



Original

Actividad antifúngica de los enjuagues bucales frente a *Candida albicans* y *Rhodotorula mucilaginosa*: un estudio *in vitro*



Rodrigo Alejandro Handschuh Briones^a, Evelyn Nicole Silva Arcos^a, Milton Urrutia^b
y Patricio Godoy-Martínez^{c,*}

^a Escuela de Odontología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile

^b Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

^c Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 20 de octubre de 2018

Aceptado el 30 de octubre de 2019

On-line el 21 de julio de 2020

Palabras clave:

Candida albicans

Rhodotorula mucilaginosa

Clorhexidina

Cloruro de cetilpiridinio

Timol

Eucaliptol

Aceites esenciales

Enjuagues bucales

R E S U M E N

Antecedentes: *Candida albicans* y *Rhodotorula mucilaginosa* son levaduras de importancia clínica en la cavidad oral. En pacientes inmunocomprometidos estas levaduras pueden producir enfermedades que deben ser controladas con antimicrobianos.

Objetivos: Evaluar y comparar la eficacia antifúngica de seis enjuagues bucales comerciales frente a aislamientos de *C. albicans* y *R. mucilaginosa*.

Métodos: Fue evaluada *in vitro* la eficacia de seis enjuagues bucales formulados (solos o en combinación) con clorhexidina (CHX) 0,12%; CHX 0,1%; CHX 0,05%; cloruro de cetilpiridinio (CPC) 0,075%; CPC 0,05% y aceites esenciales. Fueron utilizados diez aislamientos de *C. albicans* y otros diez de *R. mucilaginosa*. Mediante el método de difusión en placa con agar Mueller Hinton (modificado) se midieron los halos de inhibición previa incubación a 32 °C.

Resultados: Los resultados de este estudio indican que enjuagues bucales con CHX 0,1%; CHX 0,12%; CHX 0,05% + CPC 0,05%; CHX 0,12% + CPC 0,05% y CPC 0,075% ejercen un efecto antifúngico frente a *C. albicans* y *R. mucilaginosa*. CHX 0,1% dio lugar a la mayor zona de inhibición para *C. albicans* y *R. mucilaginosa* (25,65 ± 2,39 mm y 40,05 ± 3,31 mm). El enjuague con aceites esenciales no tuvo actividad antifúngica alguna. El análisis estadístico no mostró diferencia entre los enjuagues bucales CHX 0,1%; CHX 0,12% y CHX 0,12% + CPC 0,05% ($p = 0,0001$) frente a *C. albicans* y *R. mucilaginosa*.

Conclusiones: Los enjuagues bucales con CHX mostraron una mejor actividad antifúngica contra *C. albicans* y *R. mucilaginosa* que los restantes enjuagues estudiados.

© 2020 Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de Asociación Española de Micología.

Antifungal activity of mouthwashes against *Candida albicans* and *Rhodotorula mucilaginosa*: An *in vitro* study

A B S T R A C T

Background: *Candida albicans* and *Rhodotorula mucilaginosa* are yeasts of clinical importance in the oral cavity. In immunocompromised patients they can cause some pathologies that must be controlled with antimicrobials.

Aims: To evaluate and compare the antimicrobial efficacy of commercially available mouthrinses against strains of *C. albicans* and *R. mucilaginosa*.

Methods: The six mouthwashes studied *in vitro* were formulated (alone or in combination) with chlorhexidine (CHX) 0.12%, CHX 0.1%, CHX 0.05%, cetylpyridinium chloride (CPC) 0.075%, CPC 0.05%, and essential oils. Ten *C. albicans* and *R. mucilaginosa* isolates each were studied. The agar diffusion method (Mueller Hinton II), with incubation at 32 °C was used to evaluate the antifungal activity.

Keywords:

Candida albicans

Rhodotorula mucilaginosa

Chlorhexidine

Cetylpyridinium chloride

Thymol

Eucalyptol

Essential oils

Mouthwashes

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: patricio.godoy@uach.cl (P. Godoy-Martínez).

Results: The results of this study indicate that mouthwashes with CHX 0.1%, CHX 0.12%, CHX 0.05% + CPC 0.05%, CHX 0.12% + CPC 0.05% and CPC 0.075% have an antifungal effect against *C. albicans* and *R. mucilaginosa*. CHX 0.1% led to the broadest inhibition zone for *C. albicans* and *R. mucilaginosa* (25.65 ± 2.39 mm and 40.05 ± 3.31 mm). Essential oils did not show any antifungal activity. Statistical analysis showed no statistical difference between mouth rinses CHX 0.1%, CHX 0.12% and CHX 0.12% + CPC 0.05% ($p = 0.0001$) against *C. albicans* and *R. mucilaginosa*.

Conclusions: Mouthwashes with CHX showed higher antifungal activity against *C. albicans* and *R. mucilaginosa* than other mouthwashes studied.

© 2020 Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of Asociación Española de Micología.

El desequilibrio de la microbiota en la cavidad oral facilita la aparición de enfermedades en los tejidos orales blandos y duros y es fundamento básico de la odontología actual²⁹, ya que la salud oral contribuye a la salud general y es un componente esencial de la calidad de vida³⁹. El rol microbiano en el desarrollo de enfermedades bucodentales ha sido ampliamente descrito en la literatura^{8,16,26}.

Candida albicans es la levadura más importante y prevalente en la mucosa oral; se asocia a candidiasis oral, principalmente en individuos inmunocomprometidos^{13,21}. Las lesiones producidas por *C. albicans* pueden ser confundidas con otras lesiones de etiología diferente, por lo que su diagnóstico debe ser preciso^{9,30}. Otra levadura aislada en la cavidad oral, de menor patogenicidad que *C. albicans*, es *Rhodotorula mucilaginosa*, una levadura pigmentada que no solo coloniza al ser humano, sino también a otros mamíferos; también puede aislarse de suelos o lagos⁶. El primer reporte documentado de fungemia por *R. mucilaginosa* data de 1960, asociada a infecciones en catéteres venosos, aunque pocos casos clínicos han sido reportados^{23,43}. Además, ha sido asociada a úlceras orales crónicas²⁰ y a colonización de conductos radiculares de dientes infectados^{22,24}. Ambas especies, *C. albicans* y *R. mucilaginosa*, son aisladas de la cavidad oral^{15,27}. En condiciones normales estas levaduras coexisten con otros microorganismos de la microbiota oral normal y no causan enfermedad⁹. Sin embargo, los cambios en el entorno oral o sistémico pueden resultar en un crecimiento excesivo de estas especies, que puede conducir a una infección³³. Estos cambios incluyen inmunosupresión (inducida por fármacos o enfermedad), desequilibrio en la microbiota oral (secundario a la terapia con antibióticos), hiposalivación (inducida por fármacos, enfermedad o radioterapia) y daño tisular local (por ejemplo, mucositis secundaria a quimioterapia o terapia de radiación)³³. Los enjuagues bucales con actividad antifúngica son asequibles y provocan menos efectos secundarios que otros tratamientos, lo que promueve su uso como preventivos o coadyuvantes en el tratamiento de las micosis orales^{18,31,42}. Los antifúngicos incorporados en productos de enjuague bucal han sido propuestos recientemente como coadyuvantes a los antifúngicos tópicos¹⁴ y entre ellos está el digluconato de clorhexidina (CHX), que tiene la capacidad de inhibir la adherencia de *C. albicans*^{19,44}. Las propiedades de otros agentes como el cloruro de cetilpiridinio (CPC) y los aceites esenciales presentes en enjuagues bucales no han sido evaluados adecuadamente para *R. mucilaginosa*⁵.

El objetivo de este estudio fue evaluar y comparar la eficacia antifúngica de seis enjuagues bucales comerciales frente a algunos aislamientos de *C. albicans* y *R. mucilaginosa*.

Materiales y métodos

Diseño del estudio

Para determinar la sensibilidad antifúngica a los seis enjuagues bucales comerciales estudiados se seleccionaron diez aislamientos de *C. albicans* y diez de *R. mucilaginosa* del Banco de Cepas del

Instituto de Microbiología Clínica de la Universidad Austral de Chile (aislados de pacientes con estomatitis subprotésica).

Enjuagues bucales

Los enjuagues bucales comerciales evaluados fueron los siguientes: Oralgene® (gluconato de CHX 0,1%), Perio-Aid® Tratamiento (CHX 0,12% y CPC 0,05%), Colgate® Plax (CPC 0,075%), Perio-Aid® Mantenimiento (CHX 0,05% y CPC 0,05%), Listerine® (aceites esenciales específicos) y Oralgene® (gluconato de CHX 0,12%). La [tabla 1](#) muestra en detalle la composición de todos ellos.

Preparación del material

Suspensión fúngica. Para cada cepa de *C. albicans* y de *R. mucilaginosa* se preparó una suspensión en suero fisiológico estéril con un estándar de turbidez determinado por espectrofotometría igual a 0,5 Mc Farland ($1-5 \times 10^6$ UFC/ml)⁴.

Pruebas de sensibilidad. Para las pruebas de sensibilidad se prepararon placas con 20 ml de agar Mueller Hinton II (BBLTM-211438). Las placas, una vez gelificadas, fueron incubadas a 32 °C durante 24 h para comprobar su esterilidad. Mediante un sacabocados estéril de acero de 5 mm de diámetro se hicieron en cada placa siete agujeros a una distancia aproximada de 1 cm del borde de la placa. Tanto los aislamientos de *C. albicans* como los de *R. mucilaginosa* fueron sembrados, de manera separada, en las placas de agar Mueller Hinton mediante torundas estériles impregnadas en la suspensión de 0,5 Mc Farland de cada uno de los aislamientos. Las siembras fueron realizadas moviendo la torunda sobre la superficie del agar de manera uniforme y en tres direcciones distintas, para sembrar toda la superficie del agar. Posteriormente, se depositaron en los pocillos con una micropipeta 8 µl de cada enjuague bucal para evaluar su actividad antifúngica. El orden de inoculación de los enjuagues del pocillo 1 al 6 fue como sigue: gluconato de CHX 0,1% (Oralgene®), CHX 0,12% más CPC 0,05% (Perio-Aid® Tratamiento), CPC 0,075% (Colgate Plax®), CHX 0,05% más CPC 0,05% (Perio-Aid® Mantenimiento), aceites esenciales específicos (Listerine®) y gluconato de CHX 0,12% (Oralgene®). El pocillo 7 fue inoculado con suero fisiológico estéril (control negativo). Como control positivo se utilizó un disco de anfotericina B (BioRad® 100 µg). Además, se sembraron placas con los mismos aislamientos para valorar si el fluoruro de sodio al 0,05% podía influir en la inhibición del crecimiento.

Evaluación de la actividad antifúngica

Después de una incubación a 32 °C durante 48 h para *C. albicans* y de 72 h para *R. mucilaginosa* se midieron los diámetros de los halos de inhibición formados alrededor de los pocillos con un pie de rey (calibre); las medidas, tomadas por dos observadores, fueron registradas en milímetros. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

Tabla 1

Composición y marca comercial de cada uno de los enjuagues bucales estudiados

Nombre comercial	Composición	Laboratorio fabricante
Oralgene® 0,10% EBuc 1	Gluconato de clorhexidina 0,10%, vehículo aromatizado c.s.p.	Maver
PerioAid® Tratamiento EBuc 2	Digluconato de clorhexidina 0,12%, cloruro de cetilpiridinio 0,05%, excipientes c.s.p.	Dentaid
Colgate® Plax EBuc 3	Fluoruro de sodio 0,05%, cloruro de cetilpiridinio 0,075%, agua, glicerina, sorbitol, propilenglicol, polaxamer 407, sorbato de potasio, fluoruro de sodio, mentol, sacarina sódica, CI 17200, CI 42051	Colgate
PerioAid® Mantenimiento EBuc 4	Digluconato de clorhexidina 0,05%, cloruro de cetilpiridinio 0,05%, excipientes c.s.p.	Dentaid
Listerine® Zero EBuc 5	Agua, timol, eucaliptol, salicilato de metilo, mentol, propilenglicol, laurilsulfato de sodio, sorbitol, poloxámero 407, sacarina sódica, sucralosa, benzoato de sodio, ácido benzoico, sabor CI 42053	Johnson & Johnson
Oralgene® EBuc 6	Gluconato de clorhexidina 0,12%, vehículo aromatizado sin colorantes y sin alcohol c.s.p.	Maver

c.s.p.: cantidad suficiente para; EBuc: enjuague bucal.

Tabla 2Diámetro y desviación estándar de los halos de inhibición del crecimiento de *C. albicans* con cada enjuague bucal

EBuc	Halos (mm)	Valor promedio (mm)	Desviación estándar
1	14-25	19,55	2,74
2	21-29	25,65	2,39
3	14-24	20,5	2,66
4	18-29	24,6	2,62
5	No inhibición	No inhibición	No inhibición
6	19-29	25,05	2,66

EBuc: enjuague bucal.

Tabla 3Diámetros y desviación estándar de los halos de inhibición del crecimiento de *R. mucilaginosa* con cada uno de los enjuagues bucales

EBuc	Halos (mm)	Valor promedio (mm)	Desviación estándar
1	28-35	32	2,15
2	33-46	40,05	3,31
3	17-30	23,3	3,79
4	35-41	38,15	1,89
5	No inhibición	No inhibición	No inhibición
6	34-44	39,25	2,73

EBuc: enjuague bucal.

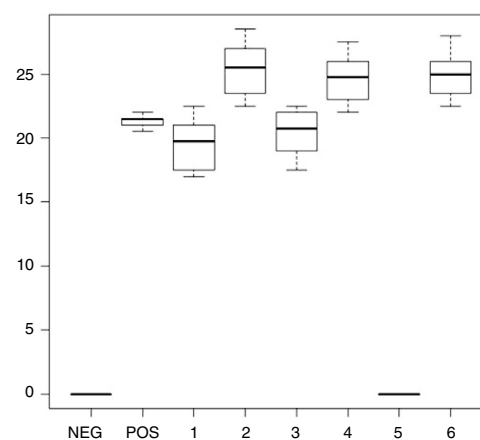
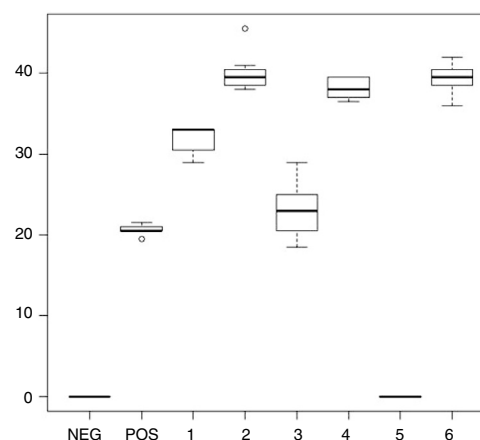
Análisis estadístico

Los datos obtenidos sobre el tamaño del halo de inhibición fueron analizados mediante las pruebas Shapiro-Wilk para contrastar la normalidad y la no paramétrica U de Mann-Whitney (pareada). Se utilizó el *software* R y se estableció una significación estadística de $\alpha = 0,05$ ³⁶.

Resultados

Frente a *C. albicans*, los enjuagues bucales 1, 2, 3, 4 y 6 dieron lugar a áreas de inhibición que fluctuaron desde los 0 mm en el enjuague 5 y los 29 mm en los enjuagues 2, 4 y 6. El 5 no presentó acción inhibitoria alguna. Los promedios y desviaciones estándar de las áreas de inhibición de cada enjuague se presentan en la [tabla 2](#). Los diámetros de inhibición producidos por ellos y el control positivo sobre *C. albicans* se muestran en la [figura 1](#).

En *R. mucilaginosa* los halos de inhibición alrededor de los pocillos con los enjuagues 1, 2, 3, 4 y 6 fluctuaron entre 0 mm en el 5 y 46 mm de diámetro en el enjuague 2. Al igual que con *C. albicans*, con el enjuague 5 no hubo zona de inhibición. Los promedios y desviaciones estándar de las zonas de inhibición por cada uno se presentan en la [tabla 3](#). Los diámetros de inhibición producidos

**Figura 1.** Box plot de los halos de inhibición (diámetro en mm) para *Candida albicans*.**Figura 2.** Box plot de los halos de inhibición (diámetro en mm) para *Rhodotorula mucilaginosa*.

por los enjuagues y el control positivo sobre *R. mucilaginosa* se muestran en la [figura 2](#).

Entre los enjuagues 2, 4 y 6 no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los diámetros de inhibición, ni para *C. albicans* ni para *R. mucilaginosa*. En el caso de *Rhodotorula*, se observaron diferencias significativas entre los enjuagues 1, 3 y 5. El test de Shapiro-Wilk arrojó un resultado estadísticamente significativo para la distribución no normal de los halos de inhibición. El compuesto fluoruro de sodio al 0,05% no inhibió el crecimiento de

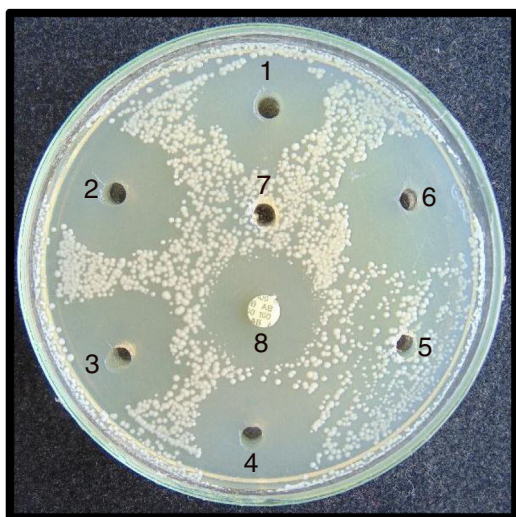


Figura 3. Efecto de los enjuagues bucales estudiados sobre *Candida albicans* en placa con agar Mueller Hinton II.

1: EBuc1; 2: EBuc2; 3: EBuc3; 4: EBuc4; 5: EBuc5; 6: EBuc6; 7: control negativo (suero fisiológico); 8: control positivo (disco de anfotericina B, BioRad®: 100 µg).

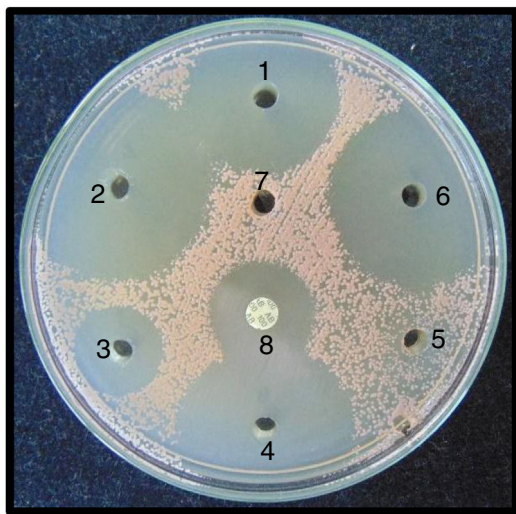


Figura 4. Efecto de los enjuagues bucales estudiados sobre *Rhodotorula mucilaginosa* en placa con agar Mueller Hinton II.

1: EBuc1; 2: EBuc2; 3: EBuc3; 4: EBuc4; 5: EBuc5; 6: EBuc6; 7: control negativo (suero fisiológico); 8: control positivo (disco de anfotericina B, BioRad®: 100 µg).

los aislamientos de *Candida* y *Rhodotorula*, por lo que no ejerce un efecto sinérgico con los compuestos CHX y CPC. Las áreas de inhibición producidas por los enjuagues sobre *C. albicans* y *R. mucilaginosa* se observan en las figuras 3 y 4, respectivamente.

Discusión

Los enjuagues bucales se han usado durante siglos, pero en los últimos años sus componentes han sido sometidos a diversos estudios de investigación científica y clínica^{11,17,40}. Asimismo, los consumidores se enfrentan en el mercado a una gran variedad de productos de este tipo y se requiere la asistencia profesional para su selección, acorde con la necesidad de cada persona³⁷. Los agentes antimicrobianos incorporados a cada enjuague bucal han surgido como coadyuvantes a los antifúngicos tópicos¹⁴. Entre ellos se encuentran la CHX, el CPC y los aceites esenciales. La CHX es un agente antiséptico con actividad contra diferentes organismos como bacterias, virus y diferentes tipos de hongos, incluido

C. albicans, lo que demuestra su amplio espectro de actividad antimicrobiana^{1,3,10}.

Nuestro estudio muestra que los enjuagues que contienen CHX 0,12%, CHX 0,1% o CHX combinada con CPC inhiben el crecimiento de *C. albicans* y de *R. mucilaginosa*, y que su efecto es estadísticamente mayor al de enjuagues bucales que solo contienen CPC. Estos resultados son similares a los de estudios previos, en los que se describe la actividad antifúngica de la CHX^{12,32,34,35}. Sin embargo, no hay estudios previos en los que se haya descrito la actividad antifúngica frente a *R. mucilaginosa*.

Aunque la mayoría de las publicaciones se han centrado en la eficacia de CHX contra *C. albicans*, nuestro estudio es el primero en reportar actividad antifúngica frente a *R. mucilaginosa*. Fu et al.¹² encontraron en un estudio *in vitro* que los enjuagues bucales que contienen CHX y CPC son efectivos contra microorganismos en forma planctónica procedentes de saliva y que tienen actividad frente a *C. albicans*, en la que superan incluso al fluconazol, por lo que podrían ser usados como una alternativa terapéutica en la candidiasis oral. Quirynen et al.³², en un estudio *in vitro* de enjuagues bucales de CHX con concentraciones de 0,12% y 0,1% frente a aislamientos de *C. albicans* aislados de pacientes con periodontitis, concluyen que no existen diferencias significativas entre ambas concentraciones, resultados que coinciden con los obtenidos en el presente estudio, que solo muestra diferencias significativas en los enjuagues bucales con CHX 0,05% y CPC 0,05% (PerioAid® Mantenimiento). Los enjuagues analizados que contienen CPC presentaron actividad antifúngica, hallazgo que coincide con lo descrito por Radford et al.³⁴ en su estudio de la actividad antimicrobiana de un enjuague bucal que contenía CPC 0,05%: concluyeron que podía evitar la colonización por enterococos y levaduras en la cavidad oral. Por otra parte, Giuliana et al.¹⁴, al estudiar la actividad antimicrobiana sobre distintas especies de bacterias y levaduras (entre ellas, *C. albicans*) de otro enjuague bucal que contenía CPC 0,05%, determinaron que el enjuague presentaba una actividad antifúngica superior incluso a los enjuagues bucales con CHX 0,2%.

Por otro lado, Talebi et al.³⁸ determinaron *in vitro* el efecto de enjuagues bucales químicos y naturales frente a *C. albicans* y encontraron diferencias significativas por una mejor actividad de CPC en comparación con CHX y otros compuestos de origen natural. Estos resultados difieren de los encontrados en nuestro estudio, en el que los enjuagues con CHX presentaron un efecto significativamente mayor al de CPC (Colgate® Plax, PerioAid® Tratamiento, PerioAid® Mantenimiento) tanto para *C. albicans* como para *R. mucilaginosa*; sin embargo, están en concordancia con los obtenidos por Almas et al.², que determinaron que CPC presenta actividad antifúngica, aunque estadísticamente menor a la CHX, y el estudio de Teh et al.⁴⁰, quienes determinaron el efecto sinérgico de CPC y aceites esenciales contenidos en un enjuague bucal con actividad frente a *C. albicans*.

Fu et al.¹² investigaron *in vitro* el efecto inhibitorio sobre *C. albicans* y *C. krusei* de enjuagues bucales comerciales y concluyeron que aquellos que contienen CPC son efectivos, aunque su actividad antifúngica fue menor a la CHX, pero superior a la de los aceites esenciales. Esto coincide con lo publicado en la literatura por otros autores^{1,7} y con los hallazgos del presente estudio. El enjuague bucal Colgate® Plax, que contiene CPC 0,075%, fue incluido en nuestro estudio, pero su actividad antifúngica no ha sido estudiada en trabajos similares.

El enjuague bucal Listerine® Zero contiene en su composición varios aceites esenciales extremadamente volátiles, como el mentol, el eucaliptol y el timol, que podrían tener actividad antifúngica, y su mecanismo de acción contra células bacterianas implica la desnaturalización de las proteínas, con el consiguiente daño sobre la membrana celular y la fuga de los componentes intracelulares⁴¹. En este estudio no se observó actividad inhibitoria de Listerine® Zero frente a *C. albicans* ni *R. mucilaginosa*. Este hallazgo contrasta con lo publicado por Ramage et al.³⁵, que describen en Listerine® un efecto

antifúngico similar al de la hexetidina 0,1% sobre aislamientos de *C. albicans* tomados de pacientes con candidiasis oral. Un estudio similar fue realizado por Meiller et al.²⁵, quienes observaron una mejor eficacia de CHX y Listerine®, en comparación con otros enjuagues bucales, frente a levaduras, entre ellas, *C. albicans*. Por su parte, Fu et al.¹², en un estudio *in vitro* sobre la eficacia de enjuagues bucales sobre biopelículas, observaron actividad antifúngica de Listerine®, aunque estadísticamente inferior a la de otros enjuagues que contienen CHX o CPC. Paulone et al.²⁸, en un estudio sobre la actividad antifúngica de siete enjuagues bucales, concluyeron que Listerine® Zero no presentaba actividad antifúngica contra *C. albicans* debido, al parecer, a la alta volatilidad de sus componentes, como el mentol y el eucaliptol. Sin embargo, no existe evidencia que sustente esta hipótesis, por lo que resultaría interesante efectuar estudios al respecto. Los resultados de Paulone et al.²⁸ coinciden con los obtenidos en el presente estudio.

En conclusión, los resultados indican que los enjuagues bucales que contienen CHX y CPC tienen efecto inhibitorio sobre *C. albicans* y *R. mucilaginosa*. Los enjuagues bucales que contienen CHX (PerioAid® tratamiento, PerioAid® Mantenimiento, Oralgene® 0,12% y Oralgene® 0,1%) son estadísticamente más eficaces que los que contienen solo CPC (Colgate® Plax). Por otro lado, Listerine® (con aceites esenciales) no mostró efecto antifúngico alguno contra estas levaduras. Además, dado que nuestros datos se generaron *in vitro*, se necesitarían ensayos clínicos *in vivo* para validar estos resultados.

Conflicto de intereses

Los autores manifiestan que no existen de manera directa ni indirecta conflictos de interés.

Bibliografía

1. Aldaher Z. Antimicrobial activity of different types of mouthwashes against *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: In vitro study. J Baghdad Coll Dent. 2013;25:185–91.
2. Almas K, Skaug N, Ahmad I. An *in vitro* antimicrobial comparison of miswak extract with commercially available non-alcohol mouthrinses. Int J Dent Hyg. 2005;3:18–24.
3. Ashley K. The antimicrobial properties of two commonly used antiseptic mouthwashes: Corsodyl and Oralene. J Appl Bacteriol. 1984;56:221–5.
4. Cantón Lacasa E, Martín Mazuelos E, Espinel-Ingroff A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A2, M38-A y M44-A). En: Pemán J, Martín Mazuelos E, Rubio Calvo MC, editores. Guía práctica de identificación y diagnóstico en Micología clínica. 2.ª ed. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología-Asociación Española de Micología; 2007. 15a-1-15a-17.
5. De Almeida GM, Costa SF, Melhem M, Motta AL, Szesz MW, Miyashita F, et al. *Rhodotorula* spp. isolated from blood cultures: Clinical and microbiological aspects. Med Mycol. 2008;46:547–56.
6. Deepa A, Nair BJ, Sivakumar T, Joseph AP. Uncommon opportunistic fungal infections of oral cavity: A review. J Oral Maxillofac Pathol. 2014;18:235–43.
7. Dehghani Nazhvani A, Haddadi P, Badiie P, Malekhoseini S, Jafarian H. Antifungal effects of common mouthwashes on *Candida* strains colonized in the oral cavities of liver transplant recipients in South Iran in 2014. Hepat Mon. 2016;16:e31245.
8. Develoux M, Bretagne S. Candidoses et levures diverses. EMC - Maladies Infectieuses. 2005;2:119–39.
9. Farah CS, Lynch N, McCullough MJ. Oral fungal infections: An update for the general practitioner. Aust Dent J. 2010;55:48–54.
10. Fernandez Y, Mostajo M, Exterkate RA, Buijs MJ, Crielaard W, Zaura E. Effect of mouthwashes on the composition and metabolic activity of oral biofilms grown *in vitro*. Clin Oral Investig. 2017;21:1221–30.
11. Ferreira GL, Pérez AL, Rocha ÍM, Pinheiro MA, de Castro RD, Carlo HL, et al. Does scientific evidence for the use of natural products in the treatment of oral candidiasis exist? A systematic review. Evid Based Complement Alternat Med. 2015;2015:147804.
12. Fu J, Wei P, Zhao C, He C, Yan Z, Hua H. In vitro antifungal effect and inhibitory activity on biofilm formation of seven commercial mouthwashes. Oral Dis. 2014;20:815–20.
13. Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK, Cui F, Sikaroodi M, Naqvi A, et al. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. PLoS Pathog. 2010;6:e1000713.
14. Giuliana G, Pizzo G, Milici ME, Musotto GC, Giangreco R. *In vitro* antifungal properties of mouthrinses containing antimicrobial agents. J Periodontol. 1997;68:729–33.
15. Hasan F, Xess I, Wang X, Jain N, Fries BC. Biofilm formation in clinical *Candida* isolates and its association with virulence. Microbes and Infect. 2009;11(8-9):753–61.
16. Hebbat PB, Pai ADS. Mycological and histological associations of *Candida* in oral mucosal lesions. J Oral Sci. 2013;55:157–60.
17. Herczegh A, Gyurkovics M, Agababian H, Ghidán A, Lohinai Z. Comparing the efficacy of hyper-pure chlorine-dioxide with other oral antiseptics on oral pathogen microorganisms and biofilm *in vitro*. Acta Microbiol Immunol Hung. 2013;60:359–73.
18. Jiang H, Xiong X, Buekens P, Su Y, Qian X. Use of mouth rinse during pregnancy to improve birth and neonatal outcomes: A randomized controlled trial. BMC Pregnancy Childbirth. 2015;15:311.
19. Jolivot PA, Dunyach-Remy C, Roussey A, Jalabert A, Mallié M, Hansel-Esteller S. Étude d'activité *in vitro* et de stabilité de suspensions antifongiques pour bain de bouche: vers une remise en question de pratiques empiriques? Pathol Biol. 2012;60:362–8.
20. Kaur R, Wadhwa A, Agarwal SK. *Rhodotorula mucilaginosa*: An unusual cause of oral ulcers in AIDS patients. AIDS. 2007;21:1068–9.
21. Khosravi AR, Yarahmadi S, Baiat M, Shokri H, Pourkabir M. Factors affecting the prevalence of yeasts in the oral cavity of patients with diabetes mellitus. J Mycol Méd. 2008;18:83–8.
22. Lana MA, Ribeiro-Sobrinho AP, Stehling R, Garcia GD, Silva BK, Hamdan JS, et al. Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility *in vitro*. Oral Microbiol Immunol. 2001;16:100–5.
23. Lourida D, Greenberg S, Molander D. Fungemia caused by certain nonpathogenic strains of the Family *Cryptococcaceae*. Report of two cases due to *Rhodotorula* and *Torulopsis glabrata*. N Engl J Med. 1960;263:1281–4.
24. Maden M, Görgül G, Sultan M, Akça G, Er O. Determination of the effect of Nd: YAG laser irradiation through dentinal tubules on several oral pathogens. Lasers Med Sci. 2013;28:281–6.
25. Meiller TF, Kelley JL, Jabra-Rizk MA, De Paola LG, Baqui AA, Falkler WA Jr. *In vitro* studies of the efficacy of antimicrobials against fungi. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2001;91:663–70.
26. Moges B, Bitew A, Shewaamare A. Spectrum and the *in vitro* antifungal susceptibility pattern of yeast isolates in Ethiopian HIV patients with oropharyngeal candidiasis. Int J Microbiol. 2016;2016:3037817.
27. Monteiro-da-Silva F, Araujo R, Sampaio-Maia B. Interindividual variability and intraindividual stability of oral fungal microbiota over time. Med Mycol. 2014;52:498–505.
28. Paulone S, Malavasi G, Ardizzoni A, Orsi CF, Peppoloni S, Neglia RG, et al. *Candida albicans* survival, growth and biofilm formation are differently affected by mouthwashes: a *in vitro* study. New Microbiol. 2017;40:45–52.
29. Peters BA, Wu J, Hayes RB, Ahn J. The oral fungal mycobiome: Characteristics and relation to periodontitis in a pilot study. BMC Microbiol. 2017;17:157.
30. Pinelli LA, Montandon AA, Corbi SC, Moraes TA, Fais LM. *Ricinus communis* treatment of denture stomatitis in institutionalised elderly. J Oral Rehabil. 2013;40:375–80.
31. Pizzo G, Giuliana G, Milici ME, D'Angelo M. Effect of antimicrobial mouthrinses on the *in vitro* adhesion of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells. Clin Oral Investig. 2001;5:172–6.
32. Quirynen M, Avontroodt P, Peeters W, Pauwels M, Coucke W, van Steenberghe D. Effect of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on *de novo* plaque formation. J Clin Periodontol. 2001;28:1127–36.
33. Raber-Durlacher JE, Barasch A, Peterson DE, Lalla RV, Schubert MM, Fibbe WE. Oral Complications and management considerations in patients treated with high-dose chemotherapy. Support Cancer Ther. 2004;1:219–29.
34. Radford JR, Beighton D, Nugent Z, Jackson RJ. Effect of use of 0.05% cetylpyridinium chloride mouthwash on normal oral flora. J Dent. 1997;25:35–40.
35. Ramage G, Jose A, Coco B, Rajendran R, Rautemaa R, Murray C, et al. Commercial mouthwashes are more effective than azole antifungals against *Candida albicans* biofilms *in vitro*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;111:456–60.
36. RC Team. R: A language and environment for statistical computing. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2018. Disponible en: <https://www.R-project.org/>.
37. Ronanki S, Kulkarni S, Hemalatha R, Kumar M, Reddy P. Efficacy of commercially available chlorhexidine mouthrinses against specific oral microflora. Indian J Dent Res. 2016;27:48–53.
38. Talebi S, Sabokbar A, Riazipour M, Saffari M. Comparison of the *in vitro* effect of chemical and herbal mouthwashes on *Candida albicans*. Jundishapur J Microbiol. 2014;7:e12563.
39. Tartaglia GM, Kumar S, Fornari CD, Corti E, Connelly ST. Mouthwashes in the 21st century: A narrative review about active molecules and effectiveness on the periodontal outcomes. Expert Opin Drug Deliv. 2017;14:973–82.
40. Teh J, Rawi R, Noor S, Taib H, Mohamad S. *In vitro* antimicrobial effectiveness of herbal-based mouthrinses against oral microorganisms. Asian Pac J Trop Biomed. 2015;5:370–4.

41. Vlachojannis C, Chrubasik-Hausmann S, Hellwig E, Al-Ahmad A. A preliminary investigation on the antimicrobial activity of Listerine®, its components, and of mixtures thereof. *Phytother Res.* 2015;29: 1590–4.
42. Vokurka S, Skardova J, Hruskova R, Kabatova-Maxova K, Svoboda T, Bystricka E, et al. The effect of polyvinylpyrrolidone-sodium hyaluronate gel (Gelclair) on oral microbial colonization and pain control compared with other rinsing solutions in patients with oral mucositis after allogeneic stem cells transplantation. *Med Sci Monit.* 2011;17:CR572–6.
43. Wirth F, Goldani LZ. Epidemiology of *Rhodotorula*: An emerging pathogen. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2012;2012:465717.
44. Zaas AK, Boyce M, Schell W, Lodge B, Miller JL, Perfect JR. Risk of fungemia due to *Rhodotorula* and antifungal susceptibility testing of *Rhodotorula* isolates. *J Clin Microbiol.* 2003;41:5233–5.