

Evaluación comparativa del efecto antimicrobiano inmediato y residual de enjuagues bucales sobre biopelículas asociadas a caries dental

Román Yesid Ramírez-Rueda¹, Dabeiba Adriana García-Robayo^{1,2}, Fredy Gamboa^{1,3*}

¹Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Odontología, Centro de Investigaciones Odontológicas, Bogotá D.C., Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4612-5592>

² Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Odontología, Departamento del Sistema Bucal, Bogotá D.C., Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0770-9138>. Correo-e: garciaad@javeriana.edu.co

³ Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Departamento de Microbiología, Bogotá D.C., Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2847-9837>. Correo e: gamboa@javeriana.edu.co

Recibido: 7 de diciembre de 2022

Revisado: 2 de marzo de 2023

Aceptado: 7 de marzo de 2023

RESUMEN

Introducción: la caries dental está asociada a disbiosis de la biopelícula dental. Una de las formas más efectivas de prevenirla o controlarla es el uso de enjuagues bucales. Sin embargo, en el mercado hay una gran diversidad de estos productos, y son pocos los estudios en donde se determine su actividad antimicrobiana en biopelículas. **Objetivo:** evaluar la actividad antimicrobiana de 4 enjuagues bucales comerciales contra 4 microorganismos en un modelo de biopelícula *in vitro* sobre discos de HAp. **Método:** los microorganismos incluidos fueron *S. mutans* ATCC 35668, *S. salivarius* ATCC 13419, *S. sanguinis* ATCC 10556 y *C. albicans* ATCC 14053. Se desarrollaron biopelículas (en formato individual y en consorcio binomial) sobre discos de HAp por un periodo de 24 horas y se sometieron con cuatro enjuagues comerciales a dos tratamientos, uno de efecto inmediato (TEI- 5 minutos) y otro residual (TER- 55 minutos). **Resultados:** la actividad antimicrobiana de todos los enjuagues bucales fue muy similar. En las biopelículas mono y polimicrobianas

los TEI y TER, se situaron, respectivamente, en rangos de inhibición, de 91,9 a 100%, y de 97 a 100 %. **Conclusión:** todos los enjuagues bucales presentaron una excelente actividad antimicrobiana sobre las biopelículas montadas, con valores de inhibición superiores al 91,9% en el tratamiento TEI y de 97% en el tratamiento TER. Los mejores enjuagues fueron los identificados como uno y dos, y la mayor acción de estos estuvo sobre *C. albicans*.

Palabras clave: Caries, biopelícula dental, enjuagues orales.

SUMMARY

Comparative evaluation of immediate and residual antimicrobial effect of mouthwashes on biofilms associated with dental caries

Introduction: Dental caries is associated to dysbiosis of dental biofilm. One of the most effective ways to prevent or control this disease is the use with mouthwashes. However, there is a great diversity of these products on the market, and there are few studies that determine their antimicrobial activity in biofilms. **Aim:** To evaluate antimicrobial activity of 4 commercial mouthrinses against 4 microorganisms *in vitro* biofilm model on HAp discs. **Methods:** The microorganisms included were *S. mutans* ATCC 35668, *S. salivarius* ATCC 13419, *S. sanguinis* ATCC 10556 and *C. albicans* ATCC 14053. Biofilms (in individual format and in binomial consortium) were developed on HAp discs for a period of 24 hours and they were subjected to two treatments with the four rinses, one with immediate effect (TEI- 5 minutes) and another residual (TER- 55 minutes). **Results:** The antimicrobial activity of all the mouthrinses was very similar. In mono and polymicrobial biofilms, TEI and TER were located, respectively, in inhibition ranges from 91.9 to 100%, and from 97 to 100%. **Conclusion:** All mouthwashes showed excellent antimicrobial activity on mounted biofilms, with inhibition values greater than 91.9% in the TEI treatment and 97% in the TER treatment. The best rinses were the identified as one and two, and the greatest action of these was on *C. albicans*.

Keywords: Caries, dental biofilm, mouthwashes.

RESUMO

Avaliação comparativa do efeito antimicrobiano imediato e residual de enxaguatórios bucais sobre biofilmes associados à cárie dentária

Introdução: a cárie dentária está associada à disbiose do biofilme dental. Uma das formas mais eficazes de prevenção ou controle é o uso de enxaguatórios bucais. No entanto, existe uma grande diversidade desses produtos no mercado, e poucos estudos determinaram sua atividade antimicrobiana em biofilmes. **Objetivo:** avaliar a atividade antimicrobiana de 4 colutórios comerciais contra 4 microrganismos em modelo de biofilme *in vitro* em discos de HAp. **Métodos:** os microrganismos incluídos foram *S. mutans* ATCC 35668, *S. salivarius* ATCC 13419, *S. sanguinis* ATCC 10556 e *C. albicans* ATCC 14053. Os biofilmes (em formato individual e em consórcio binomial) foram desenvolvidos em discos de HAp por 24 período de uma hora e foram submetidos a dois tratamentos com os quatro enxaguantes comerciais, um de imediato (TEI - 5 minutos) e outro residual (TER - 55 minutos). **Resultados:** a atividade antimicrobiana de todos os enxaguatórios bucais foi muito semelhante. Nos biofilmes mono e polimicrobianos, o TEI e o TER localizaram-se, respectivamente, em faixas de inibição, de 91,9 a 100% e de 97 a 100%. **Conclusão:** todos os colutórios apresentaram excelente atividade antimicrobiana sobre os biofilmes montados, com valores de inibição superiores a 91,9% no tratamento TEI e 97% no tratamento TER. Os melhores enxaguantes foram os identificados como um e dois, sendo que a maior ação destes foi sobre *C. albicans*.

Palavras-chave: Cárie, biofilme dental, enxaguantes bucais.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la caries dental afecta a más del 50% de los niños y se define como una enfermedad dinámica y multifactorial, mediada por biopelículas cariogénicas [1, 2]. Esta enfermedad es impulsada por un mayor consumo de azúcar y se caracteriza por una desmineralización de los tejidos duros dentales [2]. La placa dental es una biopelícula, organizada de manera ordenada, funcional y puede alojar un gran número de especies microbianas. En el caso de no ser retirada periódicamente, la biopelícula puede convertirse en cariogénica, debido a que comienza a desalojar especies microbianas que mantienen un estado ecológico sano [3, 4].

Diversos estudios clínicos han demostrado que las bacterias asociadas a caries dental son productoras de ácido y tolerantes al mismo, especialmente *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, y *Lactobacillus acidophilus*, que son capaces de desmineralizar el esmalte del diente, convirtiendo rápidamente los azúcares de la dieta en ácido, que conlleva a la disminución del pH en la cavidad oral e inmediaciones del diente [4]. Así mismo, otro microorganismo como *Candida albicans* podría desempeñar un papel importante en la caries dental debido a su naturaleza acidúrica y su capacidad para desarrollar biopelículas, fermentar azúcares de la dieta y producir enzimas que degradan el colágeno, acciones que son especialmente importantes en el desarrollo de caries en la dentina. Investigaciones señalan interacciones sinérgicas entre este hongo y las bacterias cariogénicas dentro de las biopelículas polimicrobianas, lo que convierte a *Candida albicans* en un patógeno candidato en caries dental. De hecho, algunos han planteado la hipótesis de que especies de *Candida* son motores secundarios del proceso patológico en las lesiones cariosas profundas, iniciado principalmente por estreptococos del grupo *mutans* [5, 6].

En la eliminación o reducción de las biopelículas dentales se han empleado varias estrategias, y es la disrupción mecánica (cepillado dental) de las biopelículas el enfoque más utilizado en todo el mundo. Sin embargo, la eficacia de este método de control es limitada debido, entre otras cosas, al cepillado inadecuado o a la imposibilidad de llegar con el cepillo dental a zonas interdentes [7]. Ante esta situación, se han considerado estrategias quimioterapéuticas complementarias como el uso de enjuagues bucales. Desde la década de los años 60, el uso de estos productos se ha vuelto habitual, generalmente después del cepillado. Los principios activos de enjuagues, como el cloruro de cetilpiridinio, el gluconato de clorhexidina y algunos aceites esenciales tienen como fin prevenir la formación de biopelículas sin afectar el equilibrio biológico dentro de la cavidad oral [8, 9]. Un argumento importante a favor del uso de los enjuagues bucales es el hallazgo de que las mucosas orales sirven o actúan como reservorios de microorganismos patógenos que pueden transferirse a la superficie dental, lo que en consecuencia proporciona una justificación adicional para complementar los métodos mecánicos de control de la placa con enjuagues bucales. Estos productos llevarían agentes antimicrobianos a los sitios de la mucosa en toda la boca que no llegan a ser cubiertos por los métodos mecánicos de control de la placa [10].

Las evaluaciones de la eficacia o actividad antimicrobiana que cada producto de higiene oral posee, son realizadas utilizando bacterias en estado plantónico, sin tener en cuenta los sustratos en los que crecen y forman biopelículas, y la multivariabilidad de especies que pueden conformar las biopelículas. Por todo lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana inmediata y residual de cuatro enjuagues bucales comerciales disponibles en Colombia contra microorganismos formadores

de biopelículas, en formato individual y en combinación binomial, mediante la técnica de reducción de colonias en un modelo de biopelícula *in vitro* sobre discos de hidroxiapatita.

MÉTODOLÓGÍA

Especies microbianas: Los microorganismos utilizados en el estudio fueron las cepas de referencia: *S. mutans* ATCC 35668, *S. salivarius* ATCC 13419, *S. sanguinis* ATCC 10556 y *C. albicans* ATCC 14053.

Enjuagues bucales: Se utilizaron cuatro enjuagues bucales comerciales identificados como 1, 2, 3 y 4. Con el fin de evitar conflicto de intereses se omitieron las marcas de los enjuagues objeto de estudio.

Formación de biopelículas: Para la formación de las biopelículas, discos de HAp (hidroxiapatita) densa (Clarkson Chromatography Products) de 5 mm de diámetro fueron incubados durante 24 horas a 37°C en placas de 96 pozos (Corning™) después de la adición en su orden de 100 µL de sustituto de saliva (Farpag), 100 µL de caldo BHI (infusión cerebro corazón) suplementado con sacarosa al 1% y 10 µL de suspensión microbiana (en forma individual de cada uno de los 4 microorganismos y en forma combinada de *S. mutans* ATCC 35668/*S. salivarius* ATCC 13419, *S. mutans* ATCC 35668/*S. sanguinis* ATCC 10556, *S. mutans* ATCC 35668/*C. albicans* ATCC 14053) ajustada espectrofotométricamente a una densidad óptica de 0.08 a 625 nm y que corresponde aproximadamente a una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC (unidades formadoras de colonias)/mL. Después de la incubación los discos de HAp fueron lavados tres veces con solución salina fisiológica (SSF) para luego ser sometidos a tratamiento con los diferentes enjuagues bucales.

Tratamientos con enjuagues bucales: La evaluación del efecto antimicrobiano de los enjuagues bucales se enfocó en cuantificar la disminución microbiana de las biopelículas formadas en HAp. Los tratamientos se dividieron en dos grupos, el primero se denominó de “efecto inmediato” (TEI) cuyo objetivo fue evaluar la reducción de la densidad microbiana de la biopelícula después de 5 minutos de exposición del disco de HAp al enjuague; y el segundo, denominado de “efecto residual” (TER), en donde se evaluó la reducción después de 5 minutos de exposición del disco de HAp al enjuague y dejado finalmente en sustituto de saliva durante 55 minutos. Para validar el experimento se montaron discos HAp de control de crecimiento (CC), que fueron expuestos solo a SSF y discos HAp de control de inhibición (CI) que se expusieron a una solución de hipoclorito de sodio al 2,5%. Después de concluidos los tiempos de exposición y con el fin de desprender la biopelícula y hacer los recuentos, los discos HAp fueron lavados

con SSF para luego ser depositados individualmente en un tubo Eppendorf con 1 mL de SSF y ser llevados a agitación continua en vortex a 3200 rpm durante 5 minutos. El recuento de las UFC provenientes de las biopelículas, se realizó por duplicado en superficie en agar BHI practicando diluciones seriadas decimales hasta llegar a 10^{-4} e incubadas a 37 °C durante 24 horas. Finalmente, se calcularon los porcentajes de inhibición microbiana de TEI o TER de la siguiente manera:

$$\%INH \text{ de TEI o TER} = \frac{\text{UFC DE CC} - \text{UFC de cada tratamiento}}{\text{UFC de cc}} \times 100$$

RESULTADOS

Mediante métodos colorimétricos y de tinción se comprobó para todos los casos la conformación de las biopelículas monomicrobianas y mixtas sobre los discos de HAp. En la Tabla 1 se presenta el recuento de microorganismos en UFC y el porcentaje de inhibición (% INH) en TEI y TER del control de inhibición (CI) y de cada uno de los 4 tratamientos con enjuagues bucales. El recuento de UFC en el CC es la base para realizar el cálculo del % INH de los enjuagues bucales y el CI permite ver la acción real del hipoclorito de sodio al 2,5% con acción antimicrobiana positiva sobre las biopelículas. En el CC de las biopelículas monomicrobianas en el TEI se encontró que la de mayor recuento de UFC fue *S. salivarius* con 1700 UFC, seguido por *S. sanguinis* con 1630 UFC, *S. mutans* con 1080 UFC y finalmente *C. albicans* con 506 UFC. En el mismo CC de las biopelículas polimicrobianas los mayores recuentos fueron para *S. mutans/S. salivarius* (1352 UFC), seguido por *S. mutans/S. sanguinis* (1287 UFC) y *S. mutans/C. albicans* (861 UFC). Los resultados de TER en el CC fueron muy similares a los observados en TEI (Tabla 1). En el CI los % INH en las biopelículas mono y polimicrobianas se situaron para el TEI y TER, respectivamente, en rangos de 99,3 a 100% y de 91,2 a 100% (Tabla 1). El menor efecto del CI en el TEI se presentó sobre *S. mutans* en forma individual y *S. mutans/S. salivarius* con valores en ambos casos de 99,3% de % INH, y en el TER los valores fueron muy similares (Tabla 1).

En relación con la actividad antimicrobiana de los enjuagues bucales evaluados, en biopelículas monomicrobianas, el efecto TEI fue muy similar para todos los enjuagues y los % INH se situaron en un rango de 91,9 a 100%. El mejor efecto de los enjuagues bucales 1 y 2 se notó en *C. albicans* con el 100% de INH en ambos casos, por otro lado, la mejor acción del enjuague 3 se realizó sobre *S. salivarius* y *S. sanguinis* con 99% INH en ambas cepas, y el mejor efecto del enjuague 4 estuvo sobre *S. mutans* con un 99,4 % INH. (Tabla 1, Figura 1). En las biopelículas polimicrobianas el efecto TEI de todos los enjuagues bucales fue muy similar y se situó en % INH de 94,5 a 100%. El

mejor efecto de los enjuagues 1 y 2 estuvo sobre la mezcla *S. mutans*/*C. albicans* con 100 y 99,8 respectivamente de % INH. El mejor efecto del enjuague 3 estuvo sobre el binomio *S. mutans*/*S. sanguinis* con un 98,6% INH, y el mejor efecto del enjuague 4 se presentó sobre *S. mutans*/*S. salivarius* con un % INH de 98,9%.

En cuanto a la acción TER en películas monomicrobianas, los enjuagues presentaron % INH que se sitúan entre 97 y 100 %. El mejor efecto de todos los enjuagues estuvo sobre *C. albicans* con un 100% INH. Continuando con las biopelículas polimicrobianas, el efecto TER de todos los enjuagues bucales fue muy similar y se situó en % INH de 97 a 100 %. El mejor efecto de todos los enjuagues estuvo sobre la mezcla *S. mutans*/*C. albicans*, con 100 % INH de los enjuagues 1, 2 y 3, y de 99,4 % INH del enjuague 4 (Tabla 1, Figura 1).

En concreto en el efecto TEI se pudo observar que los enjuagues 1 y 2 mostraron los mejores resultados, tanto en biopelículas monomicrobianas de *C. albicans* como en biopelículas polimicrobianas en donde está incluida esta levadura. Por otro lado, los enjuagues 3 y 4 presentaron menor efecto inhibitorio sobre *C. albicans*; sin embargo, la acción antimicrobiana de estos dos enjuagues se incrementó con un mayor tiempo de exposición o TER. Finalmente, todos los enjuagues lograron inhibir los microorganismos evaluados con efecto residual (TER), lo que indica que todos ellos permanecieron por al menos 55 minutos con actividad antimicrobiana en la biopelícula montada en discos de hidroxiapatita.

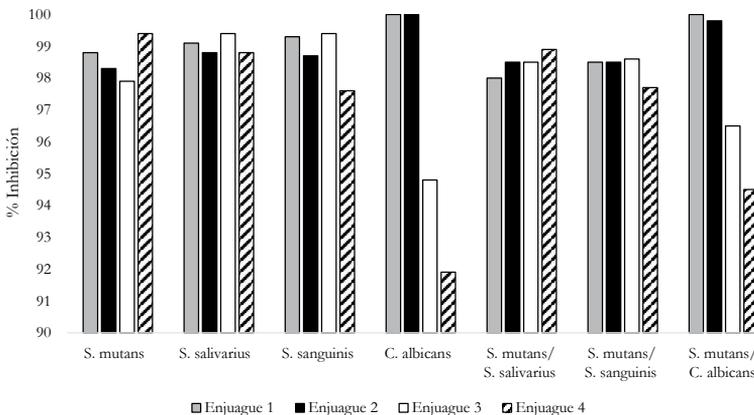


Figura 1. Presentación comparativa de la reducción microbiana en porcentajes de inhibición después del TEI (5 minutos) con los 4 enjuagues bucales en los microorganismos *S. mutans* ATCC 35668, *S. salivarius* ATCC 13419, *S. sanguinis* ATCC 10556, *C. albicans* ATCC 14053 y consorcios en estudio.

Tabla 1. Recuento de UFC y porcentaje de inhibición (% INH) después de los tratamientos efecto inmediato (TEI) y residual (TER) con los 4 enjuagues bucales para los microorganismos en forma individual y en combinación

Microorganismo/ Consorcio	CC		CI		Enjuague 1		Enjuague 2		Enjuague 3		Enjuague 4	
	UFC × 10 ³		UFC × 10 ³		UFC × 10 ³		UFC × 10 ³		UFC × 10 ³		UFC × 10 ³	
	TEI	TER	TEI (% INH)	TER (% INH)								
<i>S. mutans</i> ATCC 35668	1080	1050	7 (99,3)	8 (91,2)	13 (98,8)	17 (98,3)	18 (98,3)	10 (99)	22 (97,9)	12 (98,8)	6 (99,4)	18 (98,2)
<i>S. salivarius</i> ATCC 13419	1700	1620	10 (99,4)	0 (100)	15 (99,1)	5 (99,6)	20 (98,8)	15 (99)	10 (99,4)	20 (98,7)	20 (98,8)	25 (98,4)
<i>S. sanguinis</i> ATCC 10556	1630	1650	0 (100)	0 (100)	10 (99,3)	7 (99,5)	21 (98,7)	15 (99)	9 (99,4)	15 (99)	38 (97,6)	49 (97)
<i>C. albicans</i> ATCC 14053	506	502	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	26 (94,8)	0 (100)	41 (91,9)	0 (100)
<i>S. mutans</i> ATCC 35668/ <i>S. salivarius</i> ATCC 13419	1352	1341	9 (99,3)	5 (94,6)	26 (98)	33 (97,5)	20 (98,5)	12 (99,1)	19 (98,5)	10 (99,2)	14 (98,9)	23 (98,2)
<i>S. mutans</i> ATCC 35668/ <i>S. sanguinis</i> ATCC 10556	1287	1259	7 (99,4)	6 (93,5)	19 (98,5)	15 (98,8)	19 (98,5)	14 (98,8)	17 (98,6)	12 (99)	29 (97,7)	37 (97)
<i>S. mutans</i> ATCC 35668/ <i>C. albicans</i> ATCC 14053	861	840	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	1 (99,8)	0 (100)	30 (96,5)	0 (100)	47 (94,5)	5 (99,4)
Promedio % INH Global					99.13	99.29	98.97	99.32	97.87	99.24	96.97	98.3

CC: Control de Crecimiento; CI: Control de Inhibición.

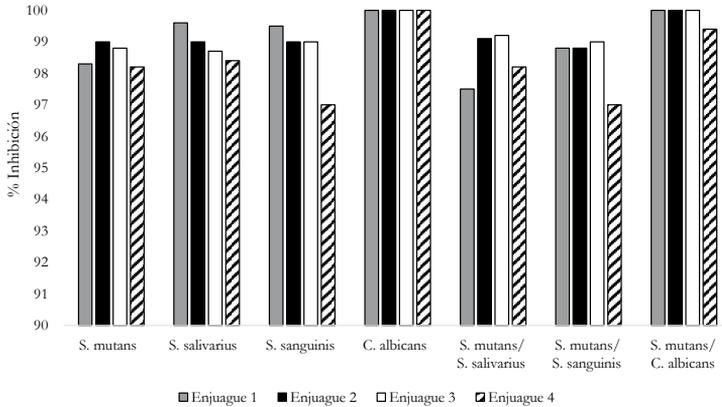


Figura 2. Presentación comparativa de la reducción microbiana en porcentajes de inhibición después del TER (55 minutos) con los 4 enjuagues bucales en los microorganismos *S. mutans* ATCC 35668, *S. salivarius* ATCC 13419, *S. sanguinis* ATCC 10556, *C. albicans* ATCC 14053 y consorcios en estudio.

DISCUSIÓN

La caries dental es una enfermedad infecciosa multifactorial, con participación de múltiples microorganismos y alteración o disbiosis de la biopelícula, que conduce finalmente a desmineralización del tejido dental duro del diente [2,3]. De las bacterias productoras de caries dental destacan especialmente *S. mutans*, *S. sobrinus* y *Lactobacillus acidophilus*. Por otro lado, también sobresale *C. albicans* por su capacidad de generar ácidos a partir de diversos azúcares y formación de biopelículas [4-6]. En la prevención y control de la caries dental y en especial en la eliminación o reducción de las biopelículas dentales se han empleado varias estrategias [7]. En la parte práctica, la disrupción mecánica de la biopelícula a través del cepillado dental ha sido el enfoque más común en todo el mundo. Sin embargo, ante la falta de eficacia de este método se han considerado estrategias quimioterapéuticas para combatir estas biopelículas, entre las que se encuentra el uso de enjuagues bucales, que complementen la acción antimicrobiana. Ante esta situación el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana de cuatro enjuagues bucales contra *S. mutans* ATCC 35668, *S. salivarius* ATCC 13419, *S. sanguinis* ATCC 10556, y *C. albicans* ATCC 14053 en forma individual y en consorcio binomial, mediante la técnica de reducción de colonias en un modelo de biopelícula *in vitro* sobre HAp.

Los resultados de este estudio señalan un excelente efecto de los 4 enjuagues bucales evaluados sobre las biopelículas montadas con los 4 microorganismos en forma individual y combinación binomial, tanto en el tratamiento de efecto inmediato (TEI) como en el tratamiento de efecto residual (TER). Los dos mejores enjuagues fueron los identificados como 1 y 2. El efecto inhibitorio de estos enjuagues, se observó sobre todos los microorganismos (en biopelículas en forma individual y en combinación), con valores en el TEI que van de 98 a 100%, y valores TER que van de 97,5 a 100%. La mayor inhibición de estos dos enjuagues estuvo sobre *C. albicans* en forma individual y combinada, y la menor inhibición de estos dos enjuagues estuvo sobre *S. mutans-S. salivarius*. En forma global (promedio de la actividad de los 4 enjuagues) los dos mejores enjuagues también fueron 1 y 2, ya que mostraron, en el TEI, respectivamente, valores de inhibición de 99,13 y 98,97%, y en el TER mostraron valores de inhibición de 99,29 y 99,32%.

De todos los microorganismos evaluados, *C. albicans* fue el microorganismo más susceptible en el TER (en biopelícula individual y en combinación con *S. mutans*) con inhibiciones del 100% de los enjuagues identificados como 1, 2 y 3 de 99,4% con el enjuague 4. Este efecto prolongado y efectivo de 55 minutos *in vitro* sobre *C. albicans*, lleva a pensar que los enjuagues podrían conferir *in vivo* un efecto protector y consistente de largo tiempo, que brinda confianza a la hora de indicarlo para uso en la población general, con el fin de controlar y evitar la proliferación de este microorganismo y la formación de biopelícula en distintos nichos de la cavidad oral.

En contraste, *C. albicans* en el TEI en formato individual presentó susceptibilidades de 100% con los enjuagues 1 y 2, y de 94,8 y 91,9 %, respectivamente, con los enjuagues 3 y 4. En la combinación *C. albicans-S. mutans* los enjuagues 1 y 2, inhibieron respectivamente, 100 y 99,8%, y los enjuagues 3 y 4 presentaron inhibiciones respectivamente de 96,5 y 94,5%. En concordancia con estos últimos hallazgos, en el estudio de Aneja *et al.*, en donde se evaluaron diez enjuagues comerciales (incluido el identificado como 4) contra cuatro microorganismos cariogénicos, se señala la menor susceptibilidad de *C. albicans* [11]. Por otro lado, otro estudio realizado con siete enjuagues comerciales, mostró menor actividad antimicrobiana sobre *C. albicans* expresada en términos de menor zona de inhibición y mayor concentración inhibitoria mínima, y fue precisamente el enjuague 4 el que menor efecto inhibitorio presentó [12]. También Fu *et al.*, señala que los enjuagues que poseen cloruro de cetilpiridinio y clorhexidina fueron los que presentaron mayor actividad contra *C. albicans*, resultados que están de acuerdo con lo reportado en este estudio, en donde el enjuague identificado como 1 muy activo contra este microorganismo, contiene cloruro de cetilpiridinio [12]. Muy probablemente, la variada susceptibilidad de *C. albicans* a los enjuagues bucales se deba a la composición

y formulación de estos productos, a la estructura, conformación y particularidades de la pared celular, y a los diversos productos generados por este microorganismo en el biofilm [11-13].

El cloruro de cetilpiridinio (CCP) es un antiséptico utilizado en muchos productos de uso oral, presenta amplio espectro antimicrobiano y actúa contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, y hongos, tanto en forma plantónica como sobre células sésiles en modelos de biopelículas [12, 14, 15]. Estos hallazgos son reafirmados por estudios como el de Pandit *et al.* [15] en donde el CCP mostró una actividad antimicrobiana completa en una biopelícula inmadura en rangos de concentraciones de 0,025% -0,1%. También se deja claro que la actividad antimicrobiana del CCP es dependiente del estado inmaduro o maduro de la biopelícula, de la concentración de este agente y del tiempo de tratamiento [15]. De esta manera se nota la capacidad del CCP para romper y alterar los polisacáridos presentes en la matriz de la biopelícula y comprometer la viabilidad celular de *S. mutans* en biopelículas inmaduras [12, 15]. En otro estudio en donde se compara el efecto de CCP y el gluconato de clorhexidina sobre biopelículas de *S. mutans*, se demuestra una mayor efectividad del CCP [12]. Todas las investigaciones anteriores, están de acuerdo con los hallazgos del presente estudio, en el que en un modelo de biopelícula de 24 horas de desarrollo, se demuestra la mayor capacidad de los enjuagues bucales 1 y 2, que contienen CCP, a corto tiempo (TEI-5 minutos) y largo tiempo (TER-55 minutos), sobre todos los microorganismos evaluados. Esta actividad inhibitoria o de reducción microbiana va dirigida hacia las diferentes estructuras y/o composición (diversidad de polisacáridos) y viabilidad de las células sésiles de las biopelículas desarrolladas [12, 15].

En conclusión, es importante señalar el excelente efecto de los 4 enjuagues bucales sobre las biopelículas desarrolladas *in vitro* sobre discos de hidroxiapatita, con los 4 microorganismos en forma individual y combinación binomial, tanto en el tratamiento TEI como en el TER. Estos hechos respaldan la afirmación de que complementar el cepillado con el uso de enjuagues bucales podría aumentar la acción antimicrobiana *in vivo* sobre los microorganismos que se encuentran dentro de la biopelícula dental.

Por otro lado, es necesario realizar estudios más profundos para: 1. establecer la inhibición específica o reducción, proporción, disposición y existencia o no de antagonismo de cada microorganismo en las biopelículas formadas por los consorcios binomiales, y 2. Determinar la naturaleza y disposición de los polisacáridos presentes en las diferentes biopelículas, antes y después de la exposición a los enjuagues bucales.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses

FINANCIACIÓN

Este estudio fue financiado por la Pontificia Universidad Javeriana bajo el proyecto ID8842.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización: D.A.G.R.; F.G.J; Adquisición de fondos: D.A.G.R.; F.G.J; Investigación: D.A.G.R.; F.G.J; Metodología: R.Y.R.R; Administración del proyecto: D.A.G.R.; F.G.J; Recursos: D.A.G.R.; F.G.J; Supervisión: D.A.G.R.; F.G.J; Validación: D.A.G.R.; F.G.J; Redacción – borrador original: R.Y.R.R; Redacción – revisión y edición: D.A.G.R.; F.G.J.

REFERENCIAS

1. f.C. Sampaio, M. Bönecker, S.M. Paiva, S. Martignon, A.P. Ricomini-Filho, A. Pozos-Guillen, B.H. Oliveira, M. Bullen, R. Naidu, C. Guarnizo-Herreño, J. Gomez, Z. Malheiros, B. Stewart, M. Ryan, N. Pitts, Dental caries prevalence, prospects, and challenges for Latin America and Caribbean countries: a summary and final recommendations from a Regional Consensus, *Brazilian Oral Research*, **35**(suppl 01), e056 (2021).
2. S.M. Paiva, N. Abreu-Placeres, M.E.I. Camacho, A.C. Frias, G. Tello, M.F. Perazzo, G.A. Pucca-Júnior, Dental caries experience and its impact on oral health-related quality of life in Latin American and Caribbean countries, *Brazilian Oral Research*, **35**(suppl 01), e052 (2021).
3. D. Berger, A. Rakhamimova, A. Pollack, Z. Loewy, Oral Biofilms: Development, control, and analysis, *High-throughput*, **7**(3), 24 (2018).
4. P.D. Marsh, E. Zaura, Dental biofilm: Ecological interactions in health and disease, *Journal of Clinical Periodontology*, **44**(Suppl 1), S12–S22 (2017).

5. D.F.A. Pereira, C.J. Seneviratne, C.Y. Koga-Ito, L.P. Samaranayake, Is the oral fungal pathogen *Candida albicans* a cariogen? *Oral Diseases*, **24**, 518-526 (2018).
6. A.A. Sampaio, S.E. Souza, A.P. Ricomini-Filho, A.A. Del Bel Cury, Y.W. Cavalcanti, J.A. Cury, *Candida albicans* increases dentine demineralization provoked by *Streptococcus mutans* biofilm, *Caries Research*, **53**, 322–331 (2019).
7. T. Larsen, N.E. Fiehn, Dental biofilm infections – An update, *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica APMIS*, **125**(4), 376–384 (2017).
8. G.A. Van Der Weijden, K.P.K. Hioe, A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush, *Journal of Clinical Periodontology*, **32**(s6), 214–228 (2005).
9. M.L. Barnett, The rationale for the daily use of an antimicrobial mouthrinse, *Journal of the American Dental Association*, **137**, S16–S21 (2006).
10. T. Oyanagi, J. Tagami, K. Matin, Potentials of mouthwashes in disinfecting cariogenic bacteria and biofilms leading to inhibition of caries, *The Open Dentistry Journal*, **6**, 23–30 (2012).
11. K.R. Aneja, R. Joshi, C.H. Sharma, The antimicrobial potential of ten often used mouthwashes against four dental caries pathogens, *Jundishapur Journal of Microbiology*, **3**(1), 15–27 (2010).
12. J. Fu, P. Wei, C. Zhao, C. He, Z. Yan, H. Hua, *In vitro* antifungal effect and inhibitory activity on biofilm formation of seven commercial mouthwashes, *Oral Diseases*, **20**(8), 815–820 (2014).
13. R. Pereira, R.O. Dos Santos Fontenelle, E.H.S. de Brito, S.M. de Moraes, Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance, *Journal of Applied Microbiology*, **131**(1), 11–22 (2021).
14. J. Witt, N. Ramji, R. Gibb, J. Dunavent, J. Flood, J. Barnes, Antibacterial and antiplaque effects of a novel, alcohol free oral rinse with cetylpyridinium chloride mouthrinses, *The Journal of Contemporary Dental Practice*, **6**(1), 1–9 (2005).
15. S. Pandit, J.N. Cai, J.E. Jung, Y.S. Lee, J.G. Jeon, Effect of brief cetylpyridinium chloride treatments during early and mature cariogenic biofilm formation, *Oral Diseases*, **21**(5), 565–571 (2015).

COMO CITAR ESTE ARTÍCULO

R.Y. Ramírez-Rueda, D.A. García-Robayo, F. Gamboa, Evaluación comparativa del efecto antimicrobiano inmediato y residual de enjuagues bucales sobre biopelículas asociadas a caries dental, *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **52**(2), 626-639 (2023). <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v52n2.106166>