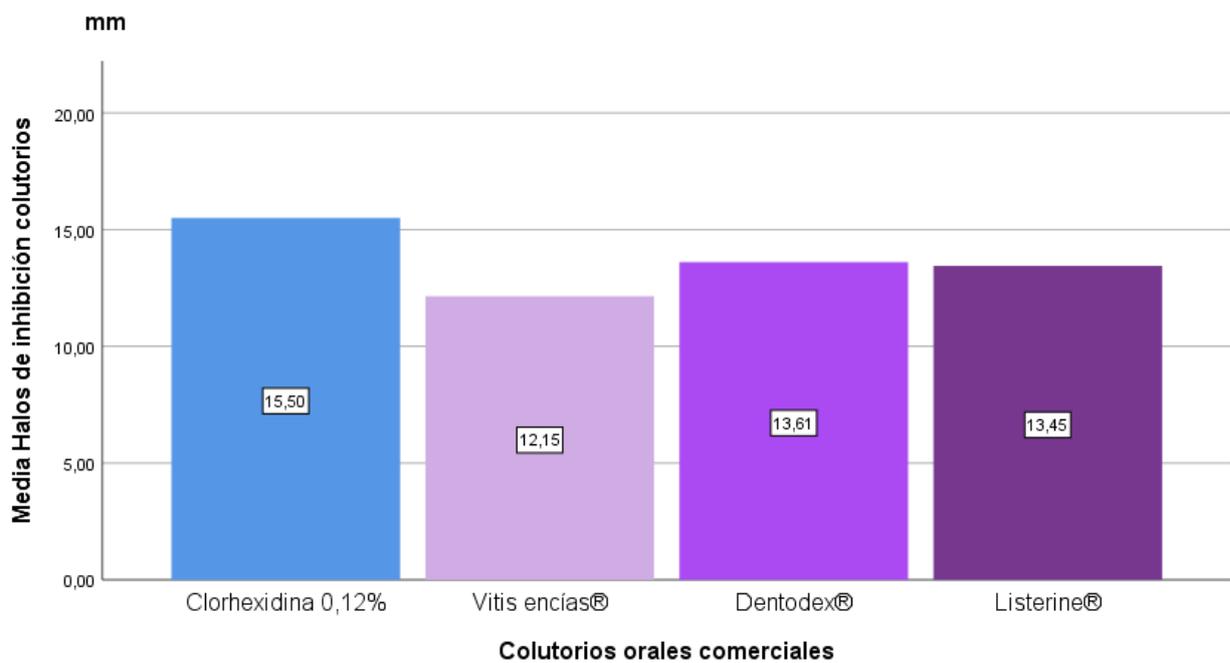
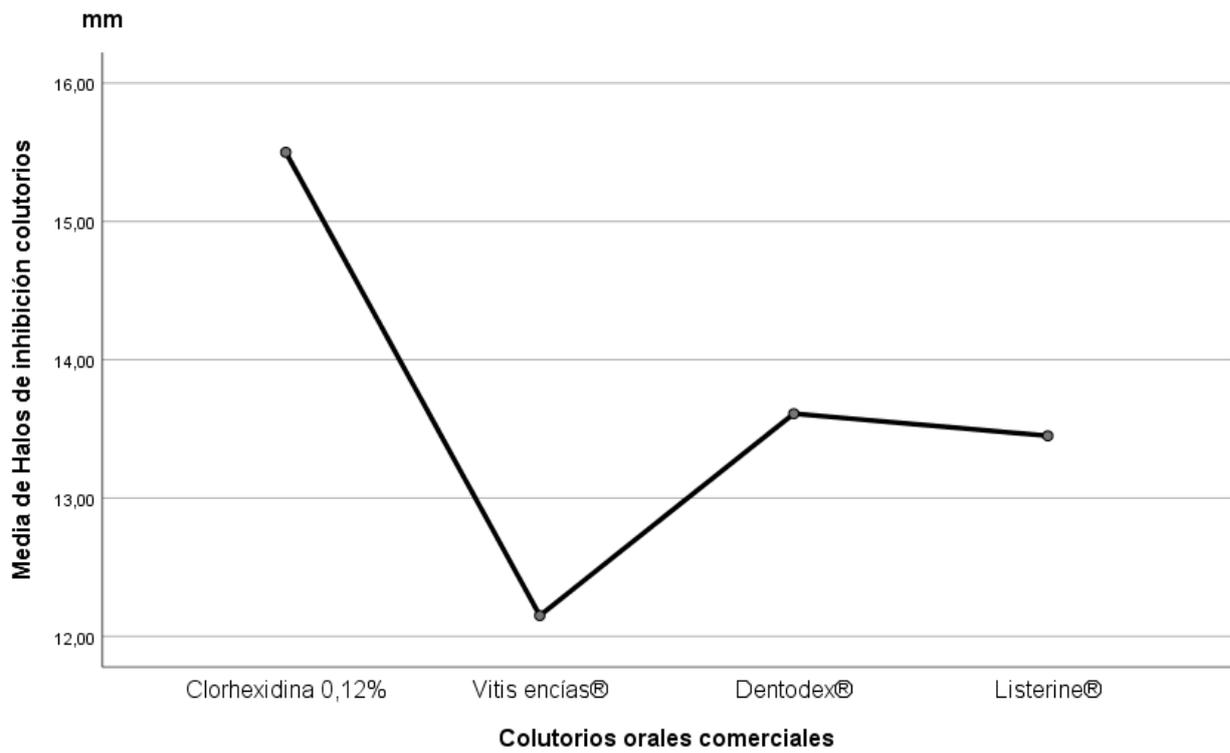
Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Halos de inhibición colutorios						
HSD Tukey						
(I) Colutorios orales comerciales	(J) Colutorios orales comerciales	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Lím. Inf.	Lím. Sup.
Clorhexidina 0,12%	Vitis encías®	3,35000*	,252	,000	2,6711	4,0289
	Dentodex®	1,89000*	,252	,000	1,2111	2,5689
	Listerine®	2,05000*	,252	,000	1,3711	2,7289
Vitis encías®	Clorhexidina 0,12%	-3,35000*	,252	,000	-4,0289	-2,6711
	Dentodex®	-1,46000*	,252	,000	-2,1389	-,7811
	Listerine®	-1,30000*	,252	,000	-1,9789	-,6211
Dentodex®	Clorhexidina 0,12%	-1,89000*	,252	,000	-2,5689	-1,2111
	Vitis encías®	1,46000*	,252	,000	,7811	2,1389
	Listerine®	,16000	,252	,920	-,5189	,8389
Listerine®	Clorhexidina 0,12%	-2,05000*	,252	,000	-2,7289	-1,3711
	Vitis encías®	1,30000*	,252	,000	,6211	1,9789
	Dentodex®	-,16000	,252	,920	-,8389	,5189

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

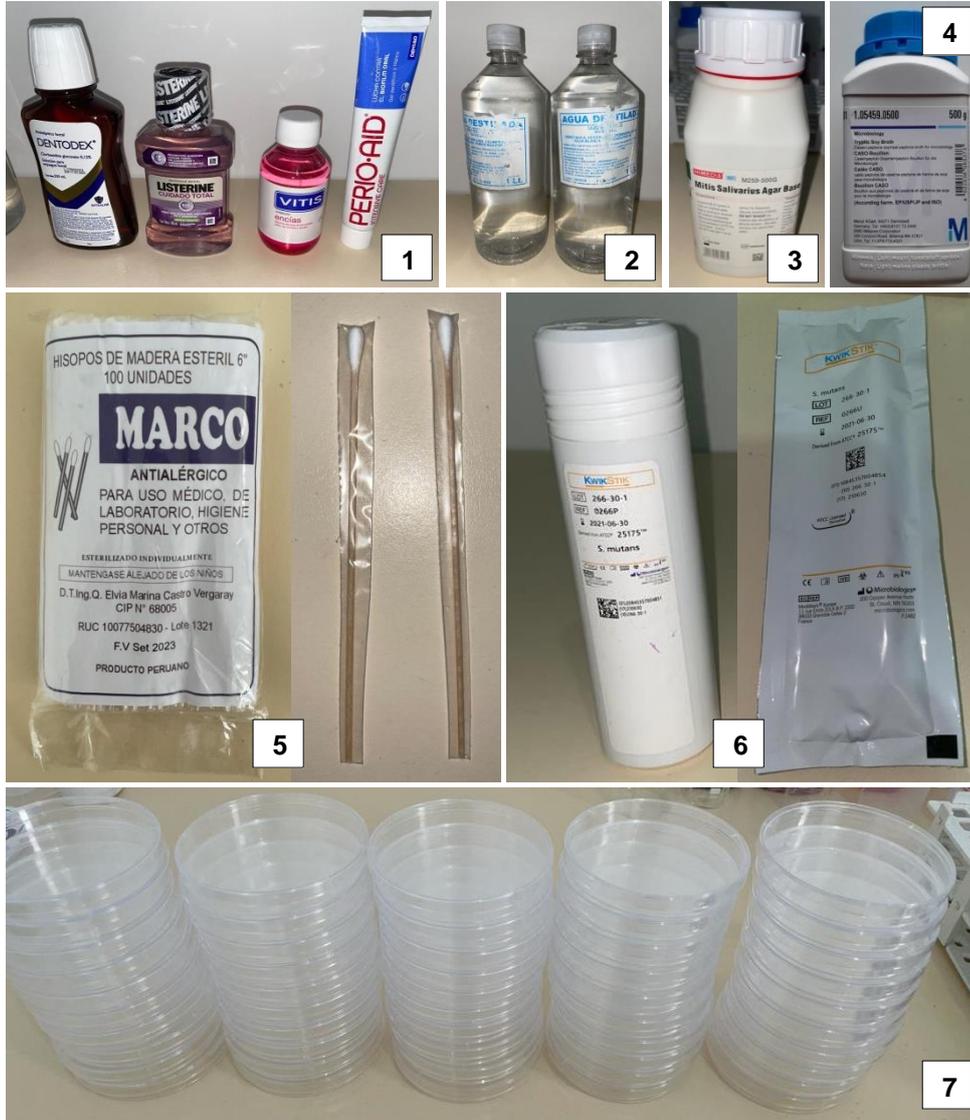
Halos de inhibición colutorios				
HSD Tukey ^a				
Colutorios orales comerciales	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Vitis encías®	10	12,1500		
Listerine®	10		13,4500	
Dentodex®	10		13,6100	
Clorhexidina 0,12%	10			15,5000
Sig.		1,000	,920	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.				

Gráficos de medias



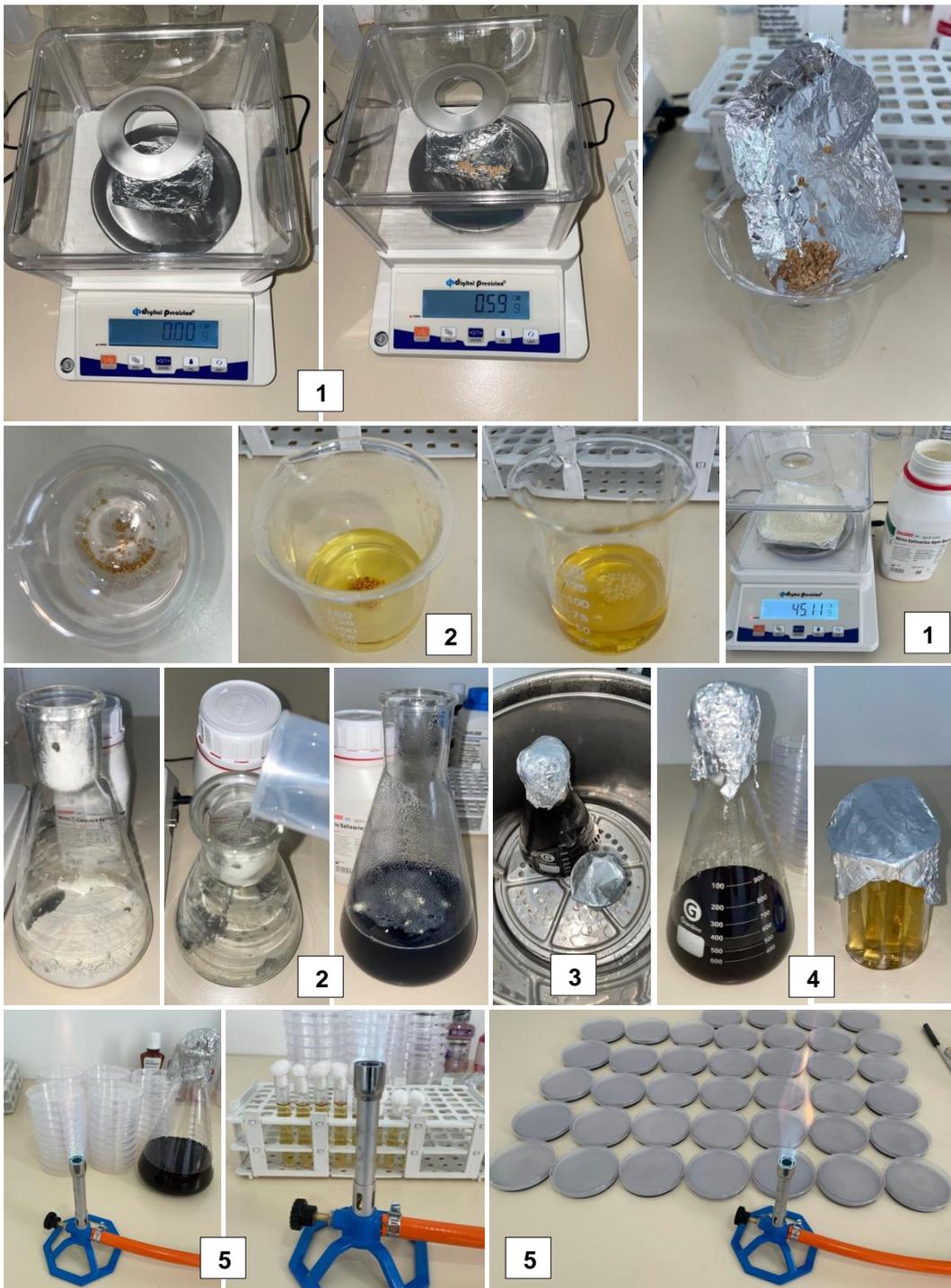
GALERÍA FOTOGRÁFICA

MATERIALES E INSUMOS



1. Colutorios orales comerciales.
2. Agua destilada.
3. Agar mitis salivarius.
4. Caldo soya-tripticasa.
5. Hisopos estériles.
6. Cepa de Streptococcus mutans ATCC 25175.
7. Placas petri de plástico estériles.

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



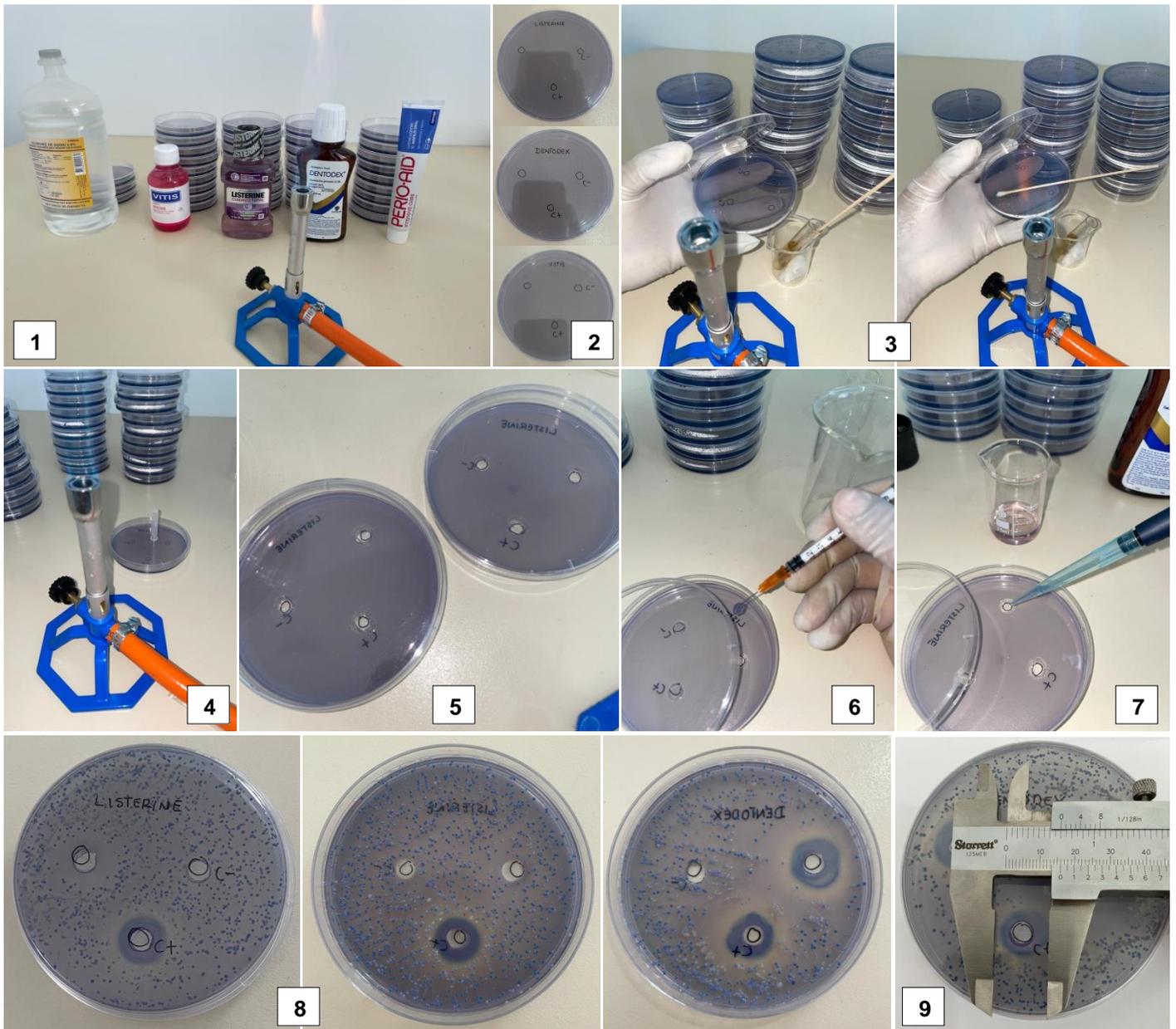
1. Pesado de medios de cultivo.
2. Hidratación de medios de cultivo.
3. Esterilización de medios de cultivo.
4. Medios de cultivo estériles.
5. Servida de medios de cultivo.

REACTIVACIÓN DE CEPA BACTERIANA



1. Cepa liofilizada de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
2. Apertura de empaque de cepa bacteriana.
3. Hidratación y sembrado de cepa en medio de cultivo líquido.
4. Incubación de cepa para reactivación.

EVALUACIÓN DE EFECTO ANTIBACTERIANO Y RESULTADOS



1. Materiales para ejecución.
2. Rotulación de placas servidas con medio de cultivo.
3. Inoculación bacteriana de placas por el método de dispersión.
4. Placa con sacabocado para pozos de agar.
5. Placas con pocillos.
6. Limpieza de pocillos de agar.
7. Incorporación de colutorio a pocillos.
8. Crecimiento de *S. mutans* y formación de halos de inhibición.
9. Medición de halos de inhibición con vernier.

ANEXO 5

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN CON ESPECIALISTA MICROBIÓLOGO



SCIENCE EXPERIMENT
Research Laboratory

CONSTANCIA

La que suscribe, **Rubi Jackeline Espinola Aguirre** identificada con **DNI N° 43303261**, Biólogo Microbiólogo, especialista en Análisis Clínico y biológicos con CBP N° 8258; hace constar que ha colaborado como microbiólogo especialista con la ejecución de la investigación titulada: **"EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE TRES COLUTORIOS ORALES COMERCIALES SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175"**, de las Srtas. **Huaman Asis Elsa** identificadas con **DNI N° 42840920** y **Jamanca Sanchez Lizzel Pamela Guadalupe con DNI N° 48006195**, egresadas de estomatología y estudiantes del Taller de Titulación para Universidades No Licenciadas de la Universidad César Vallejo. La ejecución de la investigación fue realizada del 15 al 19 de febrero del 2021 en el Laboratorio *Science Experiment E.I.R.L.*, de la Ciudad de Trujillo.

Se expide la presente a solicitud de las interesadas, para los fines que estimen conveniente.

Trujillo, 20 de febrero de 2021.

Rubi J. Espinola Aguirre

Biólogo Microbiólogo
C.B.P 8258



SCIENCE EXPERIMENT |
Research Laboratory

Av. La Marina # 1326 Int. 2 Urb. La Perla Trujillo. Telf. 983771019