



Universidad  
Norbert Wiener

**Facultad de Ciencias de la Salud**

“Efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de *Candida Albicans* – estudio *In Vitro* en Lima, 2022”


Tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista

Presentado por:

**Autor:** Sanchez Ugarte, Frank Cornelio

Lima, Perú

2023

 Universidad Norbert Wiener	<b>DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN</b>		
	<b>CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033</b>	<b>VERSIÓN: 01</b> REVISIÓN: 01	<b>FECHA: 08/11/2022</b>

Yo, Frank Cornelio Sanchez Ugarte egresado de la Facultad de Ciencias de la Salud y Escuela Académico Profesional de Odontología de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico **“EFECTO ANTIFÚNGICO DE LOS COLUTORIOS ORALES FRENTE A CEPA DE CANDIDA ALBICANS - ESTUDIO *IN VITRO* EN LIMA, 2022”** Asesorado por el docente Mg. CD. Esp. Marroquín García Lorenzo Enrique con N.º DNI 07634704 y código ORCID 0000-0001-9061-3270, tiene un índice de similitud de 9 (NUEVE) % verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

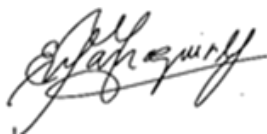
Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



.....  
 Firma de autor

Nombres y apellidos del Egresado  
 Frank Cornelio Sanchez Ugarte  
 DNI: 47901314



.....  
 Firma

Nombres y apellidos del Asesor  
 Mg. CD. Esp. Marroquín García Lorenzo Enrique  
 DNI: 07634704

Lima, 19 de marzo del 2023.

**Tesis**

Efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de *Candida*

*Albicans* - estudio *In Vitro* en Lima, 2022.

**Línea de investigación general**

Salud, Enfermedad y Ambiente

**Línea de investigación específica**

Control y prevención de enfermedades infecciosas

**Asesor**

Mg. CD. Esp. Marroquín García, Lorenzo Enrique

**Código orcid:**

0000-0001-9061-3270

**MIEMBROS DEL JURADO**

**Presidenta:** Dra. Huayllas Paredes, Betzabeth.

**Secretaria:** Dra. Araujo Farje, Jessica Jazmin.

**Vocal:** Dr. Passano Del Carpio, Sebastian  
Armando.

**Dedicatoria**

A Dios, por otorgarme el don de la vida y darme la oportunidad de vivirla junto a seres tan maravillosos, mi familia.

A mis padres, por su apoyo, comprensión y por estar conmigo en todo momento.

A mi compañera y amiga incondicional por ser mi apoyo en todo momento.

### **Agradecimiento**

A todos los docentes de la facultad de odontología, quienes me enseñaron a amar mi profesión y por motivarme a superarme día a día.

De manera muy especial al Mg. CD. Esp. Marroquín García Lorenzo Enrique, quien me acompañó en todo momento en este proceso de culminación de una etapa de mi vida.

A cada una de las personas que estuvieron conmigo a lo largo de mi formación profesional, gracias por sus consejos, apoyo constante y por todos los gratos momentos compartidos.

## Índice general

Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Índice general.....	iv
Índice de tablas .....	vi
Índice de gráficos.....	vii
Resumen... ..	viii
Abstract.....	ix
Introducción.....	X
<b>CAPÍTULO I: EL PROBLEMA .....</b>	<b>1</b>
1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Formulación del problema .....	3
1.2.1. Problema general.....	3
1.2.2. Problemas específicos.....	3
1.3. Objetivos de la investigación .....	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos .....	3
1.4. Justificación de la investigación.....	4
1.4.1. Teórica.....	4
1.4.2. Metodológica .....	4
1.4.3. Práctica .....	4
1.5. Limitaciones de la investigación .....	5
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>6</b>
2.1. Antecedentes de la investigación .....	6
2.2. Bases teóricas .....	13
2.3. Formulación de hipótesis .....	20
2.3.1. Hipótesis general.....	20
2.3.2. Hipótesis específicas .....	20
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA .....</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
<b>3.1. Método de investigación.....</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
<b>3.2. Enfoque investigativo .....</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
<b>3.3. Tipo de investigación.....</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
<b>3.4. Diseño de la investigación .....</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
<b>3.5. Población, muestra y muestreo.....</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
<b>3.6. Variables y operacionalización .....</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	23
3.7.1. Técnica .....	23
3.7.2. Descripción.....	23
3.7.3. Validación .....	23
3.7.4. Confiabilidad .....	23
3.8. Procesamiento y análisis de datos .....	27

3.9. Aspectos éticos.....	28
<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....</b>	<b>29</b>
4.1. Resultados.....	29
4.1.1. Análisis descriptivo de los resultados.....	30
4.1.2. Prueba de hipótesis.....	37
4.1.3. Discusión de resultados.....	39
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>42</b>
5.1. Conclusiones.....	42
5.2. Recomendaciones.....	42
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>50</b>
Anexo 1: Matriz de consistencia.....	51
Anexo 2: Validez del instrumento.....	52
Anexo 3: Constancia de exoneración de revisión.....	55
Anexo 4: Constancia de recolección de datos.....	56
Anexo 5: Ficha de recolección de datos.....	57
Anexo 6: Certificado de cepa <i>Candida albicans</i> ATCC® 10231™.....	60
Anexo 7: Ficha técnica de Standard de McFARLAND 0.5 Sulfato de bario.....	62
Anexo 8: Informe de ensayo microbiológico.....	63
Anexo 9: Constancia de eliminación de residuos biológicos.....	67
Anexo 10: Informe de Turnitin.....	68
Anexo 11: Informe del asesor.....	70
Anexo 12: Fotos.....	71



**Índice de tablas**

	Pág.
Tabla 1: Distribución de los grupos de estudio experimental y control de ensayos in vitro a las 24, 48 y 72 horas.	29
Tabla 2: Efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas.	30
Tabla 3: Efecto antifúngico del Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas.	31
Tabla 4: Efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas.	32
Tabla 5: Efecto antifúngico de la Anfotericina B frente a cepa de <i>Candida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas.	33
Tabla 6: Análisis de Normalidad por Shapiro Wilk ( $n < 50$ ) de los colutorios orales frente a cepa de <i>Candida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas.	34
Tabla 7: Media y desviación estándar de los halos de inhibición (mm) de colutorios orales en estudio frente a cepa de <i>Candida albicans</i> .	35
Tabla 8: Media y desviación estándar de los halos de inhibición (mm) de colutorios orales en estudio frente a cepa de <i>Candida albicans</i> .	36

## Índice de gráficos

	Pág.
Gráfico 1: Medias de halos de inhibición de los colutorios orales y los grupos controles frente a cepa de <i>Candida albicans</i> en milímetros (mm) a las 24, 48 y 72 horas en agar Mueller Hinton.	29
Gráfico 2: Efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas.	30
Gráfico 3: Efecto antifúngico del Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas.	31
Gráfico 4: Efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas.	32
Gráfico 5: Efecto antifúngico de la Anfotericina B frente a cepa de <i>Candida albicans</i> a las 24, 48 y 72 horas.	33

## Resumen

El propósito del presente estudio es determinar el efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de *Candida albicans*. El tipo de investigación es aplicada, de método analítico, bajo un enfoque cuantitativo, diseño experimental *in vitro*, longitudinal de forma prospectiva. Esta prueba se realizó en 30 placas Petri con *Cándida albicans*, se emplearon discos antibiograma, los cuales estuvieron impregnados con Gluconato de clorhexidina al 0.12%, Cloruro de cetilpiridinio al 0.07%, Gluconato de clorhexidina al 0.12% y Cloruro de cetilpiridinio al 0.05%, como control positivo fue empleado el antibiótico Anfotericina B y el control negativo fue el suero fisiológico al 0.85%. Los halos de inhibición frente a *Candida albicans* fueron medidos en milímetros con una regla de Vernier digital. Se encontraron los siguientes niveles de eficacia antimicótica del Gluconato de clorhexidina al 0.12% a las 24 horas (19.72mm), 48 horas (19.61mm), y 72 horas (19.48mm) también se pudo observar que los promedios del Cloruro de cetilpiridinio al 0.07% a las 24 horas (16.19mm), 48 horas (16.08mm), y 72 horas (15.96mm) Además, se pudo observar los promedios de Gluconato de clorhexidina al 0.12% y el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% a las 24 horas (14.40 mm), 48 horas (14.29mm) y 72 horas (14.18mm). Se concluye que el Gluconato de clorhexidina 0.12% (Oralgene) fue el colutorio más efectivo frente a *Candida albicans* para el presente estudio, después del antibiótico Anfotericina B.

**Palabras clave:** *Candida albicans*, Gluconato de clorhexidina, Cloruro de cetilpiridinio, halos de inhibición.

### Abstract

The objective of this investigation was to determine the antifungal effect of oral mouthwashes against *Candida albicans* strains. The type of research was applied, analytical method, under a quantitative approach, experimental design in - vitro, longitudinal prospective. This test was performed on 30 Petri dishes with *Candida albicans*, antibiogram discs were used, which were impregnated with 0.12% chlorhexidine gluconate, 0.07% cetylpyridinium chloride, 0.12% chlorhexidine gluconate and 0.05% cetylpyridinium chloride. As a positive control was used the antibiotic Amphotericin B and the negative control was 0.85% physiological serum. The inhibition halos against *Candida albicans* were measured in millimeters with a digital Vernier ruler. The following antifungal efficacy levels were found for chlorhexidine gluconate at 0.12% in 24 hours (19.72 mm), 48 hours (19.61 mm) and 72 hours (19.48 mm) and it was also observed that the averages for cetylpyridinium chloride at 0.07% in 24 hours (16.19 mm), 48 hours (16.08 mm) and 72 hours (15.96 mm). In addition, the averages of chlorhexidine gluconate at 0.12% and cetylpyridinium chloride at 0.05% were observed in 24 hours (14.40 mm), 48 hours (14.29 mm) and 72 hours (14.18 mm). It is concluded that chlorhexidine gluconate 0.12% (Oralgene) was the most effective mouthwash against *Candida albicans* for the present study, besides the antibiotic Amphotericin B.

**Keywords:** *Candida albicans*, Chlorhexidine gluconate, Cetylpyridinium chloride, inhibition halos.

## **Introducción**

El objetivo del estudio es determinar el efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de *Candida albicans*. El tipo de investigación es aplicada, de método analítico, bajo un enfoque cuantitativo, diseño experimental *in - vitro*, longitudinal de forma prospectiva. El informe final de tesis se estructura de la siguiente manera:

**CAPÍTULO I: EL PROBLEMA:** Se presenta el planteamiento del problema, en el que se describe la realidad problemática, los problemas y objetivos del estudio. También se muestra la justificación del estudio y sus limitaciones.

**CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO:** Se describen los antecedentes de la investigación, las bases teóricas relacionadas al objeto de estudio y la formulación de hipótesis.

**CAPÍTULO III: METODOLOGÍA:** Se detalla la metodología utilizada, que comprende el método, enfoque, tipo, diseño, población, muestra y variables de la investigación, así como la técnica e instrumento de recolección de datos, validación de la ficha, procesamiento y análisis de datos con la aplicación de técnicas estadísticas y aspectos éticos.

**CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS:** Se muestran los resultados por medio del análisis descriptivo, prueba de hipótesis. Posteriormente, se realiza la discusión con las investigaciones previas para contrastar los resultados hallados.

**CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:** Se desarrollan las conclusiones y recomendaciones de la investigación.

## CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

### 1.1. Planteamiento del problema

Las infecciones fúngicas invasivas provocadas por *Candida* han aumentado en frecuencia y trascendencia de 3 a 20 veces desde los años 70, acompañadas de una alta mortalidad, de tal forma que, según datos del desarrollo epidémico de la septicemia en la nación estadounidense, indican que la cantidad de incidentes registrados a nivel anual sobre las causas o etiología fúngica incrementó en un valor porcentual de 207 % en los años de 1979 al 2000 (1). En el Perú, se han realizado pocos estudios sobre *Candida*, uno llevado a cabo en 9 hospitales de Lima en el periodo del 2009 al 2011, donde se reportaron 153 especies del género *Candida* que provocaron candidemia (1). La *Candida albicans* normalmente es inofensiva en individuos sanos debido a sus bajos niveles de concentración (2), pero, en determinadas situaciones, este microorganismo oportunista puede ocasionar una infección llamada candidiasis oral en pacientes inmunodeprimidos, pacientes diabéticos y personas portadoras de prótesis (3), llegando a provocar una septicemia (4). Los factores que provocan que la *Candida albicans* aumente su capacidad para dañar a su anfitrión, incluyen la capacidad de adhesión a superficies, crear formas de crecimiento filamentosas y producir enzimas hidrolíticas que provocan daño celular (3). La asociación entre *Candida* y el cáncer oral ha sido tradicionalmente un tema de debate; la creciente evidencia ha apoyado una correlación entre candidiasis y desarrollo de displasia epitelial oral, un espectro de cambios histopatológicos que afectan el revestimiento epitelial de la mucosa oral que muestra un mayor riesgo de progresión a carcinoma oral de células escamosas (OSCC) o cáncer oral (5). En varios casos, la candidiasis oral puede prevenirse mediante una buena higiene bucal, incluido el cepillado dental diario y el uso de colutorios orales (6), dado que muchas personas no pueden eliminar la placa dental adecuadamente y el control mecánico del biofilm por sí solo es

insuficiente, el control químico de la placa, mediante la aplicación de agentes antimicrobianos, puede defender la cavidad oral contra los efectos negativos, reduciendo la acumulación de placa y mejorar la salud bucal (7).

Los colutorios orales de actividad antifúngica son accesibles y, al mismo tiempo, ocasionan que haya una cantidad menor de efectos colaterales a diferencia de los demás tratamientos convencionales (8), lo cual fomenta su empleo como medida preventiva para tratar las micosis orales (3). El Digluconato de clorhexidina (CHX) es una bisbiguanida de clorofenilo catiónico que se une a las superficies cargadas negativamente, tiene una amplia distribución antimicrobiana que incluye a la *Candida albicans*. Diversos estudios demuestran que es más eficaz que la nistatina o la anfotericina B para matar las células adherentes de *Candida albicans*, por lo que su exposición a la clorhexidina resulta en pérdida de integridad estructural, disminución de la capacidad de adherirse y fragmentación de la pared celular, al adherirse a las glicoproteínas salivales en la placa se libera lentamente con el tiempo, lo que permite una actividad prolongada después de la exposición en el ambiente oral (9). Por otro lado, el Cloruro de cetilpiridinio (CPC) es un antiséptico que se encuentra compuesto de amonio cuaternario, el cual está formado por el nitrógeno cuaternario, sustancia que se halla conectada a una o más cadenas laterales que no absorben agua (10). La eficacia antimicrobiana del Cloruro de cetilpiridinio condujo a una mayor eficacia por sus propiedades antifúngicas debido a la capacidad que tiene de inhibir la adherencia de hongos (8). En este contexto, se evaluó la problemática expuesta.

## 1.2. Formulación del problema

### 1.2.1. Problema general

¿Cuál es el efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de *Candida albicans* en Lima, 2022?

### 1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es el efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas en Lima, 2022?
- ¿Cuál es el efecto antifúngico del Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas en Lima, 2022?
- ¿Cuál es el efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas en Lima 2022?

## 1.3. Objetivos de la investigación

### 1.3.1. Objetivo general

Determinar el efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de *Candida albicans* en Lima, 2022.

### 1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas en Lima, 2022.
- Determinar el efecto antifúngico del Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas en Lima, 2022.



- Determinar el efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas en Lima, 2022.

## **1.4. Justificación de la investigación**

### **1.4.1. Teórica**

Contribuye a brindar información actualizada y de gran importancia sobre el efecto antifúngico de los colutorios orales ante la cepa del elemento fúngico *Candida albicans*, proporciona aporte cognitivo necesario, para que el odontólogo se informe de manera oportuna sobre el efecto antifúngico de dichos colutorios orales.

### **1.4.2. Metodológica**

El actual estudio aporta datos actualizados de tipo experimental comparativo, sobre los efectos antifúngicos que presentan los colutorios orales de CHX, CPC y la combinación de los dos (CHX-CPC) ante la cepa de *Candida albicans* mediante un estudio *in vitro*. El trabajo está sustentado en antecedentes que cuentan con una calificada estructura, una apropiada ficha de recolección datos y todos aquellos componentes necesarios para la ejecución el trabajo. Además, sirve como referente básico para las futuras investigaciones y fuente de comparación con trabajos similares en relación con los efectos antifúngicos que generan los colutorios orales ante la cepa de *Candida albicans*.

### **1.4.3. Práctica**

Esta investigación es de suma relevancia porque generará un aporte a la comunidad académica al tener como finalidad determinar el efecto antifúngico que tienen los colutorios orales frente a la cepa de *Candida albicans*, queda como antecedente para posteriores estudios, cabe mencionar que el conocer esta información permitirá abordar de manera correcta y oportuna al

paciente en la práctica odontológica, al considerar el uso de colutorios orales de efecto antifúngico que son accesibles y al mismo tiempo ocasionan menos efectos colaterales que otros tratamientos convencionales de tal modo contribuirá a mejorar la calidad de vida de los pacientes.

### **1.5. Limitaciones de la investigación**

La limitación a nivel temporal encontrada surgió al observar que la recolección y el procesamiento de datos se llevó a cabo en un lapso de tiempo mayor; sin embargo, se mantuvieron los plazos estipulados por la universidad. La limitación a nivel espacial fue porque se presentaron dificultades en el acceso al laboratorio; sin embargo, este estudio se ejecutó en el laboratorio microbiológico Scientific Quality, ubicado en el distrito de Villa El Salvador. Finalmente se contó con un recurso presupuestal de autofinanciamiento que no influyó negativamente en la investigación.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de la investigación

**Sánchez (10)** desarrolló su investigación con el fin de “*Comparar el efecto antifúngico in vitro del fluconazol al 2% y del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) sobre las cepas de Candida tropicalis (ATCC 1369) y Candida albicans (ATCC 10231)*”. El trabajo académico se inclinó por una investigación experimental y se ajustó al esquema longitudinal, prospectivo y comparativo *in vitro*. Para ello, procedió a activar la cepa a fin de sembrar las colonias de la *Candida tropicalis* y *albicans* en 188 placas Petri que pasaron por el proceso de rotulación. Posteriormente, se comenzó a usar el dimetilsulfoxido para disolver el limón y llegar a concentraciones de 75%, 50%, 25%, 10% y 100%, las cuales fueron recolectadas del frasco de forma directa, la autora utilizó la prueba de ANOVA y la prueba Kruskal Wallis, tomando en cuenta un nivel de significancia estadística ( $p < 0.05$ ). El resultado demostró que el aceite esencial del limón (*Aurantifolia*), en sus diferentes concentraciones, evidenció poseer un mejor efecto antifúngico a las 12 horas sobre las cepas *Candida Tropicalis* y *Candida Albicans*.

**Handschuh et al. (3)** tuvieron como finalidad “*Evaluar y comparar la eficacia antifúngica que poseen seis colutorios bucales comerciales ante aislamientos de Rhodotorula mucilaginosa y Candida albicans*”. Los autores realizaron un estudio experimental, longitudinal prospectivo, comparativo *in vitro*, y emplearon 10 aislamientos de cada cepa, los enjuagues bucales que se evaluaron correspondieron a CPC al 0,05% y 0,075%, también CHX al 0,12%, 0,1%, además CHX 0,05% + CPC 0,05% y aceites esenciales. Los resultados de la investigación demuestran que los colutorios bucales constituidos con CHX 0,12%, CHX 0,1%, CPC 0,05%, CPC 0,075% y CHX 0,12% + CPC 0,05% ejercen un efecto antifúngico ante *R. mucilaginosa* y *C. albicans*. El compuesto que tuvo la mayor zona de inhibición fue la CHX 0,1% ( $25,65 \pm 2,39$  mm y 40,05

$\pm 3,31$  mm), por otro lado, el enjuague compuesto por aceites esenciales no evidenció actividad antifúngica alguna. El análisis estadístico dio a conocer que los enjuagues bucales CHX 0,12%, CHX 0,1%, CHX 0,12% + CPC 0,05% ( $p = 0,0001$ ) no tuvieron diferencias. El estudio concluyó que los colutorios con CPC y CHX presentan efectos que inhiben los dos hongos objetos de estudio. Asimismo, los colutorios que están constituidos por CHX mostraron tener mayor eficacia en comparación con los que solo tenía CPC.

**Moroz et al. (11)** en su estudio establecieron por finalidad “*Determinar cuáles son los efectos de 13 enjuagues bucales en cien cepas aisladas de Candida albicans*”. Realizaron un estudio experimental *in – vitro*, utilizaron cien cepas aisladas de pacientes, incluidas *C. albicans*, *C. glabrata* (24 cada uno), *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* (14 cada uno), *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C. famata* (7 cada uno), *C. humicola* (2 cada uno) y *C. krusei* (1 cepa). Se utilizaron trece enjuagues bucales incluida la clorhexidina pura (CHX) y 12 variedades disponibles comercialmente. Los resultados mostraron para la CHX, seguida de Sylveco, Corsodryl y Colgate; por el contrario, la CIM más alta y la más baja se calculó para Octenidol y Curasept. Ocho de los enjuagues bucales inhibieron el crecimiento de cepas de hongos potencialmente patógenos aisladas de la cavidad bucal en diferentes diluciones de hasta 1:16, dependiendo del enjuague. La CHX demostró una gran eficacia antifúngica. Concluyeron que el efecto antifúngico de un enjuague bucal depende de su composición y de la especie de hongo, por tal motivo el uso de colutorios es un recurso fundamental para el proceso de lavado bucal porque garantizan una higiene adecuada y previenen enfermedades bucales.

**Martínez (12)** desarrolló una investigación con el fin de “*Conocer los efectos antifúngicos y antibacterianos in vitro que posee el extracto etanólico del Nasturtium officinale respecto al Candida albicans ATCC 10231<sup>TM</sup> y Enterococcus faecalis ATCC 29212<sup>TM</sup>*”. El autor utilizó

concentraciones de 100%, 80%, 60%, 40% y 20% de extracto etanólico de *Nasturtium officinale*. Respecto al control positivo, procedió a incluirse para el *Enterococcus faecalis* a la Clorhexidina y para la *Candida albicans*, a la Nistatina. La evaluación de los efectos antifúngicos y antibacterianos fue realizada mediante la técnica de pozos en agar. Después de un día, se comenzó con la lectura de las placas aplicando la observación. El promedio del halo inhibitorio, respecto al crecimiento del *Enterococcus faecalis*, equivalió a 22.17 mm (20%), 26.33 mm (60%), 23.08 mm (40%), 28.92 mm (100%) y 28.58 mm (80%); en cambio, de la clorhexidina equivalió a 23mm. En correspondencia al *Candida albicans* se tuvieron los siguientes valores: 13.92 mm (100%), 10.42 mm (80%), 10.33 mm (60%), 10.17 mm (40%) y 10 mm (20%), y de la Nistatina de 19 mm. A partir de ello, la autora concluye que el extracto previamente señalado, manifiesta efectos antifúngicos y antibacterianos in vitro respecto a los microorganismos fúngicos objeto de estudio.

**Vásquez (13)** desarrolló su investigación con el fin de realizar una “*Comparación de los efectos antifúngicos evidencian el Propóleo y el Rosmarinus officinalis (Romero) respecto a las cepas Candida albicans ATCC 10231*”. Para elaborar los extractos hidroetanólicos del romero y propóleo, se trabajó en un laboratorio de la UNT, donde se efectuó la maceración por un periodo de siete días y sin presencia de luz, consecuentemente, se quitó todo el alcohol haciendo uso de un rotavapor a presión a una temperatura determinada; el extracto seco y mixto sirvieron para realizar concentraciones de 50 y 75%. Luego, por medio del empleo del método Kirby Bauer, se comenzó a enfrentar los microbios, acto que fue repetido 10 veces en los grupos experimentales establecidos. El extracto hidroetanólico, que resultó de la combinación del Propóleo al 75% y *Rosmarinus officinalis*, se caracterizó por mostrar halos de inhibición con un tamaño de 16.80mm a diferencia del extracto de *Rosmarinus officinalis* al 75%, que mostró halos inhibitorios de

longitud 14.80mm; el extracto de Propóleo al 75%, por su parte, manifestó halos inhibitorios de 13.30mm. Los halos conseguidos fueron comparados aplicando el test de Kruskal Wallis, a partir de cual se encontró un diferencial estadísticamente significativo ( $p=0.000$ ). El investigador concluyó que el extracto compuesto por propóleo y *Rosmarinus officinalis* al 75% dio como manifiesto mejores efectos antifúngicos contra la cepa objeto de estudio.

**Alca (14)** desarrolló su investigación con el fin de “*Analizar el nivel de efectividad personal antifúngica in vitro y la relación del orégano (*Origanum vulgare*) y la canela (*Cinnamomum zeylanicum*) a concentraciones disímiles sobre la *Candida albicans*”*. El estudio consideró 135 placas Petri que contenía las variantes del hongo señalado. El trabajo, para una mejor ejecución del análisis, optó por aplicar el tipo experimental porque se manipularon las variables para conocer el efecto que pudiese tener sobre la variable dependiente; también fue explicativa, pues esta investigación se centró en responder a cada una de las causas que provocaron el evento físico; por último, fue longitudinal, pues los resultados fueron analizados en dos tiempos. El resultado demostró que el orégano cuando se encuentra al 50% tiene un efecto antifúngico sensible (+); al 75%, muy sensible (++); al 100% altamente sensible (+++) sobre la cepa fúngica. En correspondencia al vínculo de los dos aceites esenciales, cuando se hallan en un valor de 100, 75 y 50% presentan efectos antifúngicos altamente sensible (+++) sobre la cepa. Considerando lo expuesto, el *Origanum vulgare* adquirió una efectividad antifúngica al 100, 75 y 50%, el *Cinnamomum zeylanicum* al 100, 75, 50 y 20% y la asociación de los dos aceites al 100, 75, 50 y 20% sobre la *Candida albicans* (15).

**Ardizzoni et al. (6)** en su estudio establecieron por propósito “*Evaluar los efectos de los enjuagues bucales comerciales sin alcohol, con diferente composición sobre varios rasgos de virulencia de *Candida albicans*”*. En su estudio emplearon cultivos de *Candida albicans* se

mantuvieron mediante pases en placas Sabouraud Dextrose Agar realizados al menos dos veces por semana. Se incubaron a 37°C, después de la incubación las células fúngicas se recolectaron mediante un asa de inoculación estéril, se suspendieron en solución salina tamponada con fosfato, se lavaron dos veces por centrifugación a 3500 rpm por 10 min., se emplearon ocho grupos de enjuagues bucales comerciales, 4 con Digluconato de clorhexidina, 1 con fluoruro, 1 con aceites esenciales, 1 con cloruro de cetilpiridinio y 1 con triclosán), sobre varios rasgos de virulencia de *Candida albicans*. Se efectuó el análisis de la varianza (ANOVA), además de la prueba posthoc de Bonferroni a fin de analizar las similitudes generales entre los grupos tratados con enjuagues bucales comerciales en relación con los grupos de control. La correlación fue  $p < 0,05$ . El resultado mostró que los colutorios que están constituidos por Digluconato de clorhexidina y Cloruro de cetilpiridinio fueron los más efectivos. En conclusión, debido a la complejidad del entorno oral y a los posibles efectos secundarios de las moléculas activas de sus formulaciones, debe prestarse especial atención a la elección de los enjuagues bucales comerciales para prevenir y/o tratar las patologías bucales, acorde al agente etiológico probablemente involucrado (8).

**Scheibler et al. (9)** en su estudio instauraron por finalidad “*Investigar la eficacia y estabilidad de la nistatina y clorhexidina en combinación contra la Candida albicans*”. Para el estudio se asignaron los siguientes grupos experimentales: (1) control negativo (n = 10): *Candida albicans* tratado con solución salina; (2) nistatina (n = 10): *Candida albicans* tratado con nistatina; (3) clorhexidina (n = 10): *Candida albicans* tratado con clorhexidina; (4) nistatina / clorhexidina única (n = 10): *Candida albicans* tratado con nistatina y clorhexidina mezcladas en una sola formulación; (5) nistatina / 2 min / clorhexidina: *Candida albicans* tratado con nistatina y, después de 2 min, con clorhexidina (n = 10); (6) clorhexidina / 1 min / nistatina: *Candida albicans* tratado con clorhexidina y, después de 1 min, con nistatina (n = 10); (7) nistatina / 10 min /

clorhexidina: *Candida albicans* tratado con nistatina y, después de 10 min, con clorhexidina (n = 10); (8) clorhexidina / 10 min / nistatina: *Candida albicans* tratado con clorhexidina y, después de 10 min, con nistatina (n = 10); (9) nistatina / 30 min / clorhexidina: *Candida albicans* tratado con nistatina y, después de 30 min, con clorhexidina (n = 10); (10) clorhexidina / 30 min / nistatina: *Candida albicans* tratados con clorhexidina y, a los 30min, con nistatina (n = 10). La data fue analizada a través de la estadística inferencial y descriptiva con el uso de ANOVA complementado con la prueba de comparaciones múltiples Dunnett T3 en análisis microbiológico y pruebas de Wilcoxon y Mann Whitney en análisis HPLC, la data fue evaluada en el software SPSS 17.0, a un nivel significativo  $p < 0,05$ . El resultado mostró que la nistatina y la clorhexidina pueden interactuar entre si según el entorno y el tiempo de intervalo entre ellas, su combinación puede reducir la eficacia y asimismo aumentar su tasa de degradación. En conclusión, la combinación de nistatina y clorhexidina parece interferir con la eficacia de las drogas y aumentar su tasa de degradación.

**Sonco (15)** desarrolló su investigación con el fin de “*Conocer el nivel de eficacia antifúngica del coco (Cocos nucifera) sobre las variantes fúngicas del Candida albicans*”. El trabajo académico correspondió a una investigación experimental, además el diseño longitudinal, prospectiva in – vitro y comparativo. para lo cual procedió a activar la cepa a fin de realizar las siembras de colonias en 5 placas Petri rotuladas, cabe precisar que estas placas mostraron un ambiente ideal para cultivar el hongo. Posteriormente, se comenzó a disolver la *Candida albicans*, utilizando el dimetil sulfoxido, a aquellas concentraciones de 50 y 25%; la concentración que se hallaba al 100% fue recogida de forma directa del frasco. Los resultados pudieron ser visualizados luego de 24, 48 y 72 horas, las cuales fueron anotados en una ficha de observación siguiendo los protocolos respectivos. El resultado demostró que el coco, en sus



diferentes concentraciones (100, 50 y 25%), no mostró efecto antifúngico alguno sobre las variantes de la *Candida albicans* en ninguno de los tres tiempos en los que fueron evaluados, mientras que el control de clorhexidina al 2% si resultó tener eficacia en los tres tiempos instituidos.

**Paulone et al. (2)** en su estudio instauraron por finalidad “*Investigar la susceptibilidad de Candida albicans a los enjuagues bucales, en términos de crecimiento, supervivencia y formación de biopelículas*”. Para el presente estudio se empleó la cepa de *Candida albicans* y 7 colutorios comerciales: 3 con Digluconato de clorhexidina al 0,2%; 1 con Digluconato de clorhexidina al 0.06% y 250 ppm F- fluoruro de sodio; 3 con moléculas que contienen flúor. Los efectos de los enjuagues bucales se evaluaron mediante ensayos de difusión en disco, violeta cristal y XTT. Todos los datos presentados en las tablas se expresan como media densidades ópticas (DO) de 3 a 5 experimentos independientes, cada condición se evaluó por triplicado. El test posthoc de Bonferroni y el ANOVA fueron realizados por IBM SPSS Statistics 22 para evaluar la diferencia general en las lecturas de DO obtenidas entre diferentes grupos en relación con los grupos de control. La correlación fue de  $p \leq 0.05$ , mientras que  $p < 0.001$  fue indicativo de diferencias altamente significativas. El resultado mostró que los colutorios que contienen Digluconato de clorhexidina exhibieron consistentemente la mayor actividad anti - *Candida*, los efectos dependieron estrictamente tanto de la dilución empleada como del tiempo de contacto.

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. *Candida albicans*

Es un microorganismo fúngico perteneciente al género *Candida*, forma parte de la división Ascomiceto y comprende a un grupo diverso de hongos, los cuáles habitan en las membranas mucosas y submucosas de los organismos humanos a manera de comensales inofensivos (17). Las principales superficies en las cuales se encuentran son: mucosas orales, gastrointestinales, dérmicas y genitales (18), pueden desarrollarse infecciones en determinadas situaciones cuando se altera el microbiota local, se debilitan las barreras normales de los tejidos o un individuo se vuelve inmunocomprometido (19). Asimismo, este microorganismo destaca por su amplia diversidad fenotípica. Esto incluye la variabilidad morfológica de la especie, la cual está asociada a una mayor diversidad de estados de crecimiento celular, lo cual favorece su establecimiento y persistencia en diferentes tejidos (20). Cabe resaltar que, en relación a la presencia de especies del género *Candida* en la boca, el 75 % de variantes fúngicas de *Candida albicans* habita principalmente en mucosas orales (21).

#### **Características**

El género *Candida* abarca alrededor de 150 especies, las cuales se identifican por tener una forma asexual, usualmente, se caracterizan por ser unicelulares, por soportar temperaturas de 37°C y tener potencial para convertirse en un agente patógeno en el paciente. Cabe precisar que *Candida albicans* es la variante fúngica más significativa en la cavidad oral ya que es la responsable de provocar infecciones micóticas y la estomatitis sub protésica (22). Es una cepa comensal que obtiene sus nutrientes de alimentos fermentables, carbohidratos, entre otros; se caracteriza por ser oportunista provoca daño al sistema inmunológico del organismo que ha afectado y solo él se favorece. En caso que el nivel de *Candida* incremente de modo

significativo, el organismo del individuo se vería gravemente afectado (23) (24). El nivel de afectación de este hongo, depende de la capacidad que posea el sistema inmunológico para eliminar a la afección de origen fúngico, otros de los factores que también intervienen es el medio externo condicionado por la saliva, el pH, el factor de virulencia, entre otros elementos que intervienen en la boca (25). Otra característica relevante de este microorganismo es su capacidad para la formación de biopelículas en diferentes superficies como la mucosa bucal, los dientes, dentaduras postizas y aparatos de ortodoncia. Este es un proceso dinámico, el cual inicia con la adherencia de cepas de *C. albicans* que deben proliferar, formar hifas y acumular matriz extracelular (26). Cuando se establece la biopelícula, aumenta la expresión de los factores de virulencia de *Candida* y disminuye la susceptibilidad a la fagocitosis del huésped y a los antimicrobianos. Asimismo, la biopelícula se asocia con la resistencia a la terapia antifúngica. Por otro lado, la presencia de componentes bacterianos en el microbioma oral también juega un rol esencial en la aparición y exacerbación de lesiones (27).

### **Candida albicans en odontología**

Como ya se hizo mención, la incidencia de sobrecrecimiento de *Candida* aumenta gradualmente a medida que disminuye el funcionamiento inmunológico. Por lo tanto, factores locales, como prótesis dentales, deterioro de la función de las glándulas salivales, mala higiene bucal, dieta rica en carbohidratos, corticoides inhalados y corticoides orales tópicos, favorecen el crecimiento de *Candida* en la cavidad oral (28). *La Candida albicans* muestra una vinculación estrecha con la cavidad bucal. En esta zona de cuerpo, el hongo es denominado candidiasis oral (29). Respecto a lo mencionado, al ser una infección oportunista más frecuentes observada en el estado inmunocomprometido de personas infectadas por el VIH. En dichos pacientes, se presenta en tres formas: candidiasis pseudomembranosa, candidiasis eritematosa y queilitis

angular (30).

### **Tratamiento**

Para tratar la infección en mucosas, debe considerarse que el nivel del sistema inmune sea apropiado porque esto garantizará la facilidad del tratamiento (31). Asimismo, el tratamiento para la candidiasis oral varía desde enfoques no farmacológicos hasta agentes farmacológicos tópicos y sistémicos. Los dos principios del tratamiento son; en primer lugar, la identificación y eliminación de los factores contribuyentes y; también, la reducción de la carga fúngica. Por ende, la higiene bucal y de la dentadura postiza es esencial para el tratamiento exitoso de las infecciones orales por *Candida* (23). Los tratamientos comunes de primera línea para esta afección son los agentes antimicóticos tópicos como la nistatina y la anfotericina B. Además, mantener la higiene bucal es una necesidad en el proceso de tratamiento (26). Asimismo, los antifúngicos son los principales fármacos para tratar la candidiasis oral (32). No obstante, si el cuerpo humano presenta un estado de inmunodepresión, es decir, cuando se generan lesiones recurrentes, el médico tendrá que aplicar otro tipo de tratamiento que consiste en la terapia intensiva sistémica, la cual, pese a tener buenos resultados al aplicar medicamentos antifúngicos azólicos, podrá no ser útil en ciertos casos debido a la resistencia a antifúngicos como el fluconazol, ketoconazol o anfotericina B. Dicha resistencia a los fármacos, las interacciones farmacodinámicas y la toxicidad son las principales razones que promueven la exploración de nuevas opciones terapéuticas (31).

No obstante, antes de proceder a la administración de un curso adicional de la terapia antimicótica, se deben descartar la eliminación de los factores subyacentes, el cumplimiento del paciente y el diagnóstico correcto (23).

## **2.2.2. COLUTORIOS ORALES**

Los colutorios orales son sustancias que deben de ser compatibles con los tejidos dentales y orales, útiles en reducir la formación de placa y bloquear la actividad de los microorganismos sin alterar la relación entre las bacterias anaerobias grampositivas y gramnegativas (33). Asimismo, en vista de que la salud bucal contribuye a la salud en general el objetivo de la odontología moderna es el mantenimiento de tejidos orales blandos y duros sanos (34).

Por lo tanto, los colutorios orales deben de tener una combinación de las siguientes características: efectivos contra los hábitos que crean enfermedades, efectivos contra los microorganismos que causan enfermedades cuando la flora bucal normal y saludable no se altera, seguros para uso humano y ambiental, efectos secundarios mínimos y sabor agradable (33). La descontaminación oral con colutorios antimicóticos y antibacterianos se emplean con frecuencia para controlar la mucositis oral (35). El Digluconato de clorhexidina y el Cloruro de cetilpiridinio son dos antisépticos que a menudo se incorporan en los colutorios orales (36).

### **GLUCONATO DE CLORHEXIDINA (CHX)**

Es un compuesto de biguanida, que existe desde la década de 1950 para uso clínico (37). Por lo general, es biocompatible y tanto los odontólogos como el público en general lo usan por vía oral como colutorio bucal antiséptico a fin prevenir la acumulación de biopelícula y placa bacteriana (37). Hoy en día, la CHX es el mejor antiséptico para la cavidad bucal; es el más eficaz y es considerado el Gold standard. Asimismo, es un agente bacteriostático a bajas concentraciones, mientras que el bactericida es lo contrario, es decir, a concentraciones más altas (36).

### **Estructura**

La composición química consta de una fuerte base dicatiónica con un pH superior a 3,5,

misma que cuenta también con dos cargas positivas en cada uno de los extremos del puente de hexametileno, propiedad que facilita su interacción con aniones (39). Asimismo, en cuanto a sus características químicas, el CHX está constituido por dos anillos 4-clorofenilo y dos grupos biguanidas, los cuales se encuentran enlazados mediante una cadena de hexametileno (38). Por otro lado, CHX mantiene su estabilidad cuando está en forma de sal, mayormente, en Digluconato, puesto que es la preparación más común de la sal gracias a la alta solubilidad que posee en agua (35).

### **Mecanismo de acción**

Esta sustancia actúa de acuerdo a su naturaleza química, siendo el grupo cloro unido a cada anillo fenólico lo que le da a la CHX su actividad catiónica. Dicha carga positiva lo atrae a las superficies cargadas negativamente en la cavidad bucal, tales como las membranas mucosas, películas salivales en los dientes, superficies de titanio y varios componentes de biopelículas, incluidas bacterias, polisacáridos extracelulares y glicoproteínas (38).

Además, evita que se formen nuevas películas bacterianas y reduce la absorción de glucoproteínas salivares en la zona superficial de los dientes por medio del bloqueo de grupos ácidos libres, entre los que destacan fosfatos, carboxilos y sulfatos. También impide, a través de los grupos negativos de la superficie celular bacteriana, que las bacterias se sumen a la película ya existente (35). La CHX causa desorganización en la estructura de la existente placa bacteriana, lo que se debe al desplazamiento del calcio de los grupos sulfato de la placa para, de este modo, impedir la unión de las bacterias a la película adquirida (36).

### **Sustantividad**

La CHX absorbida se libera de forma gradual en un lapso de 8-12 horas. Luego de un día, existe la posibilidad de recuperar las concentraciones bajas de CHX, lo cual es importante

porque evita que las bacterias colonicen el área (36). La sustantividad que posee es alta porque es absorbida de forma rápida por la superficie bacteriana, como consecuencia de su pH ligeramente alcalino y neutro. Se une al esmalte dental, a las bacterias de la placa y a la película adquirida que recubren la pieza dental y se va liberando lentamente, lo que conlleva a que se generen efectos negativos en el citoplasma de la bacteria y se imposibilite la supervivencia del patógeno (40).

### **CLORURO DE CETILPIRIDINIO (CPC)**

El CPC se emplea como antiséptico con un amplio espectro de acción (42). Es eficaz frente a bacterias gram positivas y negativas, hongos y virus de manera similar a la clorhexidina; sin embargo, a diferencia de ésta última, es más eficaz contra bacterias gram + (33). El colutorio se absorbe correctamente al pH de la cavidad oral, toda vez que consta de un lapso de acción de entre 3 a 5 horas tras la aplicación (39), a lo que se le añade su actividad antiplaca y para contrarrestar las toxinas que pueden generar inflamaciones y que son liberadas por ciertas bacterias, con lo que también permite prevenir la aparición de gingivitis (42). En ese sentido, según la FDA es un antimicrobiano eficaz y seguro en el control de gingivitis generada por placa, sobre todo cuando se formula en concentraciones de 0,045% a 0,1% (43).

### **Estructura**

El CPC es una molécula compuesta por amonio cuaternario, mismo que se incluye en el grupo de los tensioactivos (38), teniendo una naturaleza monocatiónica, soluble en soluciones acuosas y en alcohol; teniendo propiedades antisépticas y detergentes, y al tener un pH neutro no oxida ni es corrosivo (43). Asimismo, la actividad antimicrobiana de esta sustancia se correlaciona con la hidrofobicidad de su cadena lateral y muestra un efecto máximo si la cadena alquílica contiene de 12 a 16 átomos de carbono. Además, es posible lograr el máximo

efecto antimicrobiano, toda vez que puede generar longitudes de entre 12 a 14 átomos de carbono en la cadena de alquilo de bacterias gram positivas y de 14 a 16 átomos de carbono en bacterias gram negativas (44).

### **Mecanismo de acción**

La molécula del CPC es un surfactante catiónico con carga positiva neta, toda vez que sus regiones polar y no polar así lo permiten, con lo que las moléculas de CPC se adhieren a la superficie cargada negativamente de la membrana celular bacteriana (38). La región no polar de la molécula se particulariza por mostrar características semejantes a los fosfolípidos de la membrana y por penetrar en la membrana de las células bacterianas, lo cual ocasiona una alteración y genera desequilibrio en la regulación osmótica, hasta provocar la pérdida del material citoplasmático y la muerte de la célula. Estos resultados también son consecuencia de que, debido a su actividad antigingival, neutraliza las toxinas proinflamatorias bacterianas. El CPC también actúa en este proceso al integrarse a los liposacáridos a fin de alterar su estructura y neutralizar a las bacterias (44).

### **Sustantividad**

La sustentividad que el CPC tiene dura entre 3-5 horas (43). En contraste con el CHX, este compuesto presenta menor sustentividad, además posee una naturaleza monocatiónica, lo que puede explicar su menor eficacia antiplaca en comparación con la CHX (42). Asimismo, la combinación de principios activos y otras sustancias puede mejorar la sustentividad o, también, contribuir al efecto sinérgico. No obstante, estas variaciones dificultan el establecimiento/determinación de la efectividad clínica de los enjuagues bucales (43).

### **Concentraciones**

La concentración de CPC en enjuague bucal oscila entre 0,045 y 0,10 %. Este ha sido



considerado como un rango seguro y eficaz por la FDA para el tratamiento de la gingivitis inducida por placa (42).

## 2.3. Formulación de hipótesis

### 2.3.1. Hipótesis general

**Hi:** Los colutorios orales presentan efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Ho:** Los colutorios orales no presentan efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

### 2.3.2. Hipótesis específicas

**Hi<sup>1</sup>:** El Gluconato de clorhexidina al 0,12% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Ho:** El Gluconato de clorhexidina al 0,12% no presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Hi<sup>2</sup>:** El Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Ho:** El Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% no presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Hi<sup>3</sup>:** El Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Ho:** El Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% no presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Método de la investigación

Para efectos de la presente investigación se hizo uso del método analítico pues probó las hipótesis y la data obtenida (45), por lo que el desarrollo del estudio permitió evaluar si los colutorios orales presentan efecto antifúngico frente a *Candida albicans*.

### 3.2. Enfoque investigativo

El enfoque por el que se optó fue cuantitativo, el cual es definido como aquel conocimiento que deriva de la experiencia empírica del investigador y los hechos que este observa y pone a prueba mediante la experimentación (46). Asimismo, se desarrolló una recolección de datos objetiva la cual se validó con valores numéricos (47).

### 3.3. Tipo de investigación

La investigación es aplicada en la medida que sus resultados estuvieron orientados a resolver un problema (48).

### 3.4. Diseño de la investigación

El desarrollo de la investigación fue en base al diseño experimental *in - vitro*, en la medida que las variables objeto de estudio fueron manipuladas y analizadas para obtener los resultados esperados. Asimismo, fue longitudinal, ya que los datos fueron recogidos en diferentes periodos (horas), según lo establecido por el investigador. Por último, prospectivo en razón que el análisis fue adquirido conforme a cómo ocurrieron los hechos en un tiempo específico (45).

### 3.5. Población, muestra y muestreo

- **Población:** El conjunto poblacional abarca 30 placas Petri con cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
- **Muestra:** 150 halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* en placas Petri redondas

con agar Mueller Hinton y agar Saboraud dextrosa.

- **Muestreo:** Tipo de Muestreo no probabilístico por conveniencia.

### 3.6. Variables y operacionalización

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicador	Escala de medición	Escala valorativa
<b>Variable 1:</b> Efecto antifúngico	Inhibición en el crecimiento o reproducción normal fúngica.	Diámetro del halo de inhibición producido por los colutorios orales.	Diámetro del halo de inhibición	Medida marcada por la regla de Vernier digital	Razón	Milímetros
<b>Variable 2:</b> Colutorios orales	Soluciones que se emplean como complemento a la higiene oral, tienen por finalidad principal la prevención de patologías orales.	Soluciones químicas con componentes antisépticos incluidos en el estudio, como: Gluconato de clorhexidina y Cloruro de cetilpiridinio.	Gluconato de clorhexidina	al 0,12%	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A las 24 horas.</li> <li>- A las 48 horas.</li> <li>- A las 72 horas</li> </ul>
			Cloruro de cetilpiridinio	al 0,07%		
			Gluconato de clorhexidina en combinación con Cloruro de cetilpiridinio	al 0,12% + 0,05%		

### **3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.7.1. Técnica**

La técnica que decidió usarse en la investigación fue la observación seguido del análisis de las muestras escogidas.

#### **3.7.2. Descripción de instrumentos**

En el estudio no se utilizó un instrumento propiamente dicho porque solo se limita a la observación de los resultados en un estudio *in – vitro*; sin embargo, si se empleó una ficha para el recojo de datos con el propósito de trasladar las mediciones de los halos de inhibición. El proceso fue ejecute bajo el siguiente protocolo:

#### **Primer segmento**

##### **1. Método y colutorios orales de prueba**

El método aplicado para analizar la actividad antifúngica fue la técnica de Kirby-Bauer: Esta técnica también es conocida como el Método de disco de difusión en agar y se aplica a través del empleo de discos antibiogramas, los cuales contienen las siguientes sustancias: Cloruro de cetilpiridinio al 0.07%, Gluconato de clorhexidina al 0.12%, Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% en combinación con Gluconato de clorhexidina al 0.12%. El control positivo empleado para el ensayo fue el antibiótico Anfotericina B y el control negativo empleado fue el suero fisiológico al 0.85%.

##### **2. Cepa fúngica para el estudio**

Para el trabajo se decidió trabajar con la cepa estándar ATCC (del inglés American Type Culture Collection) porque estuvo implicada en la *Candida albicans* ATCC 10231 (candidiasis bucal).

### **3. Preparación del Suero fisiológico al 0.85%**

Se preparó medio litro de suero fisiológico pesando 4.25g de cloruro de sodio y depositándolo en medio litro de agua destilada, luego se dispensó 5ml en tubos de ensayo y se autoclavó durante 15 minutos a 121°C. Se dejó enfriar para que después pudiera ser usada en el ensayo antibiograma en la suspensión microbiana de *Candida albicans*.

### **4. Preparación del agar Mueller Hinton y agar Saboraud dextrosa**

Se preparó agar Mueller Hinton y agar Saboraud dextrosa con agua destilada de acuerdo con las instrucciones instituidas por el fabricante y se autoclavó por un promedio de 15 minutos a 121°C. Después, se atemperó en baño maría a una temperatura de 45°C. De forma inmediata, en esterilidad, se colocó agar en cada de una de las placas Petri que se iban a usar en el ensayo. Durante 15 minutos, las placas fueron solidificadas con el medio de cultivo expuesto para que pudiera ser usada en el ensayo antibiograma.

### **5. Reconstitución de la cepa de *Candida albicans***

Para este paso, se activó la cepa ATCC 10231 de *Candida albicans* en Caldo BHI, la cual fue incubada por un día a 37°C, luego, las placas con Agar Sabouraud Dextrosa fueron estriadas por agotamiento para conseguir colonias aisladas.

### **6. Preparación del inóculo de *Candida albicans* al 0.5 de McFarland**

Bajo condiciones estériles, se tomó, con asa de siembra, unas porciones de una colonia *Candida albicans* aislada del agar Sabouraud Dextrosa y se inoculó en suero fisiológico al 0.85% estéril (5mL) con el objetivo de obtener una población de levaduras cuyo nivel de turbidez esté conforme al estándar de Sulfato de Bario al 0.5 de McFarland. Para homogenizar el inóculo en suspensión con suero fisiológico (en tubo de ensayo) al 0.5 McFarland se utilizó Vortex durante 10 segundos. Luego, para realizar la comparación de la

suspensión de *Candida albicans* realizada y el estándar comercial de sulfato de Bario al 0.5 McFarland se empleó una tarjeta de comparación visual del estándar de turbidez de McFarland (Visual Comparison Card).

#### **7. Inoculación de las placas con *Candida albicans***

Luego de realizar un ajuste a la suspensión del inóculo, se tomó un hisopo estéril y se introdujo a la suspensión de Suero fisiológico con *Candida albicans* y se procedió a inocular la levadura en placas Petri que contenían el medio agar Mueller Hinton por diseminación con el hisopo en 2 direcciones. Luego, se procedió a la rotulación de los colutorios orales de prueba de cada grupo de placas: Cloruro de cetilpiridinio al 0.07%, Gluconato de Clorhexidina al 0.12%, Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% en combinación con Gluconato de clorhexidina al 0.12%. y los dos grupos de placas, los controles positivo y negativo, las pruebas con el control Anfotericina B y suero fisiológico al 0.85%, respectivamente.

#### **8. Colocación de los discos antibiograma y la sustancia de prueba**

Se procedió a colocar los discos antibiograma y a depositar, con pinza estéril, de dos a cuatro discos antibiograma, según los halos de inhibición de cada colutorio oral visto en las pruebas previas, en las placas de agar Mueller Hinton inoculadas con *Candida albicans* ATCC 10231. Consecutivamente, se comenzó a trabajar con el conjunto de placas previamente determinado en los rótulos. En cada disco antibiograma, se depositó con micropipeta 10uL de Gluconato de clorhexidina al 0.12%, 10uL de Cloruro de cetilpiridinio al 0.07%, 10uL de Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% en combinación con Gluconato de clorhexidina al 0.12% y 10uL de suero fisiológico al 0.85% según se indicó el rotulo de las placas. En otro grupo de placas inoculadas, se colocaron discos antibiograma de Anfotericina B como control positivo. Para la fase de incubación, en el primer periodo de 24 horas no se voltearon las

placas, con el objetivo de no derramar las sustancias de prueba hasta su absorción total en el medio de cultivo, y se colocaron a una temperatura de 32°C. Luego de las 24 horas de incubación, si se observan placas Petri que tiene gotas de agua adheridas a la cara interna de la tapa, se seca con papel absorbente estéril, para posterior a las lecturas de halos de inhibición, se pueden volver a incubar por 48 y 72 horas, pero en estos periodos de tiempo, las placas se colocan de manera invertida. El procedimiento microbiológico del ensayo desarrollado fue realizado en una zona de 15 centímetros de radio y alrededor de la llama del mechero.

### **Segundo segmento**

**Lectura de resultados:** Medición de halos de inhibición de sustancias de prueba frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

Después de transcurrir un día de incubación, se procedió a examinar las placas y a leer los diámetros de los halos de inhibición frente a *Candida albicans*. Para su medición se usó la Regla de Vernier digital porque brinda una medida individual de cada halo (en milímetros) formado alrededor de los discos empapados con las sustancias de prueba utilizadas en las placas con cultivo. Una vez realizada la lectura, se volvió a incubar las placas y en un tiempo de dos y tres días, se volvieron a efectuar las lecturas respectivas por cada tiempo de incubación, puesto que el objeto de la investigación es conseguir resultados de los halos de inhibición de los enjuagues orales de prueba y los controles Anfotericina B y suero fisiológico en los tres periodos de incubación señalados, debido a que el objetivo es determinar el efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de *Candida albicans*.

### **3.7.3. Validación**

El estudio se desarrolló bajo el enfoque dictaminado por el "Juicio de expertos". Esto incluye la validación de una ficha de recolección de datos por parte de expertos validadores en el tema de investigación.

### **3.7.4. Confiabilidad**

No fue necesaria la aplicación de una técnica de confiabilidad dado que se trabajó con una ficha para el recojo de datos.

## **3.8. Plan de procesamiento y análisis**

Se empleó el software de tratamiento de textos Microsoft Word para elaborar la tesis.

Los datos obtenidos fueron colocados en el Microsoft Excel para su posterior orden y clasificación según las horas y mediciones instituidas de evaluación.

Los datos, posteriormente, fue incorporados al programa SPSS V25 para su respectivo proceso y presentación a través de tablas y gráficos. Donde se realizaron pruebas estadísticas descriptivas para conocer las características de los datos, para lo cual se realizó el análisis de normalidad para definir el empleo de estadísticas paramétricas o no paramétricas. Posteriormente, se ejecutó la prueba de Kruskal Wallis y U de Mann Whitney para conocer si entre los resultados de los colutorios orales hay diferencias significativas. Luego se hizo la prueba Friedman y Wilcoxon para observar si existen diferencias significativas para un mismo grupo con respecto a las mediciones de los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas. El objetivo del análisis estadístico fue observar si los colutorios orales presentan o no, efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans*, el grado de efectividad de cada colutorio oral en el tiempo.



### 3.9. Aspectos éticos

Para garantizar la idoneidad del trabajo, tanto en términos del contenido teórico como los resultados empíricos derivados del desarrollo de las técnicas y el uso del instrumento de recolección de datos, su contenido se registró con base en la guía para la elaboración de tesis de enfoque cuantitativo, la guía de citados y referenciación estilo Vancouver de la Universidad Privada Norbert Wiener con el fin de que los formatos de citación y referenciación aseguren el respeto de los derechos de los autores y protejan los contenidos teóricos empleados; además, mediante la validación de la ficha por juicio de expertos se cumplió con los criterios técnicos que garanticen la fidelidad y exactitud. Por último, todos los criterios previamente mencionados fueron sometidos a los fundamentos del Manual de procedimientos del Comité Institucional de Ética para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener (CIEI-UPNW), donde se solicitó una constancia de exoneración de revisión de proyecto de investigación al ser una investigación *in - vitro* con cepa de *candida albicans*. Terminada la ejecución en el laboratorio se aplicaron las normas de manejo de desechos biológicos, donde se respetaron los medios de eliminación de residuos biológicos contaminados.

## **CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS**

### **4.1. Resultados**

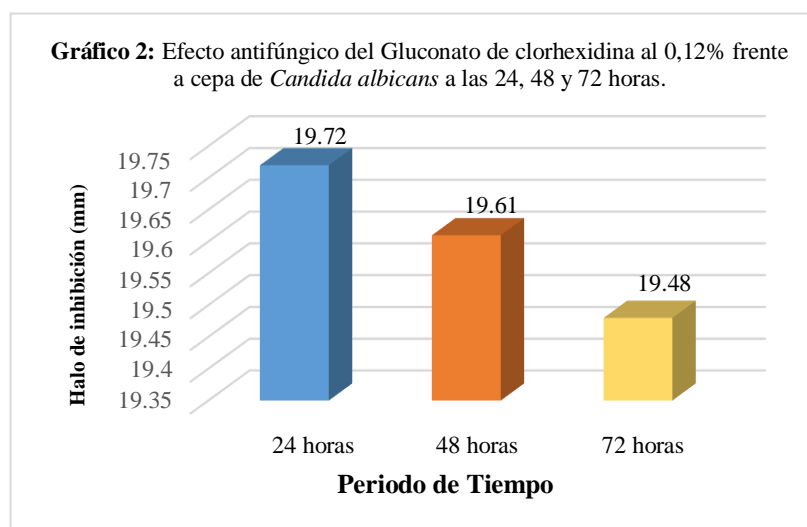
La investigación determinó el efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

#### 4.1.1. Análisis descriptivo de los resultados

**Tabla 2:** Efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

Gluconato de clorhexidina al 0,12%				
Periodo de Tiempo	X (mm)	DS	Min.	Máx.
24 horas	19,72	3,130	14,92	27,50
48 horas	19,61	3,131	14,80	27,39
72 horas	19,48	3,118	14,66	27,25

Fuente: Elaboración propia

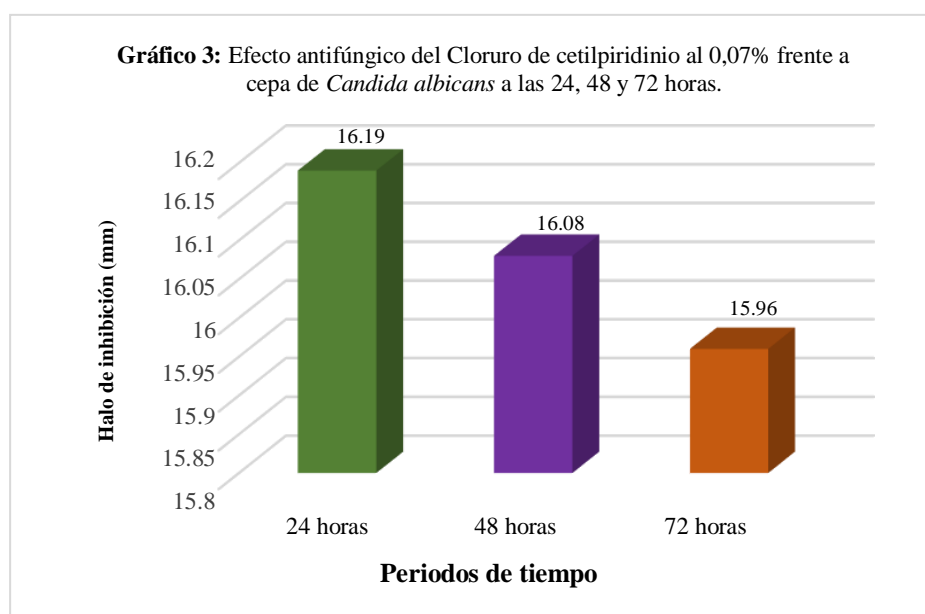


En la tabla 2 se muestra que el colutorio Gluconato de clorhexidina 0.12% obtuvo 19,72  $\pm$  3,130 mm de halo de inhibición transcurrido un día (24 horas). También se consiguió 19,61  $\pm$  3,131 mm de halo de inhibición transcurrido dos días (48 horas). Por último, 19,48  $\pm$  3,118 mm de halo de inhibición transcurrido tres días (72 horas). En el gráfico 2 se pueden observar los promedios de halos de inhibición obtenidos en los tres tiempos: 24, 48 y 72 horas.

**Tabla 3:** Efecto antifúngico del Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

Periodo de Tiempo	Cloruro de cetilpiridinio al 0,07%			
	X (mm)	DS	Min.	Máx.
24 horas	16,19	1,995	13,10	20,20
48 horas	16,08	2,001	12,96	20,11
72 horas	15,96	1,997	12,86	20,00

Fuente: Elaboración propia

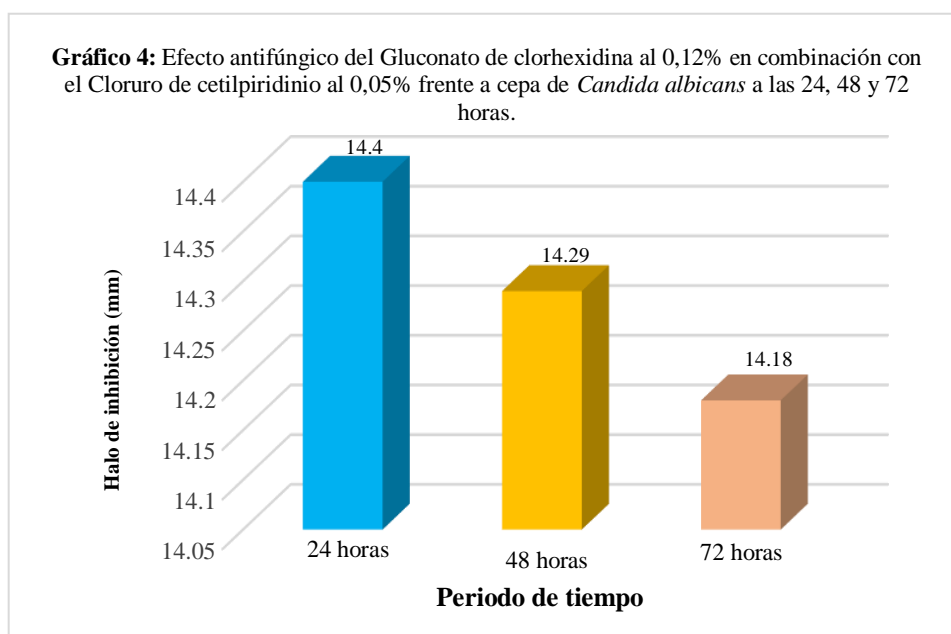


En la tabla 3, se muestra que el colutorio Cloruro de cetilpiridinio al 0.07% obtuvo  $16,19 \pm 1,995$  mm de halo de inhibición transcurrido un día (24 horas). También se consiguió  $16,08 \pm 2,001$  mm de halo de inhibición transcurrido dos días (48 horas). Por último,  $15,96 \pm 1,997$  mm de halo de inhibición transcurrido tres días (72 horas). En el gráfico 3 se pueden observar los promedios de halos de inhibición obtenidos en los tres tiempos: 24, 48 y 72 horas.

**Tabla 4:** Efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

Periodo de Tiempo	Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05%			
	X (mm)	DS	Min.	Máx.
24 horas	14,40	2,240	10,79	18,68
48 horas	14,29	2,239	10,70	18,58
72 horas	14.18	2,236	10,58	18,46

Fuente: Elaboración propia

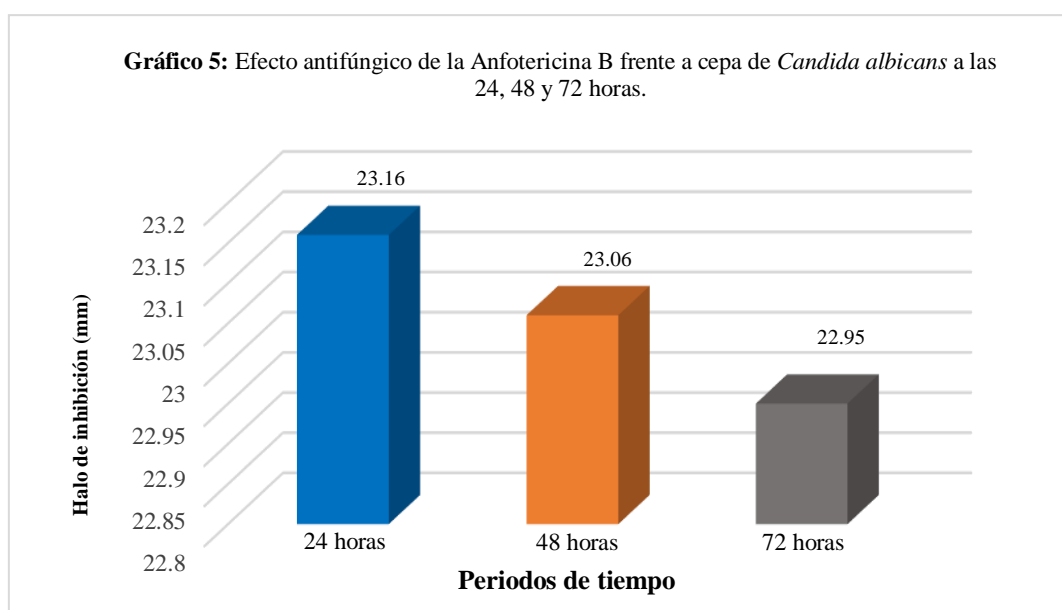


En la tabla 4, se llega a observar que el colutorio Gluconato de Clorhexidina al 0,12% en combinación con CPC 0,05% obtuvo  $14,40 \pm 2,240$  mm de halo de inhibición transcurrido un día (24 horas). También se consiguió  $14,29 \pm 2,239$  mm de halo de inhibición transcurrido dos días (48 horas). Por último,  $14,18 \pm 2,236$  mm de halo de inhibición a las 72 horas. En el gráfico 4 se pueden observar los promedios de halos de inhibición obtenidos en los tres tiempos: 24, 48 y 72 horas.

**Tabla 5:** Efecto antifúngico de la Anfotericina B frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

Periodo de Tiempo	Anfotericina B			
	X (mm)	DS	Min.	Máx.
<b>24 horas</b>	23,16	1,695	19,84	27,95
<b>48 horas</b>	23,06	1,695	19,75	27,85
<b>72 horas</b>	22.95	1,693	19,63	27,73

Fuente: Elaboración propia



En la tabla 5, se llega a observar que la Anfotericina B obtuvo  $23,16 \pm 1,695$  mm de halo de inhibición transcurrido un día (24 horas). También se obtuvo  $23,06 \pm 1,695$  mm de halo de inhibición transcurrido dos días (48 horas). Por último,  $22,95 \pm 1,693$  mm de halo de inhibición transcurrido tres días (72 horas). En el gráfico 5 se pueden observar los promedios de halos de inhibición obtenidos en los tres tiempos: 24, 48 y 72 horas.

## 1. ANÁLISIS DE NORMALIDAD DE RESULTADOS

Se realiza para determinar qué análisis estadístico (paramétrico o no paramétrico) usar en los objetivos de la investigación.

**Tabla 6:** Análisis de Normalidad por Shapiro Wilk ( $n < 50$ ) de los colutorios orales frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

SUSTANCIA DE PRUEBA	Valor p		
	24 horas	48 horas	72 horas
Gluconato de clorhexidina (CHX) al 0.12%	0,011	0,011	0,012
Cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0.07%	0,381	0,393	0,397
CHX al 0.12% + CPC al 0.05%	0,182	0,180	0,171
Anfotericina B	0,136	0,126	0,127

Nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )

De la tabla 6 se deduce que los resultados de las diferencias de los halos de inhibición de las sustancias de prueba en los tres tiempos (24, 48 y 72 horas) frente a *Candida albicans* no presentan una distribución normal para el CHX al 0.12% ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, si presentan distribución normal CPC al 0.07% ( $p > 0.05$ ), CHX al 0.12% en combinación con CPC al 0.05% ( $p > 0.05$ ) y Anfotericina B ( $p > 0.05$ ). Se concluyó que los grupos de datos tienen una distribución normal y viceversa (no normal), por esta razón se recomienda utilizar estadísticos no paramétricos a fin de poder realizar el análisis de los resultados como las pruebas de Kruskal Wallis, Friedman, U de Mann Whitney y Wilcoxon.

## 2. ANÁLISIS DE MUESTRAS INDEPENDIENTES

### PRUEBAS DE KRUSKAL WALLIS Y U DE MANN WHITNEY

Se utilizó esta prueba para evaluar si existen diferencias significativas entre los colutorios orales en estudio en el mismo periodo de tiempo.

**Tabla 7:** Media y desviación estándar de los halos de inhibición (mm) de colutorios orales en estudio frente a *Candida albicans*.

Periodo de Tiempo	X (mm) ± DS				p
	CHX al 0.12%	CPC al 0.07%	CHX al 0.12% + CPC al 0.05%	Anfotericina B	
24 horas	19,72 ± 3,130	16,19 ± 1,995	14,40 ± 2,240	23,16 ± 1,695	<0.01
48 horas	19,61 ± 3,131	16,08 ± 2,001	14,29 ± 2,239	23,06 ± 1,695	<0.01
72 horas	19,48 ± 3,118	15,96 ± 1,997	14,18 ± 2,236	22,95 ± 1,693	<0.01

Prueba de Kurskal Wallis (p<0,05)

En la tabla 7 se observa que existen diferencias significativas entre las lecturas de CHX al 0.12%, CPC al 0.07%, CHX al 0.12% en combinación con CPC al 0.05% y Anfotericina B (p<0,01) para los tres tiempos de estudio, lo cual queda demostrado por la Prueba de Kurskal Wallis (p<0,05) y prueba de U de Mann Whitney (p<0,05). Se demuestra que el CHX 0.12% (Marca Oralgene) fue el colutorio más efectivo frente a *Candida albicans* para el presente estudio, después del antibiótico Anfotericina B.



### 3. ANÁLISIS DE MUESTRAS DEPENDIENTES

#### PRUEBA DE FRIEDMAN Y WILCOXON

Esta prueba se realiza para determinar si existe diferencias significativas en los resultados a las 24, 48 y 72 horas para un colutorio oral de prueba.

**Tabla 8:** Media y desviación estándar de los halos de inhibición (mm) de colutorios orales en estudio frente a *Candida albicans*.

Periodo de Tiempo	X (mm) ± DS			
	Gluconato de Clorhexidina al 0.12%	CPC al 0.07%	Clorhexidina al 0.12% + CPC al 0.05%	Anfotericina B
24 horas	19,72 ± 3,130 a	16,19 ± 1,995 a	14,40 ± 2,240 a	23,16 ± 1,695 a
48 horas	19,61 ± 3,131 b	16,08 ± 2,001 b	14,29 ± 2,239 b	23,06 ± 1,695 b
72 horas	19,48 ± 3,118 c	15,96 ± 1,997 c	14,18 ± 2,236 c	22,96 ± 1,693 c
p	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

Prueba de Friedman ( $p < 0,05$ ).

Según tabla 8, las letras en minúsculas diferentes en cada grupo muestran las diferencias significativas que existen entre sí sobre las lecturas a las 24, 48 y 72 horas para un colutorio oral en estudio y la anfotericina B, lo cual queda demostrado por la Prueba de Friedman ( $p < 0,05$ ) y prueba de Wilcoxon ( $p < 0,01$ ). Se demuestra que el tiempo de 24 horas fue el más efectivo en todos los casos.

#### 4.1.2. Prueba de hipótesis

##### Hipótesis general

**Hi:** Los colutorios orales presentan efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Ho:** Los colutorios orales no presentan efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

##### Conclusión:

Según gráfico 5, se puede observar que los promedios de Gluconato de clorhexidina al 0.12%, Cloruro de cetilpiridinio 0.07%, Gluconato de Clorhexidina 0.12% + Cloruro de cetilpiridinio 0.05% y Anfotericina B son diferentes de cero en los tres tiempos de estudio. Por esto, la hipótesis nula fue rechazada y se acepta la siguiente hipótesis del estudio: Los colutorios orales presentan efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

##### Hipótesis específicas

**Hi<sup>1</sup>:** El Gluconato de clorhexidina al 0,12% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Ho:** El Gluconato de clorhexidina al 0,12% no presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

##### Conclusión:

Según gráfico 1 y tabla 1, se puede observar que los promedios del Gluconato de clorhexidina al 0.12% a las 24 (19.72mm), 48 (19.61mm), y 72 horas (19.48mm), son diferentes de cero. Por esto, la hipótesis nula fue rechazada y se acepta la siguiente hipótesis del estudio: El Gluconato de clorhexidina al 0,12% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* en los tres tiempos: 24, 48 y 72 horas.

**Hi<sup>2</sup>:** El Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Ho:** El Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% no presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Conclusión:**

Según gráfico 2 y tabla 2, se puede observar que los promedios de Cloruro de cetilpiridinio al 0.07% a las 24 (16.19 mm), 48 (16.08mm), y 72 horas (15.96mm), son diferentes de cero. Por esto, la hipótesis nula fue rechazada y se acepta la siguiente hipótesis del estudio: El Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Hi<sup>3</sup>:** El Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Ho:** El Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% no presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

**Conclusión:**

Según gráfico 3 y tabla 3, se puede observar que los promedios de Gluconato de clorhexidina al 0.12% en conjunto con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% a las 24 (14.40 mm), 48 (14.29mm), y 72 horas (14.18mm), son diferentes de cero. Por esto, la hipótesis nula fue rechazada y se acepta la siguiente hipótesis del estudio: El Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* en los tres tiempos: 24, 48 y 72 horas.

### 4.1.3. Discusión de resultados

La presente investigación tipo aplicada de método analítico, bajo un enfoque cuantitativo, diseño experimental *in – vitro* y longitudinal de forma prospectiva; tuvo por objetivo general determinar el efecto antifúngico de los colutorios orales comparado con el control positivo Anfotericina B y como control negativo suero fisiológico al 0.85% frente a la de cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24, 48 y 72 horas. Se demostró según lo observado que existió efecto inhibitorio de los colutorios orales frente a la cepa de *Candida albicans*, ya que los promedios de Gluconato de clorhexidina al 0.12%, Cloruro de cetilpiridinio 0.07% y Gluconato de clorhexidina 0.12% en combinación con Cloruro de cetilpiridinio 0.05% fueron diferentes de cero en los tres tiempos de estudio evaluados. Este resultado guarda semejanza con los investigadores **Handschuh et al. (2020)**, quienes demostraron que los colutorios con Cloruro de cetilpiridinio al 0,075% y 0,05% y, el Gluconato de clorhexidina al 0,12%; 0,1% y 0,05% presentaron efectos que inhiben al hongo *candida albicans*. De igual forma, presenta similitud con lo encontrado por **Moroz et al. (2020)**, mismos que obtuvieron como resultado que ocho de los doce enjuagues bucales empleados en su estudio, inhibieron el crecimiento de cepas de hongos potencialmente patógenos aislados en la cavidad bucal donde el gluconato de clorhexidina demostró una gran eficacia antifúngica, por lo que concluyeron que el efecto antifúngico de un enjuague bucal depende de su composición y la especie de hongo, por tal motivo el uso de colutorios orales es un recurso fundamental en la rutina de higiene oral ya que garantiza la prevención de enfermedades bucales.

Asimismo, el primer objetivo específico desarrollado en la presente investigación fue determinar el efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a cepa de

*Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas. Para la respuesta de este objetivo se tienen a la tabla 1, donde se puede observar que los promedios del Gluconato de clorhexidina al 0.12% a las 24 (19.72mm), 48 (19.61mm), y 72 horas (19.48mm), fueron diferentes de cero. Por ello, se tiene que, el Gluconato de clorhexidina al 0,12% presenta efecto antifúngico frente a cepas de *Candida albicans* en los tres tiempos: 24, 48 y 72 horas. Además de que fue considerado el colutorio oral más efectivo frente a la *Candida albicans* en la presente investigación.

Lo mencionado anteriormente presenta semejanza con el estudio de **Paulone et al. (2017)**, quienes investigaron la susceptibilidad de *candida albicans* a los enjuagues bucales en términos de crecimiento, supervivencia y formación de biopelículas, donde se evaluaron a siete colutorios comerciales, de los cuales, los colutorios con gluconato de clorhexidina presentaron efectos antifúngicos y a su vez, mayores actividades anti – candida. De la misma manera sucede con el estudio de **Handschuh et al. (2020)**, el cual demostró que los colutorios constituidos por gluconato de clorhexidina al 0,1% presentaron mayor eficacia en comparación con otro para la inhibición del hongo *candida albicans*.

El segundo objetivo específico fue determinar el efecto antifúngico del Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas. Para la respuesta a tal objetivo se tiene la tabla 2, donde se puede observar que los promedios de Cloruro de cetilpiridinio al 0.07% a las 24 (16.19 mm), 48 (16.08mm), y 72 horas (15.96mm), fueron diferentes de cero. Con ello, se puede afirmar que el Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas. Este resultado mantiene semejanza con las investigaciones de **Ardizzoni et al. (2018)** y **Handschuh et al. (2020)**, pues en el primero demostraron el efecto

antifúngico para la *Candida albicans* en el Cloruro de cetilpiridinio, así como su mayor efectividad comparada con otros, mientras que en el segundo también se demostró que los colutorios orales con cloruro de cetilpiridinio al 0,075% y 0,05% desarrollaron efectos antifúngicos.

Por último, el tercer objetivo específico fue determinar el efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a cepa de *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas. Para responder a ese objetivo se observa la tabla 3, en la que se puede observar que los promedios de Gluconato de clorhexidina al 0,12% en conjunto con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% a las 24 (14.40 mm), 48 (14.29mm), y 72 horas (14.18mm), fueron diferentes de cero. En otras palabras, el Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% presenta efecto antifúngico frente a cepa de *Candida albicans* en los tres tiempos: 24, 48 y 72 horas. Este hallazgo concuerda parcialmente con lo hallado por **Scheibler et al. (2018)**, donde la combinación de la nistatina y el gluconato de clorhexidina mostraron menor actividad contra las biopelículas de *Candida albicans*, excepto con el intervalo de 30 minutos. Asimismo, los fármacos al combinarse presentaron altos porcentajes de degradación en todos los tiempos evaluados.

## CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

#### **Primero**

Según lo observado se concluye que existió efecto inhibitorio de los colutorios orales frente a cepa de *Candida albicans*, ya que los promedios de Gluconato de Clorhexidina al 0.12%, Cloruro de cetilpiridinio 0.07% y Gluconato de Clorhexidina 0.12% en combinación con Cloruro de cetilpiridinio 0.05% fueron diferentes de cero en los tres tiempos de estudio a las 24, 48 y 72 horas.

#### **Segundo**

El presente estudio concluye que el tiempo de 24 horas fue el más efectivo para todos los colutorios orales, puesto que se demostró las diferencias significativas en los grupos de datos tratados de manera independiente.

#### **Tercero**

El colutorio oral más efectivo frente a *Candida albicans* para el presente estudio, fue el Gluconato de clorhexidina 0.12% (Marca Oralgene) a las 24, 48 y 72 horas, después del antibiótico Anfotericina B, puesto que se demostró las diferencias significativas en los grupos de datos.

### 5.2. Recomendaciones

#### **Primero**

Se recomienda realizar futuros estudios relacionados con el tema considerando una mayor muestra para obtener conclusiones con una amplitud mayor de población y trabajar en menores tiempos de estudio.

**Segundo**

Se sugiere implementar como completo al tratamiento de candidiasis oral el empleo de colutorios con una frecuencia de uso de 24 horas, ya que ese tiempo fue el más efectivo para todos los colutorios estudiados.

**Tercero**

Se recomienda el empleo de Gluconato de clorhexidina 0.12% como colutorio oral frente al tratamiento de candidiasis, ya el presente estudio demostró ser el más efectivo.



## REFERENCIAS

1. Zurita S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2018;35(1):126–31.
2. Paulone S, Malavasi G, Ardizzoni A, Orsi C, Peppoloni S, Neglia R, et al. *Candida albicans* survival, growth and biofilm formation are differently affected by mouthwashes: An in vitro study. *New Microbiol*. 2017;40(1):45–52.
3. Handschuh R, Silva E, Urrutia M, Godoy P. Actividad antifúngica de los enjuagues bucales frente a *Candida albicans* y *Rhodotorula mucilaginosa*: un estudio in vitro. *Rev Iberoam Micol*. 2020;37(2):47–52.
4. Veilleux M, Grenier D. Determination of the effects of cinnamon bark fractions on *Candida albicans* and oral epithelial cells. *BMC Complement Altern Med*. 2019;19(303):1–12.
5. Sultan A, Theofilou V, Alfaifi A, Montelongo D, Jabra M. Is *Candida albicans* an opportunistic oncogenic pathogen? *PLoS Pathog*. 2022;18(4):1–8.
6. 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*. 2018 nov 15;13(11): e0207262. doi: 10.1371/journal.pone.0207262. PMID: 30439994; PMCID: PMC6237365.
7. Seguya A, Mowafy M, Gaballah A, Zaher A. Chlorhexidine versus organoselenium for inhibition of *S. mutans* biofilm, an in vitro study. *BMC Oral Health*. 2022 Jan 20;22(1):14. doi: 10.1186/s12903-022-02049-w. PMID: 35057785; PMCID: PMC8780763.
8. Hafiz M, Dashper S, McCullough M. Polymicrobial interactions of *Candida albicans* and its role in oral carcinogenesis. *J Oral Pathol Med*. 2019;48(7):1–5.
9. Scheibler E, Medina R, Leite CE, Campos M, Figueiredo M, Gonçalves F, et al. Stability and efficacy of combined nystatin and chlorhexidine against suspensions and biofilms of *Candida*

- albicans. Arch Oral Biol. 2018;89(1):70–6.
10. Sánchez L. Comparación in vitro del efecto antifúngico del aceite esencial citrus aurantifolia y fluconazol al 2% en crecimiento de *Candida albicans* (ATCC 10231) y *Candida tropicalis* (ATCC 1369). Tesis de titulación, Universidad Alas Peruanas; 2021.
  11. Moroz J, Kurnatowska AJ, Kurnatowski P. The in vitro activity of selected mouthrinses on *Candida* strains isolated from the oral cavity. Ann Parasitol. 2020;66(4):539–45.
  12. Martínez V. Sustainability (Switzerland). Tesis de titulación, Universidad Privada Antenor Orrego; 2020.
  13. Vásquez C. Comparación in vitro del efecto antifúngico entre los extractos hidroetanólicos de *rosmarinus officinalis* (romero) y propóleo sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Trujillo 2018. Tesis de titulación, Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; 2019.
  14. Alca Y. Efectividad antifungica in vitro individual y su asociacion de los aceites esenciales *Origanum vulgare* (orégano) y *Cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones sobre *Candida albicans*, Cusco - 2018. Visión Odontológica. 2019;6(1):44–50.
  15. Sonco R. Efecto antifúngico del aceite esencial del *Cocos nucifera* (coco) sobre cepas de *Candida albicans* aisladas. Arequipa. 2018 [Internet]. Universidad Alas Peruanas; 2018. Available from: <https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/8353>
  16. Camp I, Spettel K, Willinger B. Molecular methods for the diagnosis of invasive candidiasis. J Fungi [Internet]. 2020;6(3):1–14. Available from: <https://www.mdpi.com/2309-608X/6/3/101>
  17. Wilson D. *Candida albicans*. Trends Microbiol [Internet]. 2019;27(2):188–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.10.010>.

18. Elibe I, Innocent E, Aniebonam E, Zikora G. Genome plasticity in *Candida albicans*: A cutting-edge strategy for evolution , adaptation , and survival. *Infect , Genet Evol* [Internet]. 2022;99(105256):1–16. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105256>
19. Lopes J, Lionakis M. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence* [Internet]. 2022;13(1):89–121. Available from: <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.2019950>
20. Maraví G. Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Candida albicans* ATCC 90028. Tesis de titulación, Universidad Wiener; 2012.
21. Ghasemnezhad R, Changizi V, Haddad F, Homayoun M. *Origanum vulgare* leaf extract protects mice bone marrow cells against ionizing radiation. *Avicenna J Phytomedicine*. 2016;6(6):678–85.
22. Suntres Z, Coccimiglio J, Alipour M. The Bioactivity and Toxicological Actions of Carvacrol. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015;55(3):304–18.
23. Pimentel E, Castillo D, Quintana M, Maurtua D, Villegas L, Díaz C. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en la tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Rev Estomatológica Hered*. 2016;25(4):268–77.
24. López K, Dzul K, Lugo C, Arias J, Zavala J. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. *Rev Biomédica*. 2016;27(490):127–36.
25. Vila T, Sultan A, Montelongo D. Oral Candidiasis: A Disease of Opportunity. *J Fungi*. 2020;6(15):1–28.
26. Pusateri C, Monaco E, Edgerton M. Sensitivity of *Candida albicans* biofilm cells grown on denture acrylic to antifungal proteins and chlorhexidine. *Arch Oral Biol*. 2009;54(6):588–94.

27. Lombardi A, Ouanounou A. Fungal infections in dentistry : Clinical presentations , diagnosis, and treatment alternatives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* [Internet]. 2020;130(5):533–46. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2020.08.011>
28. Dias R, Andrade T, Dornelas L, Silva G, Melo E, Leite A. Antifungal activity and mode of action of thymol and its synergism with nystatin against *Candida* species involved with infections in the oral cavity: An in vitro study. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15(1):1–7.
29. Shekatkar M, Kheur S, Gupta A, Arora A, Raj A, Patil S, et al. Oral candidiasis in human immunodeficiency virus-infected patients under highly active antiretroviral therapy. *Disease-a-Month* [Internet]. 2021;67(9):1–18. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2021.101169>
30. Kumar R, Hyung J, Guy Y, Il S, Lee J. Inhibitory effects of the essential oils  $\alpha$ -longipinene and linalool on biofilm formation and hyphal growth of *Candida albicans*. *Biofouling*. 2017;33(2):143–55.
31. Fang J, Huang B, Ding Z. Efficacy of antifungal drugs in the treatment of oral candidiasis: A Bayesian network meta-analysis. *J Prosthet Dent* [Internet]. 2021;125(2):257–65. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2019.12.025>
32. Ülker M, Çelik A, Yavuz E, Kahvecioğlu F, Ülker H. Real-Time Analysis of Antiproliferative Effects of Mouthwashes Containing Alcohol, Sodium Fluoride, Cetylpyridinium Chloride, and Chlorhexidine in Vitro. *Biomed Res Int* [Internet]. 2021;2021(2610122):1–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8526215/>
33. Kumar P. From focal sepsis to periodontal medicine: a century of exploring the role of the oral microbiome in systemic disease. *J Physiol* [Internet]. 2017;595(2):465–76. Available

- from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5233655/>
34. Becker K, Brunello G, Scotti L, Drescher D, John G. Efficacy of 0.05% chlorhexidine and 0.05% cetylpyridinium chloride mouthwash to eliminate living bacteria on in situ collected biofilms: An in vitro study. *Antibiotics* [Internet]. 2021;10(6):730. Available from: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060730>
  35. Poppolo F, Ouanounou A. Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. *Int Dent J* [Internet]. 2022;72(3):269–77. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.identj.2022.01.005>
  36. Brookes Z, Bescos R, Belfield L, Ali K, Roberts A. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. *J Dent* [Internet]. 2020;103(103497):1–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7567658/>
  37. Poppolo F, Ouanounou A. Mouthwashes and Their Use in Dentistry: A Review [Internet]. *Oral Health*. 2021. p. 22–34. Available from: <https://www.oralhealthgroup.com/features/mouthwashes-and-their-use-in-dentistry-a-review/>
  38. Lakhani N, Vandana K. Chlorhexidine – An Insight. *Int J Adv Res* [Internet]. 2016;4(6):625–34. Available from: <http://www.journalijar.com/article/10788/chlorhexidine---an-insight./>
  39. Fullriede H, Abendroth P, Ehlert N, Doll K, Schäske J, Winkel A, et al. PH-responsive release of chlorhexidine from modified nanoporous silica nanoparticles for dental applications. *BioNanoMaterials* [Internet]. 2016;17(1–2):59–72. Available from: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/bnm-2016-0003/html>
  40. Hassan M, Taheri M, Mokhtari M, Forouzanfar A, Farazi F, Mirzaee M, et al. Comparative study of 0.2% and 0.12% digluconate chlorhexidine mouth rinses on the level of dental

- staining and gingival indices. *Dent Res J (Isfahan)* [Internet]. 2012;9(3):305–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3469897/>
41. Fiorillo L. Chlorhexidine Gel Use in the Oral District: A Systematic Review. *Gels* [Internet]. 2019;5(31):1–16. Available from: <https://doi.org/10.3390/gels5020031>
  42. Rajendiran M, Trivedi HM, Chen D, Gajendrareddy P, Chen L. Recent Development of Active Ingredients in Mouthwashes and Toothpastes for Periodontal Diseases. *Molecules* [Internet]. 2021;26(2001):1–21. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/7/2001/htm>
  43. Araújo I, Carvalho M, Oliveira T, Puppim R, Höfling J, Mattos R, et al. Antimicrobial activity of mouth rinses against bacteria that initially colonizes dental's surface. *Rev Odontol da UNESP* [Internet]. 2019;48(e20180130):1–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8526215/>
  44. Hernández R, Fernández C, Baptista M. *Metodología de la investigación científica*. 6ed. México: Mc Graw Hill; 2014.
  45. Ahmadi S. Social Research Methods: Qualitative and Quantitative Approaches. *J Kaji Sos dan Budaya Tebar Sci* [Internet]. 2022;6(1):104–13. Available from: <https://doi.org/10.2307/3211488>
  46. Firdaus F, Zufadilla Z, Caniago F. Reaserch methodology: types in the new perspective. *MANAZHIM*. 2021;3(1):1–16.
  47. Shanti B, Alok S. *Handbook of Research Methodology* [Internet]. Nueva Delhi: Educreation; 2022. Available from: <https://doi.org/10.1097/00003465-199001000-00018>.

**ANEXOS**

## Anexo 1: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
<p><b>Problema general:</b></p> <p>¿Cuál es el efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de <i>Candida albicans</i> realizado en Lima – Perú 2022?</p>	<p><b>Objetivo general:</b></p> <p>Determinar el efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de <i>Candida albicans</i> realizado en Lima – Perú 2022.</p>	<p><b>Hipótesis general:</b></p> <p><b>Hi:</b> Los colutorios orales presentan efecto antifúngico frente a cepa de <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Ho:</b> Los colutorios orales no presentan efecto antifúngico frente a cepa de <i>Candida albicans</i>.</p>	<p><b>Variable 1</b></p> <p>Efecto antifúngico.</p> <p><b>Dimensión:</b></p> <p>Diámetro del halo de inhibición.</p> <p><b>Variable 2:</b></p> <p>Colutorios orales</p> <p><b>Dimensiones:</b></p> <p>D1:Gluconato de clorhexidina al 0,12%.</p> <p>D2: Cloruro de cetilpiridinio 0,07%.</p> <p>D3: Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio 0,05%.</p>	<p><b>Tipo de investigación:</b></p> <p>Aplicada</p> <p><b>Método:</b></p> <p>Analítico</p> <p><b>Diseño de la investigación:</b></p> <p>Experimental <i>in – vitro</i>.</p> <p><b>Población:</b></p> <p>30 placas Petri con cepa de <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>150 halos de inhibición de <i>Candida albicans</i>.</p>
<p><b>Problemas específicos:</b></p> <p>-¿Cuál es el efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> realizado en Lima – Perú 2022?</p> <p>-¿Cuál es el efecto antifúngico del Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> realizado en Lima – Perú 2022?</p> <p>-¿Cuál es el efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> realizado en Lima – Perú 2022?</p>	<p><b>Objetivos específicos:</b></p> <p>- Determinar el efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> realizado en Lima – Perú 2022.</p> <p>- Determinar el efecto antifúngico del Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> realizado en Lima – Perú 2022.</p> <p>- Determinar el efecto antifúngico del Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el cloruro de cetilpiridinio al 0,05% frente a cepa de <i>Candida albicans</i> realizado en Lima – Perú 2022.</p>	<p><b>Hipótesis específicas:</b></p> <p><b>Hi<sup>1</sup>:</b> El Gluconato de clorhexidina al 0,12% presenta efecto antifúngico frente a cepa de <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Ho:</b> El Gluconato de clorhexidina al 0,12% no presenta efecto antifúngico frente a cepa de <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Hi<sup>2</sup>:</b> El Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% presenta efecto antifúngico frente a cepa de <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Ho:</b> El Cloruro de cetilpiridinio al 0,07% no presenta efecto antifúngico frente a cepa de <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Hi<sup>3</sup>:</b> El Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% presenta efecto antifúngico frente a cepa de <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Ho:</b> El Gluconato de clorhexidina al 0,12% en combinación con el Cloruro de cetilpiridinio al 0,05% no presenta efecto antifúngico frente a cepa de <i>Candida albicans</i>.</p>		



## Anexo 2: Validez del instrumento



### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

#### I DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Mg. C.D. César Augusto Adrianzén Acurio  
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente EAP Odontología  
 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos  
 1.4 Autor del Instrumento: Frank Cornelio Sanchez Ugarte.  
 1.5 Título de la Investigación: "Efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepas de Candida albicas. estudio in vitro".

#### II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.			X		
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.			X		
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología			X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				X	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.				X	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas.			X		
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.				X	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.				X	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					X
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.				X	
<b>CONTEO TOTAL DE MARCAS</b> (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)		----	----	4	5	1
		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = 0,74$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado <input type="radio"/>	[0,00 – 0,60]
Observado <input type="radio"/>	<0,60 – 0,70]
Aprobado <input checked="" type="radio"/>	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable

Lima, 11 de setiembre del 2022

*C. Adame*  
 .....  
 Firma y sello



## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS GENERALES

1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Mg. Esp. CD. Francisco Antonio Vargas Corpancho

1.2 Cargo e Institución donde labora:

1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos

1.4 Autor del Instrumento: Frank Cornelio Sanchez Ugarte.




1.5 Título de la Investigación: "Efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepas de Candida albicans. estudio in vitro".

### II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				x	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					x
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología				x	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				x	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.				x	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognoscitivas.				x	
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.					x
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.					x
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					x
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.				x	
<b>CONTEO TOTAL DE MARCAS</b> (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)					<b>6</b>	<b>4</b>
		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1x\text{A}) + (2x\text{B}) + (3x\text{C}) + (4x\text{D}) + (5x\text{E})}{50} = 0.88$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado 	[0,00 – 0,60]
Observado 	<0,60 – 0,70]
Aprobado 	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable

10, setiembre del 2022

  
 .....  
 Mg. Esp. CD. Francisco Antonio Vargas Corpancho  
 CCP 12839  
 RNE 755



## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS GENERALES




- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Mg. CD. Mariela Antonieta Villacorta Molina  
 1.2 Cargo e Institución donde labora: docente tiempo completo universidad Norbert Wiener  
 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos  
 1.4 Autor del Instrumento: Frank Cornelio Sanchez Ugarte.  
 1.5 Título de la Investigación: "Efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepas de Candida albicans. estudio in vitro".

### II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				X	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				X	
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología				X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				X	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.				X	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas.				X	
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.				X	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.				X	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio				X	
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.				X	
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)						
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = 0.8$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado 	[0,00 – 0,60]
Observado 	<0,60 – 0,70]
Aprobado 	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable

09 de Setiembre del 2022

  
 .....  
 Firma y sello

**Anexo 3:** Constancia de exoneración de revisión

**COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA PARA LA  
INVESTIGACIÓN**

**CONSTANCIA DE EXONERACIÓN DE REVISIÓN**

Lima, 02 de octubre de 2022

Investigador(a)  
**Frank Cornelio Sánchez Ugarte**  
**Exp. N°: 2331-2022**

---

De mi consideración:

Es grato expresarle mi cordial saludo y a la vez informarle que el Comité Institucional de Ética para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener (CIEI-UPNW) acuerda la **Exoneración de revisión** del siguiente protocolo de estudio:

- Protocolo titulado: **“Efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepas de Candida albicans. Estudio in vitro” Versión 1 con fecha 20/09/2022.**

El cual tiene como investigador principal al Sr(a) Frank Cornelio Sánchez Ugarte.

Es cuanto informo a usted para su conocimiento y fines pertinentes.

Atentamente,



**Yenny Marisol Bellido Fuentes**  
**Presidenta del CIEI- UPNW**

## Anexo 4: Constancia de recolección de datos



### CONSTANCIA

Dra. Brenda Vergara Pinto  
Directora  
E.A.P. Odontología – Universidad Norbert Wiener  
Presente.

Estimada Doctora:

Es grato dirigirme a usted para comunicarle que el señor FRANK CORNELIO SANCHEZ UGARTE con DNI 47901314, bachiller en Odontología de la E.A.P. que usted dirige, realizó las pruebas microbiológicas del estudio experimental *in vitro* titulado: "EFECTO ANTIFÚNGICO DE LOS COLUTORIOS ORALES FRENTE A CEPAS DE CANDIDA ALBICANS. ESTUDIO IN VITRO". Dicho estudio corresponde a su tesis para obtener el título de Cirujano dentista.

Toda la experimentación y recolección de datos fue realizada entre los días 02 al 15 de noviembre del presente año y fue supervisado en su totalidad por mi persona, cumpliendo con todos los protocolos de bioética, bioseguridad y control de infecciones requeridos.



Sin otro particular.

Atentamente

Lima, 25 de noviembre del 2022



*Oniel Elias Juarez Vilcapuma*  
Mblgo. Oniel Elias Juarez Vilcapuma  
Gerente de Laboratorio  
C.B.P. 14090

**Anexo 5: Ficha de recolección de datos**

N. ° de placa Petri	<b>Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a Candida albicans ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar Mueller Hinton</b>				
	<b>M1:</b> Gluconato de clorhexidina al 0,12%	<b>M2:</b> Cloruro de cetilpiridinio 0,07%	<b>M3:</b> Gluconato de clorhexidina al 0,12% + Cloruro de cetilpiridinio 0,05%	<b>M4:</b> Anfotericina B(10ug) <b>(Control +)</b>	<b>M5:</b> Suero fisiológico al 0.85% <b>(Control -)</b>
1	25,51	15,82	11,30	23,06	0,00
2	19,86	13,19	12,76	23,72	0,00
3	24,52	18,60	14,25	23,86	0,00
4	19,94	16,15	13,22	22,85	0,00
5	18,28	19,24	17,96	22,39	0,00
6	17,90	16,77	17,82	23,52	0,00
7	18,10	16,01	18,20	25,00	0,00
8	16,48	16,97	14,81	26,91	0,00
9	20,20	14,46	15,90	24,12	0,00
10	22,12	16,32	11,68	25,18	0,00
11	27,50	18,76	12,05	23,41	0,00
12	26,71	13,63	13,00	23,07	0,00
13	22,60	18,70	17,42	27,95	0,00
14	19,58	15,04	15,23	22,18	0,00
15	20,75	20,20	16,14	22,40	0,00
16	17,38	16,85	14,56	20,23	0,00
17	14,92	15,06	17,48	19,84	0,00
18	17,03	13,71	12,34	21,31	0,00
19	17,25	15,79	13,87	23,90	0,00
20	18,77	17,47	12,31	23,11	0,00
21	16,30	14,34	10,79	22,19	0,00
22	18,00	15,75	11,51	21,45	0,00
23	21,34	18,04	12,90	21,16	0,00
24	18,21	17,35	13,12	23,82	0,00
25	21,32	13,62	18,68	22,24	0,00
26	17,36	14,26	14,67	22,95	0,00
27	20,65	15,07	14,57	22,36	0,00
28	17,70	19,51	13,95	23,11	0,00
29	18,02	13,10	14,28	24,28	0,00
30	17,28	15,86	15,10	23,34	0,00

N. ° de placa Petri	<b>Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar Mueller Hinton</b>				
	<b>M1:</b> Gluconato de clorhexidina al 0,12%	<b>M2:</b> Cloruro de cetilpiridinio 0,07%	<b>M3:</b> Gluconato de clorhexidina al 0,12% + Cloruro de cetilpiridinio 0,05%	<b>M4:</b> Anfotericina B(10ug) <b>(Control +)</b>	<b>M5:</b> Suero fisiológico al 0.85% <b>(Control -)</b>
1	25,40	15,71	11,19	22,95	0,00
2	19,75	13,08	12,65	23,62	0,00
3	24,41	18,51	14,16	23,75	0,00
4	19,84	16,05	13,10	22,73	0,00
5	18,17	19,15	17,85	22,30	0,00
6	17,76	16,64	17,71	23,40	0,00
7	17,99	15,90	18,09	24,92	0,00
8	16,41	16,88	14,72	26,80	0,00
9	20,12	14,35	15,78	24,00	0,00
10	22,00	16,21	11,58	25,10	0,00
11	27,39	18,62	11,94	23,30	0,00
12	26,63	13,50	12,92	22,95	0,00
13	22,48	18,64	17,30	27,85	0,00
14	19,47	14,92	15,11	22,10	0,00
15	20,63	20,11	16,02	22,26	0,00
16	17,26	16,74	14,45	20,12	0,00
17	14,80	14,95	17,37	19,75	0,00
18	16,91	13,62	12,19	21,20	0,00
19	17,14	15,68	13,72	23,78	0,00
20	18,65	17,35	12,19	23,00	0,00
21	16,19	14,25	10,70	22,10	0,00
22	17,92	15,63	11,40	21,36	0,00
23	21,22	17,96	12,79	21,05	0,00
24	18,10	17,24	13,00	23,70	0,00
25	21,20	13,51	18,58	22,15	0,00
26	17,25	14,15	14,55	22,84	0,00
27	20,54	14,95	14,50	22,25	0,00
28	17,57	19,40	13,88	23,00	0,00
29	17,94	12,96	14,16	24,16	0,00
30	17,17	15,75	14,99	23,22	0,00

N. ° de placa Petri	<b>Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a Candida albicans ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 72 horas en agar Mueller Hinton</b>				
	<b>M1:</b> Gluconato de clorhexidina al 0,12%	<b>M2:</b> Cloruro de cetilpiridinio 0,07%	<b>M3:</b> Gluconato de clorhexidina al 0,12% + Cloruro de cetilpiridinio 0,05%	<b>M4:</b> Anfotericina B(10ug) <b>(Control +)</b>	<b>M5:</b> Suero fisiológico al 0.85% <b>(Control -)</b>
1	25,26	15,60	11,10	22,84	0,00
2	19,60	12,96	12,54	23,54	0,00
3	24,20	18,38	14,04	23,64	0,00
4	19,72	15,94	12,96	22,62	0,00
5	18,06	19,03	17,78	22,19	0,00
6	17,62	16,54	17,60	23,31	0,00
7	17,88	15,78	17,96	24,81	0,00
8	16,28	16,76	14,60	26,69	0,00
9	20,00	14,24	15,70	23,87	0,00
10	21,86	16,11	11,46	25,00	0,00
11	27,25	18,48	11,82	23,16	0,00
12	26,42	13,38	12,80	22,89	0,00
13	22,38	18,52	17,18	27,73	0,00
14	19,34	14,80	15,00	22,05	0,00
15	20,42	20,00	15,90	22,15	0,00
16	17,14	16,62	14,34	20,02	0,00
17	14,66	14,82	17,26	19,63	0,00
18	16,80	13,54	12,10	21,09	0,00
19	17,00	15,56	13,70	23,67	0,00
20	18,52	17,20	12,08	22,91	0,00
21	16,08	14,16	10,58	21,99	0,00
22	17,80	15,52	11,38	21,26	0,00
23	21,12	17,84	12,68	20,94	0,00
24	17,96	17,16	12,86	23,59	0,00
25	21,09	13,40	18,46	22,02	0,00
26	17,14	14,04	14,44	22,72	0,00
27	20,44	14,82	14,38	22,13	0,00
28	17,42	19,28	13,76	22,89	0,00
29	17,86	12,86	14,06	24,06	0,00
30	17,04	15,60	14,88	23,10	0,00

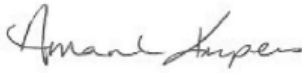





Anexo 6: Certificado de cepa *Candida albicans* ATCC® 10231™



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>Specifications</b>  <b>Microorganism Name:</b> <i>Candida albicans</i>  <b>Catalog Number:</b> 0443  <b>Lot Number:</b> 443-1359**  <b>Reference Number:</b> ATCC® 10231™**  <b>Passage from Reference:</b> 3</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2024/1/31  <b>Release Information:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Cassandra L Hall  <b>Release Date:</b> 2022/3/24</p>
---	--

Performance	
<p><b>Macroscopic Features:</b>                      Small to medium, white, circular, convex, dull colonies.  <b>Microscopic Features:</b>                      Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.</p>	<p><b>Medium:</b>                      Nutrient  <b>Method:</b>                      Gram Stain (1)</p>
<p><b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)                      See attached ID System results document.</p>	<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b>                      (1) Germ Tube Test: positive                      (1) Chlamyospore production: positive</p> <div style="text-align: center;">                       Amanda Kuperus                      Director of Quality Control                      AUTHORIZED SIGNATURE                 </div>
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">                       REFERENCE MATERIAL PRODUCER                      CERT #2655.02                 </div> <div> <p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">  </div> <div> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">                       TESTING CERT #2655.01                 </div> </div>	

## Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



## Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

## Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2022-03-23T14:29:55.719 CMC

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D12 (+++) (B)	443-1359	Candida albicans	2.05

Comments:

N/A

## Anexo 7: Ficha técnica de Standard de McFARLAND 0.5 Sulfato de bario



### McFARLAND BARIUM SULPHATE STANDARD

Standard di torbidità per la preparazione di sospensioni di microrganismi.

Turbidity standard for preparing suspensions of microorganisms.

#### DESCRIZIONE

Gli standard McFarland vengono utilizzati come standard di torbidità nella preparazione delle sospensioni di microrganismi ed in particolare modo nella preparazione degli inoculi batterici per l'esecuzione dell'antibiogramma.

#### PRINCIPIO

Gli standard di torbidità sono composti da sostanze chimiche che miscelate precipitano formando una soluzione di riproducibile torbidità.

Gli standard McFarland vengono preparati aggiungendo acido solforico ad una soluzione acquosa di cloruro di bario.

La miscela porta alla formazione di precipitato di solfato di bario.

Per ciascun standard McFarland in tabella 1 è riportata la densità corrispondente espressa in cellule/ml. La concentrazione batterica dipende dalla dimensione dei microrganismi. I valori riportati nella tabella 1 rappresentano valori medi di concentrazione validi per i batteri. Per i lieviti, che hanno dimensioni maggiori, bisogna dividere gli stessi numeri per 30.

#### PROCEDURA

Prima dell'uso, agitare vigorosamente lo standard di torbidità, utilizzando un vortex meccanico.

Confrontare la torbidità di una sospensione batterica preparata alla torbidità dello standard, in presenza di una luce adeguata.

Alternativamente, utilizzare lo standard di torbidità per calibrare un turbidimetro elettrometrico.

#### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'utilizzo degli standard McFarland consente la preparazione di inoculi standardizzati da utilizzare nelle procedure per l'esecuzione dell'antibiogramma.

#### DESCRIPTION

McFarland standards are used as turbidity standards in the preparation of suspensions of microorganisms and has particular application in the preparation of bacterial inocula for performing antimicrobial susceptibility testing.

#### PRINCIPLE

Turbidity standards are prepared by mixing chemicals that precipitate to form a solution of reproducible turbidity.

McFarland standards are prepared by adding sulphuric acid to an aqueous solution of barium chloride, which results in the formation of a suspended barium sulphate precipitate.

For each McFarland standard in table 1 is reported the correspondent density expressed in cells/ml. Bacterial concentration depends on microorganisms size. The mentioned values in table 1 represent average values of concentration valid for bacteria. For yeast, which are larger in size, these numbers should be divided by about 30.

#### PROCEDURE

Vigorously agitate the turbidity standard on a mechanical vortex mixer just before use.

Using adequate light, compare the turbidity of a bacterial suspension to the turbidity standard.

Alternatively, use the turbidity standard to calibrate a electrometric turbidimeter.

#### RESULTS INTERPRETATION

McFarland standards will enable the preparation of standardized inocula for use in the performance of standardized antimicrobial susceptibility testing procedures.

Tabella / Table 1.

McFarland Standard	Densità (cellule/ml) / Density (cells/ml)
0.5	1.5 x 10 <sup>8</sup>
1.0	3.0 x 10 <sup>8</sup>
2.0	6.0 x 10 <sup>8</sup>
3.0	9.0 x 10 <sup>8</sup>
4.0	12.0 x 10 <sup>8</sup>

#### BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

1. Mc Farland, 1907. J.Am.Med.Assoc.-49:1176.
2. Patricia M. Tille, 2014. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 13<sup>a</sup> edition by Mosby, Inc., an affiliate of Elsevier Inc.
3. CLSI M7-A9, 2012. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically.
4. CLSI M11-A7, 2007. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria.

#### PRESENTAZIONE / PRESENTATION

Prodotto / Product	REF	
McFARLAND 0.5 BARIUM SULPHATE STANDARD	80400	1
McFARLAND 1.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80401	1
McFARLAND 2.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80402	1
McFARLAND 3.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80403	1
McFARLAND 4.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80404	1
McFARLAND STANDARD SET (McFARLAND 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0)	80405	5

#### TABELLA DEI SIMBOLI / TABLE OF SYMBOLS

LOT	Codice del lotto Batch Code		Contenuto sufficiente per <n> saggi Content sufficient for <n> tests		Fabbricante Manufacturer		Non riutilizzare Do not reuse
REF	Numero di catalogo Catalogue Number		Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Attention, see instructions for use		Fragile, maneggiare con cura Fragile, handle with care		



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY  
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net

Rev.3 / 10.01.2014

## Anexo 8: Informe de ensayo microbiológico



### INFORME DE ENSAYO Nº SQ221116.01

**SOLICITUD DE ENSAYO** : SQE 221017.01  
**SOLICITANTE** : SANCHEZ UGARTE, FRANK CORNELIO  
**DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE** : No indica  
**PROCEDENCIA DE LA MUESTRA** : Proporcionado por el cliente <sup>(1)</sup>  
**PROCEDIMIENTO DE MUESTREO** : No aplica  
**IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA** : M1: Clorhexidina al 0,12%. Marca "ORALGENE" <sup>(1)</sup>  
 M2: CPC 0,07%. Marca "VITIS" <sup>(1)</sup>  
 M3: Clorhexidina al 0,12% + CPC 0,07%. Marca "PERIO.AID" <sup>(1)</sup>  
 M4: Anfotericina B (10ug). Marca: "LIOFILCHEM"  
 M5: Suero fisiológico al 0,85%  
**CANTIDAD Y DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA** : M1: Una (01) unidad de 500mL  
 M2: Una (01) unidad de 500mL  
 M3: Una (01) unidad de 150mL  
 M4: Una (01) caja de 250 unidades  
 M5: Una (01) unidad de 100mL  
**LUGAR, FECHA Y HORA DE MUESTREO** : No aplica  
**FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN** : 17 de octubre del 2022/ 17:00h  
**CONDICIONES A LA RECEPCIÓN** : Temperatura ambiente  
**FECHAS DE INICIO DEL ANÁLISIS** : 26 de octubre del 2022  
**FECHAS DE TÉRMINO DEL ANÁLISIS** : 14 de noviembre del 2022  
**FECHAS DE EMISIÓN** : 16 de noviembre del 2022



#### RESULTADOS DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO: ANTIBIOGRAMA

Nº Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar Mueller Hinton				
	M1: Clorhexidina al 0,12%	M2: CPC 0,07%	M3: Clorhexidina al 0,12% + CPC 0,05%	M4: Anfotericina B (10ug)	M5: Suero fisiológico al 0,85%
1	25,51	15,82	11,30	23,06	0,00
2	19,86	13,19	12,76	23,72	0,00
3	24,52	18,60	14,25	23,86	0,00
4	19,94	16,15	13,22	22,85	0,00
5	18,28	19,24	17,96	22,39	0,00
6	17,90	16,77	17,82	23,52	0,00
7	18,10	16,01	18,20	25,00	0,00
8	16,48	16,97	14,81	26,91	0,00
9	20,20	14,46	15,90	24,12	0,00
10	22,12	16,32	11,68	25,18	0,00
11	27,50	18,76	12,05	23,41	0,00
12	26,71	13,63	13,00	23,07	0,00
13	22,60	18,70	17,42	27,96	0,00
14	19,58	15,04	15,23	22,18	0,00
15	20,75	20,20	16,14	22,40	0,00

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, en la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.



## INFORME DE ENSAYO N° SQ221116.01

16	17,38	16,85	14,56	20,23	0,00
17	14,92	15,06	17,48	19,84	0,00
18	17,03	13,71	12,34	21,31	0,00
19	17,25	15,79	13,87	23,90	0,00
20	18,77	17,47	12,31	23,11	0,00
21	16,30	14,34	10,79	22,19	0,00
22	18,00	15,75	11,51	21,45	0,00
23	21,34	18,04	12,90	21,16	0,00
24	18,21	17,35	13,12	23,82	0,00
25	21,32	13,62	18,68	22,24	0,00
26	17,36	14,26	14,67	22,95	0,00
27	20,65	15,07	14,57	22,36	0,00
28	17,70	19,51	13,95	23,11	0,00
29	18,02	13,10	14,28	24,28	0,00
30	17,28	15,86	15,10	23,34	0,00



N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar Mueller Hinton				
	M1: Clorhexidina al 0,12%	M2: CPC 0,07%	M3: Clorhexidina al 0,12% + CPC 0,05%	M4: Anfotericina B (10ug)	M5: Suero fisiológico al 0,85%
1	25,40	15,71	11,19	22,95	0,00
2	19,75	13,08	12,65	23,62	0,00
3	24,41	18,51	14,16	23,75	0,00
4	19,84	16,05	13,10	22,73	0,00
5	18,17	19,15	17,85	22,30	0,00
6	17,76	16,64	17,71	23,40	0,00
7	17,99	15,90	18,09	24,92	0,00
8	16,41	16,88	14,72	26,80	0,00
9	20,12	14,35	15,78	24,00	0,00
10	22,00	16,21	11,58	25,10	0,00
11	27,39	18,62	11,94	23,30	0,00
12	26,63	13,50	12,92	22,95	0,00
13	22,48	18,64	17,30	27,85	0,00
14	19,47	14,92	15,11	22,10	0,00
15	20,63	20,11	16,02	22,26	0,00
16	17,26	16,74	14,45	20,12	0,00
17	14,80	14,95	17,37	19,75	0,00
18	16,91	13,62	12,19	21,20	0,00

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., la adulteración o uso indebido del presente informe constituya un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.





## INFORME DE ENSAYO N° SQ221116.01

19	17,14	15,68	13,72	23,78	0,00
20	18,65	17,35	12,19	23,00	0,00
21	16,19	14,25	10,70	22,10	0,00
22	17,92	15,63	11,40	21,36	0,00
23	21,22	17,96	12,79	21,05	0,00
24	18,10	17,24	13,00	23,70	0,00
25	21,20	13,51	18,58	22,15	0,00
26	17,25	14,15	14,55	22,84	0,00
27	20,54	14,95	14,50	22,25	0,00
28	17,57	19,40	13,88	23,00	0,00
29	17,94	12,96	14,16	24,16	0,00
30	17,17	15,75	14,99	23,22	0,00



N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 72 horas en agar Mueller Hinton				
	M1: Clorhexidina al 0,12%	M2: CPC 0,07%	M3: Clorhexidina al 0,12% + CPC 0,05%	M4: Anfotericina B (10ug)	M5: Suero fisiológico al 0,85%
1	25,26	15,60	11,10	22,84	0,00
2	19,60	12,96	12,54	23,54	0,00
3	24,20	18,38	14,04	23,64	0,00
4	19,72	15,94	12,96	22,62	0,00
5	18,06	19,03	17,78	22,19	0,00
6	17,62	16,54	17,60	23,31	0,00
7	17,88	15,78	17,96	24,81	0,00
8	16,28	16,76	14,60	26,69	0,00
9	20,00	14,24	15,70	23,87	0,00
10	21,86	16,11	11,46	25,00	0,00
11	27,25	18,48	11,82	23,16	0,00
12	26,42	13,38	12,80	22,89	0,00
13	22,38	18,52	17,18	27,73	0,00
14	19,34	14,80	15,00	22,05	0,00
15	20,42	20,00	15,90	22,15	0,00
16	17,14	16,62	14,34	20,02	0,00
17	14,66	14,82	17,26	19,63	0,00
18	16,80	13,54	12,10	21,09	0,00
19	17,00	15,56	13,70	23,67	0,00
20	18,52	17,20	12,08	22,91	0,00
21	16,08	14,16	10,58	21,99	0,00

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.



## INFORME DE ENSAYO N° SQ221116.01

22	17,80	15,52	11,38	21,26	0,00
23	21,12	17,84	12,68	20,94	0,00
24	17,96	17,16	12,86	23,59	0,00
25	21,09	13,40	18,46	22,02	0,00
26	17,14	14,04	14,44	22,72	0,00
27	20,44	14,82	14,38	22,13	0,00
28	17,42	19,28	13,76	22,89	0,00
29	17,86	12,86	14,06	24,06	0,00
30	17,04	15,60	14,88	23,10	0,00



### MÉTODOS DE ENSAYO

ENSAYOS	NORMA DE REFERENCIA
ANTIBIOGRAMA	Técnica de Kirby-Bauer. Método de disco de difusión en agar.

### OBSERVACIONES:

(1): Los resultados se aplican a la muestra tal como se recibió en el laboratorio.



Mblgo. Oriel Elías Juárez Vilcapuma  
Gerente de Laboratorio  
C.B.P.14090

Los resultados de los ensayos corresponden sólo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.

## Anexo 9: Constancia de eliminación de residuos biológicos



### CONSTANCIA

La empresa SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. hace constar que se ha eliminado adecuadamente los residuos biológicos del trabajo de Tesis "EFECTO ANTIFÚNGICO DE LOS COLUTORIOS ORALES FRENTE A CEPAS DE CANDIDA ALBICANS. ESTUDIO IN VITRO" como indica nuestro Instructivo de Bioseguridad y eliminación de residuos biológicos del Laboratorio de microbiología I01-P10-GL, el cual indica que los materiales de ensayo biocontaminados se dividirán en materiales de vidrio y descartables. Ambos serán colocados, por separado, en bolsas de riesgo biológico y se colocarán en la autoclave para su proceso a 121°C por 30 minutos.

Luego del proceso de autoclavado, los materiales de vidrio se lavarán y pasarán controles de calidad para ser reutilizados. Con respecto al material descartable, al haber sido **minimizado, tratado, eliminando el riesgo significativo**; se realiza su **disposición final** como residuo sólido municipal según Ley N° 27314., Ley General de Residuos Sólidos. Título IV. Artículo 27, inciso 2, el cual dice:



*"27.2 La prestación de servicios de residuos sólidos por pequeñas y microempresas estará restringida a los residuos del ámbito de la gestión municipal, conforme a las disposiciones reglamentarias que al efecto se dicten para promover su participación".*

Lima, 18 de noviembre del 2022



*[Handwritten Signature]*  
**Mblgo. Oniel Elías Juárez Vilcapuma**  
 Gerente de Laboratorio  
 C.B.P. 14090



## Anexo 10: Informe de Turnitin

### Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

**Tesis**

AUTOR

**Frank Sanchez**

RECUENTO DE PALABRAS

**11373 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**60115 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**49 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**323.6KB**

FECHA DE ENTREGA

**Mar 12, 2023 9:16 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Mar 12, 2023 9:17 PM GMT-5**

#### ● 9% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 9% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 2% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

#### ● Excluir del Reporte de Similitud

- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

## Reporte de similitud

### ● 9% de similitud general

Principales fuentes encontradas en las siguientes bases de datos:

- 9% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 2% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossr

#### FUENTES PRINCIPALES

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	<b>repositorio.uwiener.edu.pe</b> Internet	3%
2	<b>repositorio.unphu.edu.do</b> Internet	1%
3	<b>dentaid.co</b> Internet	<1%
4	<b>1library.co</b> Internet	<1%
5	<b>hdl.handle.net</b> Internet	<1%
6	<b>elsevier.es</b> Internet	<1%
7	<b>uic.es</b> Internet	<1%
8	<b>uwiener on 2023-01-20</b> Submitted works	<1%

Descripción general de fuentes

## Anexo 11: Informe del asesor



# INFORME DEL ASESOR

Lima, 13 de enero del 2023

Dra. Esp. Brenda Vergara Pinto

Directora de la EAP de Odontología  
Universidad Privada Norbert Wiener  
Presente.-

De mi especial consideración:

Es grato expresarle un cordial saludo y como Asesor de tesis titulada: **“Efecto antifúngico de los colutorios orales frente a cepa de *Candida albicans* - estudio *in vitro* en Lima, 2022”**, desarrollada por el egresado Sanchez Ugarte Frank Cornelio; para la obtención del Título Profesional de Cirujano Dentista; ha sido concluida satisfactoriamente.

Al respecto informo que se lograron los siguientes objetivos:

- Orientar la investigación para lograr los objetivos de la misma.
- Revisar el informe final en sus resultados, discusión, conclusiones y recomendaciones.
- Aprobar la tesis para su sustentación.

Atentamente,

---

Firma del Asesor  
Mg. Esp. Marroquín García Lorenzo Enrique

**Anexo 12: Fotos****EQUIPAMIENTO**

Autoclave



Incubadora



Estufa digital



Regla Vernier digital



Micropipeta



Contador de colonias



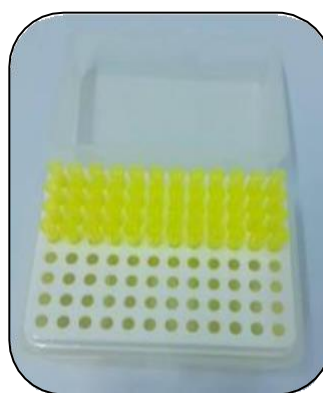
Balanza digital



Baño termostático

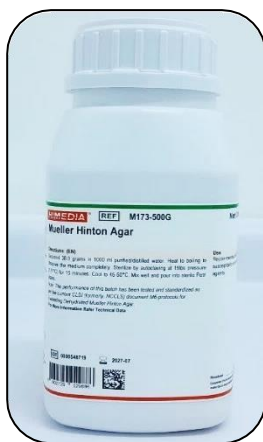


Vortex



Caja con tips para micropipeta

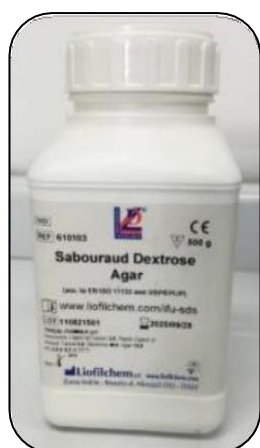
## MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS



Agar Mueller Hinton



Cloruro de sodio

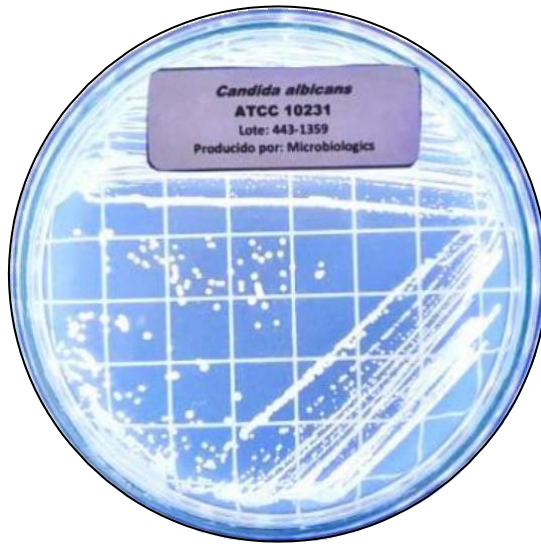


Agar Sabouraud dextrosa

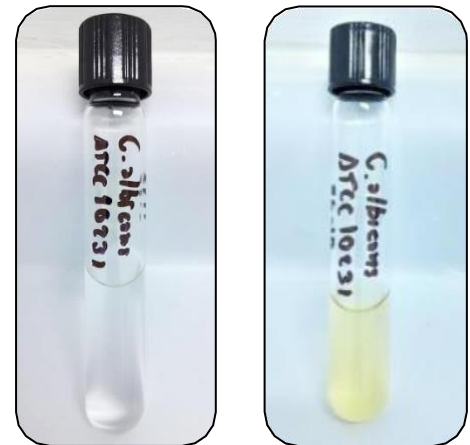


Caldo BHI

## CEPA MICROBIANA E INSUMOS PARA ANTIBIOGRAMA



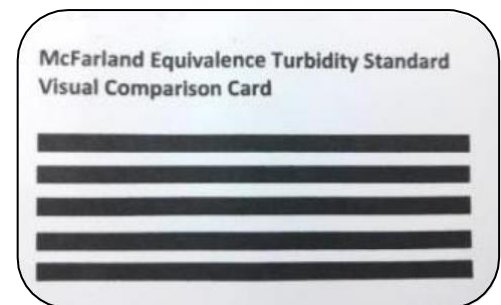
Cepa de *Candida albicans* ATCC 10231  
Agar Saboraud dextrosa



Cepa de *Candida albicans* ATCC 10231  
en suero fisiológico al 0.85% y Caldo BHI



Discos antibiograma Anfotericina B (10µg)



Tarjeta de comparación visual para el  
estándar de turbidez McFarland



Discos en blanco antibiograma





Gluconato de clorhexidina  
al 0.12% (Oralgene)



Cloruro de cetilpiridinio  
al 0.07% (Vitis)



Gluconato de clorhexidina 0.12% +  
CPC 0.05% (PerioAid)



Suero fisiológico al 0.85%



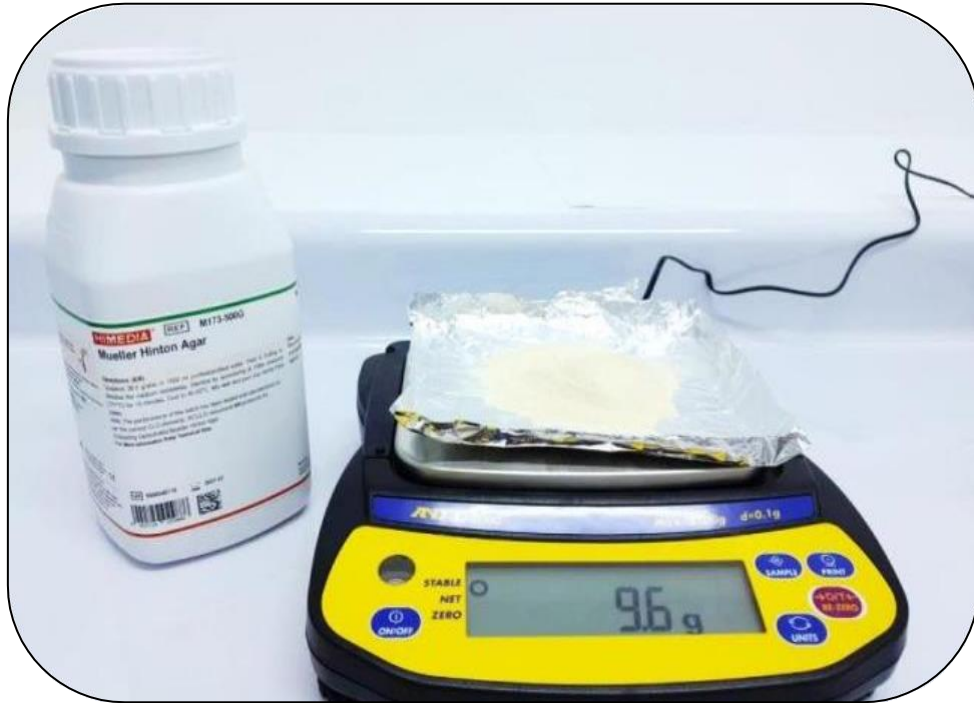
Agua destilada



Estándar de Sulfato Bario  
al 0.5 de McFarland

## 1. PREPARACIÓN DEL AGAR MUELLER HINTON

- Pesaje del agar Mueller Hinton:



Luego el frasco de agar Mueller Hinton (Color ámbar) se autoclavó y se estabilizó la temperatura del Agar Mueller Hinton a 45°C en baño termostático antes de su traslado en placas Petri.





- **Traslado del agar Mueller Hinton** (Frasco con medio color ámbar),

en esterilidad, alas placas Petri esterilizadas en estufa digital (mechero de bunsen encendido).



- **Preparación** a partir de cultivo en agar Saboraud dextrosa de *Candida albicans* ATCC

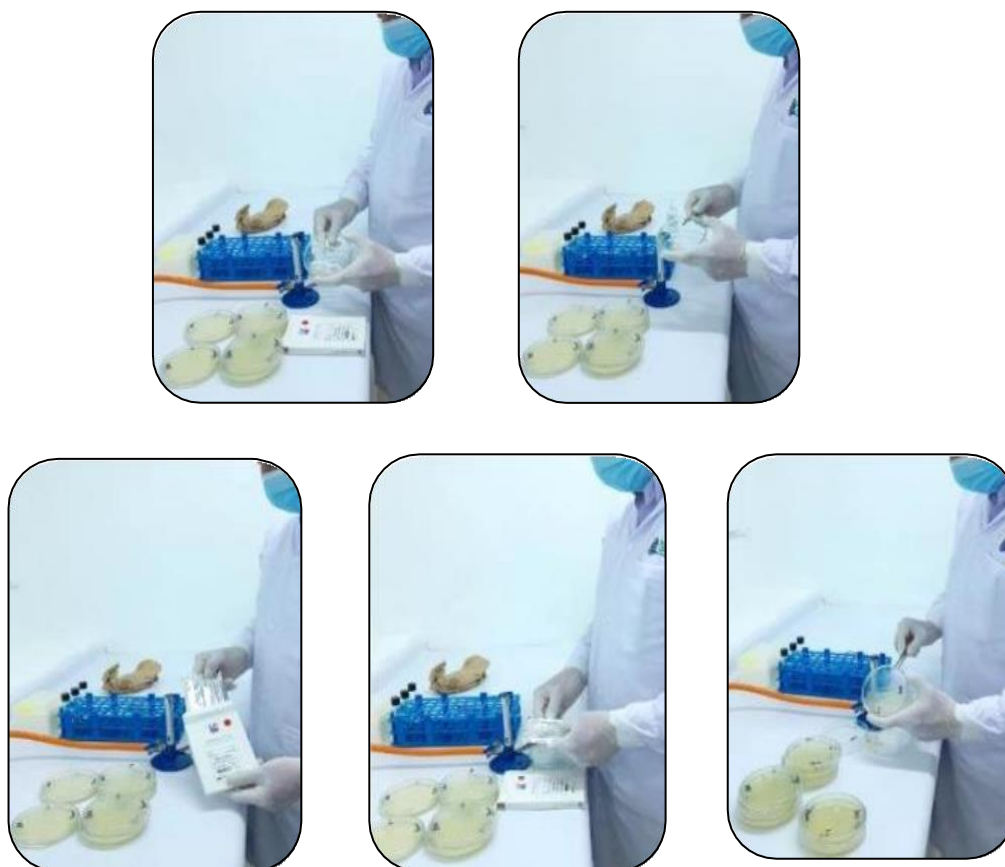
10231, del patrón 0,5 de McFarland. Comparación con el estándar comercial.



- **Inoculación** con hisopo estéril de la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 a las placas de agar Mueller Hinton.



- **Colocación** con pinza estéril de los discos antibiograma en blanco en las placas de agar Mueller Hinton cultivadas con *Candida albicans* ATCC 10231.



- **Procedimiento de inoculación** de 10ul de las sustancias de prueba (Digluconato de clorhexidina al 0.12%, CPC al 0.07% y Digluconato de clorhexidina al 0.12% más CPC AL 0.05%) con micropipeta, en esterilidad, frente al mechero de bunsen.

Inoculación a los discos antibiograma de Digluconato de clorhexidina al 0,12%



Inoculación a los discos antibiograma con Cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0.07%



Inoculación a los discos antibiograma con Digluconato de clorhexidina al 0.12% más CPC al 0.05%



### Discos antibiograma con Anfotericina (10ug)



### Inoculación a los discos antibiograma con Suero fisiológico al 0.85%



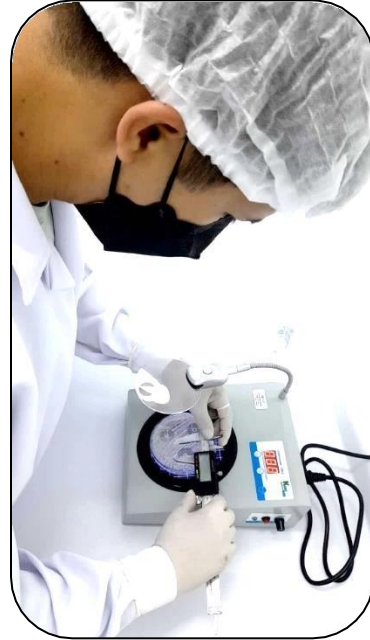
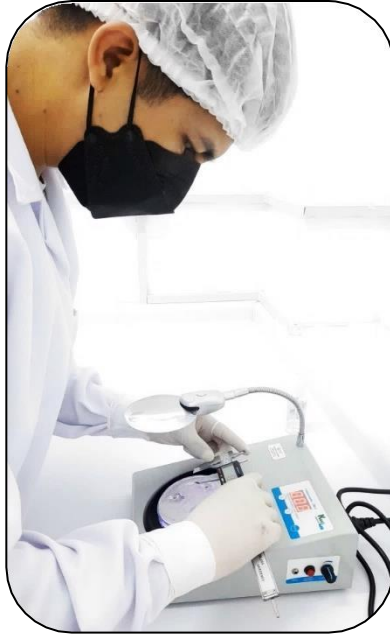
## 2. COLOCACIÓN DE LAS PLACAS PETRI CON AGAR MUELLER HINTON

inoculadas con *Candida albicans* con los discos antibiograma conteniendo las sustancias de prueba en la incubadora a 32°C por los periodos de tiempo de 24, 48 y 72 horas.



### 3. RESULTADOS

Después del tiempo de incubación, las placas Petri se sacan del equipo y se miden con una regla Vernier digital y una lupa de 4 aumentos de un contador de colonias de fondo oscuro que dará contraste para observar detalladamente los halos de inhibición de las sustancias de prueba frente a *Candida albicans*.





Diferencias entre lecturas de Gluconato de Clorhexidina al 0.12% de 24, 48 y 72 horas



Halo de inhibición a las 24 horas de Gluconato de Clorhexidina al 0.12% (Placa 8. Disco 29)



Halo de inhibición a las 48 horas de Gluconato de Clorhexidina al 0.12% (Placa 8. Disco 29)



Halo de inhibición a las 72 horas de Gluconato de Clorhexidina al 0.12% (Placa 8. Disco 29)

Diferencias entre lecturas de Gluconato de Clorhexidina al 0.12% en combinación con Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% de 24, 48 y 72 horas.



Halo de inhibición a las 24 horas de CHX 0.12% en combinación con CPC 0.05% (Placa 8. Disco 30)



Halo de inhibición a las 48 horas de CHX 0.12% en combinación con CPC 0.05% (Placa 8. Disco 30)



Halo de inhibición a las 72 horas de CHX 0.12% en combinación con CPC 0.05% (Placa 8. Disco 30)

Diferencias entre lecturas de Cloruro de cetilpiridinio al 0.07% de 24, 48 y 72 horas



Halo de inhibición a las 24 horas de Cloruro de cetilpiridinio al 0.07% (Placa 5. Disco 18)



Halo de inhibición a las 48 horas de Cloruro de cetilpiridinio al 0.07% (Placa 5. Disco 18)



Halo de inhibición a las 72 horas de Cloruro de cetilpiridinio al 0.07% (Placa 5. Disco 18)



Diferencias entre lecturas de Anfotericina B de 24, 48 y 72 horas



Halo de inhibición a las 24 horas de Anfotericina B (Placa 9. Disco 25)

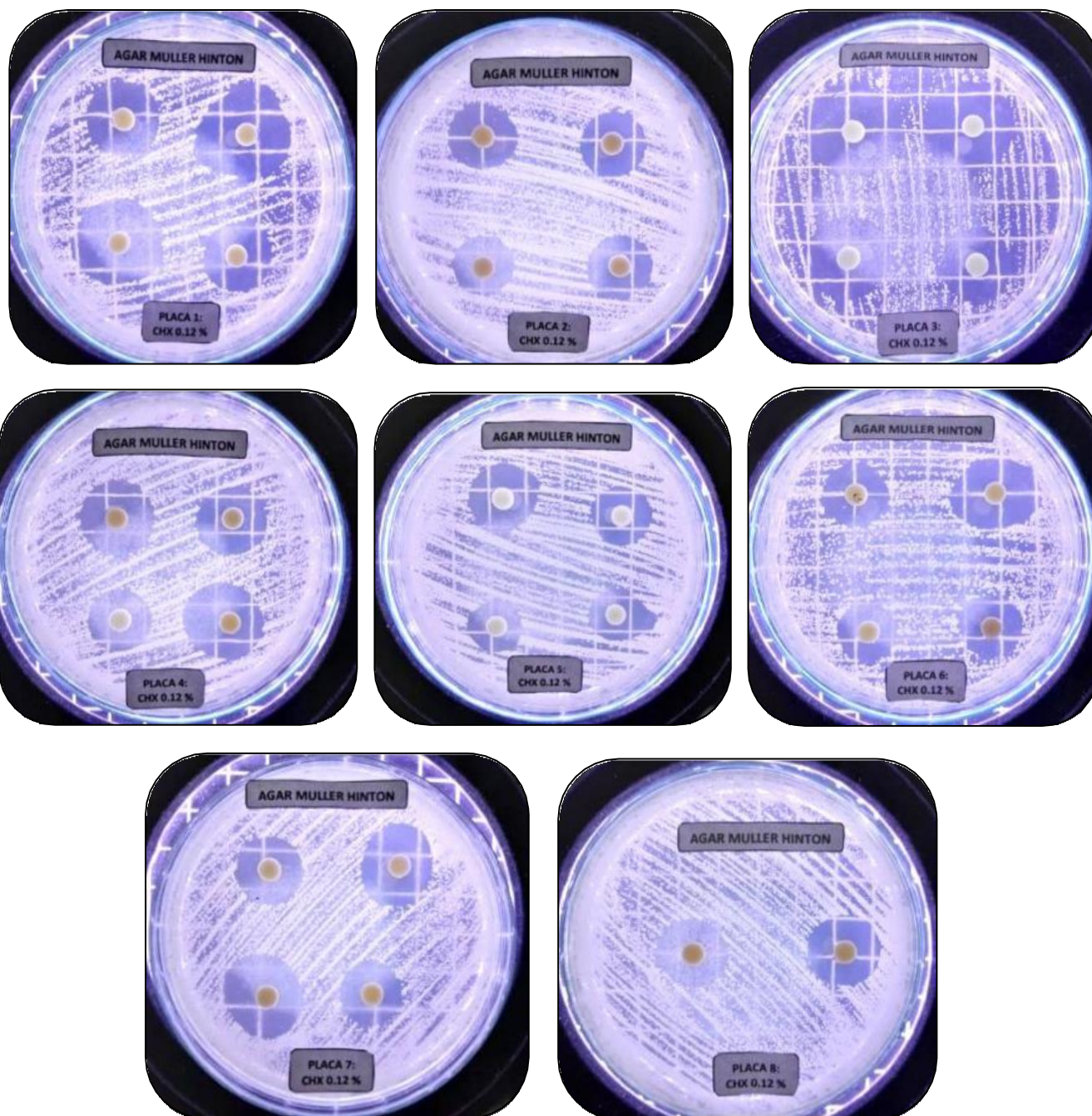


Halo de inhibición a las 48 horas de Anfotericina B (Placa 9. Disco 25)



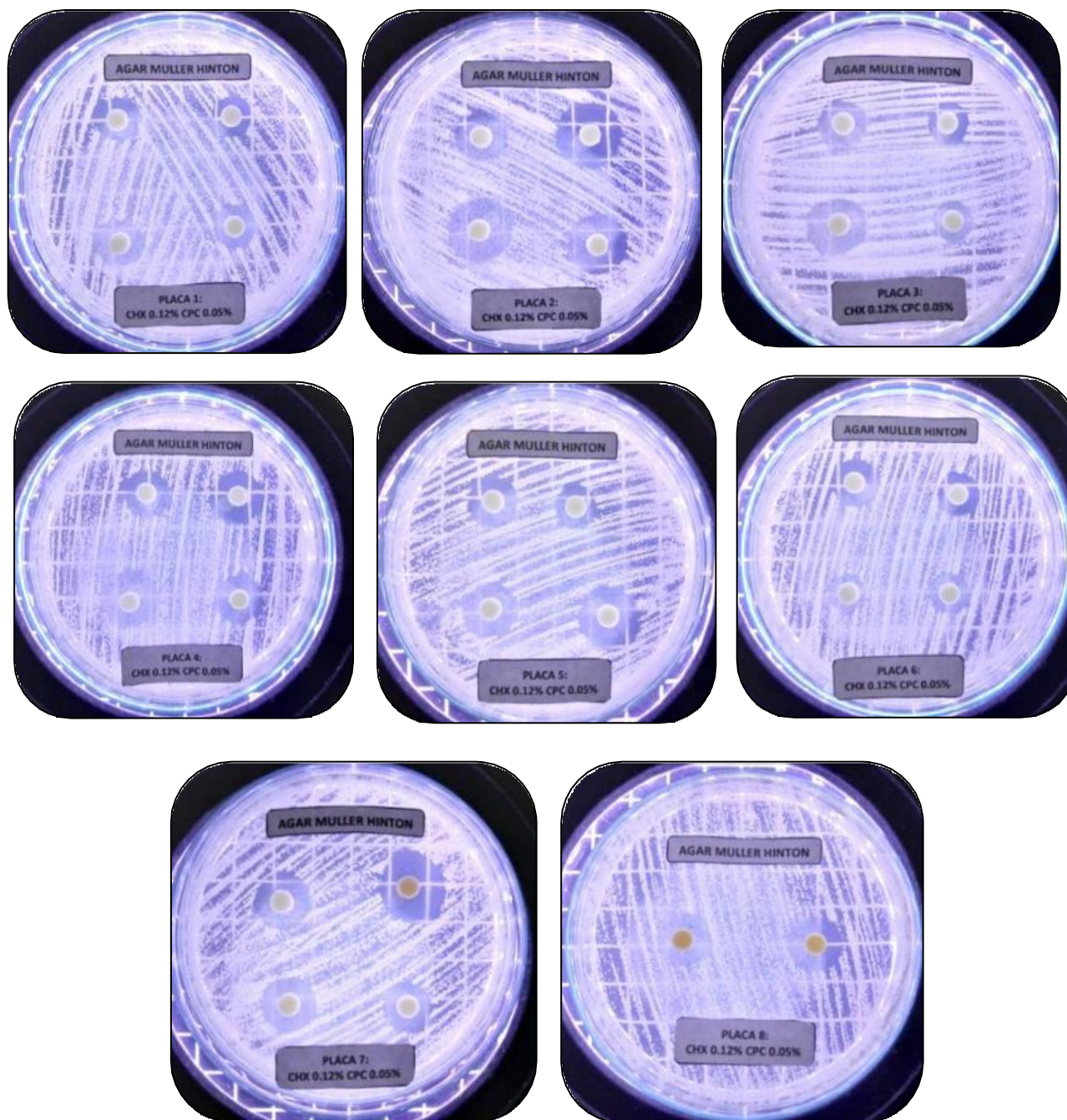
Halo de inhibición a las 72 horas de Anfotericina B (Placa 9. Disco 25)

Fotos de placa Petri con discos antibiograma inoculados con Gluconato de clorhexidina al 0.12% a las 72 horas.

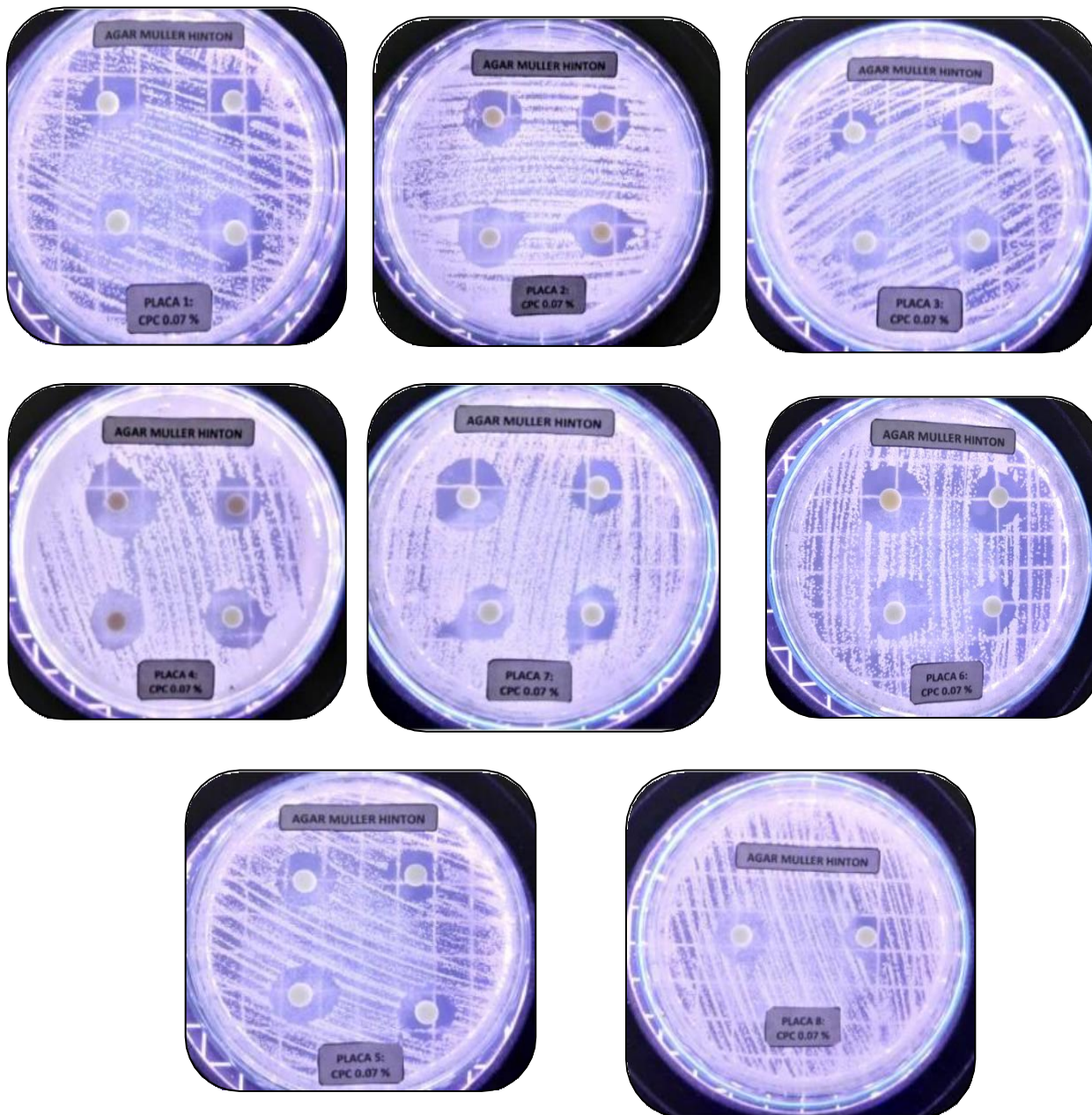




**Fotos de placa Petri** con discos antibiograma inoculados con Gluconato de clorhexidina al 0.12% en combinación con Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% a las 72 horas.

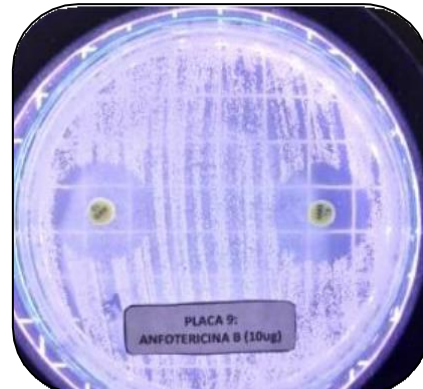
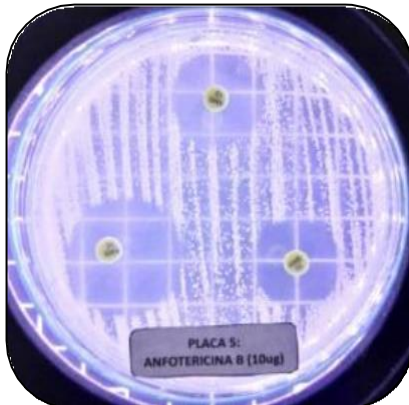
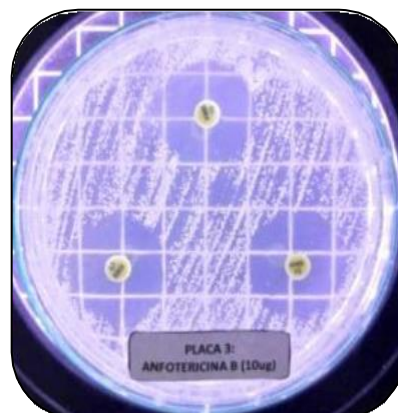
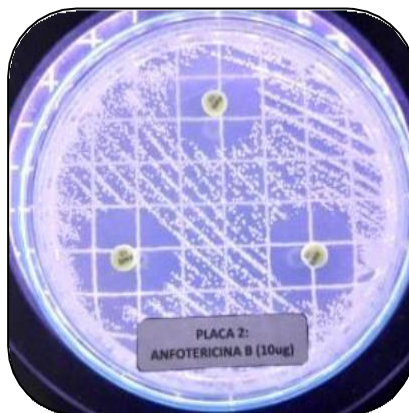


Fotos de placa Petri con discos antibiograma inoculados con Cloruro de cetilpiridinio al 0.07% a las 72 horas.





Fotos de placas Petri con discos antibiograma con Anfotericina B 10ug (Control positivo) a las 72 horas.



**Fotos de placas Petri** con discos antibiograma inoculados con Suero fisiológicoal 0.85% (Control negativo) a las 72 horas.

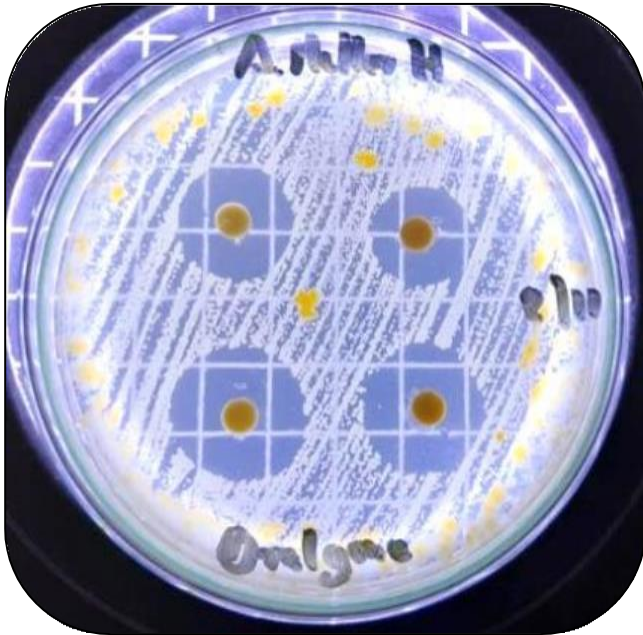




#### 4. ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS BIOLÓGICOS DEL ENSAYO

Las placas Petri y otros residuos biológicos se colocaron en bolsas rojas y se autoclavaron según procedimiento.



**PLACAS CONTAMINADAS**

Ejemplo de placas contaminadas  
en prueba piloto con el  
Colutorio de Clorhexidina al  
0.12%. Marca "Oralgene".