EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE DE COCOS NUCIFERA FRENTE A DOS MICRO-ORGANISMOS ENDODÓNTICOS

ANTIMICROBIAL EFFECT OF COCOS NUCIFERA OIL AGAINST TWO ENDODONTIC MICRO-ORGANISMS

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN ENDODONCIA

AUTOR

GRECIA PAOLA VASQUEZ VEREAU

ASESOR

MANUEL FERNANDO CORDOVA MALCA

CO-ASESOR

ERIC HERNAN COAGUILA LLERENA

LIMA - PERÚ

2026

JURADO

PRESIDENTE: MG. ALLISON KARINA CHAVEZ ALAYO

VOCAL: MG. ANTONIO ERNESTO DENEGRI HACKING

SECRETARIO: ESP. LIZBETH MAYRA CCANTO ALVA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 29 DE OCTUBRE DEL 2026

CALIFICACIÓN: APROBADO

ASESORES DE TESIS

ASESOR

MG. ESP. MANUEL FERNANDO CORDOVA MALCA

Departamento Académico de Clínica Estomatológica

ORCID: 0000-0002-7220-2045

CO-ASESOR

DR. MG. ESP. ERIC HERNAN COAGUILA LLERENA

Departamento Académico de Clínica Estomatológica

ORCID: 0000-0002-9991-718X

DEDICATORIA

A Dios, por ser la luz de mi vida y corazón.

A mi familia, Oswaldo, María e Ingrid, por ser el amor más grande de mi vida.

A mi pequeña Luciana, a quién amo mucho.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores, Dr. Fernando Córdova Malca y Dr. Hernán Coaguila Llerena, por su orientación, dedicación y valiosos aportes durante el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. Luis Chávez de Paz, por su disposición para compartir sus conocimientos, sus valiosas sugerencias y el entusiasmo que me transmitió hacia la microbiología endodóntica.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Autofinanciado

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

El egresado:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	VASQUEZ VEREAU GRECIA PAOLA

Pertenecientes al programa de la **SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN ENDODONCIA,** autor del trabajo titulado: **EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE DE COCOS NUCIFERA FRENTE A DOS MICRO-ORGANISMOS ENDODÓNTICOS** el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN ENDODONCIA** bajo la modalidad de **TESIS.**

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	CORDOVA MALCA MANUEL FERNANDO	ESTOMATOLOGÍA	ASESOR
2.	COAGUILA LLERENA ERIC HERNAN	ESTOMATOLOGÍA	CO-ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **14%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **trn:oid:::1:3714695472**; fecha de entrega: **17-11-2026).**
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 17 de noviembre del 2026.**

Firma del asesor
N° DNI: 45759539
ORCID: 0000-0002-7220-2045

Firma del Co-asesor
N° DNI: 42782683
ORCID: 0000-0002-9991-718X

TABLA DE CONTENIDOS

		Pág.
Resumen		
Abstract		
I.	Introducción	1
II.	Objetivos	6
III.	Materiales y métodos	7
IV.	Resultados	12
V.	Discusión	14
VI.	Conclusiones	21
VII.	Referencias Bibliográficas	22
VIII.	Tablas, gráficos y figuras	28
	Anexos	32

RESUMEN

Antecedentes: La periodontitis apical persistente se asocia con una microbiota endodóntica mixta y polimicrobiana, en la que se encuentran bacterias Gram positivas y Gram negativas, incluyendo microorganismos anaerobios facultativos como *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus gordonii*. Estos microorganismos son muchas veces resistentes al tratamiento con hidróxido de calcio, es por eso que nuevas alternativas de tratamiento son necesarias. Últimamente se ha propuesto la asociación del hidróxido de calcio a vehículos naturales con propiedades antimicrobianas. En este sentido el aceite de *Cocos nucifera*, debido a su fácil acceso y bajo costo, puede ser interesante de utilizar como adyuvante al hidróxido de calcio, sin embargo, la información científica es limitada.

Objetivo: Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite de *Cocos nucifera* frente al *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y *Streptococcus gordonii* (ATCC 51656).

Material y métodos: Placas Petri con agar BHI para *E. faecalis*, *S. gordonii* y el co-cultivo de ambas especies fueron utilizadas. Se realizó el método de difusión en discos (Kirby-Bauer), los cuales fueron previamente embebidos con *Cocos nucifera*, clorhexidina al 2% (control positivo) y suero fisiológico (control negativo). La lectura de los halos de inhibición fue realizada a las 24 y 48 horas. Los datos se analizaron mediante ANOVA y prueba de Tukey a un nivel de significancia de 5%.

Resultados: El aceite de *Cocos nucifera* mostró actividad antimicrobiana frente a E. faecalis y al co-cultivo, pero no frente a *S. gordonii*. La clorhexidina al 2% evidenció mayor actividad antimicrobiana y el suero fisiológico no mostró inhibición. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la actividad antimicrobiana entre los grupos evaluados a las 24 y 48 horas (ANOVA; $p < 0.001$).

Conclusiones: El aceite de *Cocos nucifera* mostró actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *E. faecalis* y al co-cultivo con *S. gordonii*, pero no frente a *S. gordonii*.

Palabras clave: *Antibacterianos, Aceite de coco, Biofilms, Tratamiento del conducto radicular* (DeCS).

ABSTRACT

Background: Persistent apical periodontitis is associated with a mixed and polymicrobial endodontic microbiota, which includes Gram-positive and Gram-negative bacteria, including facultative anaerobic microorganisms such as *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus gordonii*. These microorganisms are often resistant to treatment with calcium hydroxide, which is why new treatment alternatives are needed. Recently, the combination of calcium hydroxide with natural vehicles possessing antimicrobial properties has been proposed. In this regard, *Cocos nucifera* oil, due to its easy availability and low cost, may be a promising adjuvant to calcium hydroxide; however, scientific information on its use is limited.

Objective: To determine the *in vitro* antimicrobial activity of *Cocos nucifera* oil against *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) and *Streptococcus gordonii* (ATCC 51656).

Materials and methods: Petri dishes with BHI agar for *E. faecalis*, *S. gordonii*, and co-cultures of both species were used. The Kirby-Bauer disk diffusion method was performed on disks previously impregnated with *Cocos nucifera* oil, 2% chlorhexidine (positive control), and physiological saline (negative control). Inhibition zones were measured at 24 and 48 hours. Data were analyzed using ANOVA and Tukey's test at a significance level of 5%.

Results: *Cocos nucifera* oil showed antimicrobial activity against *E. faecalis* and the co-culture, but not against *S. gordonii.* 2% chlorhexidine showed greater antimicrobial activity, and physiological saline showed no inhibition. Statistically significant differences in antimicrobial activity were observed between the groups evaluated at 24 and 48 hours (ANOVA; $p < 0.001$).

Conclusions: *Cocos nucifera* oil showed *in vitro* antimicrobial activity against *E. faecalis* and in co-culture with *S. gordonii*, but not against *S. gordonii* alone.

Keywords: *Antibacterials, Coconut oil, Biofilms, Root canal treatment* (MeSH).

I. INTRODUCCIÓN

La periodontitis apical persistente tiene una prevalencia de 5%–15% en dientes con tratamiento de conductos radiculares obturados. Se caracteriza por signos y/o síntomas de infección activa (radiolucidez ósea perirradicular, tracto sinusal, inflamación, dolor y sensibilidad a la percusión) (1–3), donde la infección microbiana juega un papel crítico (2). Por ello, una correcta eliminación de los microorganismos es crucial para el éxito del tratamiento (1,4,5).

Si bien la infección puede propagarse a los tejidos periapicales en forma de células planctónicas o flóculos (1), su etiología se relaciona principalmente con microorganismos organizados en biopelículas, agregados densos inmersos en una matriz y adheridos a superficies abióticas, en donde se llevan a cabo intercambios físicos como la coadhesión y la coagregación, o químicos, como la transferencia de material genético y moléculas de señalización difusibles (4,6).

La microbiota asociada a las infecciones endodónticas persistentes es mixta e incluye tanto bacterias Gram negativas como Gram positivas, con un ligero predominio de las primeras. Entre los taxones más frecuentemente identificados se encuentran *Streptococcus, Enterococcus, Fusobacterium, Prevotella, Actinomyces, Pseudoramibacter, Pseudomonas, Propionibacterium, Treponema, Peptostreptococcus, Porphyromonas, Lactobacillus y Staphylococcus* (3,4). Además de la baja disponibilidad de nutrientes y la poca tensión de oxígeno a consecuencia de la terapia endodóntica (7), factores como las defensas del huésped, el pH, los tipos de receptores y las interacciones microbianas determinan las especies que sobrevivirán y prevalecerán (3,7). Microorganismos Gram positivos anaerobios facultativos como *Streptococcus, Lactobacillus* y *Enterococcus* sobreviven al tratamiento de conductos radiculares con mayor facilidad (7,8,9). Por lo tanto, la naturaleza de las infecciones endodónticas

persistentes no depende únicamente de la resistencia de los microorganismos, sino también de su capacidad de adaptación a las nuevas condiciones derivadas del tratamiento (10).

Enterococcus faecalis es un anaerobio facultativo grampositivo que supera transitoriamente la resiliencia del microbioma oral y llega a colonizar el conducto radicular (11). Presenta una prevalencia de 47.62% en lesiones periapicales y de 89.6% en infecciones persistentes (3). Los factores que favorecen su persistencia incluyen la resistencia al estrés alcalino a través de la captación de protones que mantienen la homeostasis citosólica, la expresión de adhesinas específicas para la dentina y la capacidad de sobrevivir a largos períodos de inanición al entrar en un "estado viable pero no cultivable" (7,11).

Streptococcus gordonii, anaerobio facultativo grampositivo del grupo viridans, presenta una prevalencia de hasta 34% en lesiones periapicales. Es un colonizador temprano de la cavidad oral que penetra los túbulos dentinarios y destruye el hueso alveolar al estimular la diferenciación de osteoclastos y reducción de osteoblastos (12-14). Los componentes de su pared celular, como ácidos lipoteicoicos, lipoproteínas, adhesinas ricas en serina y peptidoglicanos, se encuentran asociados a su virulencia y procesos inflamatorios (14).

Al estar organizados en biopelículas, ambos microorganismos modulan sus factores de virulencia, exhiben propiedades fisiológicas y experimentan cambios fenotípicos que no se observan en monocultivos (11). Además, intercambian genes que codifican citotoxinas, adhesinas, resistencia antibiótica (15) y plásmidos, lo que favorece su supervivencia al tratamiento de conductos (16,17). Llegan a ser incluso 1000 veces más resistentes a agentes antimicrobianos como el fluoruro de amina, la amoxicilina, la doxiciclina y el metronidazol (9).

Dado que la infección también puede propagarse a áreas como ramificaciones apicales, conductos laterales, istmos y túbulos dentinarios, la desinfección adecuada del sistema de conductos representa un gran desafío. Asimismo, la persistencia bacteriana previa a la obturación definitiva representa un riesgo significativo para la enfermedad apical persistente. Bajo ese contexto, el uso de medicación intraconducto después de un adecuado desbridamiento constituye un complemento importante que permite evidenciar la resolución de los síntomas antes de la obturación final (18,19).

El hidróxido de calcio se utiliza como medicación intraconducto debido a sus propiedades antimicrobianas derivadas de su alta alcalinidad, su capacidad para disolver tejidos y neutralizar endotoxinas (18). Sin embargo, tanto en cultivos planctónicos como en biopelículas, microorganismos como *E. faecalis* y *S. gordonii* presentan una elevada tolerancia a condiciones alcalinas gracias a mecanismos diferenciales que favorecen su supervivencia y viabilidad (6,10,20).

Para su aplicación clínica, el polvo de hidróxido de calcio requiere asociarse a vehículos como agua destilada, anestésicos o glicerina (21). Dado que la mayoría de estos vehículos no poseen propiedades antimicrobianas, se suelen añadir sustancias antimicrobianas como gel de clorhexidina al 2%, yodoformo o para-monoclorofenol alcanforado (21,22). Entre estos agentes, la clorhexidina destaca por su potente actividad antimicrobiana y elevada sustantividad. Frente a E. faecalis, altera la integridad de su membrana celular, afecta procesos relacionados con su expresión genética e inhibe la formación y maduración de biopelículas. Asimismo, su unión a la hidroxiapatita favorece su permanencia y liberación progresiva, contribuyendo a prevenir la recolonización microbiana (22). Sin embargo, la incorporación de agentes antimicrobianos al hidróxido de calcio puede asociarse con algunas limitaciones, como decoloración dental, irritación de los tejidos periapicales en caso de extrusión y dificultades para su eliminación del

conducto radicular (21). En particular, se han observado algunos efectos adversos asociados al uso de clorhexidina en concentraciones que van desde el 0,2 % hasta el 2 % (22).

Las sustancias naturales con propiedades antimicrobianas han sido propuestas como alternativas debido a su diversidad de fitoquímicos, potencial terapéutico, biocompatibilidad, bajo costo y baja capacidad alergénica (8,18,19). Los lípidos antimicrobianos, como los ácidos grasos, son considerados posibles agentes terapéuticos debido a que son un componente importante del sistema inmunitario innato de la piel humana y a la dificultad de los microorganismos para volverse resistentes a ellos, sin signos de aparición de cepas resistentes durante al menos un año (23).

Entre estas sustancias, se encuentra el aceite de *Cocos nucifera* (coco), el cual presenta propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antivirales. Estas propiedades se atribuyen a su contenido de ácido láurico (45-53%), un ácido graso de cadena media, siendo este aceite su principal fuente natural, seguido de la leche materna. Su proceso de extracción no implica altas temperaturas ni químicos adicionales, por lo que sus componentes no sufren alteración. Los ácidos grasos de cadena media son un tipo de lípidos antimicrobianos ampliamente estudiados y abundantes en la naturaleza (8,21,23–25).

Los ácidos grasos son lípidos antimicrobianos anfipáticos, en los que la cadena de hidrocarburos es hidrofóbica y el grupo carboxilo es hidrofílico. Sus monoglicéridos corresponden a la unión esterificada de un ácido graso y una molécula de glicerol. El ácido láurico posee una cadena de 12 carbonos y tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias Gram positivas. Su monoglicérido, la monolaurina, exhibe una actividad inhibitoria aún mayor. Ambos compuestos están reconocidos como seguros por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (23).

La bicapa lipídica de las membranas celulares bacterianas está formada por moléculas lipídicas anfipáticas. La alteración de esta estructura conllevaría a una muerte celular debido a la fuga de fluido citoplasmático y a la entrada de compuestos externos. En la pared celular, la enzima transpeptidasa cataliza la formación de enlaces cruzados entre las cadenas de aminoácidos, proporcionando rigidez estructural. El ácido láurico y la monolaurina pueden interferir con la actividad de la enzima transpeptidasa, lo que conduce a la pérdida de rigidez de la pared celular y a la lisis bacteriana (25).

Debido a la limitada evidencia sobre la efectividad del aceite de *Cocos nucifera* frente a microorganismos causantes de infecciones endodónticas persistentes, se requiere mayor investigación que evalúe su actividad antimicrobiana. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto antimicrobiano in vitro del aceite de *Cocos nucifera* (coco) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y *Streptococcus gordonii* (ATCC 51656).

Pregunta de investigación: ¿Presenta el aceite de *Cocos nucifera* actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus gordonii* y en co-cultivo?

Hipótesis alternativa: La actividad antimicrobiana del aceite de *Cocos nucifera* frente al *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus gordonii* y en co-cultivo es mayor al control negativo (suero fisiológico) y comparable al del control positivo (clorhexidina).

II. OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite de *Cocos nucifera* frente al *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y al *Streptococcus gordonii* (ATCC 51656).

Objetivos específicos:

1. Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite de *Cocos nucifera* frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a través de la medición de halos de inhibición a las 24 y 48 horas.

2. Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite de *Cocos nucifera* frente al *Streptococcus gordonii* ATCC 51656 a través de la medición de halos de inhibición a las 24 y 48 horas.

3. Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite *Cocos nucifera* frente al co-cultivo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Streptococcus gordonii* ATCC 51656 a través de la medición de halos de inhibición a las 24 y 48 horas.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio fue experimental *in vitro*. Se enmarcó en el área de estudio de Ciencias básicas - Microbiología Oral Endodóntica. Asimismo, se recibió la aprobación de la Unidad Integrada de Gestión en Investigación, Ciencia y Tecnología de la Facultad integrada de Medicina, de Estomatología y de Enfermería y por el Comité Institucional de Ética (CIE) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia con código 217609 (ANEXO 1). Asimismo, se siguieron las normas de bioseguridad durante todo el proceso experimental, empleándose equipos de protección personal y protocolos estandarizados para el manejo de microorganismos (26).

El tamaño de muestra se determinó mediante un análisis de potencia estadística a priori, considerando un nivel de significancia ($\alpha = 0.05$), una potencia estadística de 0.80 y un tamaño del efecto grande ($f = 0.40$), de acuerdo a criterios convencionales reportados en la literatura (27). Dado que no se realizó un estudio piloto, se emplearon tamaños del efecto estandarizados independientes de unidades específicas y coherentes con el análisis estadístico posterior (27). En función de estos parámetros y considerando los cinco grupos experimentales, se establecieron 16 repeticiones por grupo experimental con un total de 80 unidades experimentales.

Se incluyeron placas Petri con cultivo de E. faecalis ATCC 29212, S. gordonii ATCC 51656 y el co-cultivo de ambas cepas, con una concentración de 1.0 × 106 UFC/ml, expuestas al aceite de Cocos nucifera. Se consideraron aquellas placas que presentaron o no halos de inhibición del crecimiento bacteriano. Se excluyeron aquellas placas que mostraron contaminación por otros microorganismos.

Las variables fueron:

- **Variable independiente:** Aceite de *Cocos nucifera*, definido conceptualmente como una sustancia oleosa obtenida del fruto de *Cocos nucifera*, compuesta principalmente por ácidos grasos de cadena media. Operacionalmente se definió como sustancia natural utilizada como agente antimicrobiano evaluado frente a cepas de *E. faecalis*, *S. gordonii* y el co-cultivo de ambas cepas mediante la técnica de difusión en agar.

- **Variable dependiente:** Actividad antimicrobiana, definida conceptualmente como la capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento microbiano. Operacionalmente se definió como la capacidad del aceite de *Cocos nucifera* para inhibir el crecimiento microbiano, evaluada mediante el diámetro del halo de inhibición del disco de difusión y categorizada según la escala de Duraffourd (ANEXO 2) (28). La escala de Duraffourd clasifica la inhibición en cuatro categorías:

  - **Sensibilidad nula (−):** valores menores de 8 mm.
  - **Sensibilidad límite (+):** valores entre 8 y 14,9 mm.
  - **Sensibilidad media (++):** valores entre 15 y 20 mm.
  - **Sensibilidad alta (+++):** valores mayores de 20,1 mm.

El fruto de *Cocos nucifera* se obtuvo del distrito de Jaén, provincia de Jaén, departamento de Cajamarca (Perú). Un ejemplar completo fue llevado al Herbario Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y verificación taxonómica (ANEXO 3).

Se utilizó la técnica de prensado en frío para extraer el aceite. Para ello, se retiraron los pelos del fruto y las cáscaras se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5%. Se extrajo el agua del fruto y la pulpa se cortó en pedazos pequeños los cuales se licuaron con agua destilada obteniendo así una pasta homogénea. La pasta resultante se

filtró utilizando gasa estéril, separando así la fibra de la leche de coco. Posteriormente, la leche de coco se colocó en recipientes y se dejó reposar 24 horas en el refrigerador permitiendo así la separación de fases por decantación. De esta manera, se formó una capa sólida superior compuesta por aceite y residuos de pulpa. Esta capa se retiró y llevó a baño maría hasta su licuefacción. Luego, se utilizó una gasa estéril para separar el aceite de los restos sólidos. El aceite obtenido se colocó en un recipiente estéril (14, 23).

Las cepas de *E. faecalis* ATCC 29212 y *S. gordonii* ATCC 51656 se adquirieron a través del laboratorio Innova Biotech Agro S.A.C. (Lima, Perú), proveedor autorizado de insumos microbiológicos.

Las cepas fueron cultivadas en tubos de ensayo con tapa conteniendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) y se incubaron a 37 °C durante 24 horas para obtener cultivos jóvenes. A cada cultivo se le adicionó solución salina estéril y se estandarizó según el Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico para comparar su turbidez con el estándar de turbidez de McFarland de 0.5, que equivale aproximadamente a 1.0 × 106 UFC/ml. Los tubos se homogenizaron mediante agitación manual durante 30 segundos (14,23).

El cultivo se realizó mediante la técnica de frotis en superficie en placas Petri con agar *Brain Heart Infusion* (BHI). Se trabajó con tres tipos de inóculo: cultivo puro de *E. faecalis*, cultivo puro de *S. gordonii* y co-cultivo de ambas cepas. Se utilizó un asa de Drigalski estéril embebido con la suspensión correspondiente, distribuyendo el inóculo de manera uniforme sobre toda la superficie del agar mediante rotación constante de la placa y se dejaron reposar durante aproximadamente 10 minutos a temperatura ambiente para permitir la absorción del inóculo.

Se establecieron cinco grupos experimentales para la evaluación de la actividad antimicrobiana: Grupo 1: *E. faecalis* + aceite de *Cocos nucifera*; Grupo 2: *S. gordonii* +

aceite de *Cocos nucifera*; Grupo 3: co-cultivo de *E. faecalis* y *S. gordonii* + aceite de *Cocos nucifera*; Grupo 4: co-cultivo de *E. faecalis* y *S. gordonii* + clorhexidina al 2% (control positivo); Grupo 5: co-cultivo de *E. faecalis* y *S. gordonii* + suero fisiológico (control negativo). Cada grupo estuvo conformado por 16 unidades experimentales. Se utilizó clorhexidina al 2% como control positivo debido a su reconocida actividad antimicrobiana frente a *E. faecalis* y otras bacterias Gram positivas (22).

Para la prueba de susceptibilidad se utilizó el método de difusión en agar por discos según la técnica de Kirby-Bauer (29). Tanto la sustancia en estudio (aceite de *Cocos nucifera*), clorhexidina al 2% (control positivo) y el suero fisiológico (control negativo) fueron conservados a 4°C hasta su uso (23). Posteriormente, se colocaron discos estériles de papel filtro de 6mm sobre la superficie del agar previamente inoculado, los cuales fueron previamente embebidos con la sustancia en estudio y los controles. Las placas se dejaron reposar durante aproximadamente 30 minutos para permitir la difusión de las sustancias a través del medio. Finalmente, fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas en condiciones de microaerobiosis, utilizando una jarra GasPack mediante el método de la vela, generando un ambiente aproximado de 5–10 % de CO_2.

Transcurrido el periodo de incubación, se procedió a la medición de diámetros de los halos de inhibición formados alrededor de cada disco mediante un vernier digital, registrando los valores en milímetros (mm) en una ficha de recolección de datos (ANEXO 4). Las mediciones fueron realizadas de manera independiente por dos profesionales en microbiología del laboratorio a las 24 y 48 horas. La actividad antimicrobiana se interpretó posteriormente según la escala de Duraffourd (28), debido a que esta permite clasificar cualitativamente la actividad antimicrobiana como complemento de la evaluación cuantitativa de los halos expresados en milímetros.

En este estudio, se priorizó la evaluación del aceite de *Cocos nucifera* en su forma pura, sin diluciones, con el fin de analizar su comportamiento en condiciones de aplicación directa, más cercanas a su posible uso clínico como vehículo intraconducto. Asimismo, no se determinó la concentración mínima inhibitoria ni mínima bactericida, puesto que la metodología empleada corresponde a una evaluación inicial orientada a determinar la presencia y magnitud del efecto antimicrobiano (30).

A las 72 horas de incubación, se realizó una observación microscópica de la muestra del co-cultivo mediante tinción de Gram, utilizando un microscopio óptico con un aumento de 1000×. Se obtuvo una fotografía de la preparación como registro de la observación microscópica.

Los datos obtenidos fueron registrados y tabulados en el programa Microsoft Excel y posteriormente analizados mediante el software estadístico IBM SPSS versión 25. Se realizó un análisis descriptivo, determinándose las medias y desviaciones estándar de los diámetros de los halos de inhibición para cada grupo experimental en las cepas de *E. faecalis*, *S. gordonii* y el co-cultivo de ambas cepas. Previo al análisis inferencial, se evaluó la normalidad de la distribución de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk, considerando un nivel de significancia de 5% para asumir una distribución normal. Asimismo, se verificó la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene. Posteriormente, se aplicó la prueba estadística de ANOVA de una vía, con el fin de determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos evaluados. Se utilizó la prueba post hoc de Tukey para comparaciones múltiples entre los grupos. Asimismo, se empleó la prueba T de Student para muestras relacionadas para comparar los resultados entre los tiempos de evaluación (24 y 48 horas). Se consideró un nivel de significancia estadística de $p < 0.05$ y un nivel de confianza del 95%.

IV. RESULTADOS

A las 24 horas, el grupo "co-cultivo + clorhexidina" (control positivo) presentó la mayor actividad antimicrobiana (20.46 mm ± 0.95) ($p < 0.05$), seguido de los grupos "*E. faecalis* + aceite*"* (18.21 mm ± 1.40) y "co-cultivo + aceite*"* (17.36 mm ± 2.74), los cuales no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p > 0.05$). Por otro lado, los grupos "*S. gordonii* + aceite*"* y "co-cultivo + suero fisiológico" (control negativo) no mostraron actividad antimicrobiana (0.00 mm ± 0.00), no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p > 0.05$) (Tabla 1).

A las 48 horas se observó un patrón similar, es decir, el grupo "co-cultivo + clorhexidina" (control positivo) presentó la mayor actividad antimicrobiana (20.66 mm ± 0.89) ($p < 0.05$), seguido de los grupos "*E. faecalis* + aceite" (18.52 mm ± 1.39) y "co-cultivo + aceite*"* (17.69 mm ± 2.72), los cuales no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p > 0.05$). Por otro lado, los grupos "*S. gordonii* + aceite" y "co-cultivo + suero fisiológico" (control negativo) no mostraron actividad antimicrobiana (0.00 mm ± 0.00), no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p > 0.05$) (Tabla 1).

Al comparar los tiempos de evaluación a las 24 y 48 horas, dentro de cada grupo, se observó un incremento en la actividad antimicrobiana en los grupos "co-cultivo + aceite", "*E. faecalis* + aceite" y "co-cultivo + clorhexidina" (control positivo) ($p < 0.05$). En contraste, los grupos "*S. gordonii* + aceite" y "co-cultivo + suero fisiológico" (control negativo) no presentaron variación debido a la ausencia total de actividad antimicrobiana (Tabla 1).

La actividad antimicrobiana de los grupos “co-cultivo + aceite” y “*E. faecalis* + aceite” fue clasificada como “sensibilidad media” según la escala de Duraffourd en ambos tiempos (24 y 48 horas). La actividad antimicrobiana del grupo “co-cultivo + clorhexidina” fue clasificada como “sensibilidad alta” según la escala de Duraffourd en ambos tiempos (24 y 48 horas). La actividad antimicrobiana de los grupos “*S. gordonii* + aceite” y “co-cultivo + suero fisiológico” (control negativo) fue clasificada como “sensibilidad nula” según la escala de Duraffourd en ambos tiempos (24 y 48 horas).

V. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio permiten aceptar parcialmente la hipótesis alternativa, ya que se evidenció actividad antimicrobiana del aceite de *Cocos nucifera* frente a *E. faecalis* y su co-cultivo con *S. gordonii*; sin embargo, no se observó actividad antimicrobiana frente a *S. gordonii*.

La medicación intraconducto con hidróxido de calcio es universalmente utilizada en el tratamiento de infecciones persistentes en endodoncia. Algunos estudios han reportado que el efecto antimicrobiano del hidróxido de calcio es limitado frente a especies Gram-positivas anaerobias facultativas como *E. faecalis* y *S. gordonii* (13,15,23). En función a ello, se han buscado alternativas en soluciones naturales con propiedades antimicrobianas que tengan potenciales terapéuticos, que sean biocompatibles y con bajo costo (23, 24). Estas podrían actuar como vehículos del hidróxido de calcio, potenciando su efecto antimicrobiano y reduciendo los efectos secundarios como decoloración dental o la irritación de los tejidos periapicales, asociados al uso de otros vehículos sin propiedades antimicrobianas (12,13). Dentro de ellos, el aceite de *Cocos nucifera* destaca por sus propiedades antimicrobianas asociadas a ácidos grasos de cadena media (24). Sin embargo, se requiere mayor evidencia de su actividad antimicrobiana *in vitro* ante microorganismos asociados a la periodontitis apical persistente. El presente estudio se basó en un modelo experimental *in vitro* de cultivo individual de *E. faecalis*, *S. gordonii* y su co-cultivo. Si bien los modelos de biopelícula multiespecie reproducen mejor la complejidad estructural y funcional de las infecciones persistentes en el sistema de conductos radiculares (5,10), un modelo *in vitro* de doble especie entre microorganismos con interacciones previamente reportadas (7,15-17) representa una aproximación inicial hacia modelos más complejos y futuras evaluaciones *in vivo* (31).

Nuestros datos evidenciaron actividad antimicrobiana del aceite de *Cocos nucifera* frente a *E. faecalis* y al co-cultivo con *S. gordonii*; sin embargo, no se evidenció actividad antimicrobiana frente al cultivo individual de *S. gordonii*. Esta actividad antimicrobiana podría atribuirse a los ácidos grasos de cadena media presentes en el aceite de *Cocos nucifera*, los que, a través de la hidrólisis lipídica, liberan ácidos grasos como el ácido láurico y monoglicéridos, como la monolaurina. Gracias a su naturaleza anfipática, el ácido láurico se inserta en la bicapa lipídica desorganizándola y aumentando la permeabilidad de la membrana; por su parte, la monolaurina, de mayor carácter anfipático, actúa como tensioactivo insertándose en la membrana, alterando la organización de fosfolípidos y desestabilizando la integridad celular (8,23, 24). Asimismo, esta actividad antimicrobiana es independiente de la hidrólisis lipídica. Además de permeabilizar las membranas mediante la formación de poros, interrumpen el transporte de electrones y desacoplan la fosforilación oxidativa al disminuir el potencial de membrana y el gradiente de protones. Debido a que los ácidos grasos participan en funciones esenciales en la estructura celular bacteriana, también pueden inhibir la biosíntesis de ácidos grasos esenciales para su crecimiento, inhibir proteínas, la absorción de nutrientes y enzimas asociadas a la membrana como la glucosiltransferasa (25).

La interacción de ambas cepas produce biopelículas más estructuradas y activa mecanismos de agregación, virulencia y coordinación de actividades que favorecen la supervivencia grupal y la tolerancia antimicrobiana que no se expresan en cultivos individuales (5,7,11,17). Si bien *E. faecalis* es un componente de comunidades bacterianas multiespecie, también puede encontrarse como única especie, lo que indica que es capaz de superar a otros miembros de una infección polimicrobiana (6). *S. gordonii* produce feromonas como sgcAM373 que inducen en *E. faecalis* la expresión de proteínas de agregación que favorecen la adhesión intercelular (17). *E. faecalis* resiste mejor la

privación de nutrientes y la inanición cuando se co-cultiva con *S. gordonii*. Gracias a su plasticidad genómica, *E. faecalis* puede adquirir e intercambiar fácilmente material genético como plásmidos y transposones (11). El plásmido conjugativo pAM81 se transfiere con mucha mayor frecuencia de *S. gordonii* a *E. faecalis*, lo que sugiere que *E. faecalis* tiene una alta capacidad para adquirir genes que podrían aumentar su supervivencia y virulencia (21). Un estudio reportó que *E. faecalis* presenta mayor resistencia en coexistencia con otras especies; además, que puede inhibir a *S. gordonii* mediante la producción de enterocina y citolisina. Los autores no lograron diferenciar a ambas cepas utilizando microscopio electrónico de barrido, debido a su similar morfología (7). En el presente estudio, la imagen obtenida con microscopía óptica a 1000x y tinción Gram evidenció cocos Gram positivos dispuestos en cadenas cortas, en pares e individuales. Teniendo en cuenta que *S. gordonii* suele disponerse en cadenas (18) y que *E. faecalis* suele presentarse de forma aislada o en parejas (32), se pudo identificar presuntivamente la presencia simultánea de ambas cepas. Sin embargo, como la microscopía tradicional presenta limitaciones para determinar la identidad de los microorganismos, técnicas complementarias como la hibridación fluorescente in situ (FISH) podrían contribuir a identificar ambas especies y evaluar su organización espacial (1).

La interacción de ambos microorganismos también depende del tipo de cepa en estudio. Por ejemplo, Chávez de Paz et al. determinaron que la cepa OG1RF de *E. faecalis* presenta un comportamiento generalmente antagónico frente a *S. gordonii*, mientras que la cepa GUL1 suele establecer interacciones mutualistas o neutras con *S. gordonii* debido a la baja producción de proteasas de *E. faecalis* (6). En el presente estudio, la posible presencia de ambas cepas en el co-cultivo y los halos de inhibición ligeramente menores respecto al cultivo individual de *E. faecalis* sugieren la ausencia de una interacción

antagónica, siendo probable que un comportamiento cooperativo haya modulado la respuesta ante el agente antimicrobiano. Asimismo, la cepa de *S. gordonii* empleada debe considerarse al comparar los resultados con estudios previos. En nuestro estudio se utilizó *S. gordonii* ATCC 51656, para la cual ATCC recomienda el cultivo en *Brain Heart Infusion* (BHI) a 37 °C bajo condiciones anaeróbicas (33). Sin embargo, el cultivo se realizó en condiciones de microaerobiosis, manteniendo una atmósfera con disponibilidad reducida de oxígeno, de acuerdo con las condiciones establecidas en el protocolo experimental. En contraste, ATCC establece para *S. gordonii* ATCC 10558 condiciones de cultivo diferentes, incluyendo BHI o agar soya tripticasa con sangre y una atmósfera aeróbica (34). Un estudio reportó que la cepa *S. gordonii* ATCC 10558 fue muy susceptible al ácido láurico (35); sin embargo, en este estudio se utilizó la cepa ATCC 51656, por lo que la ausencia de halos de inhibición podría estar relacionada, entre otros factores, con variaciones intraespecíficas que modifiquen la respuesta antimicrobiana, dado que distintas cepas pueden presentar diferencias en su capacidad de coexistencia y respuesta en biopelículas (6). Otro estudio reportó la actividad antimicrobiana de *Camellia sinensis* frente a *S. gordonii* ATCC 51656 mediante el método de difusión en disco, obteniendo un halo de inhibición de 13,1 ± 0,3 mm. Dicho estudio empleó condiciones anaeróbicas para el cultivo de la cepa (28). En contraste, en el presente estudio no se observó halo de inhibición frente a *S. gordonii* ATCC 51656 tras la exposición al aceite de *Cocos nucifera*. Estas diferencias en las recomendaciones de cultivo evidencian la importancia de considerar la cepa específica y las condiciones experimentales al interpretar y comparar resultados de susceptibilidad antimicrobiana.

La actividad antimicrobiana de los ácidos grasos también parece depender de las características fenotípicas de la especie bacteriana (35). Además de poseer diversos factores de virulencia en su pared celular, *S. gordonii* puede modificar su metabolismo

sin comprometer la viabilidad celular (16,19). Un estudio determinó que los ácidos grasos de cadena corta inhiben la formación de biopelículas de *S. gordonii* mediante la regulación negativa de la vía de señalización del péptido estimulante de la competencia. Sin embargo, las biopelículas preformadas no se ven afectadas por ellos debido a que *S. gordonii* posee un mecanismo superior de tolerancia a los ácidos, el sistema de arginina deiminasa (ADS), que utiliza el amoníaco como subproducto metabólico para neutralizar los ácidos intracelulares, bloqueando los efectos bacteriostáticos de los ácidos grasos de cadena corta (36). Otro estudio demostró que compuestos naturales, como el material no dializable derivado de arándano, pueden inhibir selectivamente la actividad metabólica de *Streptococcus gordonii* sin afectar significativamente su viabilidad. Este efecto sugiere que la reducción de la actividad metabólica bacteriana podría interferir con procesos clave como la adhesión y la formación de biopelículas, contribuyendo a disminuir la virulencia sin necesariamente inducir la muerte celular (37). En este sentido, los resultados del presente estudio podrían estar relacionados con mecanismos similares, en los que los agentes evaluados afectan la actividad microbiana más que su supervivencia directa. A diferencia de *S. gordonii*, los enterococos son productores débiles de proteínas extracelulares (16). *E. faecalis* no presenta una respuesta fenotípica generalizada a los ácidos grasos saturados, los cuales actúan modificando la composición de su membrana, la actividad de sus proteínas, su proporción proteína-lípido, la supervivencia al estrés y su morfología. Si bien se ha reportado que el ácido láurico tuvo menor efecto en *E. faecalis* por su posible dificultad de incorporarse a su membrana o por su rápida integración al ciclo de elongación de ácidos grasos (38), no significa que no exhiba una importante actividad antimicrobiana gracias a su actividad surfactante y capacidad de alterar directamente la membrana celular causando lisis bacteriana (8), lo que podría explicar la presencia de halos de inhibición en nuestro trabajo.

Es importante tener en cuenta que los microorganismos cultivados en biopelículas son fenotípicamente diferentes a los mismos microorganismos en estado planctónico, los cuales son más sensibles a los agentes antimicrobianos debido a su facilidad de difusión en el fluido (9,10). Y que los aislados clínicos frescos pueden presentar diferencias cualitativas en comparación a las cepas de laboratorio, posiblemente por los numerosos cambios fisiológicos que experimentan las cepas de laboratorio al procesarse para su almacenamiento (16).

La persistencia de estos microorganismos en el sistema de conductos no solo se relaciona a su capacidad de coexistir y adaptarse sino también a su tolerancia frente al estrés alcalino propio de los medicamentos intraconducto a base de hidróxido de calcio. Es sabido que *E. faecalis* y *S. gordonii* sobreviven a la exposición alcalina tanto en cultivos planctónicos como en biopelículas como parte de una respuesta adaptativa general de supervivencia (9). Ante ello, estudios han evaluado al aceite de *Cocos nucifera* como vehículo en medicamentos a base de hidróxido de calcio modificado con nanopartículas de óxido de calcio y otras formulaciones basadas en compuestos cálcicos frente a cepas de *E. faecalis*. Reportaron que el aceite permite una consistencia adecuada del material, liberación sostenida de los componentes activos (13) y que potencia la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio, con una eficacia superior a medicamentos intraconducto convencionales como Metapex. Estos resultados se atribuyeron al posible efecto sinérgico entre el alto pH del calcio y el ácido láurico del aceite (14).

La actividad antimicrobiana de los ácidos grasos de cadena media también depende de su comportamiento en solución, el cual puede ser influenciado por el tipo de solvente, la concentración y las condiciones experimentales del ensayo. Debido a su naturaleza anfipática, los lípidos antimicrobianos suelen solubilizarse en disolventes orgánicos como etanol o dimetilsulfóxido, los cuales pueden influir en su autoensamblaje molecular y

generar variaciones de hasta 500 veces en la potencia de un compuesto frente a un solo microorganismo (25). En un estudio frente la actividad antimicrobiana del aceite de *Cocos nucifera* frente a *Streptococcus mutans* empleando polisorbato 80 como solvente, los halos de inhibición variaron entre 17-22mm (39). El polisorbato 80 probablemente favoreció una mejor dispersión de los compuestos lipídicos, mejorando su disponibilidad para interactuar con la bacteria. En el presente estudio se utilizó aceite de *Cocos nucifera*, sin adición de solventes, con la finalidad de evaluar su potencial como posible vehículo del hidróxido de calcio en condiciones *in vitro*. Asimismo, los resultados de nuestro estudio podrían haber sido influenciados por limitaciones metodológicas del modelo *in vitro*.

Por último, a pesar de sus inherentes limitaciones, los ensayos de difusión en agar son una técnica ampliamente utilizada y valiosa para la evaluación preliminar de la actividad antimicrobiana de sustancias en prueba (30). Este tipo de estudios proporcionan una evaluación empírica inicial de la actividad antimicrobiana y brindan información sobre el alcance y la potencia con la que estas sustancias afectan a los microorganismos. Sin embargo, no proporcionan información acerca de su mecanismo de acción ni de las relaciones estructura-actividad a nivel biológico (25,40).

Se recomienda profundizar en el estudio de componentes del aceite de *Cocos nucifera* y continuar explorando su potencial como posible vehículo del hidróxido de calcio en modelos experimentales más representativos de las condiciones del conducto radicular, así como considerar distintos factores fisicoquímicos y metodológicos que puedan influir en la actividad antimicrobiana de los compuestos evaluados.

VI. CONCLUSIONES

1. El aceite de *Cocos nucifera* produjo halos de inhibición frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a las 24 y 48 horas. Los valores obtenidos correspondieron a una "sensibilidad media" según la escala de Duraffourd.

2. El aceite de *Cocos nucifera* no produjo halos de inhibición frente a *Streptococcus gordonii* ATCC 51656 a las 24 y 48 horas. Los valores obtenidos correspondieron a una "sensibilidad nula" según la escala de Duraffourd.

3. El aceite de *Cocos nucifera* produjo halos de inhibición frente al co-cultivo de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Streptococcus gordonii* ATCC 51656 a las 24 y 48 horas. Los valores obtenidos correspondieron a una "sensibilidad media" según la escala de Duraffourd.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Siqueira JF, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. Int Endod J. mayo de 2022;55(S3):512-30. doi:10.1111/iej.13677

2. Chan P, Huang W, Liang J, Yuan Z, Guo L. Effect of membrane vesicles produced under different pH conditions on the ability of Enterococcus faecalis to tolerate stressful environments and macrophages' inflammatory response. El-Naggar MY, editor. J Bacteriol. 20 de noviembre de 2025;207(11):e00377-25. doi:10.1128/jb.00377-25

3. Siqueira JF, Silva WO, Romeiro K, Gominho LF, Alves FRF, Rôças IN. Apical root canal microbiome associated with primary and posttreatment apical periodontitis: A systematic review. Int Endod J. agosto de 2024;57(8):1043-58. doi:10.1111/iej.14071

4. Pinto KP, Barbosa AFA, Silva EJNL, Santos APP, Sassone LM. What Is the Microbial Profile in Persistent Endodontic Infections? A Scoping Review. J Endod. julio de 2023;49(7):786-798.e7. doi:10.1016/j.joen.2023.05.010

5. Chávez De Paz LE. Development of a Multispecies Biofilm Community by Four Root Canal Bacteria. J Endod. marzo de 2012;38(3):318-23. doi:10.1016/j.joen.2011.11.008

6. Chávez De Paz LE, Davies JR, Bergenholtz G, Svensäter G. Strains of Enterococcus faecalis differ in their ability to coexist in biofilms with other root canal bacteria. Int Endod J. octubre de 2015;48(10):916-25. doi:10.1111/iej.12501

7. Gao Y, Jiang X, Lin D, Chen Y, Tong Z. The Starvation Resistance and Biofilm Formation of Enterococcus faecalis in Coexistence with Candida albicans, Streptococcus gordonii, Actinomyces viscosus, or Lactobacillus acidophilus. J Endod. agosto de 2016;42(8):1233-8. doi:10.1016/j.joen.2016.05.002

8. Devan K, Peedikayil F, Chandru T, Kottayi S, Dhanesh N, Suresh Kr. Antimicrobial efficacy of medium chain fatty acids as root canal irrigants: An in vitro study. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2019;37(3):258. doi:10.4103/JISPPD.JISPPD_63_19

9. De Paz LC. Redefining the Persistent Infection in Root Canals: Possible Role of Biofilm Communities. J Endod. junio de 2007;33(6):652-62. doi:10.1016/j.joen.2006.11.004

10. Chávez De Paz LE, Bergenholtz G, Dahlén G, Svensäter G. Response to alkaline stress by root canal bacteria in biofilms. Int Endod J. mayo de 2007;40(5):344-55. doi:10.1111/j.1365-2591.2006.01226.x

11. Parga A, Mattu J, Belibasakis GN, Kline KA, Leprince JG, Manoil D. A polymicrobial perspective into the ecological role of Enterococcus faecalis in dental root canal infections. Npj Biofilms Microbiomes. 22 de mayo de 2025;11(1):83. doi:10.1038/s41522-025-00722-w

12. Chávez De Paz L, Svensäter G, Dahlén G, Bergenholtz G. Streptococci from root canals in teeth with apical periodontitis receiving endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology. agosto de 2005;100(2):232-41. doi:10.1016/j.tripleo.2004.10.008.

13. Park OJ, Kim J, Kim HY, Kwon Y, Yun CH, Han SH. Streptococcus gordonii induces bone resorption by increasing osteoclast differentiation and reducing osteoblast differentiation. Microb Pathog. enero de 2019;126:218-23. doi:10.1016/j.micpath.2018.11.005

14. Park OJ, Kwon Y, Park C, So YJ, Park TH, Jeong S, et al. Streptococcus gordonii: Pathogenesis and Host Response to Its Cell Wall Components. Microorganisms. 24 de noviembre de 2020;8(12):1852. doi:10.3390/microorganisms8121852

15. Yoo YJ, Perinpanayagam H, Lee JY, Oh S, Gu Y, Kim AR, et al. Synthetic Human β Defensin-3-C15 Peptide in Endodontics: Potential Therapeutic Agent in Streptococcus gordonii Lipoprotein-Stimulated Human Dental Pulp-Derived Cells. Int J Mol Sci. 20 de diciembre de 2019;21(1):71. doi:10.3390/ijms21010071

16. Sedgley CM, Lee EH, Martin MJ, Flannagan SE. Antibiotic Resistance Gene Transfer between Streptococcus gordonii and Enterococcus faecalis in Root Canals of Teeth Ex Vivo. J Endod. mayo de 2008;34(5):570-4. doi:10.1016/j.joen.2008.02.014

17. Mansfield JM, Herrmann P, Jesionowski AM, Vickerman MM. Streptococcus gordonii pheromone s.g.cAM373 may influence the reservoir of antibiotic resistance determinants of Enterococcus faecalis origin in the oral metagenome. J Med Microbiol. 1 de noviembre de 2017;66(11):1635-9. doi:10.1099/jmm.0.000613

18. Ordinola-Zapata R, Noblett WC, Perez-Ron A, Ye Z, Vera J. Present status and future directions of intracanal medicaments. Int Endod J. mayo de 2022;55(S3):613-36. doi:10.1111/iej.13731

19. Kazi FM, Parvez K, Asghar A, Akbar S, Jawaed N ul A, Kumar N, et al. In Vitro Evaluation of the Influence of Biosynthesized Calcium Oxide Nanoparticles on the Antibacterial Activity, pH, Microleakage and Cytotoxicity of Conventional Intracanal Medicaments. Int J Mol Sci. 8 de noviembre de 2024;25(22):11991. doi:10.3390/ijms252211991

20. Panyakorn T, Makeudom A, Kangvonkit P, Pattamapun K, Wanachantararak P, Charumanee S, et al. Efficacy of double antibiotics in hydroxypropyl methylcellulose for bactericidal activity against Enterococcus faecalis and Streptococcus gordonii in biofilm. Arch Oral Biol. septiembre de 2021;129:105210. doi:10.1016/j.archoralbio.2021.105210

21. Al-Chalabi AS, Chakmakchi M, Taqa AA. Preparation and pH with Antibacterial Evaluation of Nano Calcium Oxide Based Intracanal Medicament from Natural Products : An In Vivo Study. J Oral Dent Res. septiembre de 2019;6(1):17-28. doi:10.12816/0060713

22. Sebbane N, Abramovitz I, Kot-Limon N, Steinberg D. Mechanistic Insight into the Anti-Bacterial/Anti-Biofilm Effects of Low Chlorhexidine Concentrations on Enterococcus faecalis—In Vitro Study. Microorganisms. 12 de noviembre de 2024;12(11):2297. doi:10.3390/microorganisms12112297

23. Yoon B, Jackman J, Valle-González E, Cho NJ. Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Therapeutic Applications. Int J Mol Sci. 8 de abril de 2018;19(4):1114. doi:10.3390/ijms19041114

24. Department of Microbiology, Federal University Lafia, Nigeria, Anzaku A Abel. Antimicrobial Activity of Coconut Oil and its Derivative (Lauric Acid) on Some Selected Clinical Isolates. Int J Med Sci Clin Invent. 30 de agosto de 2017;4(8). doi:10.18535/ijmsci/v4i8.12

25. Nitbani FO, Tjitda PJP, Nitti F, Jumina J, Detha AIR. Antimicrobial Properties of Lauric Acid and Monolaurin in Virgin Coconut Oil: A Review. ChemBioEng Rev. octubre de 2022;9(5):442-61. doi:10.1002/cben.202100050

26. Wilson DE, Chosewood LC. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.

27. Hedges LV. Effect sizes for experimental research. Br J Math Stat Psychol. febrero de 2026;79(1):31-45. doi:10.1111/bmsp.12389

28. Requena-Mendizábal M, Bocanegra-Arista R, Maurtua-Torres DJ, Rosales-Cifuentes T, Collantes-Díaz IE, Flores-León DC, Valdez-Jurado FR, Calla-Poma R. Antibacterial activity of organic crude extract of Camellia sinensis on bi-species cariogenic biofilm. Rev Cient Odontol (Lima). 2026 Apr 4;14(2):e285. doi: 10.21142/2523-2754-1402-2026-285. PMID: 42256692; PMCID: PMC13238275.

29. Hudzicki J. Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol [Internet]. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2009 [citado 3 sep 2026].

30. Hossain TJ. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. Eur J Microbiol Immunol. 14 de mayo de 2024;14(2):97-115. doi:10.1556/1886.2024.00035

31. Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan A, Yan A, et al. Biofilms in Endodontics—Current Status and Future Directions. Int J Mol Sci. 11 de agosto de 2017;18(8):1748. doi:10.3390/ijms18081748

32. He Q, Hou Q, Wang Y, Li J, Li W, Kwok LY, et al. Comparative genomic analysis of Enterococcus faecalis: insights into their environmental adaptations. BMC Genomics. diciembre de 2018;19(1):527. doi:10.1186/s12864-018-4887-3

33. American Type Culture Collection (ATCC). Streptococcus gordonii Kilian et al. ATCC 51656™ [Internet]. Manassas (VA): ATCC; 2026 [citado 4 sep 2026]. Disponible en: ATCC 51656™

34. American Type Culture Collection (ATCC). Streptococcus gordonii Kilian et al. ATCC 10558™ [Internet]. Manassas (VA): ATCC; 2026 [citado 4 sep 2026]. Disponible en: ATCC 10558™

35. Huang CB, Alimova Y, Myers TM, Ebersole JL. Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. Arch Oral Biol. julio de 2011;56(7):650-4. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.01.011

36. Park T, Im J, Kim AR, Lee D, Jeong S, Yun CH, et al. Short-chain fatty acids inhibit the biofilm formation of Streptococcus gordonii through negative regulation of competence-stimulating peptide signaling pathway. J Microbiol. 4 de diciembre de 2021;59(12):1142-9. doi:10.1007/s12275-021-1576-8

37. Babu J, Blair C, Jacob S, Itzhak O. Inhibition of Streptococcus gordonii Metabolic Activity in Biofilm by Cranberry Juice High-Molecular-Weight Component. J Biomed Biotechnol. 2012;2012:1-7. doi:10.1155/2012/590384

38. Saito HE, Harp JR, Fozo EM. Enterococcus faecalis Responds to Individual Exogenous Fatty Acids Independently of Their Degree of Saturation or Chain Length. Kelly RM, editor. Appl Environ Microbiol. enero de 2018;84(1):e01633-17. doi:10.1128/AEM.01633-17

39. Vásquez-Vereau G, Guardia-Méndez G. Antibacterial Effect of Coconut Oil (Cocus nucifera) on Streptococcus mutans ATCC 25175: An In vitro Study. Int J Odontostomatol. diciembre de 2021;15(4):922-7. doi:10.4067/S0718-381X2021000400922

40. Wang W, Wang R, Zhang G, Chen F, Xu B. In Vitro Antibacterial Activities and Mechanisms of Action of Fatty Acid Monoglycerides Against Four Foodborne Bacteria. J Food Prot. febrero de 2020;83(2):331-7. doi:10.4315/0362-028X.JFP-19-259

VIII. TABLAS, GRAFICOS Y FIGURAS

Tabla 1. Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite de *Cocos nucifera* (coco) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y *Streptococcus gordonii* (ATCC 51656).

	Co-cultivo + Aceite	E. faecalis + Aceite	S. gordonii + Aceite	Co-cultivo + Clorhexidina	Co-cultivo + Suero fisiológico	p-valor
Tiempo	**X(DE)**	**X(DE)**	**X(DE)**	**X(DE)**	**X(DE)**	
24 horas	17.36 mm(2.74)^{A}	18.21 mm(1.40)^{A}	0 mm(0)^{B}	20.46 mm(0.95)^{C}	0 mm(0)^{B}	<0.001*
48 horas	17.69 mm(2.72)^{D}	18.52 mm(1.39)^{D}	0 mm(0)^{E}	20.66 mm(0.89)^{F}	0 mm(0)^{E}	<0.001*
p-valor	<0.001**	<0.001**	-	<0.001**	-	

X: Media; DE: Desviación estándar; mm: milímetros. *: Prueba estadística de ANOVA de una vía. Las letras en superíndice indican la prueba de post hoc de Tukey para comparaciones múltiples de forma horizontal. Letras similares indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos comparados (p>0.05). **: Prueba estadística t de Student para muestras relacionadas.








ACEITE DE COCO
100% NATURAL

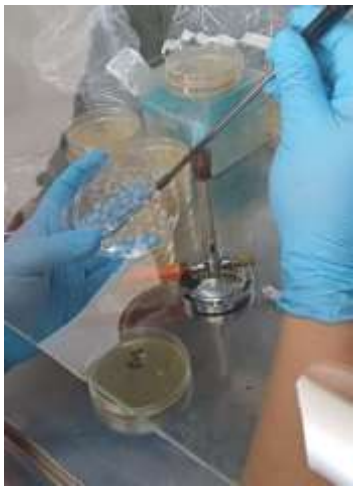
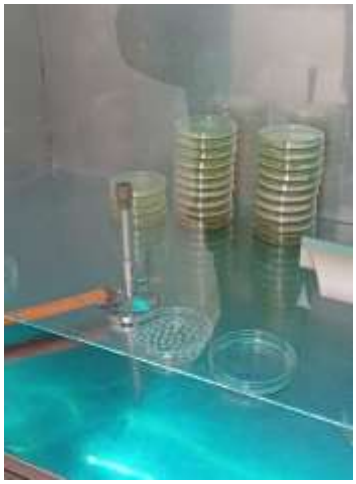










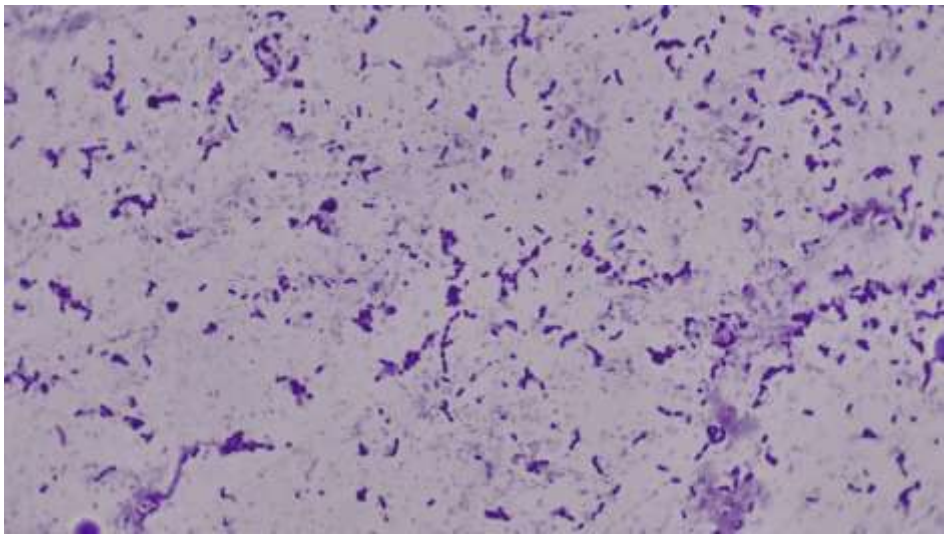


Imagen microscópica mediante tinción de Gram al 1000X a las 72 horas.



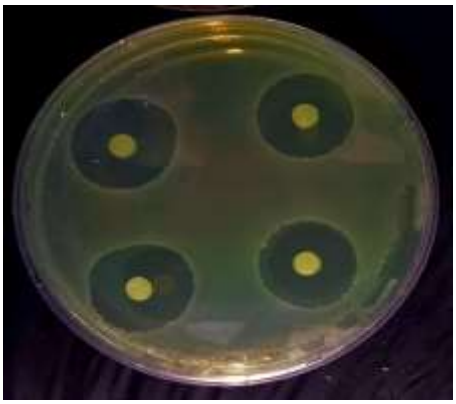
E. faecalis + aceite



S. gordonii + aceite



E. faecalis – S. gordonii + aceite



Clorhexidina 2%



Suero fisiológico

ANEXO 1

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN

CAR-DUARI-O-227-25
Lima, 15 de Mayo del 2025

Señor(a) investigador(es)
VASQUEZ VEREAU GRECIA PAOLA
Presente .-

Es grato dirigirme a usted para expresarle un cordial saludo y a la vez informarle que hemos recibido el proyecto de investigación titulado: **"EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL ACEITE DE COCUS NUCIFERA FRENTE A ENTEROCOCCUS FAECALIS Y STREPTOCOCCUS GORDONII" SIDISI 217609**, el cual ha sido revisado y registrado en la Dirección Universitaria de Asuntos Regulatorios de la Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia debido a que por sus características no requiere evaluación por el Comité Institucional de Ética en Investigación en Humanos ni por el Comité Institucional de Ética para Uso de Animales.

Este proyecto puede iniciar su ejecución. Los cambios o enmiendas al protocolo presentado solo deben ejecutarse luego de una nueva evaluación y autorización por esta dirección. Adicionalmente, agradecemos tenga a bien presentar el informe de cierre del proyecto al concluir la ejecución de este.

Atentamente,

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA





Blga. Ana Gabriela Sobarzo
Directora (e)
Dirección Universitaria de Asuntos
Regulatorios de la Investigación

www.cayetano.edu.pe
vrinve@oficinas-upch.pe
319 0000 Anexo 201355
Apartado postal 4314
San Martín de Porres
Av. Honorio Delgado 430

ANEXO 2

Variables	Dimensión	Índice	Indicador	Tipo según naturaleza	Escala
Variable independiente: Aceite de *Cocos nucifera*	Tratamiento con aceite de *Cocos nucifera*	Aceite de *Cocos nucifera* puro	Aplicación del aceite de *Cocos nucifera* mediante difusión en agar.	Cualitativa	Nominal
Variable dependiente: Actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Streptococcus gordonii* ATCC 51656	**Dimensión 1:** Efecto antimicrobiano frente a *E. faecalis* ATCC 29212 **Dimensión 2:** Efecto antimicrobiano frente a *S. gordonii* ATCC 51656 **Dimensión 3:** Efecto antimicrobiano frente a *E. faecalis* ATCC 29212 y *S. gordonii* ATCC 51656	Diámetro de la zona de inhibición (mm) a las 24 y 48 horas.	Diámetro de la zona de inhibición, incluyendo el diámetro del disco de papel filtro, expresado en milímetros (mm).	Cuantitativa continua	Razón

ANEXO 3

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
UNT

HERBARIUM TRUXILLENSE
HUT
1941

Bicentenario
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

"Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana"
"Dos siglos de sabiduría, un legado para el futuro"

Constancia N° 21-2025-HUT-Fac. CC.BB-UNT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO,

Da Constancia

Que este despacho ha recibido por parte de Grecia Paola Vásquez Vereau identificada con DNI N°77392078, a modo de donación un ejemplar (01) herborizado correspondiente a la especie *Cocos nucifera* L. (Arecales, Arecaceae).

El código asignado al ejemplar depositado en el Herbario HUT es: 66094-95.

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 06 de noviembre de 2025

HERBARIUM TRUXILLENSE - REPÚBLICA DEL PERÚ - UNIVERSIDAD NACIONAL

Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del HUT

cc. Herbario HUT

Herbarium Truxillense (HUT), Facultad de Ciencias Biológicas, Jr. San Martín 392, Trujillo–Perú. herbariumhut@unitru.edu.pe

ANEXO 4

Susceptibilidad de *E. faecalis y S. gordonii* frente a aceite de *Cocos nucifera*							
Sub-grupo	**Placas petri**	**Halos de inhibición (mm) a las 24/48 horas**				**Promedio**	
		Disco 1	**Disco 2**	**Disco 3**	**Disco 4**	**24 h**	**48 h**
E. faecalis	**P1**	16.2/16.6	18/18.3	16.6/17	20/20.2	18.21	18.52
	P2	18.6/19	19.6/19.8	20/20.4	18/18		
	P3	18/18	18.8/19	18.8/19.2	18.4/18.8		
	P4	18.8/19.2	18.8/19.4	14.6/15	18.2/18.4		
S. gordonii	**P1**	0	0	0	0	0	0
	P2	0	0	0	0		
	P3	0	0	0	0		
	P4	0	0	0	0		
E. faecalis* + *S. gordonii	**P1**	22.5/22.6	14/14	18/18.2	22/22.4	17.36	17.69
	P2	15.5/15.6	17.2/17.6	17/17.6	14.4/15		
	P3	18.2/18.4	20/20.1	14.2/14.6	16/16.4		
	P4	14.2/14.6	18.4/18.8	16/16.4	20.2/20.6		
Control positivo: clorhexidina 2%	**P1**	19.6/20	22.2/22.6	20/20.2	20.6/20.6	20.46	20.66
	P2	20/20.2	19/19.6	18.8/19.2	20.4/20.6		
	P3	21.8/21.8	21.2/21.4	20/20.2	20.6/20.6		
	P4	20/20	20.8/20.8	21.6/21.8	20.8/21		
Control negativo: suero fisiológico	**P1**	0	0	0	0	0	0
	P2	0	0	0	0		
	P3	0	0	0	0		
	P4	0	0	0	0		