

M.E. MARTHA CECILIA
GÓMEZ MONTAÑEZ

"EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE
CLORHEXIDINA EN COLUTORIOS ANTE STREPTOCOCCUS MUTANS, STAPHYLOCOCCUS
AUREUS, ENTEROCOCCUS FAECALIS. ESTUDIO IN VITRO"

2023



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Medicina

"Evaluación del efecto antibacteriano de diferentes concentraciones de clorhexidina en colutorios ante *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*. Estudio *in vitro*"

Tesis

Que como parte de los requisitos
para obtener el Diploma de la

ESPECIALIDAD EN ODONTOPEDIATRÍA

Presenta:

M.E. Martha Cecilia Gómez Montañez

Dirigido por:

C.D. E.O. Adriana Itzel Vázquez Alba

Querétaro, Qro. a Septiembre 2023

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Especialidad de Odontopediatría

“Evaluación del efecto antibacteriano de diferentes concentraciones de clorhexidina en colutorios ante *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*. Estudio *in vitro*”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de la
Especialidad en Odontopediatría

Presenta:

M.E. Martha Cecilia Gómez Montañez

Dirigido por:

C.D. E.O. Adriana Itzel Vázquez Alba

C.D.E.O. Adriana Itzel Vázquez Alba
Presidente

C.D.E.O. Claudia Mérida Ruiz
Secretario

L.O.E.O. Perla Paola Arellano Nabor
Vocal

C.D.E.O. Laura Celeste Herrera Alaniz
Suplente

Dr. En C. Rubén Abraham Domínguez Pérez
Suplente

Centro Universitario,
Querétaro, Qro. Septiembre 2023
Méxic

Resumen

Introducción: El control de placa bacteriana es el método más eficaz y sencillo para la prevención de las enfermedades bucodentales, además del control mecánico de la placa, existen inhibidores químicos, siendo el más estudiado la clorhexidina (CHX), uno de los agentes antibacterianos o antisépticos de amplio espectro más utilizados en odontología. El control de la caries y de la placa bacteriana son, entre otras, unas de las principales finalidades que se esperan del uso de un colutorio.

Objetivo: Determinar cuál colutorio induce mayores halos de inhibición, Periokin® al 0.20% o Perioxidin al 0.12% sobre *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*. **Material y métodos:** Diseño experimental *in vitro*, se utilizaron 60 discos de papel de 6mm, en cajas Petri con agar infusión cerebro-corazón, inoculados con tres cepas bacterianas, 20 expuestos a *Streptococcus mutans*, 20 a *Staphylococcus aureus*, y 20 a *Enterococcus faecalis*, de los cuales 10 discos con Periokin® al 0.20% y 10 discos con Perioxidin® al 0.12%. Se midieron los halos de inhibición para comprobar su efecto antibacteriano. Se realizó prueba estadística de Kruskal-Wallis. **Resultados:** Se obtuvo diferencia en halos de inhibición bacteriana con Periokin® al 0.20% y Perioxidin al 0.12% ante *Streptococcus mutans* <0.0001 . **Conclusiones:** La efectividad antibacteriana de los colutorios de CHX es mayor dependiendo de su concentración y las cepas bacterianas que se inhibieron.

Palabras clave: Clorhexidina, colutorios, antibacteriano, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*.

Summary

Introduction: Bacterial plaque control is the most effective and simple method for the prevention of oral diseases. In addition to mechanical plaque control, there are chemical inhibitors, where the most studied is chlorhexidine (CHX), one of the antibacterial or antiseptic agents of broad spectrum most used in dentistry. The control of cavities and bacterial plaque are, among others, one of the main purposes expected from the use of a mouthwash. **Objective:** Determine which mouthwash induces greater zones of inhibition, Periokin® at 0.20% or Perioxidin at 0.12% on *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*. **Material and methods:** *In vitro* experimental design, 60 6mm paper discs were used, in Petri dishes with brain-heart infusion agar, inoculated with three bacterial strains, 20 exposed to *Streptococcus mutans*, 20 to *Staphylococcus aureus*, and 20 to *Enterococcus faecalis*, which there were 10 discs with Periokin® at 0.20% and 10 discs with Perioxidin® at 0.12%. The inhibition zones were measured to verify its antibacterial effect. Kruskal-Wallis statistical test was performed. **Results:** A difference was obtained in bacterial inhibition zones with Periokin® at 0.20% and Perioxidin at 0.12% against *Streptococcus mutans* <0.0001. **Conclusions:** The antibacterial effectiveness of CHX mouthwashes is greater depending on its concentration and the bacterial strains that were inhibited.

Keywords: Chlorhexidine, mouthwashes, antibacterial, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*.

Dedicatorias

A mi mamá Dolores, mi ejemplo a seguir, mi incondicional y quien más me ha motivado y ayudado a cumplir cada uno de mis sueños, mi hermana Andrea por siempre escucharme y ser mi confidente, a mi abue Amparo que me guía siempre con todo lo que me enseñó en vida. A mi papá Luis que me ha enseñada a trabajar por lo que quiero.

A mi familia Montañez que me ha apoyado emocional y económicamente siempre.

A Oziel, por su amor, su ayuda para vivir esta etapa de la mejor manera y tomar decisiones asertivas.

Agradecimientos

A todos los que han formado parte de mi especialidad, en especial a mi asesora la Dra. Adry por su paciencia, sus consejos y motivación, a mi coordinadora la Dra Lau Herrera quien ha sido mi segunda madre en este tiempo, le agradezco su paciencia, su amor, consejos y cada uno de sus conocimientos compartidos.

Al Dr. Rubén por su ayuda y disposición para lograr realizar esta tesis, por facilitarnos toda la información, espacio y equipo requeridos.

A cada uno de los docentes que aportaron conocimientos y consejos de valor para mi vida profesional y personal.

A las amigas que encontré en este lugar y que estuvieron dispuestas a ayudarme, explicarme y escucharme siempre.

ÍNDICE

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de figuras	vi
I. Introducción	1
II. Antecedentes	3
III. Fundamentación teórica	8
IV. Hipótesis	12
V. Objetivos	13
V.1 General	13
V.2 Específicos	13
VI. Material y métodos	14
VI.1 Tipo de investigación	14
VI.2 Población o unidad de análisis	14
VI.3 Muestra y tipo de muestra	14
VI.3.1 Criterios de selección	15
VI.3.2 Variables estudiadas	16
VI.4 Técnicas e instrumentos	17
VI.5 Procedimientos	17
VI.5.1 Análisis estadístico	23
VI.5.2 Consideraciones éticas	23
VII. Resultados	24
VIII. Discusión	26
IX. Conclusiones	29
X. Propuestas	30
XI. Bibliografía	31
XII. Anexos	35

Índice de Figuras

Figura		Página
1	Preparación de agar infusión cerebro corazón y agar tripticasa de soya	18
2	Distribución de agar en placas de cultivo estériles	18
3	Siembra por estría de las cepas bacterianas	19
4	Discos de papel embebidos en Peroxidín®	20
5	Colocación de discos de papel en las placas	20
6	Colocación de discos de papel en las placas	20
7	Colocación en la incubadora por 24 horas	20
8	Comparación de dos placas de cada cepa bacteriana	21
9	Halos de inhibición en <i>Streptococcus mutans</i>	21
10	Halos de inhibición en <i>Staphylococcus aureus</i>	21
11	Halos de inhibición en <i>Enterococcus faecalis</i>	21

I. Introducción

La odontología moderna tiene como objetivo reducir la pérdida de la estructura dental, por lo que se centra en la prevención y el manejo temprano de las enfermedades bucodentales.

La enfermedad bucal con mayor prevalencia en población infantil es la caries, debido al reto que representa por sí solo el cepillado dental y el uso de hilo dental en estas edades tempranas. Es por esto por lo que el principal objetivo de la odontopediatría actual es lograr el control de placa dentobacteriana en los pacientes infantiles con métodos auxiliares que complementen y faciliten el esquema de higiene y prevención.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que el control de placa bacteriana es el método más eficaz y sencillo para la prevención de las enfermedades bucodentales, ya que la mayoría de estas pueden ser tratadas desde sus etapas iniciales. La ingesta abundante y continua de azúcares libres, la exposición insuficiente al flúor y la deficiente eliminación de la placa bacteriana con el cepillado dental pueden provocar caries, dolor, y en ocasiones, pérdida de dientes e infección.

Además del control mecánico de la placa, existen inhibidores químicos, donde el más estudiado es la CHX, sustancia aceptada por el Consejo de Terapéutica Dental de la ADA, y que en los seres humanos no ha presentado ninguna evidencia de actividad tóxica ni resistencia de los microorganismos bucales.

En aquellos niños que son diagnosticados como pacientes de alto o muy alto riesgo de padecer caries dental hay que considerar la necesidad de complementar las medidas preventivas habituales con la utilización de un agente quimioterapéutico antiplaca.

La CHX inició siendo un antiséptico eficaz en la medicina, después fue incorporada a la odontología siendo un antibacteriano eficaz que se puede encontrar en diversas presentaciones como barnices, geles, colutorios.

Conocer el efecto antibacteriano de dos colutorios con distintas concentraciones de CHX, al 0.12% y al 0.20%, sobre algunas de las cepas bacterianas que podemos encontrar en la cavidad oral como *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecali*, va encaminado a valorar si tiene un efecto antibacteriano favorable y si es igual o más eficaz en el caso donde el colutorio presente más alta concentración y poder ser aplicado en casos donde el índice de incidencia a caries sea mayor.

II. Antecedentes

La CHX fue desarrollada en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por científicos en un estudio contra la malaria. En ese momento los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos denominados polibisguanidas, que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para heridas de la piel, posteriormente comenzó a usarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el cirujano. En odontología se utilizó inicialmente para desinfección de la boca y en endodoncia. El estudio realizado por Løe y Schiott en 1970, demostró que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de CHX al 0.2% en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa (Bascones et al., 2006).

Es uno de los agentes antibacterianos o antisépticos de amplio espectro más utilizados en odontología. Ha demostrado ser muy eficaz en el mantenimiento del control de la placa y la gingivitis tanto a corto como a largo plazo sin desarrollar organismos resistentes en la flora oral. También se ha indicado que las soluciones de CHX se colocarán después de la preparación de la cavidad para desinfectar la dentina (de Sousa Vieira et al., 2003).

En el grupo de los antisépticos que han sido examinados, se encontró que la CHX tiene un efecto rápido (15-30 segundos) y duradero (hasta 6 horas). No se inactiva cuando se aplica sobre heridas que contengan sangre o exudados purulentos y no provoca reacciones sistémicas (Llovera, 2008).

A pesar de haber sido descubierto en la década de 1950, todavía se considera uno de los agentes antiplaca más eficaces en odontología, aunque su uso a largo plazo está limitado por su desagradable sabor, propensión a teñir los dientes y porque la administración oral de antimicrobianos durante un período prolongado puede alterar la microflora natural del tracto gastrointestinal (Pai et al., 2004).

Las soluciones de CHX, asociadas o no a fluoruro, reducen significativamente la formación de placa dental, pero no reducen los niveles de *Streptococcus mutans* a menos que sean inicialmente altos, en grupos con las condiciones presentadas en ese estudio. Ambas soluciones produjeron pigmentación dental y alteraciones en el sentido del gusto de algunos de los niños, aunque no se observaron otros efectos secundarios; por lo tanto, pueden ser recomendados por el pediatra dentista como ayuda en la reducción de la placa, en situaciones específicas (Melo et al., 2002).

Los colutorios se concibieron como preparaciones líquidas destinadas a ser aplicadas sobre los dientes y mucosa de la cavidad oral y faringe con el fin de ejercer una acción local antiséptica, astringente o calmante. El vehículo más comúnmente utilizado en los colutorios es el agua y los principios activos son numerosos, principalmente antiséptico, antibiótico, antifúngico, astringente y antiinflamatorio. El control de la caries y de la placa bacteriana son, entre otras, unas de las principales finalidades que se esperan del uso de un colutorio (Hernández et al., 2007).

Las formulaciones de CHX al 0.12% con alcohol y la del colutorio-gel de CHX al 0.1% tuvieron igual efectividad en retardar el crecimiento de placa, la de menor efectividad correspondió a la formulación de CHX al 0.10% con alcohol (Rivera et al., 2006).

En cuanto a las soluciones de CHX al 0.2% específicamente, están clasificadas como colutorios estándares en la prevención de formación de placa y desarrollo de la gingivitis, presentan algunos efectos indeseados como la coloración (café o negra) extrínseca de los dientes, mal sabor y alteraciones del sentido del gusto (en especial lo salado), cambios de sensibilidad de la lengua, y dolor por su contenido de alcohol (Addy et al., 2000).

Segreto et al. (1986) compararon la eficacia y tolerancia de gluconato de CHX de 0.20% y 0.12% frente a placebo en un estudio a tres meses. Ambas formulaciones se utilizaron dos veces al día, durante 30 segundos y en volumen de

15Mi. La dosis diaria de CHX fue pues, de 60mg (0.20% de gluconato de CHX, dos veces al día) y 36 mg, (0.12% de gluconato de CHX, dos veces al día). El resultado fue idéntico en ambas formulaciones.

Jenkins et al. (1989) compararon la eficacia y tolerancia de la CHX al 0.20% (Corsodyl®) frente a la CHX al 0.1% (Eludril®) como agentes antigingivitis y antiplaca. Los índices de placa y gingivitis aumentaron significativamente con la CHX al 0.10%; asimismo en este grupo de pacientes se produjeron escasas decoloraciones dentales. Basados en tales hallazgos, el grupo investigador concluyó que la reducida actividad antiplaca de la CHX al 0.10% se debía a una inadecuada formulación galénica de dicho principio activo.

Por otra parte, evaluando la sustentividad antimicrobiana del gluconato de CHX al 0.20%, povidona yodada al 1%, seguido de hipoclorito de sodio al 2%, y solución salina, se evidenció el mayor resultado en actividad antimicrobiana y sustentividad de la CHX al 0.20%, durante 72 horas (Valera et al., 2015).

Estudios *in vitro* concluyeron que la CHX era eficaz contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Streptococcus salivarius*, *Actinomyces viscosus* y *Spyogenes* (Jhamb et al., 2010).

Los microorganismos tienen una susceptibilidad variable a la CHX. Se encontró que los estafilococos, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* y *Escherichia coli*, tenían una alta susceptibilidad. *Streptococcus sanguis*, *intermedius* y cepas de *Proteus*, *Pseudomonas* y *Klebsiella* tenían baja susceptibilidad (Grönroos et al., 1995).

Muchas investigaciones han identificado al *Streptococcus mutans* como los principales patógenos de la caries dental. Esto se debe a que, en primer lugar, se aísla con frecuencia de lesiones cavitadas de caries; en segundo lugar, induce la formación de caries alimentado con una dieta rica en sacarosa; en tercer lugar, es altamente acidogénica y acidúrica (Takahashi et al., 2011).

El *Streptococcus mutans* está implicado en la causa de la caries, y la CHX parece ser un potente supresor de este microorganismo. Se demostró que después del uso de gel de CHX durante un período de 3 meses, *Streptococcus mutans* no pudo ser detectado (Emilson et al., 1976).

James et al. (2017) demostraron que muchos ensayos clínicos han mostrado resultados efectivos de la CHX para el manejo clínico de la placa dental, esto está respaldado por otros estudios que utilizan métodos *in vitro* y reportan resultados positivos de la CHX en la reducción de la proliferación de bacterias incluyendo *Streptococcus mutans*, que se considera el principal agente etiológico de la caries dental.

Sandhham et al. (1988) han demostrado mediante ensayos clínicos, que, en algunos individuos, es muy difícil eliminar *los Streptococcus mutans* con CHX, incluso en un período más corto y que la recolonización de las superficies orales en estos sujetos es más rápida que en aquellos individuos cuyas infecciones son fácilmente eliminadas. Esto puede deberse a factores ambientales en la cavidad oral, como los sitios retentivos que apenas se ven afectados o no por la CHX.

Los resultados *in vitro* actuales implican que las variaciones en los efectos pueden deberse a diferencias en las susceptibilidades de los *Streptococcus mutans*. Por lo tanto, en circunstancias en las que la concentración de CHX no alcanza un nivel suficiente para afectar a todos los *Streptococcus mutans*, los aislados menos susceptibles pueden verse afectados en menor medida que los más susceptibles (Grönroos et al., 1995).

Se observaron cambios en las proporciones de *Streptococcus mutans* en la flora de la placa dentobacteriana. Al final del período del uso de CHX, no se pudieron detectar colonias de *Streptococcus mutans*. Es posible que el número de *Streptococcus mutans* se redujeron en lugar de eliminarse, porque el organismo apareció de nuevo en dos sujetos después del cese del tratamiento con CHX (Emilson et al., 1976).

La CHX es un antiséptico activo ampliamente utilizado contra *Staphylococcus aureus* convencional pero su eficacia contra cepas individuales resistentes a la metilicina sigue en duda. La CHX mostró solo un efecto de eliminación mínimo (McLure et al., 1992).

Durante un estudio donde se compararon diferentes concentraciones (0.3%, 0.2%, 0.15% y 0.075%) de CHX entre intervalos de tiempo (1 min, 3 min y 5 min), la concentración del 0.3% mostró una disminución significativa en la formación de biopelículas en asociación con el tiempo. Observaron resultados similares con concentraciones de 0.2%, 0.15% y 0.075%, lo que indica que el efecto inhibitorio de CHX sobre la formación de biofilm de *Staphylococcus aureus* se ve afectado por el tiempo de exposición (Abdall et al., 2017).

Akca et al. (2016) menciona que la CHX, es un estándar de oro, por lo que fue seleccionado como una prueba antiséptica para su estudio debido a su efecto de amplio rango en varios microorganismos y su propiedad conocida como sustancialidad. La CHX fue aparentemente más eficaz en *Enterococcus faecalis* que otros agentes.

El hipoclorito de sodio y CHX mostraron una baja capacidad para eliminar *Enterococcus faecalis* cuando se evalúa mediante varias técnicas, el mismo problema ocurre cuando el hidróxido de calcio se prueba contra *Enterococcus faecalis*. El primer aspecto para considerar está relacionado con la localización de las bacterias, cuando las bacterias se alojan dentro de los túbulos dentinarios o en capas profundas, *Enterococcus faecalis* puede ser más resistente a la acción antibacteriana del hipoclorito de sodio y la CHX (Estrela et al., 2008).

Al comparar los efectos en cuanto a la capacidad de reducción de *Enterococcus faecalis*, entre hipoclorito de sodio al 2.5% y la CHX al 0.20% se evidenció un mayor efecto desinfectante del hipoclorito de sodio (Samiei et al., 2016).

III. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Placa Dentobacteriana

La placa dentobacteriana es una entidad o masa estructurada específica, adhesiva, altamente variable, que se forma por el crecimiento y colonización de microorganismos sobre la superficie de los dientes, de las restauraciones y de los aparatos protésicos y ortodóncicos. La placa dentobacteriana por sí sola no es dañina, hasta que no sea colonizada por microorganismos productores de toxinas causantes de caries o de enfermedad periodontal (Emilson et al., 1980).

A pesar de no tener efecto dañino por sí sola, la Organización Mundial de la Salud (2023) señala que la caries dental se produce cuando se forma placa en la superficie de un diente y convierte los azúcares libres (todos los azúcares agregados a los alimentos por el fabricante, el cocinero o el consumidor, más los azúcares presentes naturalmente en la miel, los jarabes y los jugos de frutas) contenidos en los alimentos y bebidas en ácidos que destruyen el diente con el tiempo.

Enjuagues bucales con CHX

Los enjuagues bucales son soluciones utilizadas para eliminar o reducir bacterias que se encuentran en la cavidad bucal, tienen un efecto terapéutico al prevenir o aliviar las enfermedades bucales, principalmente la caries dental, la gingivitis y la periodontitis (Akande et al. 2010).

La CHX es un antiséptico y desinfectante biguanídico con acción frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, anaerobios facultativos, aerobios y levaduras (Cumbreño et al., 2005). Se trata de una sustancia activa frente a un elevado número de microorganismos, bactericida de amplio espectro, no irritante, con nula capacidad de absorción (Llovera, 2008). Su acción resulta de la absorción de CHX sobre la pared celular del microorganismo, lo que ocasiona una fuga de componentes intracelulares. A bajas concentraciones de CHX, las sustancias de pequeño peso molecular, como el potasio y el fósforo, se filtrarán, ejerciendo un

efecto bacteriostático. A concentraciones más altas, la CHX es bactericida debido a la coagulación del citoplasma, y que es causada posiblemente por la reticulación de proteínas (Fardal et al., 1986).

La preparación más común es con la sal de digluconato debido a su alta solubilidad en agua (Fardal et al., 1986). El gluconato de CHX es una sal de CHX y ácido glucónico que tiene afinidad por la pared celular de los microorganismos, que está cargada negativamente, alterándola (Calsina-Gomis G et al., 2005).

Los colutorios de CHX suelen presentarse en dos concentraciones, al 0.12% y al 0.2%, la dosis total de CHX en 10 ml al 0.2 % libera 20 mg y en 15 ml al 0.12% libera 18 mg (Bascones et al., 2006).

Perioxidin®

Uno de los más recetados es Perioxidin® antiséptico bucofaríngeo al 0.12%, contiene digluconato de CHX al 0.12%, es un antiséptico microbiano, no contiene alcohol e incorpora xilitol como edulcorante, está indicado como profiláctico para inhibir la formación de la placa bacteriana, en especial, prevención de infecciones bacterianas y micóticas luego de intervenciones odontológicas, prevención de caries y halitosis y mantenimiento de higiene oral especialmente cuando no puede emplearse el cepillado. Realizar enjuague bucal con 15ml sin diluir, 2 o 3 veces por día, no ingerir alimentos ni masticar chicle por al menos media hora posterior. Su uso prolongado puede causar irritación de la mucosa, y se recomienda optar por suspenderlo. El xilitol es un alcohol de azúcar utilizado frecuentemente como edulcorante en gomas de mascar, enjuague bucal y pastas de dientes, es un sustituto natural del azúcar que no es cariogénico debido a que este no lo pueden metabolizar las bacterias orales. Además, inhibe el crecimiento y el metabolismo de *Streptococcus mutans*, por lo tanto, el recuento de este en la cavidad bucal puede disminuir (Köhler, 2007).

PerioKin®

El PerioKin® enjuague bucal al 0.20%, tiene una demostrada actividad antiplaca, está compuesto por 0.20% digluconato de CHX y 0.1% cloruro de cetilpiridinio (CPC), indicado para la higiene oral en casos de tratamientos periodontales, quirúrgicos, favorece la reducción de placa dental, cuida y protege encías, el modo de uso es realizar 2 enjuagues diarios con 10ml del producto sin diluir, por 1 minuto, sin ingerir, se recomienda no ingerir alimentos ni bebidas hasta transcurrido mínimo media hora después de su administración, el tratamiento será durante el tiempo que el dentista lo indique, por lo general de 1 a 2 semanas. El CPC o cloruro de cetilpiridinio, es un antiséptico seguro y eficaz, que ha demostrado eficacia en la disminución de determinadas bacterias, hongos y virus. Está ampliamente utilizado en pastas dentífricas y colutorios su uso limita la formación de biopelículas y la adhesión bacteriana en las superficies dentales, que puede ayudar a prevenir enfermedades orales como gingivitis, periodontitis y caries dental (Ramalingam et al. 2012).

Streptococcus mutans

Es una bacteria Gram positiva anaerobia facultativa que forma parte de la placa dentobacteriana y el biofilm dental, es asociada al inicio y desarrollo de caries. Se aísla con frecuencia de la placa dental de niños con caries en la infancia temprana (CIT) lo que sugiere que estas especies interactúan de una manera que contribuye a la patogénesis de ésta (Yang et al., 2018). En niños sanos, los microorganismos más prevalentes son *Streptococcus mutans*, *Veillonella*, *Lactobacillus* y *Actinomyces spp* (Gizani et al., 2009).

Son acidogénicos, por lo que sobreviven y se desarrollan a un pH bajo y acidúricos capaces de seguir produciendo un ácido con pH bajo, consiguen alcanzar un pH necesario para iniciar el proceso de desmineralización (Duailibe et al., 2007).

Staphylococcus aureus

Es un coco Gram positivo anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias. Las bacterias se encuentran generalmente en fosas nasales y puede transmitirse a membranas mucosas, si la piel o mucosas se rompen por trauma o cirugía *Staphylococcus aureus* que es patógeno oportunista, puede acceder al tejido provocando daño local o enfermedades de amplio espectro (Velázquez-Meza 2005).

Enterococcus faecalis

Es un Gram positivo de la microbiota, anaerobios facultativos es decir con la capacidad de crecer en presencia o ausencia de oxígeno. Los *Enterococcus* son un grupo de bacterias que habita en vías aéreas del organismo y actualmente señaladas como una de las principales causas de infecciones en los conductos radiculares. Específicamente los *Enterococcus faecalis* se encuentran asociados con la periodontitis crónica y tratamientos fallidos del conducto radicular (Wang et al., 2012). Con el advenimiento de la terapia con antibióticos, se ha convertido en un patógeno multirresistente (Van et al., 2013).

Hipótesis

IV.1 Hipótesis o supuesto

El colutorio PerioKin® al 0.20% induce mayores halos de inhibición que el Perioxidín® al 0.12% sobre *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*.

IV.2 Hipótesis nula

El colutorio PerioKin® al .20% no induce mayores halos de inhibición que el Perioxidín® al 0.12% sobre *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*.

V. Objetivos

V.1 Objetivo general

Determinar cuál colutorio induce mayores halos de inhibición, PerioKin® al 0.20% o Perioxidín al 0.12% sobre *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*.

V.2 Objetivos específicos

- Medir los halos de inhibición que induce el colutorio PerioKin® al 0.20% sobre *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*.
- Medir los halos de inhibición que induce el colutorio Perioxidín® al 0.12% sobre *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*.
- Comparar a los halos de inhibición obtenidos con el colutorio PerioKin® al 0.20% y el Perioxidín® al 0.12%.

VI. Material y métodos

VI.1 Tipo de investigación

Experimental *in vitro*.

VI.2 Población

Discos de papel de 6mm. En cajas Petri con agar infusión cerebro-corazón, inoculados con *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*.

VI.3 Tamaño de la muestra

60 discos de papel: 20 fueron expuestos a *Streptococcus mutans*, 20 a *Staphylococcus aureus*, y 20 a *Enterococcus faecalis*.

De los cuales fueron 10 discos con PerioKin® al 0.20%, 10 discos con Peroxidín® al 0.12%, (se colocó un disco de papel con cada una de las sustancias en cada caja de Petri inoculada con las diferentes bacterias).

El número de muestras fue determinado tomando en cuenta investigaciones publicadas en revistas de alto impacto como Journal of Clinical Periodontology y Pediatric Dentistry Journal (Smith et al., 1995; Wan et al., 2003).

Definición del grupo control

El grupo de control positivo fueron 10 discos de papel embebidos con hipoclorito de sodio al 5%, el control negativo fueron 10 discos de papel embebidos con solución de cloruro de sodio al 0.9%.

VI.3.1 Criterios de selección

Criterios de inclusión

Discos de papel separados al menos 5cm entre ellos.

Discos de papel totalmente embebidos en cada una de las sustancias.

Criterios de exclusión

Cajas Petri con la siembra en monocapa de manera inadecuada o que sufrieron contaminación con otros microorganismos.

Criterios de eliminación

Cajas Petri con agar infusión cerebro corazón que sufrieron algún daño físico o contaminación del medio de cultivo durante el proceso.

Cajas Petri donde no se lograron medir halos de inhibición.

VI.3.2 Definición de variables y unidades de medida

Variable dependiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Halos de inhibición	Es la zona alrededor de un disco con alguna sustancia específica, en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el microorganismo.	Midiendo con regla milimétrica en milímetros el diámetro alrededor del disco de papel en donde no se produce crecimiento bacteriano.	Cuantitativa	Continua	Milímetros

Variabiles independientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Discos de papel con PerioKin® colutorio al 0.20%	Es la muestra de papel con forma circular de 6mm embebido con colutorio al 0.20% de CHX	Serán colocados 6 microlitros de colutorio PerioKin® al 0.20% en los discos de papel.	Cualitativa	Nominal	-
Discos de papel con Peroxidín® colutorio al 0.12%	Es la muestra de papel con forma circular de 6mm embebido con colutorio al 0.12% de CHX	Serán colocados 6 microlitros de colutorio Peroxidín® al 0.12% en los discos de papel.	Cualitativa	Nominal	-

VI.4 Técnicas e instrumentos

Se colocaron 4 discos de papel de 6mm en cada caja Petri con agar infusión cerebro corazón y agar tripticasa de soya, embebidos de colutorio de CHX al 0.12%, al 0.20%, NaOCl y H₂O respectivamente, se metieron a la incubadora por 24 horas, posteriormente se tomaron fotografías de los resultados, y se analizaron con el programa ImageJ® y se registró el diámetro de cada halo de inhibición en una hoja de Excel para su posterior análisis en software estadístico.

VI.5 Procesamiento

Fase 1: Preparación de los medios de cultivo

Para *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*

- Por cada 10 cajas, se disolvieron 15.1g del polvo de infusión Cerebro Corazón y 6.45g de agar en 430ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer.
- Sobre parrilla eléctrica se calentaron con agitación frecuente y se llevaron a ebullición hasta que se disolvieron totalmente (Fig.1).
- Se esterilizaron en autoclave 15 minutos a 121°C.
- Se distribuyó en placas de cultivo estériles (Fig. 2).

Para *Streptococcus mutans*

- Por cada 10 cajas, se pesaron 10g de agar Tripticasa de soya, 2.5g de extracto de levadura, 50g de sacarosa y se le agregó 250ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer
- Sobre parrilla eléctrica se calentaron y agitaron hasta obtener la mezcla homogénea y se mantuvo ahí durante un minuto (Fig. 1).
- Se colocaron en autoclave para su esterilización durante 15 minutos a 121°C.

- Se obtuvo una mezcla estéril a la cual se agregó 1ml de Bacitracina líquida diluida.
- Se distribuyeron en placas de cultivo estériles hasta su gelificación (Fig. 2).



Fig. 1 Preparación de agar infusión cerebro corazón y agar tripticasa de soya.



Fig. 2 Distribución en placas de cultivo estériles.

Fase 2: Siembra de las cepas bacterianas

- Una vez que estuvo gelificado el agar cerebro corazón en las placas de Petri, con 2 mecheros de bunsen encendidos, se inició la siembra de cada una de las cepas a estudiar.
- Se sumergió un hisopo estéril en tubos de cultivo líquido de *Staphylococcus aureus* y se presionó contra las paredes del tubo para eliminar el exceso de líquido. Posteriormente se realizó lo mismo ahora con *Enterococcus faecalis*.
- Se realizó después la siembra directa en la superficie del agar infusión cerebro corazón por estría, girando el hisopo y la placa de Petri, para lograr la formación de una monocapa en el cultivo.
- La siembra de *Streptococcus mutans* se realizó de la misma manera que las anteriores, en cajas previamente preparadas con agar tripticasa de soya (Fig. 3).



Fig. 3 Siembra por estría de las cepas bacterianas

Fase 3: Preparación y colocación de las muestras

- Se cortaron los discos de papel con perforadora para obtener el tamaño estandarizado de 6mm y se esterilizaron.
- Se colocaron discos de papel sobre la loseta estéril formando 4 filas: en la primera fila se colocaron 20 μ L del control positivo a cada disco de papel, en la segunda 20 μ L de Perioxin® colutorio al 0.12% a cada disco de papel, en la tercera 20 μ L de PerioKin® colutorio al 0.20% a cada disco de papel, y en la cuarta fila 20 μ L del control positivo a cada disco de papel (Fig.4).
- En cada caja se colocaron 4 discos de papel, embebidos con PerioKin® colutorio al 0.20%, Perioxin® colutorio al 0.12%, el control positivo y el control negativo respectivamente. (Fig. 5 y 6).



Fig. 4 Preparación de los discos de papel



Fig. 5 y 6 Colocación de discos de papel en las placas

Fase 4: Incubación

- Una vez terminada la colocación de las muestras en cada una de las cajas, se cerraron y se colocaron en un frasco de sellado hermético.
- Se dejaron las cajas en la incubadora a una temperatura de 37°C por 24 horas (Fig. 7).



Fig. 7 Colocación en la incubadora por 24 hrs.

Fase 5: Recolección de datos

- Pasando las 24 horas se realizó la toma de fotografías individualmente a cada caja y comparativa con las 3 cepas bacterianas para la evaluación de resultados (Fig. 8, 9, 10 y 11).

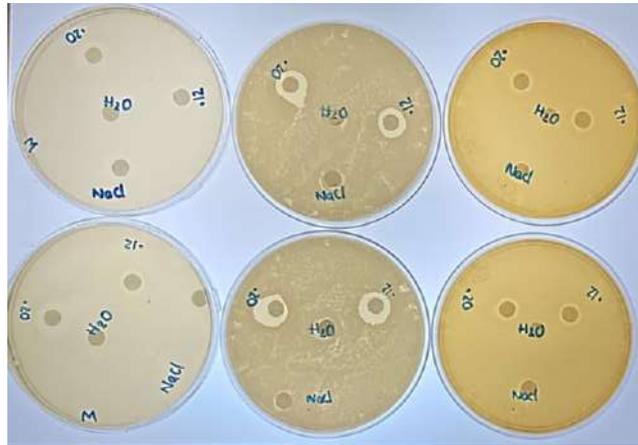


Fig. 8 Comparación de dos placas de cada cepa bacteriana

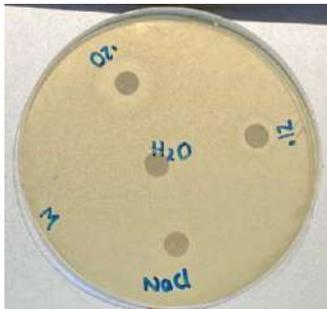


Fig. 9 Halos de inhibición en *Streptococcus mutans*



Fig. 10 Halos de inhibición en *Staphylococcus aureus*



Fig. 11 Halos de inhibición en *Enterococcus faecalis*

Medición de los halos de inhibición:

- Las fotografías tomadas después de 24 horas de la incubación de las cajas Petri, se analizaron en computadora con el programa ImageJ®
- Se recortaron las imágenes al perímetro de la caja Petri

- Se agruparon las imágenes por cepas bacterianas, se importaron una por una al programa ImageJ®.
- Se calibró cada imagen a 8-bit color y la distancia en píxeles de 20.
- Se midió el diámetro de todos los halos de inhibición en mm y se registraron los datos obtenidos en una hoja de Excel para su análisis.

Fase 6: Desecho de placas

- Posterior al análisis de resultados, las cajas Petri se sometieron a un ciclo de esterilización en autoclave a 134° por 30 minutos y enfriado por 30 minutos para su inactivación.
- Después de su inactivación, las cajas fueron desechadas siguiendo las especificaciones de la NOM-087-ECOL-SSA1-2002. Las cajas fueron selladas con cinta y colocadas en bolsas rojas de la empresa recolectora y ubicada en la zona determinada de RPBI, rotuladas con contenido, peso, fecha y persona encargada.

VI.5.1 Análisis estadístico

Se analizaron los datos de desviación estándar y rango. Se realizó la prueba estadística Kruskal-Wallis. *Post Hoc* con prueba de Dunn.

VI.5.2 Consideraciones éticas

En el presente estudio de tipo experimental *in vitro*, no se contempló la utilización de sujetos humanos ni animales, se realizó con materiales inertes de uso odontológico y cepas bacterianas.

VIII. Resultados

Después de realizar la investigación, valorando la inhibición de tres cepas bacterianas con colutorios de CHX con distinto porcentaje, se obtuvieron los siguientes resultados, posterior a la recolección de los datos obtenidos se organizó la información en una hoja de Microsoft Excel y se realizaron las siguientes tablas.

Tabla 1. Se muestran las medidas (mm) de halos de inhibición de los colutorios de CHX contra las tres cepas bacterianas.

Halos de inhibición (mm)	Colutorio CHX 0.12%	Colutorio CHX 0.20%	NaOCl 5%	H ₂ O	Valor de P
X ± DE (Rango)					
<i>Streptococcus mutans</i>	(n=9) 3.33 ± 0.75 (2.19 – 4.62)	(n=9) 5.82 ± 0.14 (3.64 – 7.95)	(n=9) 2.25 ± 1.85 (0.5 - 08)	(n=9) 0	<0.0001
<i>Staphylococcus aureus</i>	(n=10) 5.75 ± 1.11 (4.51 – 7.64)	(n=10) 7.46 ± 1.34 (6.06 – 9.75)	(n=10) 2.46 ± 1.48 (1.11 – 5.84)	(n=9) 0	<0.0001
<i>Enterococcus faecalis</i>	(n=10) 2.97 ± 1.07 (2.21 – 5.84)	(n=10) 4.59 ± 1.08 (3.16 – 5.77)	(n=10) 2.57 ± 1.06 (0 – 3.77)	(n=9) 0	<0.0001

CHX: clorhexidina; H₂O: agua; NaOCl: hipoclorito de sodio; X: promedio; DE: desviación estándar.

Prueba de Kruskal-Wallis.

La Tabla 1. presenta el promedio y desviación estándar de las variables a las 24 horas de la siembra, colocación de muestras e incubación de las cajas. Evaluando los resultados encontramos que H₂O presentó una nula inhibición ante las tres cepas bacterianas, reflejando una diferencia estadísticamente significativa a colutorio CHX 0.20% (5.82 ± 0.14) y CHX 0.12% (3.33 ± 0.75) para *Streptococcus mutans*.

El segundo resultado para *Staphylococcus aureus* el colutorio CHX 0.20% (7.46 ± 1.34) presenta una diferencia estadísticamente significativa a colutorio 0.12% (5.75 ± 1.11). El tercer resultado para *Enterococcus faecalis*, NaOCl (2.57 ± 1.06) no presenta una diferencia estadísticamente significativa con colutorio de CHX 0.12% (2.97 ± 1.07) presentando niveles muy similares de inhibición.

Tabla 2. Comparación de halos de inhibición *Post Hoc* entre grupos evaluados ante *Streptococcus mutans*.

Grupo 1	Grupo 2	Valor de P
Colutorio CHX 0.20%	H ₂ O	<0.0001
Colutorio CHX 0.20%	NaOCl 5%	<0.0001
Colutorio CHX 0.12%	H ₂ O	<0.0001
H ₂ O	NaOCl 5%	<0.0001
Colutorio CHX 0.12%	NaOCl 5%	0.0007
Colutorio CHX 0.12%	Colutorio CHX 0.20%	0.0476

CHX: clorhexidina; H₂O: agua; NaOCl: hipoclorito de sodio.

Prueba estadística de Dunn.

Tabla 3. Comparación de halos de inhibición *Post Hoc* entre grupos evaluados ante *Staphylococcus aureus*.

Grupo 1	Grupo 2	Valor de P
Colutorio CHX 0.12%	H ₂ O	<0.0001
Colutorio CHX 0.12%	NaOCl 5%	<0.0001
Colutorio CHX 0.20%	H ₂ O	<0.0001
Colutorio CHX 0.20%	NaOCl 5%	<0.0001
H ₂ O	NaOCl 5%	<0.0001
Colutorio CHX 0.12%	Colutorio CHX 0.20%	0.0164

CHX: clorhexidina; H₂O: agua; NaOCl: hipoclorito de sodio.

Prueba estadística de Dunn.

Tabla 4. Comparación de halos de inhibición *Post Hoc* entre grupos evaluados ante *Enterococcus faecalis*.

Grupo 1	Grupo 2	Valor de P
Colutorio CHX 0.12%	NaOCl 5%	<0.0001
Colutorio CHX 0.20%	NaOCl 5%	<0.0001
H ₂ O	NaOCl 5%	0.0009
Colutorio CHX 0.20%	H ₂ O	0.0004
Colutorio CHX 0.12%	Colutorio CHX 0.20%	0.0049
Colutorio CHX 0.12%	H ₂ O	0.7929

CHX: clorhexidina; H₂O: agua; NaOCl: hipoclorito de sodio

Prueba estadística de Dunn.

VIII. Discusión

En odontopediatría donde constantemente se buscan alternativas y opciones para mejorar la higiene dental y reducir nivel de placa dentobacteriana, es buena opción emplear los colutorios que complementen la higiene bucal y uno de los más efectivos son los que contienen CHX, ya que no presenta resistencia de los microorganismos bucales (Rivera et al., 2006).

Durante esta investigación donde se realizó la comparación de la efectividad antibacteriana de dos colutorios de CHX con diferentes concentraciones, al 0.12% y al 0.20%, contra tres cepas de bacterias distintas que podemos encontrar comúnmente en la boca de la población infantil, los resultados de cada una de las distintas cepas fueron diferentes entre cada una de las concentraciones y los grupos de control.

Respecto a *Streptococcus mutans* que se encuentra en la placa dentobacteriana y es el principal causante de caries (Takahashi et al., 2011), se encontró evidencia significativa en este estudio, de diferencia entre los halos de inhibición de 0.12% y 0.20%.

Mclure et al., 1992 mencionan que para *Staphylococcus aureus*, la CHX mostró solo un efecto de eliminación mínimo en algunos casos sin embargo en el presente estudio, si se encontró inhibición bacteriana para este patógeno oportunista, aunque sin diferencia evidente entre las dos distintas concentraciones.

Mientras que el *Enterococcus faecalis* que puede encontrarse en túbulos dentinarios y puede ser más resistente a la acción antibacteriana del hipoclorito de sodio y la CHX (Estrela et al., 2008). Se encontró menor diámetro de los halos de inhibición y con mismo diámetro con 0.12% y 0.20% las dos diferentes concentraciones

Los resultados aquí obtenidos concuerdan con los obtenidos por Jhamb et al. (2010) donde mencionan que en estudios *in vitro* se comprobó anteriormente que

la CHX era efectiva contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, durante esta investigación se encontró un resultado estadísticamente significativo en cuanto a la inhibición ante estas mismas bacterias ya que se observaron halos de inhibición en todas las muestras con ambas concentraciones de CHX.

Aunque se comprobó que la CHX si tiene efectividad antibacteriana ante las tres cepas que se analizaron, los resultados obtenidos durante la investigación confirman que el colutorio de CHX al 0.20% produce mayores halos de inhibición ante *Streptococcus mutans*, mientras que ante *Staphylococcus aureus*, no es constante la diferencia entre concentración de 0.12% y 0.20%, y para *Enterococcus faecalis* no hay diferencia significativa. La diferencia en la efectividad puede verse relacionada con que *Enterococcus faecalis* se ha vuelto en un patógeno multirresistente y *Staphylococcus aureus* patógeno oportunista.

Algunos factores que pueden diferir en los resultados obtenidos en la presente investigación y su efectividad en boca, es el sitio donde comúnmente se aloja cada una de las bacterias dentro de la cavidad bucal, así como la cantidad y frecuencia de uso. Pero ser de las principales cepas bacterianas que podemos encontrar, fue importante comprobar la efectividad ante cada una.

Según un estudio realizado en la facultad de odontología de Chile, al comparar concentraciones de CHX al 0.10% frente a 0.12% concluyen que la CHX al 0.10% es capaz de tener actividad antiplaca y antimicrobiana cuando es usada en colutorios, no siendo necesarias concentraciones más elevadas, lo que disminuye el riesgo de aparición de efectos adversos (Yévenes et al 2002).

Los colutorios no alcohólicos de CHX son igualmente efectivos y poseen menos riesgos potenciales que las soluciones hidroalcohólicas. Actualmente, a dichos colutorios se asocian otras sustancias como xilitol y cloruro de cetilpiridinio en un intento de mejorar su efectividad y efectos secundarios.

El método de cultivo de elección para *Staphylococcus aureus* es el agar manitol salado que permite el crecimiento de Gram positivos mientras inhibe el crecimiento de Gram negativos, durante la investigación se usó agar cerebro corazón y se obtuvieron zonas donde la siembra no se observa de manera homogénea lo cual pudo ser un factor donde los halos de inhibición se presentan irregulares.

La presente investigación es de relevancia clínica para elegir auxiliares de higiene adecuados y efectivos individualizando la elección de los colutorios en casos de pacientes para tratar y prevenir afecciones bucales como alto índice de caries, procesos infecciosos, según su edad, aceptación de sabor, el uso correcto y dosis de estos ya que nunca se ha recomendado el uso seguro a largo plazo en niños. Los ensayos clínicos también han informado el sabor de la CHX bastante inaceptable para los niños (Bansal et al., 2021).

Actualmente se recomienda que se usen una vez al día, preferiblemente después del cepillado nocturno, y su uso en niños debe ser a partir de los 6 años ya que a partir de esta edad los niños saben enjuagarse la boca sin tragar la solución (Zero 2006).

IX. Conclusiones

La efectividad antibacteriana de los colutorios de CHX es mayor dependiendo de su concentración y las cepas bacterianas que se inhibieron, para el *Streptococcus mutans* si es relevante la concentración ya que a mayor concentración se encontró mayor inhibición, mientras que para *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* se encontró una efectividad similar con 0.12% y 0.20%.

Es importante valorar el diagnóstico de cada paciente para elegir el colutorio que será efectivo según el propósito deseado, en el caso de control de placa antibacteriana, si es recomendable usar un colutorio con mayor concentración de CHX.

X. Propuestas

Propuestas para la práctica clínica:

Realizar investigación en pacientes para comprobar la efectividad clínica de CHX según las lesiones o enfermedad que pueda presentar el paciente.

Evaluar además de la disminución de placa dentobacteriana, si existe algún efecto favorable en mucosas con lesiones o infecciones pulpares.

Probar distintas presentaciones de CHX, como barniz, solución, pasta, etc., para poder elegir el que sea más conveniente según la edad y conducta del paciente.

Elegir el colutorio como auxiliar de higiene en pacientes pediátricos con alto riesgo a caries o lesiones.

Propuestas para futuras investigaciones:

Elegir métodos de cultivo adecuados para cada cepa bacteriana.

Evaluar colutorios con componentes adicionados similares.

XI. Bibliografía

- Abdall, W., & Abakar, M. (2017). Effect of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite on Staphylococcus aureus. *Journal of Prevention and Infection Control*, 1(6), 10.
- Addy, M., & Moran, J. (2000). Clinical indications for the use of chemical adjuncts-to plaque control: chlorhexidine formulations. In *Periodontology* 15; 52-4.
- Akande, O.O., Alada A.D.A., Aderinokun, G.A., Ige, A.O. (2004) Efficacy of different brands of mouth rinses on oral bacterial load count in healthy adults. *African Journal of Biomedical Research*. 7(3); 125-128.
- Bansal, S., Sharma, U., Agnihotri, A., & Kaur, A. (2021). Herbal and Chemical Mouthwashes in Pediatric Population: A Scoping Review. *Journal of South Asian Association of Pediatric Dentistry*, 4(2), 155–161.
- Bascones, A., & Morante, S. (2006). Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *AVANCES*, 18, 31–59.
- Calsina-Gomis G, Serrano-Granger J. ¿Existen realmente diferencias clínicas entre las distintas concentraciones de clorhexidina? Comparación de colutorios. *RCOE* 2005;10(4):457-464.
- Cilense, A. Z., & Fábio, A. M. (2005). Mouthwash ingestion by preschool children. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 30(1), 15–18.2
- Cumbreño, S., & Pérez, F. L. (2005). Clorhexidina 0,05% soluciónantiséptica. *OFFARM*, 24(11), 141–143.
- de Sousa, R., & Alves, I. (2003). Bond strength to primary tooth dentin following disinfection with a chlorhexidine solution: an in vitro study. *Pediatric Dentistry*, 25, 49.
- Duailibe, S. A. D. C., Gonçalves, A. G., & Ahid, F. J. M. (2007). Effect of a propolis extract on Streptococcus mutans counts in vivo. *Journal of Applied Oral Science*, 15, 420-423.
- Emilson, C. G., & Westergren, G. (1976). Effect of a fluoride-containing chlorhexidine gel on bacteria in human plaque. *Journal of Dental Research*, 84, 56–62.
- Emilson, C. G.; Bowen, W. H.; Robrish, S. A. and Kemp, C. W. Effect of the antibacterial agents octenidine and chlorhexidine on the plaque flora in primates. *Scand. Dental Res.* 1981; 89 (5): 384-392.

- Estrela, C., Silva, J. A., Gonçalves De Alencar, A. H., Leles, C. R., & Decurcio, D. A. (2008). Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus Faecalis*, a systematic review. *Journal of Applied Oral Science*. 16(6), 364-368.
- Fardal, O., & Turnbull, R. S. (1986). A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *Journal of the American Dental Association* (1939) (Vol. 112, Issue 6, pp. 863–869).
- Gizani, S., Papaioannou, W., Haffajee, A. D., Kavvadia, K., Quirynen, M., & Papagiannoulis, L. (2009). Distribution of selected cariogenic bacteria in five different intra-oral habitats in young children. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 19(3), 193–200.
- Grönroos, L., MättöJ, & Saarela, M. (1995). Chlorhexidine Susceptibilities of Mutans Streptococcal Serotypes and Ribotypes. *American Society for Microbiology*, 39(4), 894–898.
- Hegazy, S. A., & Salama, R. I. (2016). Antiplaque and remineralizing effects of Biorepair mouthwash: A comparative clinical trial. *Pediatric Dental Journal*, 26(3), 89–94.
- Hernández, C., Miralles, V., Maroto Edo, M., & Barberpia, E. (2007). Colutorios en Odontopediatría. Indicaciones, contraindicaciones, efectos secundarios, criterios de seleccion y protocolo. *Gaceta Dental*, 178, 108–125.
- Jhamb, S., Nikhil, V., & Singh, V. (2010). An in vitro study of antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* Full Text. *Indian Journal of Denral Research*, 21(4), 512–514.
- KKöhler, W. (2007). The Present State of Species within the Genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *International Journal of Medical Microbiology: IJMM* 297 (3): 133.
- Llovera, J. C. (2008). Clorhexidina: un antiséptico de nuestros tiempos. Consideraciones útiles para nuestra práctica clínica. *Revisiones*, 95–103.
- Mclure, A. R., & Gordon, J. (1992). In-vitro evaluation of povidone-iodine and chlorhexidine against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection* (Vol. 21).
- Melo, N., Borro, M. F. T., & da Silva, O. (2002). The influence of mouthrinses with antimicrobial solutions on the inhibition of dental plaque and on the levels of mutans streptococci in children. *Pesqui Odontol Bras*, 16(2), 101–106.
- Organización Mundial de la Salud. (2020, March 20). Salud bucodental. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>.

- Pai, M. R., Acharya, L. D., & Udupa, N. (2004). The effect of two different dental gels and a mouthwash on plaque and gingival scores: A six-week clinical study. *International Dental Journal*, 54(4), 219–223.
- Papaioannou, W., Gizani, S., Haffajee, A. D., & Quirynen, M. (2009). The microbiota on different oral surfaces in healthy children. *Oral Microbiology and Immunology*, 24, 183–189.
- Perinetti, G., Paolantonio, M., Cordella, C., Dercole, S., Serra, E., Piccolomini, R. (2004). Clinical and microbiological effects of subgingival administration of two active gels on persistent pockets of chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 31(4): 273-81.
- Ramalingam K, Amaechi BT, Ralph RH, Lee VA. (2012) Antimicrobial activity of nanoemulsion on cariogenic planktonic and biofilm organisms. *Arch Oral Biol*. Jan;57(1):15-22.
- Rivera, S., Yevenes, I., Reyes, J., Norero, H., & Monardes, V. (2006). Effect of chlorhexidine mouthrinses-gel on de novo plaque formation in 24 hours. *Revista Odonto Ciencia*, 21(54), 358–363.
- Samiei, M., Shahi, S., Abdollahi, A. A., Eskandarinezhad, M., Negahdari, R., & Pakseresht, Z. (2016). The antibacterial efficacy of photo-activated disinfection, chlorhexidine and sodium hypochlorite in infected root canals: An in Vitro study. *Iranian Endodontic Journal*, 11(3), 179–183.
- Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucles. (2018). *Patologías bucales resultados del sistema de vigilancia epidemiológica de SIVEPAB 2018*.
- Smith, R., Moran, J., Addy, M., Doherty, F., & Newcombe, R. (1995). Comparative staining in vitro and plaque inhibitory properties in vivo of 0.12% and 0.2% chlorhexidine mouthrinses. *Journal of Clinical Periodontology*, 22, 613–617.
- Takahashi, N., & Nyvad, B. (2011). The role of bacteria in the caries process: Ecological perspectives. In *Journal of Dental Research* (Vol. 90, Issue 3, pp. 294–303).
- Utria-Hoyos, J., Pérez-Pérez, E., Rebolledo Cobos, M., & Vargas Barreto, A. (2018). Características de las soluciones de clorhexidina al 2% y al 0,2% en preparaciones cavitarias en odontología: una revisión. *Duazary*, 15(2), 181.
- Valera, M. C., Cardoso, F. G. D. R., Chung, A., Xavier, A. C. C., Figueiredo, M. D., Martinho, F. C., & Palo, R. M. (2015). Comparison of different irrigants in the removal of endotoxins and cultivable microorganisms from infected root canals. *Scientific World Journal*, 2015, 1-6.

- Van, D., Martin, M. J., & Gilmore, M. S. (2013). Structure, function, and biology of the *Enterococcus faecalis* cytolysin. In *Toxins* (Vol. 5, Issue 5, pp. 895–911).
- Velázquez-Meza, M.E. (2005). Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. *Salud Pública México*, 47:381-7.
- Walsh, Oliveira-Neto, & Moore. (2015). Chlorhexidine treatment for the prevention of dental caries in children and adolescents. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* Vol. 2015, Issue 4.
- Wan, A. K. L., Seow, G. W. K., Purdie, D. M., Bird, P. S., & Walsh, L. J. (2003). The Effects of Chlorhexidine Gel on *Streptococcus mutans* Infection in 10-month-old Infants: A Longitudinal, Placebo-controlled, Double-blind Trial. *Pediatric Dentistry*, 25(3), 215–222.
- Wang, Q., Zhang, C., Chu, C. and Zhu X. (2012) Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. 2011, 19-23.
- Yang, C., Scoffield, J., Wu, R., Deivanayagam, C., Zou, J., & Wu, H. (2018). Antigen I/II mediates interactions between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Molecular Oral Microbiology*, 33(4), 283–291.

XI. Anexos

XI.1 Hoja de recolección de datos

Cepa	Placa	CHX 0.12%	CHX 0.20%	NaOCI 5%	H2O
<i>Strepto coccus mutans</i>	M1				
	M2				
	M3				
	M4				
	M5				
	M6				
	M7				
	M8				
	M9				
	M10				
<i>Staphyl ococcus aureus</i>	A1				
	A2				
	A3				
	A4				
	A5				
	A6				
	A7				
	A8				
	A9				
	A10				
<i>Enteroc occus faecalis</i>	F1				
	F2				
	F3				
	F4				
	F5				
	F6				
	F7				
	F8				
	F9				
	F10				

Materiales

1. Placas Petri (Senna®, 60 x 15, producto previamente estéril)
2. Agar infusión cerebro y corazón en polvo (bhi ®, Fco 500 gr)
3. Agar tripticasa de soya
4. Extracto de levadura
5. Sacarosa
6. Bicitracina líquida
7. Mechero de bunsen
8. Matraz de Erlenmeyer
9. Micropipeta
10. Discos de papel filtro de 6x6
11. Colutorio de CHX al 0.12% (Perioxidin®)
12. Colutorio de CHX al 0.20% (Periokin ®)
13. Solución salina (PiSa ®)
14. Hipoclorito de sodio 5%
15. Loleta de vidrio
16. Termómetro
17. Báscula
18. Cuchara dosificadora
19. Guantes estériles chicos
20. Guantes chicos
21. Cubrebocas
22. Campos estériles
23. Bata de algodón
24. Gasas estériles
25. Hisopos estériles
26. Lentes de protección
27. Regla milimétrica
28. Plumón indeleble
29. Jeringas hipodérmicas de 10 ml
30. Tubo de cultivo líquido con *Streptococcus mutans*
31. Tubo de cultivo líquido con *Staphylococcus Aureus*
32. Tubo de cultivo líquido con *Enterococcus Faecalis*
33. Computadora