

No MARC
62373

A 5/4 c
2011



**Universidad
de Valparaíso
Chile**

Escuela de Odontología

**COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE CUATRO
AGENTES QUÍMICOS SOBRE CANDIDA ALBICANS EN ACRÍLICO
DE TERMOCURADO**

Trabajo de Investigación
Requisito para Optar al
Título de Cirujano - Dentista

Alumnos: Rodrigo Améstica Hernández
Felipe Massardo Delgado

Docente Guía: Prof. Dra. María Soledad Lopetegui
Cátedra de Periodoncia

Valparaíso - Chile
2011

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos de forma especial a todas las personas que se involucraron en nuestro proceso de tesis:

- Doctora María Soledad Lopetegui, quien nos brindo su alegría y apoyo incondicional, guiándonos en este difícil proceso.
- Al doctor Jorge Godoy, que dio su tiempo y comprensión en nuestros momentos difíciles.
- Al jefe del laboratorio de micología de la Universidad de Valparaíso, doctor Rodrigo Cruz, quien compartió sus conocimientos y medios, fundamentales para la realización de este trabajo.
- A Claudina Pizarro Nuñez, laboratorista dental, quien nos acogió en su casa y facilito todo lo necesario para nuestro trabajo.
- A Marisol de la Fuente, tecnólogo medico, quien nos regalo días en su laboratorio clínico, sin importar el momento que fuese.
- A los funcionarios de nuestra universidad, ya que gracias a su trabajo y apoyo silencioso han posibilitado nuestros sueños.

A todos ellos, les estamos sinceramente agradecidos, pues han aportado lo suyo en esta, nuestra última etapa universitaria que pretendemos sirva a quienes nos preceden.

Gracias...

DEDICATORIA

En forma especial dedicamos este trabajo a las personas quienes han estado involucradas en nuestro proceso formativo, aquellas que nos han entregado conocimientos, apoyo y cariño.

A nuestras familias y amigos, incondicionales, quienes mediante su presencia hicieron este proceso único, agradable e inolvidable...

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	3
Capítulo I: ESTADO DE SALUD EN LA POBLACIÓN ADULTA	3
Capítulo II	5
1. LESIONES DE LA MUCOSA ORAL	5
2. ESTOMATITIS PROTÉSICA	6
2.1 Definición y Características	6
2.2 Etiología	7
2.3 Tratamiento	8
Capítulo III:	9
1. CANDIDA ALBICANS	
1.1 Definición y Características	9
1.2 Diagnóstico	11
1.3 Tratamiento	13
Capítulo VI:	14
1. RESINA ACRÍLICA	14
1.1 Generalidades	14
1.2 Prótesis removibles y factores de proliferación microbológica	16
Capítulo V:	18
1. CONTROL DEL BIOFILM	18
2. AGENTES DE DESINFECCIÓN	19
2.1 Hipoclorito de Sodio	19
2.2 Glutaraldehído	19
2.3 Clorhexidina	19
2.4 Vinagre	20
2.5 Peróxidos Alcalinos	20
OBJETIVOS	22
Objetivo General	22
Objetivos Específicos	22
HIPÓTESIS	23

MATERIALES Y MÉTODO	24
Diseño del Estudio	24
Universo y Muestra	24
Variables	25
Procedimientos	28
Análisis de resultados	35
RESULTADOS	36
Distribución de la presencia de <i>Candida albicans</i>	36
Distribución del crecimiento de <i>Candida albicans</i>	37
Análisis estadísticos	38
Relación de presencia de <i>Candida albicans</i> entre los tratamientos	39
Relación de crecimiento de <i>Candida albicans</i> entre los tratamientos	43
Relación de la presencia de <i>Candida albicans</i> y el tiempo	50
Relación del crecimiento de <i>Candida albicans</i> y el tiempo	52
DISCUSIÓN	55
CONCLUSIONES	60
SUGERENCIAS	61
RESUMEN	62
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
ANEXOS Y APÉNDICES	
1. ANEXO 1: Consentimiento Informado	
2. ANEXO 2: Ficha de Tesis	
3. ANEXO 3: Aleatorización de los tratamientos	
4. ANEXO 4: Procedimientos	

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas la población chilena ha experimentado un cambio demográfico importante. Este se debe a que la población adulta ha ido en un progresivo aumento en relación a la población joven. Con los avances de la tecnología podemos observar una mejoría de las condiciones de vida y de la salud de la población. Los elementos que contribuyen a este fenómeno social de nuestros tiempos obedecen, en términos generales, a los avances médicos y científicos que aumentan la sobrevivencia de las personas.

Esta tendencia, nos indica que en el corto y mediano plazo estaremos frente a una población compuesta de manera importante por adultos mayores, por lo que nos vemos con la responsabilidad de conocer las necesidades de dicho grupo etario para poder proporcionar una atención integral y de calidad.

Así es, como este gran crecimiento demográfico de adultos mayores, pone a prueba la salud pública, pues se hace imprescindible contar con especialistas y programas específicos para la atención de estos.

Por su parte, en el campo de la odontología, se hace indispensable que los profesionales conozcan sobre las patologías más prevalentes de la población adulta, así como las manifestaciones bucales de enfermedades sistémicas de alta prevalencia en este grupo. También es necesario conocer las alternativas de rehabilitación integral, donde la prevención de nuevas patologías es tan o más importante que la rehabilitación misma, la cual en muchos casos, y determinada fundamentalmente por asuntos económicos, pasa por un tratamiento de prótesis removible.

En cuanto a la prevención de patologías, la higiene toma un rol preponderante, por lo que se debe procurar crear alternativas de higiene bucodental que estén al alcance de la población, que sean efectivas y económicas. Ya conocemos bastante sobre la higiene dental en condiciones normales, sin embargo cuando nos referimos a tratamientos rehabilitadores en base a prótesis removible acrílicas, debemos pensar en agentes coadyuvantes de la limpieza mecánica, los que comercialmente son bastante costosos, por lo que normalmente se omite su prescripción. Si se omiten estas consideraciones, estas prótesis, debido principalmente por las condiciones superficiales que presentan, pasan a ser un excelente lecho microbiano, lo que trae como consecuencias alteraciones en la mucosa subyacente.

Estos factores locales, sumados a factores predisponentes como la edad, que tiene algunas consecuencias en la disminución de factores protectores, como lo son la saliva y sus componentes antimicrobianos; la hiposalivación *per se*; la presencia de prótesis que funciona como reservorio microbiológico de hongos y bacterias, sumados a una higiene oral y protésica deficiente, ya sea por mero descuido o desconocimiento de cuáles son los productos adecuados para esta; y la inmunosupresión entre otras, hacen posible las infecciones oportunistas, como las candidiasis, las cuales, aunque normalmente bien circunscritas, pueden llegar a ser mortales. De allí la importancia de

tratar cuadros iniciales, y no omitirlos simplemente porque no exista sintomatología, como se presenta generalmente la estomatitis protésica.

Es por esto que se hace necesario encontrar un producto alternativo que sea eficiente en la desinfección y de fácil acceso para los portadores de prótesis, que en la mayoría son adultos mayores que carecen de motricidad fina, por lo que su aplicación debe ser fácil y no engorrosa.

En este estudio evaluaremos el eficacia fungicida de cuatro agentes químicos, tres comercialmente conocidos en la higiene protésica, como la clorhexidina al 0,12% (colutorio Oralgene®), dos presentaciones de peróxidos alcalinos (Corega® Tabs, y Tabletillas limpiadoras Oralgene®); más la evaluación del ácido acético al 4% (Vinagre las Higueras), producto que últimamente ha reaparecido en las investigaciones como potencial desinfectante de bajo costo.

MARCO TEÓRICO

CAPÍTULO I: ESTADO DE SALUD EN LA POBLACIÓN ADULTA

En las últimas décadas, la población chilena ha experimentado un significativo envejecimiento, lo que se atribuye al progresivo aumento de la población adulta, sumado a una baja fecundidad, resultando en una disminución del grupo etario menor de 25 años (INE, 1995).

Todo esto ha llevado a un aumento en tratamientos médicos y odontológicos realizados en pacientes mayores de 60 años.

Estudios de Misrachi y Lamadrid (1997), han establecido que el 77% de los adultos mayores chilenos se atienden en servicios públicos de salud. Cerca de un 25% de los individuos mayores de 60 años son desdentados totales y de este, el 18.6% no contaba con rehabilitación protésica.

El proceso de rehabilitación protésica al cual debe ser sometido la mayoría de estos adultos mayores, se basa en la confección de prótesis removibles, ya sea totales o parciales, para así reemplazar un tratamiento previo en malas condiciones o para sustituir la pérdida dentaria producida por enfermedad periodontal o caries (Barrientos et al. 2002).

La publicación del INE (2003), indica que los desdentados totales empiezan a ser frecuentes en el grupo de mayores de 65 años, alcanzando una prevalencia del 34% al considerar ambos maxilares. También se establece que el 25% de la población utilizaba prótesis dental, siendo más frecuente la prótesis superior (15%) que la inferior (<1%). Las mujeres utilizan significativamente más prótesis que los hombres, y se aprecia que la mayoría de personas por sobre los 65 años, utiliza prótesis dental.

Según la distribución regional del uso de prótesis, la V región ocupa el segundo lugar con un 9.6%, a sólo 1.8% de la XI región, y seguida de cerca por la región metropolitana con un 9.5%.

Un estudio de Espinoza et al. (2003), realizado sobre 889 individuos obtuvo que el 25% de ellos era desdentado bimaxilar. Del total, el 65% utilizaba prótesis removible en algún maxilar, y de estos el 63% correspondía a prótesis superior, y solo el 37% portaba prótesis inferior.

Según estadísticas del Ministerio de Salud, el año 2002 se realizaron en los servicios públicos de salud del país, 18.245 prótesis removibles.

Esta rehabilitación protésica, no incluye un control post-tratamiento una vez que el paciente ha recibido el alta, por lo que no se evalúa el éxito o fracaso de ésta a largo plazo, así como la aparición de lesiones asociadas a ella (Barrientos et al. 2002).

En un estudio se afirma que gracias al crecimiento económico del país y la instauración de programas especiales del gobierno se han logrado incrementar las prestaciones en salud. Por ejemplo, la confección de prótesis dentales a través del Servicio Nacional de Salud ha aumentado en cerca de un 33% en los últimos diez años. (Jofre et al. 2004, citado por Misrachi & Espinoza, 2006)

CAPÍTULO II

1. LESIONES DE LA MUCOSA ORAL

La gran diversidad de lesiones de mucosa oral que se puede encontrar en una población está íntimamente ligada a factores de riesgo.

Es conocido que la edad, el género, el hábito de fumar, el estado médico, la medicación, el uso de aparato protésico, la xerostomía, y los factores culturales y sociales, están estrechamente relacionados a la prevalencia de lesiones orales presentes en la población (Espinoza et al. 2003).

Un estudio realizado en EEUU por Shulman et al. (2004), en donde se evaluó la prevalencia de lesiones de mucosa oral en 17235 adultos norteamericanos de 17 años o mayores, se observó que el 27.9% presentó alguna lesión en su mucosa oral, utilizando la clasificación de la World Health Organization. De estas lesiones, el 8.4% correspondió a lesiones asociadas a prótesis dentales, de las cuales un 5.97% correspondieron a estomatitis protésica asociadas a *Candida*. Sin tomar en cuenta las lesiones asociadas a prótesis dental, la segunda mayoría la obtuvo los tatuajes por amalgama, con un 3.3%, seguido de cerca por mordeduras de labio y mejilla (3.05%), y lesiones friccionales blancas (2.67%).

En otro estudio realizado en Bangkok, por Jankittivong et al. (2009), en donde se trabajó con una muestra de 380 pacientes que utilizaban prótesis dentales, de los cuales un 86% tenía 60 o más años de edad, se realizó un examen intraoral y clasificación de las lesiones orales observadas de acuerdo a Kramer, y un atlas a color de las enfermedades orales más frecuentes. Se encontró que el 45% presentaba lesiones asociadas a las prótesis dentales, y el 65% presentaba lesiones orales no asociadas a los aparatos protésicos. De las lesiones asociadas a prótesis dentales, la úlcera traumática fue la más frecuente (19.5%), seguida de la estomatitis protésica (18.1%), hiperplasia protésica (5%), queilitis angular (4.7%), queratosis friccional (3.7%), pseudofibroma irritativo (1.8%), y candidiasis oral (1.6%).

En sudamérica, Freitas et al. (2008), realizaron una investigación sobre 344 individuos mayores de 60 años pertenecientes a población rural de Brasil, clasificando las lesiones encontradas de acuerdo a Neville et al., (2009). De estos, 146 utilizaban aparatos protésicos totales, de los cuales un 53.5% utilizaba prótesis total inferior y superior, y el 46.5% restante, solo prótesis superior. Los demás 198 individuos no utilizaban aparato protésico, siendo el 50.5% desdentado total, y el 38.5% presentaba algún remanente dentario afectado por enfermedad periodontal crónica. De los individuos que utilizaban prótesis totales, la lesión más prevalente fue la estomatitis protésica (58.2%), seguida por los gránulos de Fordyce (32.2%), la hiperplasia fibrosa inflamatoria (29.4%), varicosidades (12.3%), queilitis angular (10.2%), queilitis actínica (10.2%), úlcera traumática (2%), y leucoedema (0.7%).

En Chile, el único estudio de prevalencia que publicado en los últimos 40 años, es el de Espinoza et al. (2003), quien trabajo con una muestra aleatoria de 889 individuos sobre los 65 años de edad. Ella clasificó las lesiones de mucosa basándose en las definiciones de la World Health Organization, y en caso de lesiones definidas pero no anexadas en la clasificación de la WHO, se usó la clasificación de Axell.

Encontró que la lesión más frecuente fue la estomatitis protésica (22.3%), seguida por la hiperplasia irritativa (9.4%). Ahora bien, si sólo se toma en cuenta aquellos individuos del estudio que usaban prótesis, correspondientes a 574, la prevalencia de la estomatitis protésica aumenta (34%).

En Valparaíso, podemos encontrar la tesis realizada por Fuentes et al. (2008), los que trabajaron sobre una muestra intencionada de 100 individuos pertenecientes al servicio de prótesis removible de la Escuela de Odontología de la Universidad de Valparaíso. A ellos se les realizo un examen en busca de lesiones intraorales, clasificándolas según el criterio de la WHO. Se obtuvo que la estomatitis protésica fue la lesión más prevalente (28%), seguido por la ulcera traumática (16%), y el hemangioma plano (15%).

2. ESTOMATITIS PRÓTESICA

2.1 Definición Y Características

Es un proceso inflamatorio en donde se encuentra involucrado la mayoría de la mucosa ubicada bajo el aparato protésico removible, ya sea completo o parcial (Arendorf et al. 1987, citado por Webb et al., 2005).

Algunos autores lo clasifican como una forma de candidiasis eritematosa, otros usan el término de candidiasis atrófica crónica a modo de sinónimo. Clínicamente se caracteriza por un variado grado de eritema, a veces acompañado de petequias sangrantes, localizándose bajo la superficie de soporte protésica removible (Neville et al., 2009).

La estomatitis protésica es un proceso asintomático (Neville et al., 2009), aunque se describen en la literatura casos con sensación de ardor u otra sensación dolorosa, halitosis, sabor desagradable y resequedad bucal (MacFarlane et al., 1989, citado por Webb et al., 2005).

2.2 Etiología

La estomatitis protésica se observa más frecuentemente en mujeres (Figueiral et al. 2007), lo que Nyquist le atribuye al cambio hormonal presente en el género (Nyquist, 1952). Por otra parte, Bastiaan y Reade (1982), atribuyen esta diferencia genérica a la deficiencia de hierro que presentan las mujeres sanas de avanzada edad, predisponiéndolas a infección por *Candida albicans* (Figueiral et al., 2007).

Mediante estudios, se ha confirmado que esta lesión se presenta en mayor porcentaje en prótesis acrílicas totales superiores, lo que se explica por el área de mucosa que es cubierta por la prótesis, potenciando factores etiológicos de esta alteración. (Jainkittivong et al., 2009)

Un reciente estudio, determinó que la presencia de dimensión vertical disminuida y oclusión inestable, son factores asociados a la lesión, debido a un aumento del trauma sobre el tejido mucoso remanente (Figueiral et al., 2007).

La etiología es multifactorial, pero la prótesis dental es considerada el factor etiológico indispensable (Barbeau et al., 2003; Dagistan et al., 2008).

Entre otros factores encontramos una edad avanzada asociada a la disminución del sistema inmune y al uso de aparato protésico, presencia de enfermedad sistémica, uso continuo de prótesis removible, tiempo de uso de la prótesis, falta de limpieza de la prótesis produciendo la acumulación de biofilm irritante sobre la misma (Figueral et al., 2007; Bilhan et al., 2009), xerostomía, microporosidades y asperezas de la superficie tisular acrílica de la prótesis, trauma, alteraciones de pH bajo la prótesis, diabetes, uso de esteroides y antibióticos (Barbeau et al., 2003; Dagistan et al., 2008)

Entre los otros factores asociados a la prótesis en sí, encontramos la mucositis por contacto, producida por los monómeros de resina, peróxido de hidroquinona, dimetil-p-toluidina, y el metacrilato de la misma. Además la mucositis por contacto se ha visto aumentada en aquellas prótesis confeccionadas de acrílico de autocurado, en comparación a las de termocurado. También encontramos en la literatura casos de quemaduras producidas por el rebasado de material acrílico (Biocina-Lukenda et al., 2004).

Pese a esta etiología multifactorial, hoy en día el principal factor etiológico parece ser la infección por hongos bajo la prótesis, específicamente la especie *Candida albicans* (Radford et al., 1999; Dagistan et al., 2008; Neville et al., 2009). Por otra parte, Kulak et al. (1997), mediante su investigación determinó que el agente más importante en el desarrollo de la estomatitis protésica, son la *Candida albicans*, sumada a otros microorganismos.

Un estudio de Dar-Odeh et al. (2003), en Jordania, en donde se analizó y evaluó lesiones de la mucosa oral de 167 individuos, las que luego fueron examinadas

mediante microscopia, obtuvo que el 28% padecía de estomatitis protésica asociada a la especie *Candida*, de los cuales el 72% confirmó como factor etiológico la *Candida albicans*.

Por su parte, Arendof y Walker, resumieron los factores etiológicos de estomatitis protésica en: trauma protésico, estado de higiene bucal y protésico, factores dietéticos, infecciones por *Candida*, y condiciones sistémicas predisponentes (Webb et al., 2005).

2.3 Tratamiento

El tratamiento para la estomatitis protésica se fundamenta en el control de los múltiples factores etiogénicos de la lesión. Ahora bien, en aquella asociada a *Candida albicans*, se recomienda el uso de una delgada capa de Nistatina o Clotrimazol en crema sobre la superficie tisular de la prótesis. Para asegurar óptimos resultados, la superficie tisular de la prótesis debe ser simultáneamente tratada, mediante la aplicación de tabletas antifúngicas de Nistatina, 4 o 5 veces al día por dos semanas. Además, la prótesis debiese dejarse en una dilución de agua más nistatina, o solamente clorhexidina al 0.2% (Sherman et al., 2002).

Otros estudios recomiendan una correcta higiene oral y de la prótesis, mediante un cepillo blando sobre la mucosa lesionada, y un cepillado de la superficie tisular protésica más clorhexidina al 0.2%, debido a la irregularidad y porosidad de la superficie protésica. Además se recomienda el retiro de la prótesis durante la noche o por lo menos 6 horas (Akpan & Morgan, 2001).

CAPÍTULO III

1. CANDIDA ALBICANS

1.1 Definición y Características

El género *Candida* comprende más de 150 especies de levaduras, dentro de las cuales destacan las patógenas humanas *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. dubliniensis*, y *C. albicans* (Weems, 1992; citado por Lakshman, 2009), siendo esta última la principal especie asociada a micosis oral y la más virulenta del género *Candida* (Samaranayake et al., 1990, citado por Samaranayake et al., 2009; Liébana et al., 2002).

La *Candida* se puede encontrar como comensal en piel, tracto gastrointestinal, tracto genitourinario (Sherman et al., 2002; Brevis et al., 2008), y en la cavidad bucal (*C. albicans*, 75%; *C. tropicalis*, 8%; y *C. krusei*, 3 al 6%) (Arenas et al., 2008), viviendo en perfecto equilibrio con los demás miembros de la microbiota oral.

Su transformación a patógeno dependerá tanto de la alteración de los mecanismos defensivos de la persona colonizada, como del complejo potencial de factores de virulencia del hongo. Dentro de los mecanismos defensivos del humano frente a la *Candida*, encontramos los mecanismos inespecíficos y específicos humorales y celulares (Liébana et al., 2002).

Una vez sobrepasados los mecanismos defensivos del hospedero, el hongo mediante sus determinantes de virulencia podrá producir una micosis (Liébana et al., 2002), que en el caso de la *Candida spp.* se denomina candidiasis ó, de acuerdo a la literatura británica, candidosis. También antiguamente se le conocía como moniliasis (Neville et al., 2009).

Entre los factores predisponentes del hospedero a generar una candidiasis oral, se encuentran: fisiológicos (vejez, infancia, embarazo), trauma local (irritación de la mucosa, pobre higiene oral), antibióticos (particularmente de amplio espectro), corticosteroides (inhalatorios o sistémicos), malnutrición (alto carbohidrato, bajo hierro, y vitamina B12), desordenes endocrinos (estados hipoendocrinos), neoplasias malignas (incluyendo desordenes sanguíneos como leucemia), defectos inmunes (infección de VIH, SIDA, aplasia del timo), y xerostomía (multifactorial) (Samaranayake et al., 1990, citado por Samaranayake et al., 2009).

La frecuencia de infecciones fúngicas, ya sea cutánea o mucosa, se han incrementado en el último tiempo a lo largo del mundo. Una de las razones es la virtual epidemia de infecciones orales de *Candida spp.*, manifestándose en una variedad de presentaciones clínicas, como resultado de la pandemia del virus de la inmunodeficiencia humana (Ampel, 2006).

La inadecuada higiene oral contribuye a la formación de un ambiente conducente a la colonización y adhesión de *Candida* (Sherman et al., 2002).

En 1844, Bennett, en Edinburgo, aisló el hongo conocido hoy como *Candida albicans*, en el esputo de un paciente con tuberculosis (Arenas et al., 2008).

La *Candida albicans* es clasificado como un hongo dimórfico, ya que puede desarrollar crecimiento filamentoso y levaduriforme al mismo tiempo. Normalmente desarrolla levaduras al momento de colonizar las mucosas, mientras que cuando invade los tejidos se observan levaduras y filamentos. Estos últimos facilitan la adhesión a las células del hospedador y penetración tisular, y dificultan la fagocitosis. Estos mecanismos a su vez, favorecen la adaptación al hospedador y puede facilitar la evasión de sus mecanismos defensivos al producirse un cambio antigénico o de composición bioquímica entre los componentes de los dos tipos de desarrollo (Liébana et al., 2002).

La pared celular de *Candida albicans* está constituida por β -(1,3)-d-glucano (50-70%), manano (20%), quitina (10-20%), proteínas (3-6%) y lípidos (1-5%). Estudios por microscopía electrónica indican diferencias en la organización y la composición de la pared celular en las dos diferentes formas morfogenéticas de esta levadura. La *Candida albicans* es el microorganismo causal más frecuente y virulento (90%), siendo el serotipo A, más prevalente que el B, pero este último predomina en inmunodeficientes con SIDA y al parecer no son cepas en particular virulentas (Arenas et al., 2008).

Entre los factores de virulencia presentes en la *Candida albicans* encontramos su dimorfismo; las adhesinas para diversas proteínas, para células epiteliales y para materiales plásticos utilizados en medicina como los catéteres o prótesis (incluyendo las dentales); enzimas, que facilitan su multiplicación y favorecen la diseminación por los tejidos del hospedador, como las proteasas que son capaces de cortar la IgA sérica y la IgA secretora; el tigmotropismo, que es la capacidad de la *C. albicans* de poder orientar el crecimiento de sus micelios, guiándose por la topografía del terreno; y la producción de sustancias supresoras de la respuesta inmunitaria celular.

El proceso de infección de los tejidos por *C. albicans* se diferencia en tres estadios: adhesión y colonización, en donde el rol protector de la saliva cumple un a labor fundamental de protección del hospedero; penetración, que se facilita por la transformación levadura-micelio (formación de tubos germinales) y proteasas; y la respuesta inflamatoria aguda (Liebana et al., 2002).

Las prótesis dentales favorecen la infección por parte de *C. albicans*, ya que en la interfase creada entre ellas y la mucosa subyacente se produce una baja de pH y condición anaerobia, lo que sumado al bajo flujo salival presente, se traduce en un medio propicio para la adhesión y colonización, a lo que si le sumamos los vectores de fuerza verticales resultantes de la prótesis, se ve favorecida la penetración a los tejidos (Samaranayake et al., 1980, citado por Sherman et al., 2002).

1.2 Diagnóstico

La mayoría de las veces, el diagnóstico se basa en signos y síntomas, lo que se acompaña del tratamiento estándar para el hongo. Ahora bien, en caso de tener dudas de diagnóstico o si el tratamiento no ha producido la remisión del cuadro, se debe recurrir a exámenes complementarios, como la citología exfoliativa, el cultivo, o una biopsia de la lesión (Hellstein et al., 1992, citado por Sherman et al., 2002).

Se puede observar al microscopio, ya sea cuando se ha tomado una biopsia de la lesión o bien, una citología exfoliativa, mediante tinción de Gram, de Giemsa o de Wright, y azul de metileno, o PAS. Se observan abundantes esporas redondeadas u ovoides de 2 a 4 micras de diámetro, blastosporas y pseudohifas, o hifas verdaderas. Lo más característico es la presencia de hifas y grupos de blastosporas en diferentes trayectos de las mismas (Arenas et al., 2008).

La observación se mejora al utilizar blanco de calcofluor y un microscopio de fluorescencia dada su afinidad de este fluorocromo por quitina y glucanos (Arenas et al., 2008).

Finalmente podemos realizar un cultivo de la muestra, que se logra a la temperatura ambiente y en los medios habituales, como Agar-Sabouraud (peptona 10,0 grs., glucosa 40,0 grs., agar 15,0 grs., y agua destilada c.s.p. 1000 mL.), o caldo de Sabouraud (digerido enzimático de caseína 10,0grs., dextrosa 20,0 grs., y agua destilada c.s.p. 1000 mL.) a los cuales se les adiciona cloranfenicol (50 mg/l) o clicloheximida (Actidione); o en extracto de malta (extracto de malta 20,0 grs., peptona 1,0 grs., glucosa 20,0 grs., agar 15,0 grs., agua destilada c.s.p. 1000 mL.)(Arenas et al., 2008), todos estos medios deben ser esterilizados mediante autoclave, a 121°C, durante 15 minutos, evitando sobrecalentar el preparado (Rezusta et al. 2001).

También se encuentran en el mercado, medios específicos cromáticos, como el agar cromo-candida (peptona 10,0 grs., glucosa 20,0 grs., cloranfenicol 0,50 grs., sustrato cromogénico 0,40 grs., agar bacteriológico 15,0 grs., agua destilada c.s.p. 1000 mL), el que generalmente se suministra preparado, y que de no ser así, no se debe esterilizar mediante calor, ya que se desnaturalizan los cromógenos (Rezusta et al. 2001), Este último tiene una gran especificidad, permitiéndonos observar, de fácil manera, diversas especies de *Candida* (Neville et al., 2009).

Los hongos crecen rápidamente a 37°C y en 24 a 48 horas se obtienen colonias lisas, blandas, brillantes, de color blanco o ligeramente beige; con el tiempo se hacen plegadas, rugosas o membranosas y a simple vista se observa el micelio sumergido (Arenas et al., 2008).

El agar cromo-candida, es un medio cromogénico que genera pigmentos coloreados según la especie de *Candida spp.* presente en el medio luego de 48 horas de cultivo a 37°C (Hernandez et al., 2009), resultando colonias verdes para *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*; colonias azules para *Candida tropicalis*; colonias rosa-púrpura para *Candida krusei*; y colonias lila claro para *Candida grabalta* y *Candida parasilosis* (Cuétara et al., 2006). Por este motivo es que se realizan pruebas diferenciales específicas para *Candida albicans* y así diferenciarla de otras especies como la *Candida dubliniensis*.

Entre estas pruebas encontramos:

- Filamentación en suero:

Se toma un inóculo de la colonia y se coloca en 0,5 ml de suero, se incuba a 37°C; en dos a cuatro horas, se generan tubos germinativos en *C. albicans* (Arenas et al., 2008).

Sin embargo existen cepas de *Candida albicans* que no producen tubos germinales (5-10%) y, además en los últimos años se ha descrito que *Candida dubliniensis* puede producir tubos germinales en suero.

Se debe destacar, que al cultivar a 42°-45°C, la *Candida dubliniensis* no suele crecer (Gales et al., 1999). Sin embargo, hay que tener en cuenta que algunas cepas de *Candida dubliniensis* crecen a 42°C y que un número pequeño de aislamientos de *Candida albicans* no crecen a 45°C, por lo que puede ser necesario emplear otras pruebas para diferenciación (Gadea et al., 2004).

- Resiembra de los cultivos en agar harina de maíz, agar arroz con tween 80 o en agar patata-zanahoria:

Se realizan algunas estrías en el fondo del tubo y luego una estría longitudinal profunda; en 24 a 48 horas, se toma un fragmento de la gelosa donde se aprecie el desarrollo de filamentos en profundidad.

Se observa cómo se producen rápidamente pseudohifas y racimos de blastosporas en verticilo y, sobre todo, las clamidosporas características de *Candida albicans*.

- Reducción de terazolol:

Con el uso del medio de Pagano Levine que es a base de agar de Sabouraud con 0,1% de cloruro de trifeniltetrazolol, el cual es incoloro, se puede observar su cambio de coloración según la especie de *Candida spp.*. No es una prueba muy precisa.

Otros métodos importantes para la identificación específica de *Candida albicans* son los sistemas para estudios metabólicos como el API20C, Vitek 2, Microscam, ID 32C; que pueden determinar y diferenciar la especie *Candida albicans* de *C. dubliniensis*, que tienen un perfil bioquímico muy parecido (Liebana et al., 2002).

1.3 Tratamiento

El tratamiento para la candidiasis se basa en:

1. Eliminar los factores contribuyentes
2. Prevenir la diseminación
3. Eliminar la molestia asociada

El uso farmacológico debe ser evaluado en cada paciente, basándose en el estado de salud general de este.

Como antimicóticos tópicos de primera elección, los cuales son utilizados en casos localizados a moderados, encontramos la Nistatina y el Clotrimazol (Sherman et al., 2002).

La Nistatina se puede encontrar como suspensión oral, pastillas, o tabletas orales o vaginales. La suspensión oral se utiliza a modo de enjuague 4 veces al día, por 2 minutos (Rosenberg et al., 1997, citado por Sherman et al., 2002).

El Clotrimazol por su parte, se disuelve lentamente como una pastilla oral, cinco veces al día para asegurar el máximo contacto con los tejidos afectados.

Ahora bien si el cuadro se vuelve más complicado, ya sea por pacientes inmuno suprimidos, o en casos severos diseminados, se recomienda, aparte de la aplicación tópica de antimicóticos en la lesión, el uso de Ketoconazol, Fluconazol o Itraconazol (Sherman et al., 2002).

El tratamiento con Ketoconazol consiste en una dosis de carga (400 mg), y luego se mantiene un régimen de una tableta (200 mg) antes del almuerzo por 2 semanas. El Fluconazol se administra una dosis de carga (200 mg), y luego se mantiene un régimen de una tableta (100 mg) por 2 semanas.

Finalmente, el Itraconazol se administra en 2 tabletas diarias (100 mg cada una) junto a comida, durante 2 semanas (Rosenberg et al., 1997, citado por Sherman et al., 2002).

CAPITULO IV

1. RESINA ACRILICA O ACRILICO

1.1 Generalidades

Las bases de las prótesis removibles pueden confeccionarse con materiales de base orgánica o de base metálica, según el caso, prefiriéndose las primeras en prótesis completas, y una combinación de ambas para prótesis parciales.

Los materiales orgánicos para base de prótesis removible, están representados por las resinas acrílicas, las que se componen de un polvo (polímero, pigmentos, plastificantes, iniciador) y un líquido (monómero, inhibidor, agente de las cadenas cruzadas), los que al mezclarse dan como resultado una masa plástica, que se adapta sobre el molde previamente preparado, y luego se hace polimerizar (curado del monómero), para obtener un polímero rígido.

Para que se produzca la polimerización se debe activar el agente iniciador, peróxido de benzoilo, presente en el polvo, mediante activadores físicos, como el calor, denominándose acrílico de termocurado o termopolimerizable, o con una radiación electromagnética de longitud de onda específica, denominándose acrílico fotopolimerizables o fotocurables; o con activadores químicos, agentes que son incorporados al monómero acrílico, denominándose pues acrílico autocurable o autopolimerizable.

Los acrílicos de termocurado y autocurables, tienen una presentación comercial de líquido y polvo, en donde es este último el que debe ser saturado por el monómero. Para utilizar resina acrílica de termocurado, es necesario un molde donde se pueda adaptar la masa de resina, prensarla y así controlar los cambios dimensionales que se producen en el material. Para ello se emplea una caja metálica, de bronce o aluminio, denominada mufla, que contiene varias partes que se ensamblan unas con otras.

En la mufla se coloca el modelo primario, sobre el que se fabrica la base de la prótesis con cera rosada. Luego el modelo es fijado a la mufla con yeso piedra. Fraguado el yeso, se pincela separador acrílico sobre la superficie del yeso expuesta, para luego adaptar la contramufla sobre la mufla que contiene el modelo con la cera. Se vierte otra mezcla de yeso y se coloca una tapa, para así cerrar la mufla.

El separador de acrílico (alginato de sodio, glicerina, alcohol, fosfato disódico, preservador, agua) evita que el acrílico tome contacto directo con el yeso por dos razones:

- a) Porque el monómero puede penetrar dentro del yeso que es poroso y polimerizar en él, quedando totalmente pegado y no se podrá separar la resina del yeso;

- b) Porque el yeso contiene agua, que puede pasar a la resina y alterar sus propiedades (resistencia, dureza, rigidez).

El separador para acrílico, es básicamente un alginato soluble y agua, el cual al ser pincelado sobre el modelo de yeso, el alginato de sodio reacciona con la sal de calcio (recordemos que el yeso es sulfato de calcio dihidratado), originándose un alginato de calcio insoluble que forma una delgada película o membrana sobre el modelo de yeso y actúa como separador.

Una vez fraguado el yeso, se coloca en agua caliente la mufla y contramufla cerrados, durante tres o cuatro minutos, y luego se retira y se abre, separando mufla de contramufla, lo que es posible gracias al separador.

La cera se retira del modelo, quedando un espacio, la cámara de moldeado o molde. Las superficies del yeso son pinceladas con separador nuevamente.

Se procede a preparar la resina acrílica de termocurado, saturando el polvo de líquido, lo que representa una proporción volumétrica aproximada de 3:1 (polvo/líquido). Se mezcla con una espátula para homogeneizar la masa y se deja este tapado. Este pasará por los estados arenoso, filamentoso, y plástico, durante este último la masa se lleva a la mufla, se adapta y cierra, y se procede a realizar el prensado para mejorar la adaptación y eliminar los excesos, proceso que puede repetirse más de una vez.

Si se trabaja antes de la fase plástica, la masa resulta porosa, afectando sus propiedades ópticas y mecánicas finales.

Si no se trabaja el material en el momento adecuado, se evapora el monómero y la mezcla pierde plasticidad, aumentando la tensión del producto final, llevando a distorsiones en el tiempo.

Por último la mufla se calienta para producir la polimerización, en lo que se conoce como régimen de curado. Este empieza con agua a temperatura ambiente, la cual se va calentando hasta los 70°C en aproximadamente una hora, temperatura a la cual el inductor inicia la polimerización. Luego se eleva la temperatura a 100°C y se mantiene allí por una hora más.

Finalmente se deja enfriar, en el mismo baño de agua, hasta la temperatura ambiente, así se reduce el cambio dimensional térmico.

Se extrae la mufla enfriada, y se elimina el molde de yeso. Después de demuflar, se cortan los excesos de acrílico y se pule con una rueda de pulir húmeda para no generar calor y con esto distorsiones (Craig R., 1998).

1.2 Prótesis removibles y factores de proliferación microbiológica

Las prótesis removibles poseen un conjunto de características que hacen posible la colonización por *Candida spp.* y diversos microorganismos. Varias revisiones agrupan los principales factores que condicionan la colonización (Pereira-Cenci et al., 2008):

- La prótesis, por su configuración, posee varias rugosidades que dependen del tipo de polimerización y del acabado (pulido) al que esta haya sido sometida. Estas rugosidades aumentan la energía libre superficial haciendo más fácil la colonización de las bacterias, además amplían la superficie de esta para dar cabida a más microorganismos y por ende un potencial foco de nuevas enfermedades.
- En general hay prótesis a las cuales se les realizan acondicionamientos para un mejor ajuste e incluso para lograr la adherencia que les falta. Estas sustancias modifican la superficie protésica creando un nuevo medio de colonización. Es verdad que muchas de estas sustancias tienen cierto potencial bacteriostático, pero se sabe que se pierde con el tiempo y además, es sorteado por el sinergismo microbiológico, haciendo posible la colonización.
- La saliva hoy en día juega un papel controversial, pues hay estudios que consideran que la humedad que suma esta a la prótesis facilita la colonización por *Candida spp.*, sin embargo hay otros autores que mencionan que los anticuerpos y enzimas que esta contiene disminuiría este potencial colonizador. Ahora bien hay que considerar la calidad de esta saliva y la forma como se realizaron los estudios, pues es distinto compara la saliva de un individuo joven a la de un adulto, que puede poseer enfermedades crónicas que varían la calidad de esta.
- La prótesis no solo es un buen reservorio para la *Candida albicans*, sino que también para varios microorganismos. Esta mutua cooperación hace que la sobrevivencia de estos patógenos a la saliva y desinfectantes, sea mucho mayor.

Da Silva et al. (2008), describieron que en conjunto a la *Candida albicans*, sobre la superficie protésica, era fácil encontrar otras bacterias tales como: *Streptococcus mutans*, *S. aureus*, *Escherichia coli* y el *Bacillus subtilis*, entre otros.

Debemos mencionar que la prótesis: aísla la mucosa subyacente ante la acción de autolimpieza de la musculatura oral; crea una condición de anaerobiosis; y debido a los detritos orgánicos aumenta la acidez, lo que aumenta la capacidad proliferativa de las levaduras y bacterias. Estas condiciones permite al *C. albicans* formar fácilmente biopelículas en la superficie de las prótesis (Christopher et al., 2009). Sin embargo la

distribución de la *Candida albicans* no es uniforme dentro de la boca ni en la prótesis, encontrándose los mayores niveles en la superficie palatina de esta última, lo que permite que sea un reservorio continuo de microorganismos que favorecen la infección.

Las células que coexisten en el biofilm normalmente exhiben una mayor resistencia a los antifúngicos y al sistema inmunológico del paciente. Chandra *et al.* (2001) observó una resistencia aumentada de la *C. albicans* cultivada en prótesis de acrílico a fluconazol, anfotericina B, nistatina, y clorhexidina.

CAPÍTULO V

1. CONTROL DEL BIOFILM

Para mantener controlado el biofilm protésico la higiene mecánica es la alternativa más popular, mediante el uso de cepillos con jabones o dentífricos. Sin embargo, existe gran cantidad de evidencia que, utilizando sólo este método, no es suficiente para eliminar la placa bacteriana de las bases de las prótesis por lo que hay que combinarlo con el uso de desinfectantes (Mähönen et al., 1998).

Otra desventaja de este método mecánico, es que si son empleados de manera exagerada o con una fuerza y técnica incorrecta puede causar daño a las prótesis, teniendo efectos negativos, como manchas persistentes y distorsión de los retenedores afectando su capacidad retentiva. Igualmente, son ineficaces en pacientes con limitación motora, ya que la remoción efectiva de la placa bacteriana requiere de cierto grado de destreza manual, la cual está reducida en adultos mayores. Aun así la mayor ventaja es su sencillez y economía.

El método químico es un método complementario para la limpieza de prótesis, es superior al mecánico en cuanto al control de placa bacteriana y a la proliferación micótica según Montagner et al. (2009).

Según estudios de Paranhos et al., 2009, la combinación del método químico con el mecánico es lo más efectivo para eliminar la *Candida albicans*.

En la literatura podemos encontrar diversos agentes químicos utilizados para la limpieza protésica, en donde dependiendo el compuesto activo, el tiempo de exposición y las concentraciones de los agentes, vamos a obtener diferentes resultados de desinfección.

2. AGENTES DE DESINFECCIÓN

2.1 Hipoclorito de Sodio

Producto más utilizado en desinfección. Es muy útil para remover manchas de las prótesis, disuelve algunos componentes salivales y otras sustancias orgánicas. Es bactericida y fungicida. Actúa directamente sobre la matriz orgánica de la placa dental y además causa la destrucción de la estructura del polímero del acrílico. El hipoclorito no disuelve el cálculo, pero sí inhibe la formación de éste sobre las prótesis. Aunque son limpiadores eficaces presentan diversos inconvenientes como la corrosión del metal y el aumento de la flexibilidad de los ganchos, lo que restringe su empleo a aparatos sin componentes metálicos según Banabé et al. (2004).

2.2 Glutaraldehído

La principal ventaja de estos productos es que no se inactivan al entrar en contacto con materiales orgánicos, no son corrosivos, y no degradan plásticos ni materiales de goma. Sin embargo, debido a su toxicidad, estos desinfectantes deben ser manipulados con cuidado. Estos poseen alta actividad antimicrobiana y la eficacia está relacionada con el período de exposición al químico según Souza et al. (2003).

2.3 Clorhexidina

En los últimos años se ha estudiado bastante la clorhexidina como sustancia antimicrobiana. Hoy, es considerada la mejor elección entre los antisépticos para el control del biofilm, para la prevención de la caries y gingivitis. También es usada como tratamiento para varias lesiones de la cavidad oral como la periodontitis y la estomatitis según da Silva et al. (2008). Sin embargo al usarlo diariamente produce tinciones en las estructuras dentales, lengua y aparatos removibles (Montagner et al., 2009).

La clorhexidina es un biocida de amplio espectro de actividad contra variados organismos, incluyendo la *Candida albicans*. Su acción contra biofilms de *Candida albicans*, es significativamente menor que la acción contra *C. albicans* en suspensión (Suci & Tyler, 2002).

Hoy podemos encontrar en el mercado diversas concentraciones de clorhexidina, estas varían entre 0,2%; 0,12%, y 0,05%. Las primeras dos concentraciones son las más utilizadas para los tratamiento bucales. Las diferencias entre ellas se basan en su posología, en donde a concentraciones al 0,2% se utilizan al mismo volumen en la mitad del tiempo de enjuague que las de concentraciones al 0,12%, obteniendo los mismos resultados, pero reduciendo de manera significativa los efectos secundarios como las tinciones, irritaciones en los tejidos blandos y apariciones de cálculos. Sin embargo la efectividad antimicrobiana se mantiene relativamente pareja para ambas concentraciones, a lo largo del periodo del tratamiento.

Las concentraciones al 0,05% son concentraciones que se usan para el control de placa, para tratamientos más largo. Sin embargo la eficacia se ve reducida considerablemente en comparación a las concentraciones superiores. Por esta razón, para aumentar su eficacia se asocian a otros compuestos tales como cetilpiridinio, sales de zinc, triclosán, etc. El efecto secundario asociado a esta concentración sigue siendo la tinción dentaria, ahora bien, se requiere de un tiempo de exposición mayor o de un tiempo de tratamiento mucho más prolongado para que se forme (Calsina & Serrano, 2005)

2.4 Vinagre

El vinagre es un líquido amargo y astringente compuesto principalmente de ácido acético, lo que resulta de la fermentación de bebidas alcohólicas, principalmente vinos blancos y tintos. Es un producto barato, fácil de encontrar en el mercado, y parece tener un potencial antimicrobiano (Pinto et al., 2008).

Ha sido citado en la literatura como antifúngico, antiprotozoario y antibacteriano (Nascimento et al. 2003).

Basson et al. (1992), citado por Pinto et al. (2008), demostró la efectividad de una solución de vinagre sin diluir, en la eliminación de microorganismos, cuando fue utilizado como agente desinfectante de prótesis dentales.

Experimentos in vitro, han demostrado que bajas dosis fungicidas de ácido acético, inducen una muerte celular programada de *Candida albicans* (Phillips et al., 2006).

El ácido acético es un componente del vinagre que se utiliza en la desinfección de artículos semi-críticos, en el control de inflamaciones orofaríngeas y la antisepsia de las úlceras. Últimamente, el interés en soluciones de ácido acético como antimicrobiano, ha aumentado dada la toxicidad del hipoclorito de sodio y otros desinfectantes según Makino et al. (2000).

Hay estudios en animales en los que se evalúa la efectividad del vinagre como medicación intraconducto para la eliminación de la flora microbiana de las lesiones periapicales, encontrándose la ausencia de microbios en el 40% de las muestras tratadas con vinagre (Estrella et al., 2004).

2.5 Peróxidos Alcalinos

Limpiadores compuestos de perborato y bicarbonato de sodio, son comúnmente utilizados para la limpieza de prótesis. Sin embargo deben ser asociados a una remoción mecánica para que surjan los efectos sobre el biofilm en la superficie protésica según Makino et al. (2000).

Las concentraciones al 0,05% son concentraciones que se usan para el control de placa, para tratamientos más largo. Sin embargo la eficacia se ve reducida considerablemente en comparación a las concentraciones superiores. Por esta razón, para aumentar su eficacia se asocian a otros compuestos tales como cetilpiridinio, sales de zinc, triclosán, etc. El efecto secundario asociado a esta concentración sigue siendo la tinción dentaria, ahora bien, se requiere de un tiempo de exposición mayor o de un tiempo de tratamiento mucho más prolongado para que se forme (Calsina & Serrano, 2005)

2.4 Vinagre

El vinagre es un líquido amargo y astringente compuesto principalmente de ácido acético, lo que resulta de la fermentación de bebidas alcohólicas, principalmente vinos blancos y tintos. Es un producto barato, fácil de encontrar en el mercado, y parece tener un potencial antimicrobiano (Pinto et al., 2008).

Ha sido citado en la literatura como antifúngico, antiprotozoario y antibacteriano (Nascimento et al. 2003).

Basson et al. (1992), citado por Pinto et al. (2008), demostró la efectividad de una solución de vinagre sin diluir, en la eliminación de microorganismos, cuando fue utilizado como agente desinfectante de prótesis dentales.

Experimentos in vitro, han demostrado que bajas dosis fungicidas de ácido acético, inducen una muerte celular programada de *Candida albicans* (Phillips et al., 2006).

El ácido acético es un componente del vinagre que se utiliza en la desinfección de artículos semi-críticos, en el control de inflamaciones orofaríngeas y la antisepsia de las úlceras. Últimamente, el interés en soluciones de ácido acético como antimicrobiano, ha aumentado dada la toxicidad del hipoclorito de sodio y otros desinfectantes según Makino et al. (2000).

Hay estudios en animales en los que se evalúa la efectividad del vinagre como medicación intraconducto para la eliminación de la flora microbiana de las lesiones periapicales, encontrándose la ausencia de microbios en el 40% de las muestras tratadas con vinagre (Estrella et al., 2004).

2.5 Peróxidos Alcalinos

Limpiadores compuestos de perborato y bicarbonato de sodio, son comúnmente utilizados para la limpieza de prótesis. Sin embargo deben ser asociados a una remoción mecánica para que surjan los efectos sobre el biofilm en la superficie protésica según Makino et al. (2000).

Presentan una buena actividad antimicrobiana anaerobia contra el biofilm protésico, comparado con concentraciones de hipoclorito de sodio. Esta propiedad, sumada a la ausencia de olor y mal sabor, los hacen una buena opciones para la higiene protésica (Paranhos et al., 2009). Este mismo estudio encontró diferencias significativas en la eliminación de *Candida albicans* al comparar estos agentes ante la limpieza mecánica, siendo superior esta última, incluso cuando se comparó con la aplicación del agente químico sumado a la limpieza mecánica.

Muchos laboratorios hoy en día están trabajando en la confección de pastillas limpiadoras efervescentes en base a estos componentes. Sin embargo, aun no han mostrado una evidencia significativa en el control de microorganismos en comparación a los productos desinfectantes conocidos, como la clorhexidina. Ahora bien, sus efectos secundarios son bastante reducidos, por lo que sería una alternativa viable siempre y cuando se estuviera al tanto de sus limitaciones (Sousa et al., 2009).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la eficacia fungicida in vitro del ácido acético al 4%, el gluconato de clorhexidina al 0.12%, y dos marcas comerciales de peróxidos alcalinos, sobre la *Candida albicans* en una superficie acrílica de termocurado.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar la eficacia fungicida del ácido acético al 4%, el gluconato de clorhexidina al 0.12%, y dos marcas comerciales de peróxidos alcalinos, sobre la *Candida albicans* en acrílico de termocurado en cinco minutos de acción.
2. Comparar la eficacia fungicida del ácido acético al 4%, el gluconato de clorhexidina al 0.12%, y dos marcas comerciales de peróxidos alcalinos, sobre la *Candida albicans* en acrílico de termocurado en sesenta minutos de acción.
3. Comparar la eficacia fungicida del ácido acético al 4%, el gluconato de clorhexidina al 0.12%, y dos marcas comerciales de peróxidos alcalinos, sobre la *Candida albicans* en acrílico de termocurado en cuatrocientos ochenta minutos de acción.
4. Determinar en qué intervalo de tiempo el ácido acético al 4%, el gluconato de clorhexidina al 0.12%, y dos marcas comerciales de peróxidos alcalinos tienen un mayor efecto fungicida contra *Candida albicans*.

HIPÓTESIS

Son el vinagre, las Corega® Tabs, las tabletas limpiadoras Oralgene®, y la clorhexidina al 0,12% Oralgene®, agentes fungicidas eficaces contra la *Candida albicans*.

MATERIALES Y METODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio experimental in vitro controlado aleatorizado.

UNIVERSO Y MUESTRA

Para determinar un tamaño de muestra para comparar dos proporciones o porcentajes en dos poblaciones independientes, se utiliza una metodología en busca del tamaño de muestra mínimo para la detección de diferencias de dos proporciones según un error de estimación (δ) y un intervalo de confianza aproximado del $[1-\alpha] \cdot 100\%$ por medio de una aproximación bajo la distribución normal.

Para el cálculo del tamaño mínimo de la muestra se basó en un intervalo de confianza para la diferencia de dos proporciones poblacionales para población infinita utilizando una aproximación por la distribución normal, el tamaño de muestra por grupo está dado por:

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 [p_1 \cdot (1-p_1) + p_2 \cdot (1-p_2)]}{\delta^2}$$

En donde:

n : Es el tamaño de la muestra por cada grupo.

p_1 : Proporción de acrílicos sumergidos en vinagre durante 8 horas y existe crecimiento de *Candida albicans*. (Según antecedentes bibliográficos: $p_1 = 0,2$)

p_2 : Proporción de acrílicos sumergidos en Oralgene® (clorhexidina 0,12%) durante 8 horas y existe crecimiento de *Candida albicans*. (Según antecedentes bibliográficos: $p_2 = 0$)

δ : Es el error de estimación de la diferencia entre las proporciones en las poblaciones (presencia de crecimiento de *Candida albicans* usando vinagre y Corega® Tabs).

$Z_{1-\alpha/2}$: Es un valor teórico obtenido de la distribución normal estándar. (Percentil de la distribución que acumula el $(1-\alpha/2) \cdot 100\%$ de la población). Cuando el nivel de confianza es del 95% el percentil de la distribución es 1,960, si es 99% el valor del percentil es de 2,575.

Por lo tanto, el tamaño mínimo de la muestra con un $\delta=17,8\%$ y un nivel de significancia del 5%, se necesita por lo menos 30 personas por grupo.

Por lo anterior, es que se trabajó sobre 150 muestras de acrílico de termocurado Marche®, de dimensiones 2mm x 20mm x 10mm. Estas fueron esterilizadas y almacenadas hasta la realización del estudio.

VARIABLES

El estudio contempla dos variables dependientes, la Presencia de *Candida albicans* y el Crecimiento de *Candida albicans*, las que se verán afectadas por las variables independientes, Ácido acético, Clorhexidina, Peróxidos alcalinos y el Tiempo.

1. **Presencia de *Candida albicans* (variable dependiente cualitativa ordinal):**

Definición conceptual: presencia de colonias de *Candida albicans* en un medio de cultivo, una vez completado el periodo de incubación.

Definición operacional: Presencia de colonias formadas sobre la mitad de una placa petri de agar cromo-candida, la que observada macroscópicamente se cataloga como presencia positiva (cuando existe al menos una colonia) o presencia negativa (cuando no hay crecimiento de colonias), una vez completado el periodo de incubación de 48 horas a 37°C, en condiciones de aerobiosis.

2. **Crecimiento de *Candida albicans* (variable dependiente cualitativa ordinal):**

Definición conceptual: cantidad de colonias de *Candida albicans* presentes en un medio de cultivo, una vez completado el periodo de incubación.

Definición operacional: Cantidad de colonias formadas sobre la mitad de una placa petri de agar cromo-candida y observadas macroscópicamente a simple vista, catalogándose como crecimiento nulo, cuando existe ausencia de colonias; crecimiento escaso, cuando hay presencia de colonias, pero esta es menor a 25; y crecimiento abundante, cuando la presencia de colonias sobrepasa las 25 unidades; una vez completado el periodo de incubación de 48 horas a 37°C, en condiciones de aerobiosis.

3. **Ácido acético (variable independiente cualitativa dicotómica):**

Definición conceptual: "Ácido que se encuentra en el vinagre, siendo el principal responsable de su sabor y olor agrios. Su fórmula es $\text{CH}_3\text{-COOH}$ ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$). De acuerdo con la IUPAC se denomina sistemáticamente ácido etanoico". (Enciclopedia Libre Wikipedia)

Definición operacional: 1800 mililitros de vinagre de vino blanco Higueras®, de 4% de acidez, distribuido en 30 vasos milimetrados estériles que contenían 60 ml.

4. Clorhexidina (variable independiente cualitativa dicotómica):

Definición conceptual: "La clorhexidina es una sustancia antiséptica. Pertenece al grupo de las bisguanidas y se utiliza ampliamente en odontología a concentraciones de 0.2%, 0.12% y 0.10 % en presentaciones para el uso como colutorio o enjuague bucal." (Enciclopedia Libre Wikipedia)

Definición operacional: 1800 mililitros de colutorio antiséptico Oralgene® (gluconato de clorhexidina al 0,12%), distribuido en 30 vasos milimetrados estériles que contenían 60 ml.

5. Peróxidos alcalinos (variable independiente cualitativa dicotómica):

Definición conceptual: "Limpiadores más comúnmente usados para limpieza de las prótesis, incluyen polvos o tabletas. La liberación de oxígeno por parte del peróxido de hidrógeno causa la formación de burbujas o una acción efervescente que tiene un efecto de limpieza mecánica sobre la prótesis". (Enciclopedia Libre Wikipedia)

Definición operacional: 30 tabletas efervescentes Corega® Tabs, del laboratorio Block Drug Company, distribuidas en 30 vasos milimetrados estériles, a los cuales se les adiciono 60 ml de agua tibia (37°C).

6. Peróxidos alcalinos (variable independiente cualitativa dicotómica):

Definición conceptual: "Limpiadores más comúnmente usados para limpieza de las prótesis, incluyen polvos o tabletas. La liberación de oxígeno por parte del peróxido de hidrógeno causa la formación de burbujas o una acción efervescente que tiene un efecto de limpieza mecánica sobre la prótesis". (Enciclopedia Libre Wikipedia)

Definición operacional: 30 tabletas efervescentes Oralgene®, del laboratorio Maver, distribuidas en 30 vasos milimetrados estériles, a los cuales se les adiciono 60 ml de agua tibia (37°C).

7. Cloruro de sodio (variable independiente cualitativa dicotómica):

Definición conceptual: "Disolución acuosa de sustancias compatibles con los organismos vivos debido a sus características definidas de osmoticidad, pH y fuerza iónica. Está compuesto de agua, electrolitos y, a veces, distintas sustancias, como por ejemplo la glucosa, fuente de carbono y energía para el organismo, y de algunos polisacáridos expansores". (Enciclopedia Libre Wikipedia)

Definición operacional: 1800 mililitros de suero fisiológico al 0,9%, del laboratorio Biosano®, distribuido en 30 vasos milimetrados estériles que contenían 60 ml.

8. *Tiempo* (variable independiente cuantitativa continua):

Definición conceptual: "Es la magnitud física con la que medimos la duración o separación de acontecimientos sujetos a cambio, de los sistemas sujetos a observación, esto es, el período que transcurre entre el estado del sistema cuando éste aparentaba un estado X y el instante en el que X registra una variación perceptible para un observador (o aparato de medida)." (Enciclopedia Libre Wikipedia)

Definición operacional: Periodo medido en minutos, desde que se pone la muestra en uno de los 4 agentes estudiados, hasta su lavado con agua destilada para posterior cultivo. Este puede adoptar 3 valores: 5, 60, ó 480 minutos.

PROCEDIMIENTOS

1. Obtención de la muestra

Se confeccionaron 200 rectángulos de 10mm x 20mm x 2mm en láminas de cera amarilla, con la ayuda de una regla metálica y un bisturí. Se procedió a realizar el enmuflado de estos, para lo cual se contó con 5 muflas y yeso blanco de ferretería.

Se posicionaron los rectángulos de cera amarilla de forma vertical, dentro de la mufla envaselinada con yeso en estado líquido, logrando distribuir 30 rectángulos por cada mufla. Una vez fraguado el yeso (20-30 minutos), se procedió a aislar la superficie de este con vaselina (Laboratorio Chile®), para evitar su unión con el yeso líquido que completará el modelo.

Luego se procede al enmuflado, aplicando yeso líquido para efectuar la contramufla, y se prensa, para controlar la expansión del fraguado.

Es importante en esta etapa, la buena dosificación y correcta preparación del yeso, a fin de evitar burbujas que pueden ocasionar alteraciones del molde.

Una vez que el yeso haya fraguado completamente, se llevan las muflas a un recipiente con agua en ebullición (100°C), donde se mantienen por 10 minutos. Consumado este tiempo, se retiran y se procede a abrirlas para que la cera licuada pueda eliminarse. Este procedimiento se facilita con la ayuda de un cepillo y jabón, además del lavado con agua en punto de ebullición desde altura. Una vez limpias, las muflas se dejan abiertas hasta secar, obteniendo un negativo de los rectángulos.

Ya secas, se procede a aislar ambas superficies del molde (mufla y contramufla), con aislante para acrílico (Acrifoil®), ya que recibirá a acrílico en estado plástico, y de no realizarse el correcto aislamiento, el yeso se unirá fuertemente al acrílico.

Por otra parte, se preparó el acrílico de termocurado marca Marche®, según las instrucciones del fabricante, para luego dejarlo tapado hasta su fase plástica. Ya en estado plástico, este se amasa y homogeniza con una hoja de celofán humedecida, y luego es empaquetado en la cámara de moldeo, para posteriormente poner la contramufla, cerrarlas y llevarlas a la prensa hidráulica, la que permite el prensado y la eliminación del exceso de acrílico, asegurando una correcta y fiel reproducción del molde.

Las muflas son aseguradas y se procede a la cocción del acrílico. Esta etapa se inicia con un recipiente con agua fría suficiente para cubrir las muflas, en donde estas se introducen. Se empieza a calentar el agua a fuego medio por treinta minutos. Luego se lleva a fuego alto por sesenta minutos más. Finalizado el tiempo, las muflas son retiradas y dejadas a temperatura ambiente hasta su enfriamiento. Cuando las muflas se encuentran totalmente frías, son abiertas, y los rectángulos de acrílico retirados.

Estos se inspeccionan minuciosamente en busca de irregularidades en su superficie, las cuales son eliminadas mediante un pimpllo fino para acrílico a baja velocidad.

Los rectángulos, fueron acabados con un cepillo fino instalado en un torno, a fin de eliminar cualquier residuo. Luego fueron lavados con agua y secados.

Los 200 rectángulos terminados fueron enumerados, para que posteriormente se seleccionaran al azar sólo 150 rectángulos acrílicos.

Los 150 rectángulos seleccionados, fueron nuevamente enumerados, esta vez con la ayuda de un marcador negro, para finalmente ser esterilizados con autoclave (Sturdy SA-230, Farmalatina®) y almacenados hasta su uso.

2. Aislamiento de la *Candida albicans*

Previo consentimiento informado, se examinaron 50 pacientes portadores de prótesis totales superiores acrílicas, pertenecientes al servicio de Prótesis Removible de la facultad de odontología de la Universidad de Valparaíso, que fueron atendidos entre los años 2007 y 2010.

Aquellos pacientes que, mediante la examinación clínica, presentaban algún grado de estomatitis protésica, se les tomo una muestra de la superficie de la lesión con la ayuda de un hisopo estéril, el que fue almacenado en medio de Stuart (Lablinsan S.A., Santiago) y transportado al laboratorio para su análisis. Estas muestras fueron cultivadas en medios específicos de Agar Cromo-Candida (Valtek S.A., Santiago, Lot: 11042901).

De los 30 pacientes que padecían algún grado de estomatitis protésica, sólo 7 dieron positivo a *Candida albicans* según el medio cromogénico. Posteriormente se realizó la prueba del tubo germinativo, confirmándose la presencia de la misma, y cultivándose nuevamente en un medio cromogénico.

De los 7 medios cultivados con *Candida albicans*, se escogió 1 al azar, y con esta cepa específica se trabajó.

3. Procedimiento de siembra de *Candida albicans* en las unidades de muestra

Se tomaron los 150 rectángulos de acrílicos enumerados, los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en 15 grupos de 10 unidades, a los que se les asigno una letra del abecedario, de la A hasta la O. Así también, a estos grupos se les determino, aleatoriamente, uno de los cuatro tratamientos: gluconato de clorhexidina al 0,12% (colutorio Oralgene® - Laboratorios Maver Ltda., Lampa, Chile), tabletas de perborato de sodio (Tabletas limpiadoras para dispositivos bucales Oralgene® – Laboratorios Tower Ltda., USA), tabletas de perborato de sodio (Corega® Tabs – Block Drug Company Inc., Memphis, EEUU.), ó vinagre blanco de 4% de acidez (Vinagre

Higueras® – Agrícola Las Higueras SA., Colina, Chile), en uno de los tres tiempos a evaluar (5, 60, ó 480 minutos). Los 30 rectángulos acrílicos sobrantes fueron asignados al grupo control (suero fisiológico estéril al 0,9%), dividido en cada uno de los tiempos estudiados.

Estos fueron trasladados a tubos de ensayo estériles (Vacutainer®, Becton, Dickinson and Company, Lot: 1021234) con la ayuda de una pinza de disección estéril. Luego, mediante una pipeta de 10 ml (HBG Precicolor®, Alemania), se les agregó 1,5 ml de caldo de cultivo Sabouraud (laboratorio de micología, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso), más 0,1 ml de una suspensión de *Candida albicans* en suero estéril al 0,9%, con el uso de una micropipeta (High Tech Lab®, Polonia).

La suspensión de *Candida albicans* se preparó en suero fisiológico estéril al 0,9%, donde, con la ayuda de un asa de nicron calibrada estéril, se inocularon colonias de *Candida albicans*, procedentes del cultivo de agar cromo-candida seleccionado, hasta lograr una densidad óptica de 0.284 utilizando una longitud de onda de 530 nm para la lectura (Fotómetro modelo BTS-310, BioSystems®), correspondiente a 1×10^6 células por mililitro.

Los 150 tubos de ensayo cultivados, fueron llevados a un horno de laboratorio (Lab Incubator, IN-601, Farmalatina®) a 37°C, y mantenidos allí por 24 horas.

4. Pruebas de laboratorio

Se retiraron los 150 tubos cultivados desde el horno, y se dejaron a temperatura ambiente (25°C). Con la ayuda de una pinza de disección estéril, fueron retiradas las muestras y depositadas en vasos milimetrados estériles de 120 ml de capacidad (Sterile A®, Lot: 11105), los cuales contenían 60 ml de cada agente estudiado. La clorhexidina fue depositada en los vasos, segundos antes de la muestra, para evitar factores inhibitorios de su acción.

En caso de los agentes que presentaban forma farmacéutica de tabletas efervescentes (Corega® Tabs y tabletas Oralgene®), se puso la muestra sobre la tableta, previamente situada en el centro del vaso milimetrado. Mientras un operador se dedicaba a repartir las muestras en los vasos, el otro añadía 60 ml de agua tibia (37°C).

Cada grupo fue tapado con papel kraft estéril, a modo de evitar el efecto inhibitorio sobre la clorhexidina, y para simular el efecto de la oscuridad nocturna.

Se trabajó de manera rápida y sistematizada, con el objetivo de que las muestras estuvieran en los agentes estudiados el tiempo más preciso posible. Se empezó con los primeros 5 grupos, ABCNO, que correspondieron al periodo de 480 minutos. Luego se continuó con los grupos FEDGH, asignándoles el periodo de 60 minutos, y finalmente se terminó con los grupos IJKLM, que correspondían al menor periodo de tiempo, 5 minutos.

5. Toma de las muestras

Una vez finalizado el tiempo asignado a cada grupo, las muestras fueron retiradas de las soluciones con la ayuda de una pinza de disección estéril, se les aplicó 2 ml de agua bidestilada estéril (Apiroflex®, laboratorio Sanderson S.A.) para detener la acción del agente desinfectante, y luego se colocaron, con la cara enumerada hacia abajo, sobre un trozo de papel kraft estéril.

Se procedió a tomar la muestra de la superficie tratada, mediante un hisopo estéril, pasando por la superficie de esta 6 veces, de izquierda a derecha, sin rotar el mismo, con el fin de concentrar la muestra en una misma superficie.

Posteriormente, se sembraron las muestras en las placas petri específicas de agar cromo-candida, mediante la técnica del zigzag, empezando desde el centro de la placa Petri hacia el margen, abarcando toda la superficie en cinco movimientos horizontales, evitando pasar sobre un trazo realizado.

Las placas petri específicas fueron cultivadas en condiciones aerobias, por 48 horas, a 37°C.

6. Recolección de datos

Luego de las 48 horas de cultivo, se retiraron las muestras y se procedió a tomar fotografías mediante un sistema estandarizado, y se les clasificó según la cantidad de colonias formadas (0, 1-25, 26 o más).

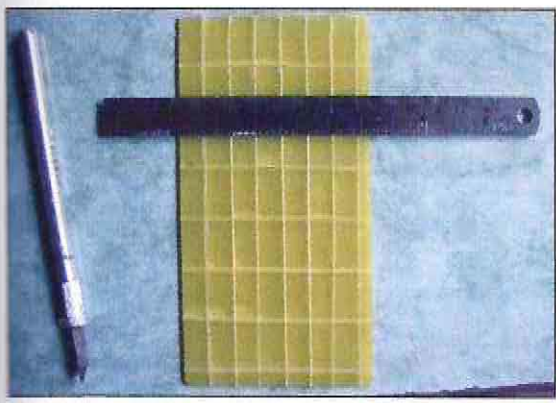


Imagen 1. Confección de rectángulos en cera amarilla



Imagen 2. Enmuflado de rectángulos de cera

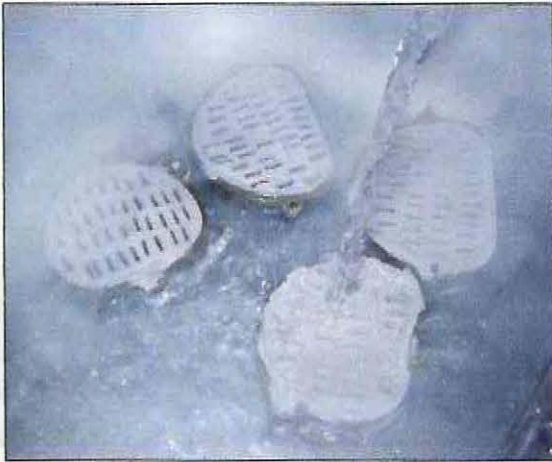


Imagen 3. Descerado



Imagen 4. Prensado del acrílico de termocurado



Imagen 5. Cocción del acrílico

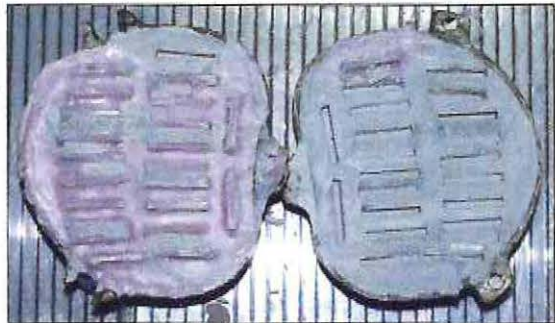


Imagen 6. Apertura de la mufa con el acrílico termopolimerizado

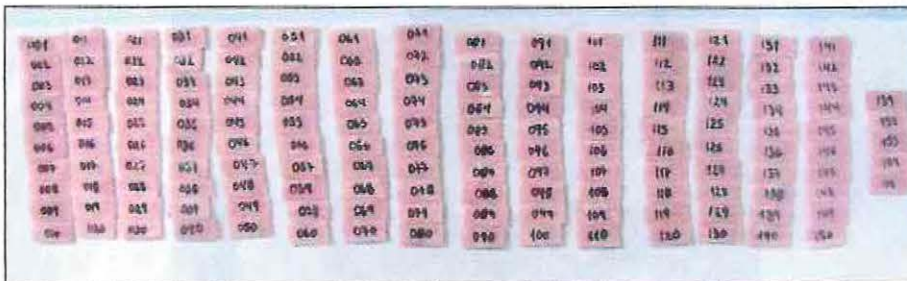


Imagen 7. Rectángulos de acrílico terminados y enumerados

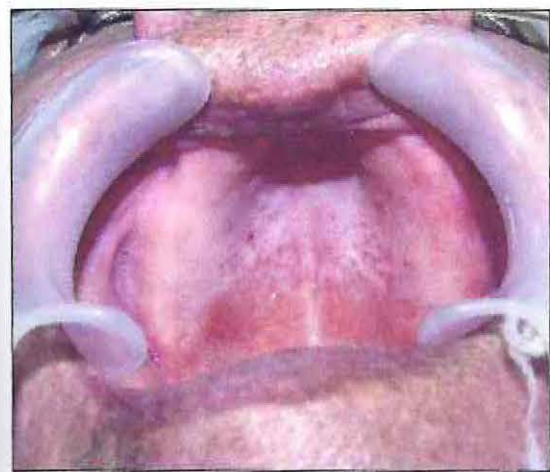


Imagen 8. Paciente con estomatitis protésica



Imagen 9. Medio Agar Cromo-Candida



Imagen 10. Uso del espectrofotómetro



Imagen 11. Tratamientos en acción



Imagen 12. Placas petri llevadas al homo de cultivo

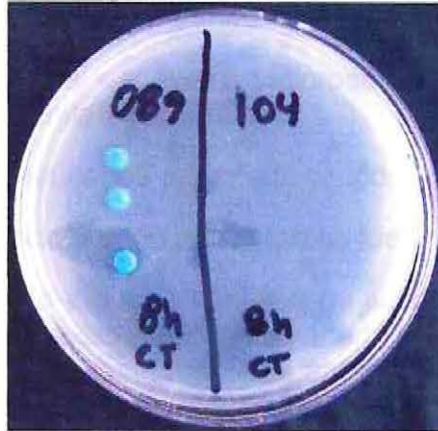


Imagen 13. Medios cromogénicos luego de 24 horas de cultivo

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados fueron tabulados en el software Microsoft Excel, para posteriormente ser analizados con el software Minitab versión 15.0.

Se obtuvieron tablas que describen los resultados para cada grupo.

El test estadístico para determinar la asociación de las variables fue:

- Test Fisher: Se recurrió a este test debido a que la cantidad de sujetos utilizados en el estudio es limitada, donde los valores en una tabla normal se acercan bastante a 0, imposibilitando utilizar el test de chi-cuadrado. Este test permite establecer resultados en grupos de estudios pequeños.

Posteriormente los resultados son presentados de forma de prevalencias y porcentajes, tanto en tablas como en gráficos.

RESULTADOS

1. DISTRIBUCIÓN DE LA PRESENCIA DE *CANDIDA ALBICANS*

Tratamiento	Presencia:	Negativa	Positiva
Oralgene		3	7
Corega Tabs		4	6
Oralgene Tabletas		0	10
Vinagre Higueras		0	10
Suero fisiológico		0	10

Tabla I. Distribución de la presencia de *Candida albicans* en 5 minutos según los distintos tratamientos.

Tratamiento	Presencia:	Negativa	Positiva
Oralgene		10	0
Corega Tabs		10	0
Oralgene Tabletas		10	0
Vinagre Higueras		0	10
Suero fisiológico		0	10

Tabla II. Distribución de la presencia de *Candida albicans* en 60 minutos según los distintos tratamientos.

Tratamiento	Presencia:	Negativa	Positiva
Oralgene		10	0
Corega Tabs		9	1
Oralgene Tabletas		10	0
Vinagre Higueras		8	2
Suero fisiológico		0	10

Tabla III. Distribución de la presencia de *Candida albicans* en 480 minutos según los distintos tratamientos.

2. DISTRIBUCIÓN DEL CRECIMIENTO DE *CANDIDA ALBICANS*

Tratamiento	Cantidad:	Nulo	Escaso	Abundante
Oralgene		3	5	2
Corega Tabs		4	2	4
Oralgene Tabletas		0	9	1
Vinagre Higueras		0	0	10
Suero fisiológico		0	0	10

Tabla IV. Distribución del nivel de crecimiento de *Candida albicans* en 5 minutos según los distintos tratamientos.

Tratamiento	Cantidad:	Nulo	Escaso	Abundante
Oralgene		10	0	0
Corega Tabs		10	0	0
Oralgene Tabletas		10	0	0
Vinagre Higueras		0	3	7
Suero fisiológico		0	0	10

Tabla V. Distribución del nivel de crecimiento de *Candida albicans* en 60 minutos según los distintos tratamientos.

Tratamiento	Cantidad:	Nulo	Escaso	Abundante
Oralgene		10	0	0
Corega Tabs		9	1	0
Oralgene Tabletas		10	0	0
Vinagre Higueras		8	2	0
Suero fisiológico		0	0	10

Tabla VI. Distribución del nivel de crecimiento de *Candida albicans* en 480 minutos según los distintos tratamientos.

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para entender mejor las tablas estadísticas y comprender los resultados se deben considerar las siguientes abreviaciones:

Abreviación	Significado
CHX	Oralgene® - Clorhexidina
CT	Corega® Tabs
OT	Tabletas Oralgene®
V	Vinagre Higueras®
S	Suero fisiológico 0,9% (NaCl)
TratamientoX	Tratamiento = CHX ó CT ó OT ó V ó S X = periodo de tiempo X = 5 ó 60 ó 480 (minutos) Ejemplos: CHX5 : Tratamiento de clorhexidina en 5 minutos V60 : Tratamiento de vinagre en 60 minutos
Tratamiento(Y)	Tratamiento = CHX ó CT ó OT ó V ó S Y = eventos positivos del total Si Y = 1 = 10 eventos del total (10) Si Y = 0,1 = 1 evento del total (10) Ejemplos: OT(0,3) : 3 eventos de 10 de tabletas Oralgene CT(1) : 10 eventos de 10 de Corega Tabs S(0,7) : 7 eventos de 10 de suero fisiológico

Para analizar los resultados obtenidos mediante el Test de Fisher, se fijaron como hipótesis nula y alternativa correspondientemente:

H_0 = No existe diferencia en los resultados de crecimiento de *Candida albicans* posterior a los tratamientos.

H = Existe diferencia en los resultados de crecimiento de *Candida albicans* posterior a los tratamientos.

Al considerar que no hay diferencia en los tratamientos se considera tanto el agente como el tiempo transcurrido para su efecto.

Se confeccionaron dos tipos de tablas, las cuales agrupaban los resultados de p valor según el test de Fisher, relacionando los tipos de crecimiento de *Candida albicans* en consecuencia al tratamiento con sus respectivos tiempos; y se confeccionó otra a partir de las relaciones originadas entre los distintos tiempos de tratamientos de un mismo factor.

Analizando los resultados de p, con un nivel de significancia del 5%, se rechazaron todas aquellas hipótesis nulas de las relaciones de tratamientos que dieron un resultado menor a $\alpha=0,05$, por lo tanto en esos casos se apoyó la hipótesis alternativa que alude a la existencia de diferencias significativas en los resultados de los crecimientos de *Candida albicans* luego del tratamiento.

3.1 PRESENCIA DE CANDIDA ALBICANS ENTRE LOS TRATAMIENTOS

Factor	CHX (0,3)	CT (0,4)	OT (0)	V(0)	S (0)
CHX (0,3)	1	1	0,211	0,211	0,211
CT (0,4)	1	1	0,087	0,087	0,087
OT (0)	0,211	0,087	1	1	1
V(0)	0,211	0,087	1	1	1
S (0)	0,211	0,087	1	1	1

Tabla VII. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de presencia negativa de *Candida albicans* a los 5 minutos entre los tratamientos.

En la tabla VII se observa que no existen diferencias significativas en las relaciones de presencia negativa de *Candida albicans* a los 5 minutos de tratamiento entre todos los factores.

Factor	CHX (0,7)	CT (0,6)	OT (1)	V(1)	V(1)
CHX (0,7)	1	1	0,211	0,211	0,211
CT (0,6)	1	1	0,087	0,087	0,087
OT (1)	0,211	0,087	1	1	1
V(1)	0,211	0,087	1	1	1
S (1)	0,211	0,087	1	1	1

Tabla VIII. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de presencia positiva de *Candida albicans* a los 5 minutos entre los tratamientos.

En la tabla VIII se observa que no existen diferencias significativas en las relaciones de presencia positiva de *Candida albicans* a los 5 minutos de tratamiento entre todos los factores.

Factor	CHX (1)	CT (1)	OT (1)	V(0)	S (0)
CHX (1)	1	1	1	0	0
CT (1)	1	1	1	0	0
OT (1)	1	1	1	0	0
V(0)	0	0	0	1	1
S (0)	0	0	0	1	1

Tabla IX. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de presencia negativa de *Candida albicans* a los 60 minutos entre los tratamientos.

En la tabla IX se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de presencia negativa de *Candida albicans* a los 60 minutos de tratamiento de las relaciones Vinagre-Clorhexidina, Vinagre-Corega® Tabs y Vinagre-Tabletas de Oralgene®; así también como las de Suero fisiológico-Clorhexidina, Suero fisiológico-Corega® Tabs y Suero fisiológico-Tabletas de Oralgene®.

Factor	CHX (0)	CT (0)	OT (0)	V(1)	S (1)
CHX (0)	1	1	1	0	0
CT (0)	1	1	1	0	0
OT (0)	1	1	1	0	0
V(1)	0	0	0	1	1
S (1)	0	0	0	1	1

Tabla X. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de presencia positiva de *Candida albicans* a los 60 minutos entre los tratamientos.

En la tabla X se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de presencia positiva de *Candida albicans* a los 60 minutos de tratamiento de las relaciones Vinagre-Clorhexidina, Vinagre-Corega® Tabs y Vinagre-Tabletas de Oralgene®; así también como las de Suero fisiológico-Clorhexidina, Suero fisiológico-Corega® Tabs y Suero fisiológico-Tabletas de Oralgene®.

Factor	CHX (1)	CT (0,9)	OT (1)	V(0,8)	S (0)
CHX (1)	1	1	1	0,474	0
CT (0,9)	1	1	1	1	0
OT (1)	1	1	1	0,474	0
V(0,8)	0,474	1	0,474	1	0,001
S (0)	0	0	0	0,001	1

Tabla XI. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de presencia negativa de *Candida albicans* a los 480 minutos entre los tratamientos.

En la tabla XI se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de presencia negativa de *Candida albicans* a los 480 minutos de tratamiento del Suero Fisiológico-Clorhexidina, Suero Fisiológico-Corega® Tabs, Suero Fisiológico-Tabletas de Oralgene® y Suero Fisiológico-Vinagre.

Factor	CHX (0)	CT (0,1)	OT (0)	V(0,2)	S (1)
CHX (0)	1	1	1	0,474	0
CT (0,1)	1	1	1	1	0
OT (0)	1	1	1	0,474	0
V(0,2)	0,474	1	0,474	1	0,001
S (1)	0	0	0	0,001	1

Tabla XII. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de presencia positiva de *Candida albicans* a los 480 minutos entre los tratamientos.

En la tabla XI se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de presencia positiva de *Candida albicans* a los 480 minutos de tratamiento del Suero Fisiológico-Clorhexidina, Suero Fisiológico-Corega® Tabs, Suero Fisiológico-Tabletas de Oralgene® y Suero Fisiológico-Vinagre.

Presencia Positiva

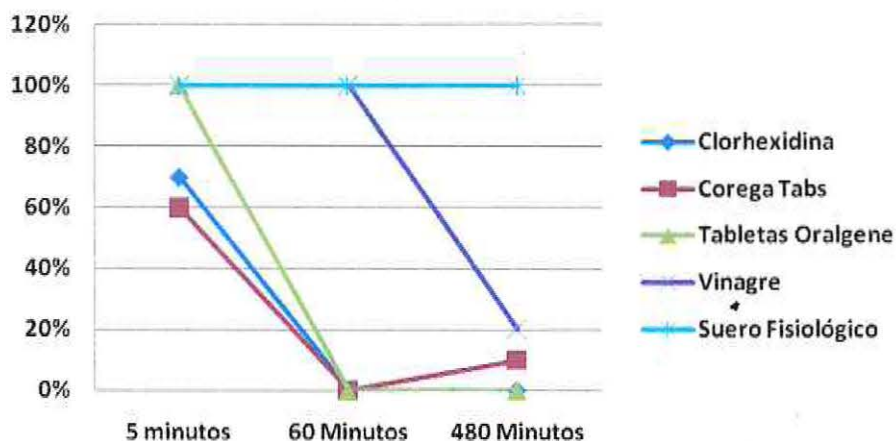


Grafico 1. Porcentaje de crecimiento positivo en el tiempo para los distintos tratamientos.

Presencia Negativa

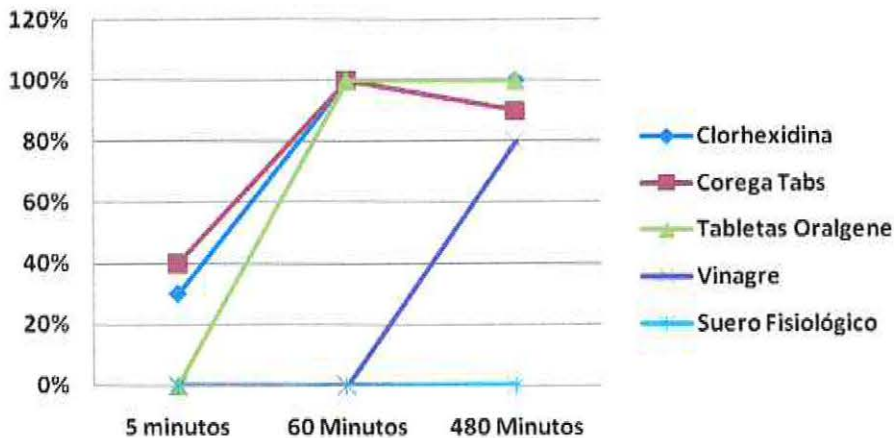


Grafico 2: Porcentaje de crecimiento negativo en el tiempo para los distintos tratamientos.

3.2 CRECIMIENTO DE *CANDIDA ALBICANS* ENTRE LOS TRATAMIENTOS

Factor	CHX (0,2)	CT (0,4)	OT (0,1)	V (1)	S (1)
CHX (0,2)	1	0,628	1	0,001	0,001
CT (0,4)	0,628	1	0,303	0,011	0,011
OT (0,1)	1	0,303	1	0	0
V (1)	0,001	0,011	0	1	1
S (1)	0,001	0,011	0	1	1

Tabla XIII. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de crecimiento abundante de *Candida albicans* a los 5 minutos entre los tratamiento.

En la tabla XIII se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento abundante de *Candida albicans* a los 5 minutos de tratamiento de Vinagre-Clorhexidina, Vinagre-Corega® Tabs y Vinagre-Tabletas de Oralgene®; así también como en las de Suero fisiológico-Clorhexidina, Suero fisiológico-Corega® Tabs y Suero fisiológico-Tabletas de Oralgene®.

Tabla XIV					
Factor	CHX (0,5)	CT (0,2)	OT (0,9)	V (0)	S (0)
CHX (0,5)	1	0,35	0,141	0,033	0,033
CT (0,2)	0,35	1	0,005	0,474	0,474
OT (0,9)	0,141	0,005	1	0	0
V (0)	0,033	0,474	0	1	1
S (0)	0,033	0,474	0	1	1

Tabla XIV. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de crecimiento escaso de *Candida albicans* a los 5 minutos entre los tratamiento.

En la tabla XIV se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento escaso de *Candida albicans* a los 60 minutos de tratamiento de Clorhexidina-Vinagre, Clorhexidina-Suero Fisiológico, Corega® Tabs-Tabletas Oralgene®, Tabletas Oralgene®-Vinagre y Tabletas Oralgene-Suero Fisiológico.

Tabla XV					
Factor	CHX (0,3)	CT (0,4)	OT (1)	V (0)	S (0)
CHX (0,3)	1	1	0,211	0,211	0,211
CT (0,4)	1	1	0,087	0,087	0,087
OT (0)	0,211	0,087	1	1	1
V (0)	0,211	0,087	1	1	1
S (0)	0,211	0,087	1	1	1

Tabla XV. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de crecimiento nulo de *Candida albicans* a los 5 minutos entre los tratamiento.

En la tabla XV se observa que no existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento nulo de *Candida albicans* a los 5 minutos de tratamiento entre todos los tratamientos.

Factor	CHX (0)	CHX (0)	OT (0)	V (0,7)	S (1)
CHX (0)	1	1	1	0,003	0
CT (0)	1	1	1	0,003	0
OT (0)	1	1	1	0,003	0
V (0,7)	0,003	0,003	0,003	1	0,211
S (1)	0	0	0	0,211	1

Tabla XVI. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de crecimiento abundante de *Candida albicans* a los 60 minutos entre los tratamiento.

En la tabla XVI se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento abundante de *Candida albicans* a los 60 minutos de tratamiento de Vinagre-Clorhexidina, Vinagre-Corega® Tabs y Vinagre-Tabletas de Oralgene®; así también como el Suero fisiológico-Clorhexidina, Suero fisiológico-Corega® Tabs y Suero fisiológico-Tabletas de Oralgene®.

Factor	CHX (0)	CT (0)	OT (0)	V (0,3)	S (0)
CHX (0)	1	1	1	0,211	1
CT (0)	1	1	1	0,211	1
OT (0)	1	1	1	0,211	1
V (0,3)	0,211	0,211	0,211	1	0,211
S (0)	1	1	1	0,211	1

Tabla XVII. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de crecimiento escaso de *Candida albicans* a los 60 minutos entre los tratamiento.

En la tabla XVII se observa que no existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento escaso de *Candida albicans* a los 60 minutos de tratamiento entre todos los tratamientos.

Factor	CHX (1)	CT (1)	OT (1)	V (0)	S (0)
CHX (1)	1	1	1	0	0
CT (1)	1	1	1	0	0
OT (1)	1	1	1	0	0
V (0)	0	0	0	1	1
S (0)	0	0	0	1	1

Tabla XVIII. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de crecimiento nulo de *Candida albicans* a los 60 minutos entre los tratamiento.

En la tabla XVIII se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento nulo de *Candida albicans* a los 60 minutos de tratamiento de Vinagre-Clorhexidina, Vinagre-Corega® Tabs y Vinagre-Tabletas de Oralgene®; así también como el Suero fisiológico-Clorhexidina, Suero fisiológico-Corega® Tabs y Suero fisiológico-Tabletas de Oralgene®.

Factor	CHX (0)	CT (0)	OT (0)	V (0)	S (1)
CHX (0)	1	1	1	1	0
CT (0)	1	1	1	1	0
OT (0)	1	1	1	1	0
V (0)	1	1	1	1	0
S (1)	0	0	0	0	1

Tabla XIX. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de crecimiento abundante de *Candida albicans* a los 480 minutos entre los tratamiento.

En la tabla XIX se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento abundante de *Candida albicans* a los 480 minutos de tratamiento de Suero Fisiológico-Clorhexidina, Suero Fisiológico-Corega® Tabs, Suero Fisiológico-Tabletas de Oralgene® y Suero Fisiológico-Vinagre.

Tabla XX					
Factor	CHX (0)	CT (0,1)	OT (0)	V (0,2)	S (0)
CHX (0)	1	1	1	0,474	1
CT (0,1)	1	1	1	1	1
OT (0)	1	1	1	0,474	1
V (0,2)	0,474	1	0,474	1	0,474
S (0)	1	1	1	0,474	1

Tabla XX. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de crecimiento escaso de *Candida albicans* a los 480 minutos entre los tratamiento.

En la tabla XX se observa que no existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento escaso de *Candida albicans* a los 480 minutos de tratamiento entre todos los tratamientos.

Tabla XXI					
Factor	CHX (1)	CT (0,9)	OT (1)	V (0,8)	S (0)
CHX (1)	1	1	1	0,474	0
CT (0,9)	1	1	1	1	0
OT (1)	1	1	1	0,474	0
V (0,8)	0,474	1	0,474	1	0,001
S (0)	0	0	0	0,001	1

Tabla XXI. Resultados del test de Fisher aplicado en la relación de crecimiento nulo de *Candida albicans* a los 480 minutos entre los tratamiento.

En la tabla XXI se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento nulo de *Candida albicans* a los 480 minutos de tratamiento de Suero Fisiológico-Clorhexidina, Suero Fisiológico-Corega® Tabs, Suero Fisiológico-Tabletas de Oralgene® y Suero Fisiológico-Vinagre.

Crecimiento Abundante

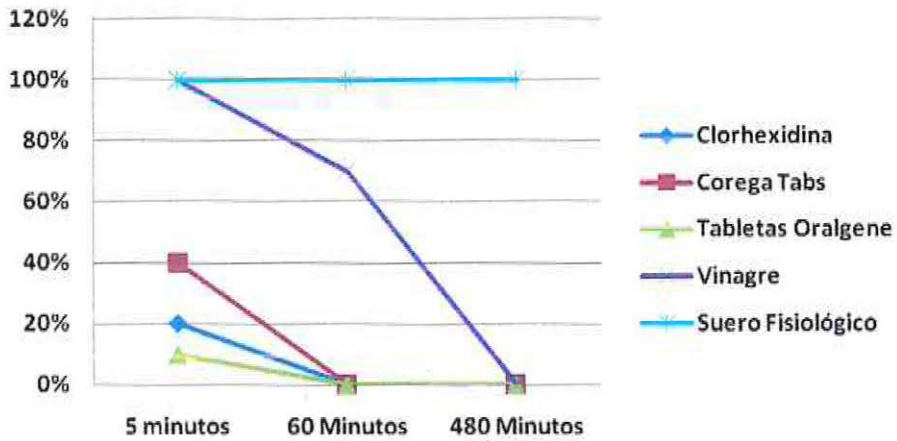


Grafico 3. Porcentaje de crecimiento abundante en el tiempo para los distintos tratamientos.

Crecimiento Escaso

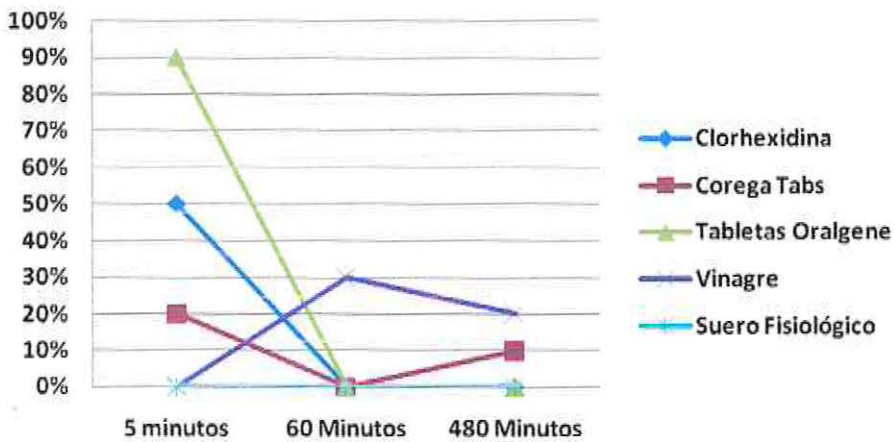


Grafico 4. Porcentaje de crecimiento escaso en el tiempo para los distintos tratamientos.

Crecimiento Nulo

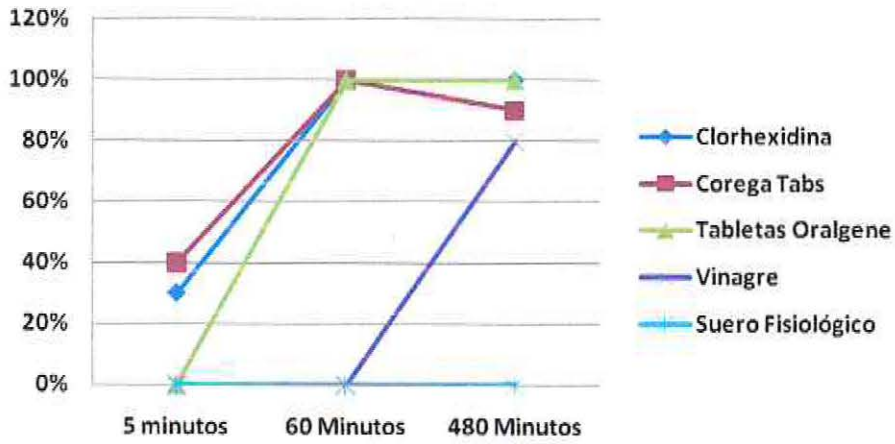


Grafico 5. Porcentaje de crecimiento nulo en el tiempo para los distintos tratamientos.

Tabla XXII							
Evento	CHX5 (0,3)	CHX60 (1)	CHX480 (1)	Evento	V5 (0)	V60 (0)	V480 (0,8)
CHX5 (0,3)	1	0,003	0,003	V5 (0)	1	1	0,001
CHX60 (1)	0,003	1	1	V60 (0)	1	1	0,001
CHX480 (1)	0,003	1	1	V480 (0,8)	0,001	0,001	1
Evento	CT5 (0,4)	CT60 (1)	CT480(0,9)	Evento	S5 (0)	S60 (0)	S480 (0)
CT5 (0,4)	1	0,011	0,057	S5 (0)	1	1	1
CT60 (1)	0,011	1	1	S60 (0)	1	1	1
CT480(0,9)	0,057	1	1	S480 (0)	1	1	1
		Evento	OT5 (0)	OT60 (1)	OT480 (1)		
		OT5 (0)	1	0	0		
		OT60 (1)	0	1	1		
		OT480 (1)	0	1	1		

Tabla XXII. Resultados del test de Fisher para la relación de presencia negativa de *Candida albicans* en cada tratamiento entre los distintos tiempos.

En la tabla XXII se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de presencia negativa de *Candida albicans* en tratamientos de clorhexidina comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos y 5 minutos con 480 minutos; en tratamientos de Corega® Tabs comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos; en los tratamientos de Tabletas de Oralgene® comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos y 5 minutos con 480 minutos; en tratamientos de Vinagre comparando los resultados de 480 minutos con 5 minutos y 480 minutos con 60 minutos.

No existen diferencias significativas en las relaciones de los crecimiento nulo de *Candida albicans* en tratamientos de Suero fisiológico en los diferentes tiempos, así tampoco se puede determinar una clara diferencia entre los resultados de 5 minutos con 480 minutos para Corega® Tabs.

Tabla XXIII							
Evento	CHX5 (0,7)	CHX60 (0)	CHX480 (0)	Evento	V5 (1)	V60 (1)	V480 (0,2)
CHX5 (0,7)	1	0,003	0,003	V5 (1)	1	1	0,001
CHX60 (0)	0,003	1	1	V60 (1)	1	1	0,001
CHX480 (0)	0,003	1	1	V480 (0,2)	0,001	0,001	1
Evento	CT5 (0,6)	CT60 (0)	CT480(0,1)	Evento	S5 (1)	S60 (1)	S480 (1)
CT5 (0,6)	1	0,011	0,057	S5 (1)	1	1	1
CT60 (0)	0,011	1		S60 (1)	1	1	1
CT480(0,1)	0,057	1	1	S480 (1)	1	1	1
		Evento	OT5 (1)	OT60 (0)	OT480 (0)		
		OT5 (1)	1	0	0		
		OT60 (0)	0	1	1		
		OT480 (0)	0	1	1		

Tabla XXIII. Resultados del test de Fisher para la relación de presencia positiva de *Candida albicans* en cada tratamiento entre los distintos tiempos.

En la tabla XXIII se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de presencia positiva de *Candida albicans* en los tratamientos de Clorhexidina comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos y 5 minutos con 480 minutos; en los tratamientos de Corega® Tabs comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos; en los tratamientos de Tabletas Oralgene® comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos y 5 minutos con 480 minutos; en tratamientos de Vinagre comparando los resultados de 480 minutos con 5 minutos y 480 minutos con 60 minutos.

No existen diferencias significativas en las relaciones de la presencia positiva de *Candida albicans* en los tratamientos de Suero fisiológico en los diferentes tiempos, así como tampoco se puede determinar una clara diferencia entre los resultados de 5 minutos con 480 minutos para Corega® Tabs.

Tabla XXIV							
Evento	CHX5 (0,3)	CHX60 (1)	CHX480 (1)	Evento	V5 (0)	V60 (0)	V480 (0,8)
CHX5 (0,3)	1	0,003	0,003	V5 (0)	1	1	0,001
CHX60 (1)	0,003	1	1	V60 (0)	1	1	0,001
CHX480 (1)	0,003	1	1	V480 (0,8)	0,001	0,001	1
Evento	CT5 (0,4)	CT60 (1)	CT480(0,9)	Evento	S5 (0)	S60 (0)	S480 (0)
CT5 (0,4)	1	0,011	0,057	S5 (0)	1	1	1
CT60 (1)	0,011	1	1	S60 (0)	1	1	1
CT480(0,9)	0,057	1	1	S480 (0)	1	1	1
		Evento	OT5 (0)	OT60 (1)	OT480 (1)		
		OT5 (0)	1	0	0		
		OT60 (1)	0	1	1		
		OT480 (1)	0	1	1		

Tabla XXIV. Resultados del test de Fisher para la relación de crecimiento nulo de *Candida albicans* en cada tratamiento entre los distintos tiempos.

En la tabla XXIV se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento nulo de *Candida albicans* en los tratamientos de Clorhexidina comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos y 5 minutos con 480 minutos; en los tratamientos de Corega® Tabs comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos; en los tratamientos de Tabletas Oralgene® comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos y 5 minutos con 480 minutos; en los tratamientos de Vinagre comparando los resultados de 480 minutos con 5 minutos y 480 minutos con 60 minutos.

No existen diferencias significativas en las relaciones de los crecimientos nulos de *Candida albicans* en los tratamientos de Suero fisiológico en los diferentes tiempos, así como tampoco se puede determinar una clara diferencia entre los resultados de 5 minutos con 480 minutos para Corega® Tabs.

Tabla XXV							
Evento	CHX5 (0,5)	CHX60 (0)	CHX480 (0)	Evento	V5 (0)	V60 (0,3)	V480 (0,2)
CHX5 (0,5)	1	0,033	0,033	V5 (0)	1	0,211	0,474
CHX60 (0)	0,033	1		V60 (0,3)	0,211	1	1
CHX480 (0)	0,033		1	V480 (0,2)	0,474	1	1
Evento	CT5 (0,2)	CT60 (0)	CT480(0,1)	Evento	S5 (0)	S60 (0)	S480 (0)
CT5 (0,2)	1	0,474	1	S5 (0)	1	1	1
CT60 (0)	0,474	1	1	S60 (0)	1	1	1
CT480(0,1)	1	1	1	S480 (0)	1	1	1
		Evento	OT5 (0,9)	OT60 (0)	OT480 (0)		
		OT5 (0,9)	1	0	0		
		OT60 (0)	0	1	1		
		OT480 (0)	0	1	1		

Tabla XXV. Resultados del test de Fisher para la relación de crecimiento escaso de *Candida albicans* en cada tratamiento entre los distintos tiempos.

En la tabla XXV se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento escasos de *Candida albicans* en tratamientos de Clorhexidina comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos y 5 minutos con 480 minutos; en las tratamientos de Tabletas Oralgene® comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos y 5 minutos con 480 minutos.

No se observan diferencias significativas en la relación de los crecimientos escasos de *Candida albicans* en tratamientos de Corega® Tabs, Vinagre, y Suero fisiológico en los diferentes tiempos.

Tabla XXVI							
Evento	CHX5 (0,2)	CHX60 (0)	CHX480 (0)	Evento	V5 (1)	V60 (0,7)	V480 (0)
CHX5 (0,2)	1	0,474	0,474	V5 (1)	1	0,211	0
CHX60 (0)	0,474	1	1	V60 (0,7)	0,211	1	0,003
CHX480 (0)	0,474	1	1	V480 (0)	0	0,003	1
Evento	CT5 (0,4)	CT60 (0)	CT480(0)	Evento	S5 (1)	S60 (1)	S480 (1)
CT5 (0,4)	1	0,087	0,087	S5 (1)	1	1	1
CT60 (0)	0,087	1	1	S60 (1)	1	1	1
CT480(0)	0,087	1	1	S480 (1)	1	1	1
		Evento	OT5 (0,1)	OT60 (0)	OT480 (0)		
		OT5 (0,1)	1	1	1		
		OT60 (0)	1	1	1		
		OT480 (0)	1	1	1		

Tabla XXVI. Resultados del test de Fisher para la relación de crecimiento abundante de *Candida albicans* en cada tratamiento entre los distintos tiempos.

En la tabla XXVI se observa que existen diferencias significativas en las relaciones de crecimiento abundante de *Candida albicans* en los tratamientos de Corega® Tabs comparando los resultados de 5 minutos con 60 minutos y 5 minutos con 480 minutos; en los tratamientos de Vinagre comparando los resultados de 480 minutos con 5 minutos y 480 minutos con 60 minutos.

No se observan diferencias significativas en la relación de los crecimientos abundantes de *Candida albicans* en tratamientos de Clorhexidina, Tabletas Oralgene®, ni Suero fisiológico en los diferentes tiempos.

DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tuvo por objetivo poner a prueba distintos agentes utilizados en la limpieza protésica, enfocándonos en su acción ante la *Candida albicans*, hongo saprofita de la cavidad oral, con gran potencial patógeno y relacionado a una de las alteraciones más prevalentes en la cavidad oral de pacientes con aparato protésico removible, la estomatitis protésica (Radfor et al., 1999; Kulak et al., 1997).

Así fue como se evaluó a los peróxidos alcalinos, entre los que utilizamos a las tabletas efervescentes Corega® Tabs, las que presentan estudios que avalan su potencial antifúngico (Sousa et al., 2009; Montagner et al., 2009), así también las tabletas efervescentes Oralgene®, las que si bien, no presentan estudios publicados a la fecha, ya han empezado a ser comercializadas en el mercado nacional. También se evaluó la clorhexidina la cual presenta un efecto antifúngico y antimicrobiano comprobado (Ellepola AN & Samaranayake LP, 2001;), mas son pocos los que han estudiado el efecto sobre la *Candida albicans* de la concentración al 0,12% (Sousa et al., 2009) centrándose principalmente en el *gold standard* de esta, el 0,2%. (da Silva et al., 2008). A estos agentes de uso odontológico conocido y comercializados agregamos el vinagre, que si bien ha sido puesto a prueba en varios estudios comprobándose un efecto antibacteriano y antifúngico (Sousa et al., 2009) ninguno ha utilizado el grado acidez que puede encontrarse en el comercio local, correspondiente al 4%, coexistiendo otros que han usado grados de acidez más elevados (5%, 10%). Por último, se tuvo un grupo control de suero fisiológico, a fin de observar de manera sutil, si es que la forma en que se aplicaron los tratamientos *per se* era capaz de disminuir o eliminar la *Candida albicans*, no mediando un efecto químico en su realización, atribuyéndole sólo una acción mecánica de estos, así también poder establecer un parámetro comparativo para los tratamientos.

Luego de realizar la inoculación, con 0,1 mililitros de una solución de *Candida albicans* de densidad óptica de 0.284, correspondiente a 1×10^6 células por mililitro (la misma utilizada en los estudios disponibles (Cervantes et al., 2009; da Silva et al., 2008), a fin de poder comparar nuestros resultados), de todos los rectángulos acrílicos de 200 mm² en 1,5 mililitro de caldo de Sabouraud, correspondientes a la muestra, se dejaron cultivar por 48 horas, y se procedió a la aplicación de los tratamientos. Los resultados arrojados demuestran diferencias significativas en cuanto al crecimiento de *Candida albicans*, así como también, diferencias significativas en el tiempo en que estuvieron actuando los agentes estudiados.

Se escogió evaluar 3 periodos de tiempo, 5, 60 y 480 minutos. El periodo de 5 minutos se escogió según las indicaciones del fabricante de Corega® Tabs, que indica que es el tiempo por el que se debe dejar actuar, para luego terminar con una limpieza mecánica. Así esperamos reflejar en este tiempo su máxima acción. Se midió la acción de los agentes a los 60 minutos, en concordancia con otros estudios que han evaluado los efectos antifúngicos en ese periodo.

Por último se observaron los resultados en 480 minutos de acción constante de los agentes, lo que equivale al supuesto periodo de sueño que debería tener un adulto portador de prótesis removible, quien se la ha retirado según las indicaciones de su odontólogo, y dejado en un vaso con el agente durante la noche. Por causas económicas no pudieron evaluarse otros periodos de tiempo, como los 3 minutos que indica el fabricante de las tabletas efervescentes Oralgene®, aunque sin duda esperamos que este agente mantenga su efectividad al momento de evaluarlo a los 5 minutos, lo que de otra manera lo haría muy sensible al tiempo, y de una acción predominantemente fungistática.

Al observar los resultados, podemos concluir que ningún tratamiento fue completamente fungicida a los 5 minutos de acción, sólo siendo en parte las Corega® Tabs y la clorhexidina 0,12% de Oralgene®, con un 40% y 30% de presencia negativa de *Candida albicans*, respectivamente (Tabla 1), las cuales no fueron estadísticamente significativas. Se aprecia de forma gráfica, que el potencial fungicida se va acrecentando en todos los tratamientos en razón del tiempo (Grafico 2).

Podemos observar que si bien, la gran mayoría de los tratamientos no son fungicidas inicialmente, si tienen un gran potencial fungistático, reduciendo la cantidad de *Candida albicans*, presentes en los cultivos, tomando como comparación al control de suero fisiológico (Grafico 3). Por esto, es que clasificaremos como fungistáticos a aquellos tratamientos con crecimientos escasos, los que demuestran una reducción significativa de *Candida albicans* en comparación al control.

Las tabletas efervescentes Corega® Tabs, si bien, no tuvieron efectividad fungicida significativa a los 5 minutos, si tuvieron resultados significativos a los 60 minutos y a los 480 minutos de tratamiento, correspondientes a 100% y 90% respectivamente, cuando se les comparó con el grupo control. Ahora bien, cuando analizamos el efecto fungistático de estas, se puede apreciar una cantidad de crecimientos escasos significativamente mayor a los 5 minutos que el obtenido por las tabletas efervescentes Oralgene®.

Finalmente cuando analizamos los tiempos en que estuvo actuando Corega® Tabs, se observa un aumento significativo de su acción fungicida a los 60 minutos, cuando es comparado con los 5 minutos.

Estos resultados se contraponen a lo concluido por Sousa et al. (2009), quien evaluó el potencial fungistático de Corega® Tabs a los 10 minutos de acción, con las mismas condiciones de siembra, aunque utilizando áreas de acrílico más reducidas (4 mm²), así como cantidad de agente (10 mililitros), quien luego de realizar la lectura de UFC, no obtuvo efecto fungicida por parte de Corega® Tabs en las 10 muestras utilizadas. Así también, sus resultados de capacidad fungistática no fueron estadísticamente significativos, concluyendo que es inefectivo al momento de reducir la cantidad de colonias de *Candida albicans* presentes en la muestra al actuar por 10 minutos. Cabe destacar que en nuestro estudio se obtuvieron crecimientos escasos a los 5 minutos de acción de Corega® Tabs, efecto que se incrementó al pasar el tiempo, alcanzando un 100% de prevalencia de crecimientos nulos al cumplirse 1 hora de

acción. Creemos que esta diferencia se debe al procedimiento de laboratorio, ya que no se precisa como se utilizaron las Corega® Tabs, refiriéndose solamente a que se introdujo en una solución de esta, lo que nos hace pensar que no se valoró el poder efervescente de este producto, a diferencia de nuestro estudio. Por otra parte tampoco se detalla la temperatura de esta solución, dato importante si pensamos que el fabricante detalla el usar "agua tibia" para una correcta acción del producto.

El estudio de Montagner et al. (2009), arrojó resultados similares a nuestro estudio. Midiendo la turbidez del caldo de Sabouraud 48 horas después de la acción del agente desinfectante por 5 minutos sobre un trozo acrílico (100mm²), concluyó que las Corega® Tabs producían una reducción significativa de *Candida albicans*, aunque no producían un efecto fungicida en este tiempo.

Otros estudios como el de Paranhos et al. (2009), que evaluó tabletas efervescentes de peróxidos alcalinos marca Bonyplus® en 5 minutos de acción, descarto que estas presenten un poder fungicida. Lo mismo concluyeron Da Silva et al. (2008), quien también trabajo con tabletas efervescentes de peróxidos alcalinos, esta vez sin detallar la marca comercial.

La clorhexidina al 0,12% marca Oralgene® también tuvo un porcentaje fungicida a los 5 minutos, pero este no fue significativo. El porcentaje fungicida aumento a un 100% tanto para los tiempos 60 minutos, y 480 minutos, al comparar la presencia de *Candida albicans* con el grupo control, siendo estadísticamente significativo. Ahora bien, cuando analizamos el efecto fungistático de este, se puede apreciar una cantidad de crecimientos escasos significativamente mayor a los 5 minutos que el obtenido por el vinagre y el grupo control.

Cuando analizamos el efecto en el tiempo que tiene la clorhexidina al 0,12% sobre la *Candida albicans*, vemos un aumento estadísticamente significativo de la capacidad fungicida de este a los 60 minutos de acción. Así también se observa una reducción estadísticamente significativa de los crecimientos escasos de los 60 minutos en adelante, lo que se atribuye al 100% de crecimientos nulos obtenidos posteriormente.

Sousa et al. (2009), obtuvo sólo diferencias significativas en la clorhexidina al 0,12%, concluyendo a su vez que es el agente más efectivo en la reducción de colonias de *Candida albicans*. Esto se condice con nuestros resultados, que si bien no son del todo comparables por claras diferencias metodológicas (tiempo de acción, área acrílica, cantidad de clorhexidina utilizada), si podemos afirmar que la clorhexidina tiene un gran poder fungistático y fungicida, el cual está determinado, entre otras cosas, por el tiempo de acción.

Otros estudios evalúan el efecto de clorhexidina al 2%, dentro de los cuales destacamos el de Montagner et al. (2009), quien midiendo la turbidez determino que esta concentración no presenta características fungicidas ni fungistáticas ante la *Candida albicans*, recomendando el uso de clorhexidina al 4% para el tiempo de 10 minutos. Estos resultados no son consistentes con los obtenidos en este estudio, en donde utilizando una concentración menor y por menos tiempo (5 minutos), ya

obtuvimos efecto fungicida y fungistático. Creemos por tanto, que el método de la turbidez no es el adecuado para poder discriminar si se ha disminuido o eliminado completamente a la *Candida albicans*, y es necesario realizar cultivos, a fin de observar si realmente la turbidez se le atribuye al hongo, o es producto del agente desinfectante.

Las tabletas efervescentes Oralgene®, mostraron la mayor prevalencia de casos nulos y escasos en los primeros 5 minutos (Grafico 4), siendo el producto más efectivo de todos si pensamos en el poder fungistático, ya que en este tiempo contabilizo 9 crecimientos escasos, valores estadísticamente significativos si lo comparamos con el crecimiento escaso obtenido por Corega® Tabs, Vinagre y el grupo control, en el mismo tiempo de acción. Ahora bien, su poder fungicida a los 5 minutos da un porcentaje prevalencia de 0% de casos, lo que permite inferir, que es ineficaz si pretendemos eliminar alguna patología causada por la *Candida albicans*, ya que esta, si bien disminuye en cantidad, aún queda lo suficiente para colonizar la mucosa oral.

Por otra parte, a los 60 y 480 minutos, se observa un 100% de prevalencia de presencia nula de *Candida albicans*, siendo estadísticamente significativos al ser comparados con el grupo control. También se observan diferencias significativas con el vinagre en el intervalo de 60 minutos para la presencia negativa de *Candida albicans*.

Al ver el efecto fungicida en el tiempo, se pueden observar diferencias significativas en los 60 minutos y en los 480 minutos, cuando son comparadas con su efecto fungicida producido a los 5 minutos de acción.

Si bien no existen estudios de este agente comercial específico, si podemos nombrar al estudio de Da Silva et al. (2008), que no encontró diferencias significativas frente al grupo control; y el estudio de Paranhos et al. (2009) que luego de utilizar por 5 minutos tabletas efervescentes de peróxidos alcalinos, no encontró un potencial fungicida en estos, lo que se condice con los resultados expuestos obtenidos en el mismo tiempo.

Por otra parte, el vinagre Higueras®, sólo obtuvo presencia negativa de *Candida albicans* a los 480 minutos de acción, con una prevalencia del 80% de las muestras para ese periodo de tiempo evaluado. Este resultado es estadísticamente significativo si lo comparamos con el grupo control.

Su acción fungistática a los 5 minutos es 0%, y a los 60 minutos es del 30%, siendo el agente evaluado menos eficaz en ambos periodos.

Nuestros resultados se condicen con lo obtenido por Sousa et al. (2009) en su estudio, quien afirmó no encontrar una disminución en la cantidad de *Candida albicans* respecto al control, luego de 10 minutos de acción del vinagre. Esto nos lleva a pensar que el inicio de la acción fungistática del vinagre se inicia luego de 10 minutos, pero antes de los 60 minutos.

El estudio de Da Silva et al. (2008) demostró que luego de 10 minutos de acción del vinagre, se obtuvieron significativas en la presencia de *Candida albicans*, recomendando el uso del vinagre como agente de limpieza. Es posible que estos

resultados se escapen de lo obtenido en este estudio debido a las características del vinagre en si, como el grado de acidez, el cual no es detallado en el estudio.

Se concluye que su máxima acción fungicida se produce, significativamente, en el periodo de los 480 minutos.

El grupo control, correspondiente a suero fisiológico, mostro un crecimiento de *Candida albicans* en todos los tiempos, de tal envergadura, que se hizo imposible poder contabilizar las UFC presentes en el medio de cultivo.

Debemos precisar que la gran mayoría de los estudios analizados en el presente trabajo, al momento de preparar las superficies acrílicas, estas fueron pulidas por distintos sistemas. Esto no se relaciona con la realidad, en donde la zona tisular de las prótesis removibles no debe ser pulidas, y sólo se debe eliminar alguna irregularidad (en caso que esta exista) con mucho cuidado, para evitar alterar la correcta adaptación a la mucosa subyacente.

Es importante aclarar que los estudios publicados sobre Corega® Tabs, no precisan como fue su utilización, es decir, si se siguieron las instrucciones del fabricante, quien indica utilizar agua tibia, y permitir que la pastilla realice su efervescencia colocada debajo de la prótesis. Al contrario, sólo detallan que se utilizó una solución con el agente Corega® Tabs, lo que hace pensar que se trabajó en condiciones iguales de temperatura para todos los agentes, y que no se sumó el efecto efervescente del producto ante la *Candida albicans*.

Por lo tanto existe una fuerte asociación entre los diferentes tratamientos evaluados y la reducción de crecimiento del *Candida albicans*. Todos ellos con sus particularidades nos hacen pensar que serían efectivos al menos en el control fúngico en prótesis acrílicas de termocurado, más aún si pensamos en complementar su acción con una correcta limpieza mecánica.

Consideramos relevantes los resultados obtenidos en este estudio, especialmente aquellos del periodo de 480 horas, debido a que las indicaciones odontológicas precisan el retiro de prótesis removibles durante el descanso nocturno, debido a que su uso puede traer consecuencias irreversibles, como reabsorción ósea, hiperplasia de mucosas e incluso infecciones fúngicas y bacterianas.

CONCLUSION

1. Sólo la clorhexidina al 0,12% de Oralgene® y las Corega® Tabs, tuvieron una efectividad fungicida contra la *Candida albicans* a los 5 minutos de acción, siendo del orden de 30% y 40%, respectivamente. Sin embargo, ambos resultados no lograron ser estadísticamente significativos al ser comparados con el resto de los tratamientos, así tampoco con el grupo control.}
2. A los 60 minutos de acción demostraron una efectividad fungicida contra la *Candida albicans*, la clorhexidina al 0,12% de Oralgene®, las tabletas efervescentes Oralgene®, y las Corega® Tabs, todos con un 100% de presencia negativa de *Candida albicans*. Al ser analizados estadísticamente, todos estos resultados fueron significativos
3. Todos los tratamientos fueron fungicidas efectivos contra la *Candida albicans* a los 480 minutos de tratamiento al ser comparados con el grupo control. La clorhexidina al 0,12% de Oralgene® y las tabletas efervescentes Oralgene® mantuvieron el 100% de presencia negativa mostrado a los 60 minutos de acción. Por su parte Corega® Tabs disminuyó un 10% su efectividad. El vinagre aparece con un 80% de efecto fungicida .Todos estos resultados fueron estadísticamente significativos.
4. La clorhexidina al 0,12% de Oralgene® fue estadísticamente efectiva contra la *Candida albicans*, tanto a los 60 minutos, como a los 480 minutos, al igual que las tabletas efervescentes Oralgene®. Las Corega® Tab sólo mostraron una efectividad estadísticamente significativa a los 60 minutos de acción. Por su parte el vinagre demostró ser estadísticamente significativo sólo a los 480 minutos de acción.

SUGERENCIAS

Es importante que se siga investigando, en busca de soluciones efectivas en el control bacteriano y fúngico del biofilm patógeno relacionado con prótesis dentales, además, estas deben ser fáciles de aplicar por parte del usuario que en su mayoría son pacientes de avanzada edad, con una capacidad motriz disminuida. Así mismo, se debe recordar que estos pacientes portadores de aparatología protésica removible no poseen una gran capacidad económica, por lo que se debe priorizar la búsqueda de soluciones económicas.

Creemos relevante continuar realizando estudios in vitro, a modo de evaluar científicamente nuevos agentes que salgan al mercado, para lo cual se deben mantener los estándares de laboratorio utilizados a nivel internacional, a fin de poder realizar comparaciones entre estudios. Por lo mismo, es importante aumentar el número de la muestra, para obtener resultados estadísticamente significativos y más consistentes.

Finalmente, invitamos a los futuros investigadores a realizar ensayos clínicos con aquellos agentes que presenten una cantidad significativa de investigaciones de sus beneficios y posibles daños, ya que el laboratorio elimina una serie de factores inherentes del organismo, que pueden potenciar o atenuar el efecto de los tratamientos puestos a prueba en el presente estudio, como en otros de la literatura.

RESUMEN

Introducción

En cuanto a salud oral, los adultos mayores, por el uso de prótesis removible tienden a presentar ciertas lesiones, que están asociadas a mala higiene de estas. Lesiones como la estomatitis protésicas se pueden prevenir controlando entre otros factores el biofilm patógeno.

Objetivo

Determinar la eficacia fungicida in vitro del ácido acético al 4%, el gluconato de clorhexidina al 0.12%, y dos marcas comerciales de peróxidos alcalinos, sobre la *Candida albicans* en una superficie acrílica de termocurado.

Material y métodos

En el estudio de diseño experimental in vitro aleatorizado, se trabajo con 150 trozos de acrílicos de termocurado, estandarizados, a los cuales se les cultivo en su superficie cepas de *Cándida albicans*, ayudados con una suspensión estandarizada por un espectofotometro a una densidad óptica de 0,284. Luego, se les asigno un tratamiento aleatorio de acético al 4%, gluconato de clorhexidina al 0.12%, Corega Tabs, Oralgene Tabs y suero fisiológico (control); en tiempos de 5, 60 y 480 minutos. Luego de esto se controlo con un cultivo Cromo-Agar específico para corroborar el efecto fungistático.

Resultados

Todos los tratamientos mostraron una eficacia fungistática mayor al 80% luego de los 480 minutos, encontrándose diferencias significativas a los 5 y 60 minutos.

Discusión y conclusión

Los agentes estudiados son eficaces fungicidas después de los 480 minutos, reduciendo en forma importante el crecimiento del *Candida albicans*. Todos ellos nos hacen pensar que serían efectivos al menos en el control fúngico en prótesis acrílicas, más aún si pensamos en complementar su acción con la limpieza mecánica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akpan A; Morgan R. (2001): Oral candidiasis. *Postgrad Med J.* 78: 455-459.
2. Ampel NM. (1996): Emerging disease issues and fungal pathogens associated with HIV infection. *Emerg Infect Dis.* 2:109-116.
3. Baillie GS; Douglas LJ. (1998): Effect of growth rate on resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 8:1900-1905.
4. Banabé W; De Mendonca T; Pimenta F; Pegpraro L; Scolaro J. (2004): Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *J Oral Rehab.* 31:453-459.
5. Barbeau J; Seguin J; Goulet JP. (2003): Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture-related stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 96: 51-59.
6. Barrientos M; Peric K; Sepulveda R; Von Marttens. (2002): ¿En Consultorios? Implantes y Prótesis Removible en la Tercera Edad. *Rev Tecnología Dental.* 71-79.
7. Bilhan H; Sulun T; Erkoşe G; Kurt H; Erturan Z; Kutay O; Bilgin T. (2009): The role of *Candida albicans* hyphae and *Lactobacillus* in denture-related stomatitis. *Clin Oral Invest.* 13: 363-368.
8. Biocina-Lukenda D; Gregurek-Novak T; Cekic-Arambasin A. (2004): Denture stomatitis associated with allergic reaction to teeth prostheses. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 18: 227-229.
9. Brevis P; Cancino J; Cantin M. (2008): Estomatitis Subprotesis: Estudio clínico y microbiológico de *Candida*. *J. Odontostomat.* 2: 101-108.
10. Chandra J; Mukherjee PK; Leidich SD; Faddoul FF; Hoyer LL; Douglas LJ; Ghannoum MA. (2001): Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *J Dent Res.* 3: 903-908.
11. Christopher R; Edward A; Edgerton M. (2009): Sensitivity of *Candida albicans* Biofilm Cells Grown on Denture Acrylic to Antifungal Proteins and Chlorhexidine. *Arch Oral Biol.* 54: 588-594.

12. Cuétara M; Almudena A; Del Palacio A. (2006): Diagnóstico microbiológico tradicional de la candidiasis invasora en el enfermo crítico no neutropénico. *Rev Iberoam Micol.* 23: 4-7.
13. Craig R. (1998): *Propiedades Mecánicas, Materiales en Odontología Restauradora*, Ed. Hartcourt Brace, Décima Edición. pp: 109-203.
14. Da Silva FC; Kimpara ET; Mancini MN; Balducci I; Jorge AO; Koga-Ito CY. (2008): Effectiveness of six different disinfectants on removing five microbial species and effects on the topographic characteristics of acrylic resin, *J Prosthodont.* 8: 627-633.
15. Dagistan S; Aktas AE; Caglayan F; Ayyildiz A; Bilge M. (2008): Differential diagnosis of denture-induced stomatitis, *Candida*, and their variations in patients using complete denture: a clinical and mycological study. *Mycoses.* 52: 266-271.
16. Dar-Odeh NS; Shehabu AA. (2003): Oral Candidosis in patients with removable dentures. *Mycoses.* 46: 187-191.
17. Edelberg MH. (2009): *Materiales Dentales*, 4° Edición, Macchi, 2009, Editorial Medica Panamericana, pp: 269-278.
18. Edelberg MH; Macchi AR. (2009): *Materiales Dentales*, 4° Edición, Macchi, 2009, Editorial Medica Panamericana, pp: 345-353.
19. Ellepola AN; Samaranayake LP. (2001): Adjunctive use of chlorhexidine in oral candidoses: a review. *Oral Dis.* 7(1):11-17.
20. Espinoza I; Rojas R; Aranda W; Gamonal J. (2003): Prevalence of oral mucosal lesions in elderly people in Santiago, Chile. *J Oral Pathol Med.* 30: 571-575.
21. Estrela C; Holland R; Bernabé P; Souza V; Estrela C R. (2004): Antimicrobial potential of medicaments used in healing process in dogs teeth with apical periodontitis. *Braz Dent J.* 3: 181-185.
22. Figueiral MH; Azul A; Pinto E; Fonseca PA; Branco FM; Scully C. (2007): Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors – a large cohort. *Journal of Oral Rehabilitation.* 34: 448–455.
23. Freitas JB; Gomez RS; De Abreu MHNG; Ferreira E. (2008): Relationship between the use of full dentures and mucosal alterations among elderly Brazilians. *Journal of Oral Rehabilitation.* 35: 370–374.
24. Fuentes R; Fuentes C; Nuñez M. (2008): Estado de salud de la mucosa oral en pacientes que asisten a las clínicas de prótesis removible II de la escuela de odontología de la Universidad de Valparaíso. Tesis para optar al título de cirujano dentista. Universidad de Valparaíso.

25. Gales AC; Pfaller MA; Houston AK; Joly S; Sullivan DJ; Coleman DC. (1999): Identification of *Candida dubliniensis* based on temperature and utilization of xylose and alpha-methyl-D-glucoside as determined with the API 20C AUX and vitek YBC systems. *J Clin Microbiol.* 37:3804-3808.
26. Gadea I; Cuenca-Estrella M. (2004): Recomendaciones para el diagnóstico micológico y estudios de sensibilidad a los antifúngicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 22(1):32-39.
27. Hernandez S; Villamil J; Lama E; Puc R; Rueda F. (2009): Prevalencia de *C. albicans* en pacientes con y sin estomatitis subprotésica. *Revista Odontologica Latinoamericana.* 1:7-11.
28. INE, "Estimaciones y proyecciones de población por sexo y edad, total país 1950-2050". Dpto. de Estadísticas Demográficas y Sociales, Ed INE, Chile, 1995; pg. 95.
29. INE, (2003): Resultados I Encuesta de Salud, Chile. Ministerio de Salud.
30. Jainkittivong A; Aneksuk V; Langlais RP. (2009): Oral mucosal lesions in denture wearers. *Gerodontology.* 27: 26-32.
31. Kulak Y; Arikan A; Kazazoglu E. (1997): Existence of *Candida albicans* and microorganisms in denture stomatitis patients. *J Oral Rehabil.* 10: 788-790.
32. Mähönen K; Virtanen K; Larmas M. (1998): The effect of prosthesis disinfection on salivary microbial levels. *J Oral Rehab.* 25; 304-310.
33. Makino SI; Cheun HI; Tabuchi H; Shirahata T. (2000): Antibacterial activity of chaff vinegar and its practical application, *J Vet Med Sci.* 8:893-895.
34. Misrachi L; Espinoza S. (2006): Factores que influyen en el uso de prótesis removible en Adultos Mayores recién rehabilitados. Tesis para optar al título de cirujano dentista. Universidad de Chile.
35. Montagner H; Montagner F; Braun K; Peres P; Gomes B. (2009): In vitro antifungal action of different substances over microwaved-cured acrylic resins, *J. Appl. Oral Sci.* 5: 432-435.
36. Muzyka BC; Glick M. (1995): A review of oral fungal infections and appropriate therapy. *J Am Dent Assoc.* 126: 63-72.
37. Nascimento M; Silva N; Catanozi M; Silva K. (2003): Effects of different disinfection treatment on the natural microbiota of lettuce. *J Food Prot.* 9:1697-1700.

38. Neville B. (2009): Fungal and Protozoal Diseases - Oral and Maxillofacial Pathology 3rd. Edition – 213-224 – W.B. Saunders.
39. Nyquist G. (1952): A study of denture sore mouth – an investigation of traumatic, allergic and toxic lesions of the oral mucosa arising from the use of full dentures. Acta Odontol Scand. 10: 11–154.
40. Oksala E. (1990): Factors predisposing to oral yeast infections. Acta Odontol Scand. 48: 71–74.
41. Paranhos HF; Silva-Lovato CH; de Souza RF; Cruz PC; de Freitas-Pontes KM; Watanabe E; Ito IY. (2009): Effect of Three Methods for Cleaning Dentures on Biofilms Formed In Vitro on Acrylic Resin. J Prosthodont. 18(5):427-431.
42. Pereira T; Del Bel A; Crielaard W; Ten J. (2008): Development of candida-associated denture stomatitis: new insights; J Appl Oral Sci. 2: 86-94.
43. Phillips AJ; Crowe JD; Ramsdale M. (2006): Ras pathway signaling accelerates programmed cell death in the pathogenic fungus *Candida albicans*. Proc Natl Acad Sci U S A. 103(3):726-731.
44. Pinto TM; Neves AC; Leão MV; Jorge AO. (2008): Vinegar as an antimicrobial agent for control of *Candida* spp. In complete denture wearers. J Appl Oral Sci. 16(6):385-390.
45. Quinedo G; Escobar T; Ponton J. (2002): Características Generales de los hongos (I). Estructura, Clasificación y Reproducción, Microbiología Oral, Liébana J. 2ª ed., Interamericana McGraw-Hill, Madrid, pp: 221-229.
46. Quinedo G; Escobar T; Ponton J. (2002): Características Generales de los hongos (II). Relación Hospedador-Hongos. Micosis: Clasificación, Patogenia y diagnóstico General por el Laboratorio. Antifúngicos, Microbiología Oral, Liébana J. 2ª ed., Interamericana McGraw-Hill, Madrid, pp: 231-240
47. Quinedo G; Escobar T; Ponton J. (2002): Hongos de interés Oral, Microbiología Oral, Liébana J. 2ª ed., Interamericana McGraw-Hill, Madrid, pp: 487-496.
48. Quinedos G; Vargas R; Ruesga M. (2001): Procesamiento de las muestras de la cavidad oral y otorrinolaringológicas. Guía práctica de identificación y diagnóstico en Micología Clínica. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao, pp: 8.1-8.9.
49. Radford DR; Challacombe SJ; Walter JD. (1999): Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. Crit Rev Oral Biol Med. 10: 99–116.

50. Rezusta A; Sanchez A; Gil J. (2001): Fundamentos básicos para el diagnóstico micológico, Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. Revista iberoamericana de micología, Capítulo 3.
51. Rosenberg SW; Arm RN. (1997): Clinician's Guide to Treatment of Oral Conditions, ed 4. Baltimore: American Academy of Oral Medicine, 5-6.
52. Samaranayake L; Keung L; Lijian J. (2009): Oral mucosal fungal infections. *Periodontology* 2000. 49: 39-59.
53. Sousa FA; Paradella TC; Koga-Ito CY; Jorge AO. (2009): Effect of sodium bicarbonate on *Candida albicans* adherence to thermally activated acrylic resin. *Braz Oral Res.* 23(4):381-385.
54. Sherman RG; Prusinski L; Ravenel MC; Joralmon RA. (2002): Oral Candidosis. *Quintessence Int.* 33: 521-532.
55. Shulman JD; Beach MM; River-Hidalgo F. (2004): The prevalence of oral mucosal lesions in U.S. adults. *JADA.* 135: 1279-1286.
56. Silva T; Claro A; Vieira M; Cardoso A. (2008): Vinegar as an antimicrobial agent for control of *Candida* spp. in complete denture wearers. *J Appl Oral Sci.* 6:385-390.
57. Souza R; Souza E; Sousa-Neto M; Pietro R. (2003): In vitro evaluation of different chemical agents for the decontamination of gutta-percha cones. *Pesqui. Odontol. Bras.* 1: 75-78.
58. Suci PA; Tyler BJ. (2002): Action of chlorhexidine digluconate against yeast and filamentous forms in an early-stage *Candida albicans* biofilm. *Antimicrob Agents Chemother.* 46(11):3522-3531.
59. Webb BC; Thomas CJ; Whittle T. (2005): A 2-year study of *Candida*-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. *Gerodontology.* 22: 168-176.

ANEXOS Y APENDICES

ANEXO 1: Consentimiento Informado

Esta es una invitación para que Usted participe en un importante estudio realizado por la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso. Por favor lea cuidadosamente esta información antes de dar su consentimiento voluntario para participar.

Este estudio tiene como objetivo determinar la efectividad de cuatro agentes antimicrobianos, Oralgene®, tabletas efervescentes Oralgene®, vinagre Higuera®, y Corega® Tabs, en la eliminación de un hongo llamado *Candida albicans*. Inicialmente se realizará un examen clínico intraoral que nos permita confirmar la presencia de una estomatitis protésica, lo que se basa en la observación de su mucosa oral. Luego se debe tomar una muestra de la lesión ubicada en el paladar, mediante un cotonito, lo que no causará ningún efecto en la salud del paciente.

Además, se realizará una ficha clínica en donde se requieren antecedentes personales como nombre, edad, género, medicamentos que este tomando, y enfermedades que padezca.

Todos los datos aportados al personal del equipo de salud son de naturaleza confidencial y serán utilizados exclusivamente para los fines de este estudio. Usted no recibirá pago económico por su participación en el mismo.

Desde ya le agradecemos su colaboración. Usted es libre de no participar, respetando su posición. Si es de su interés puede solicitar información sobre el resultado de estas encuestas. Puede hacerlo a partir de Agosto del 2011 a la Oficina de Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso.

La persona que suscribe, acepta voluntariamente participar en este estudio y certifica haber leído y comprendido toda la información que se le ha suministrado.

Nombre del paciente Firma

Nombre del Profesional Firma

ANEXO 2: Ficha de tesis

"COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE CUATRO AGENTES QUÍMICOS SOBRE CANDIDA ALBICANS EN ACRILICO DE TERMOCURADO"

Ficha Clínica

Nombre:	
Dirección:	
Edad:	
Teléfono:	
Correo electrónico:	

Historial Médico:

Enfermedades sistémicas:

<input type="checkbox"/> Diabetes	<input type="checkbox"/> Marcapaso
<input type="checkbox"/> Hipertensión	<input type="checkbox"/> Bypass:
<input type="checkbox"/> Enfermedad Inmunosupresora	<input type="checkbox"/> Cáncer:
<input type="checkbox"/> Trasplante:	<input type="checkbox"/> Otro: _____

Tratamientos Médicos:

--

Fármacos:

--

Examen Clínico:

Estomatitis Protésica: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
--

Clasificación según Newton:

Tipo I	Tipo II	Tipo III
--------	---------	----------

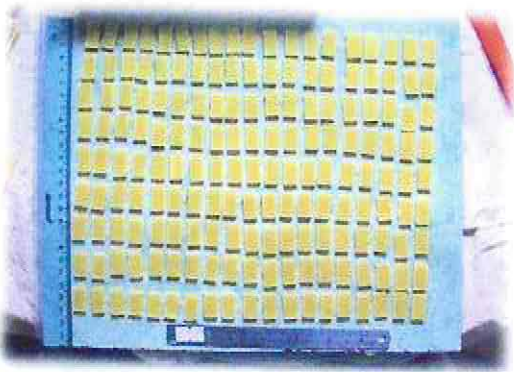
ANEXO 3: Aleatorización de los tratamientos

<u>CHX5</u>	<u>CHX60</u>	<u>CHX480</u>	<u>V5</u>	<u>V60</u>	<u>V480</u>
23	18	19	3	6	5
27	25	34	8	31	7
28	76	47	13	42	9
54	82	49	33	56	10
84	92	55	35	61	16
97	116	60	37	111	59
98	137	71	70	125	93
115	143	134	100	133	95
118	149	139	128	144	106
151	155	142	123	154	141
<u>CT5</u>	<u>CT60</u>	<u>CT480</u>	<u>S5</u>	<u>S60</u>	<u>S480</u>
2	15	1	26	51	36
4	17	12	62	57	103
14	63	32	127	119	124
30	75	46	86	129	131
74	78	53	81	85	120
83	94	89	44	69	88
101	110	99	40	65	79
121	117	104	146	50	66
140	126	113	130	11	64
150	132	135	96	145	45
<u>OT5</u>	<u>OT60</u>	<u>OT480</u>			
20	29	21			
38	43	22			
39	80	24			
90	105	48			
102	108	72			
107	148	77			
114	138	73			
122	112	68			
153	91	58			
152	87	147			

ANEXO 4: Procedimiento



1. Confección de rectángulos de cera amarilla 10mm x 20mm x 2mm.



2. Doscientos rectángulos de cera amarilla terminados.



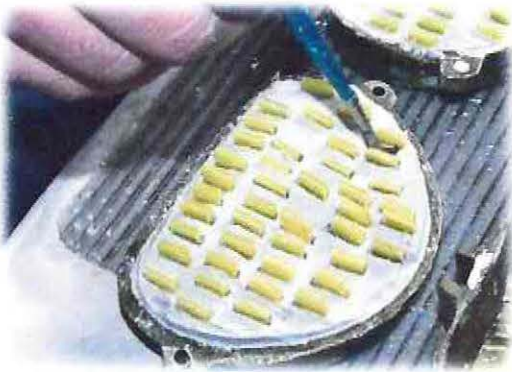
3. Mufia envaselinada.



4. Llenado de yeso a las mufias.



5. Posicionamiento de los rectángulos de cera en la mufla.



6. Aislado con vaselina, antes de poner la contramufia.



7. Posicionamiento de la contramufia.



8. Mufia y contramufia aseguradas.



9. Mufias en recipiente caliente a 100°C por 10 minutos para el descerado.



10. Preparación del acrílico de termocurado.



11. Descerado.



12. Posterior al aislamiento con Acrifoil de la mufla y la contramufla, se procede a posicionar el acrílico de termocurado.



13. Prensado de mufla y contramufla en prensa hidráulica.



14. Cocción del acrílico.



15. Muflas con el acrílico endurecido.



16. Acrílicos terminados, enumerados y aleatorizados.

17. Cultivo Agar Cromo-Candida.



18. Centrifugado de muestras tomadas por hisopos estériles en lesiones de estomatitis protésicas en pacientes de la Universidad de Valparaíso.

19. Medio Stuart y medio de cultivo Agar Cromo-Candida, específico para cada paciente.



20. Cultivo positivo a *Candida albicans*.

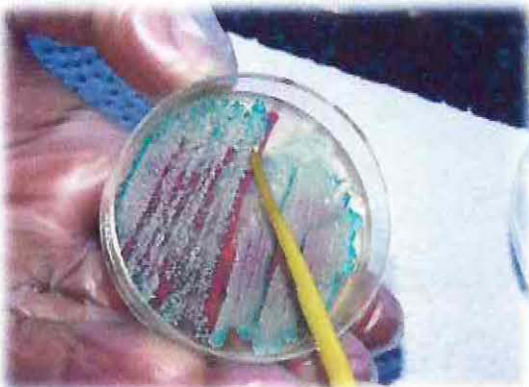




21. Caldo de cultivo Sabouraud, preparado por el laboratorio de micología de la Universidad de Valparaíso.



22. Campo de laboratorio para el cultivo de los acrílicos.



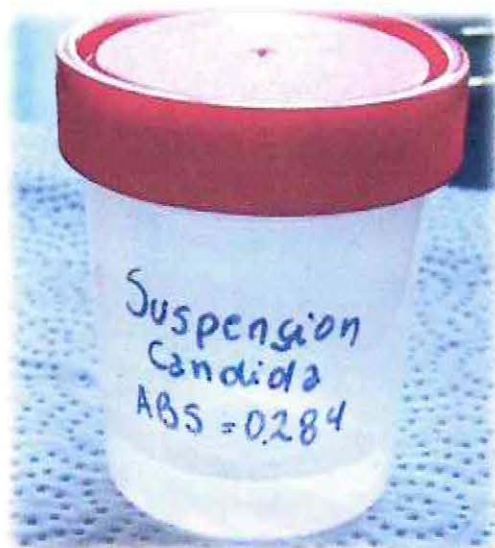
23. Recolección de la muestra con un asa calibrada para preparar la suspensión de *Candida albicans* en el espectrofotómetro.



24. Manipulación del espectrofotómetro.



25. Absorbancia de 0.284.



26. Suspensión de *Candida albicans*.



27. Material estéril para los cultivos y la aplicación de los tratamientos.



28. Siembra de las unidades de muestra en el medio cultivo con 0,1 ml de suspensión de *Candida albicans*.



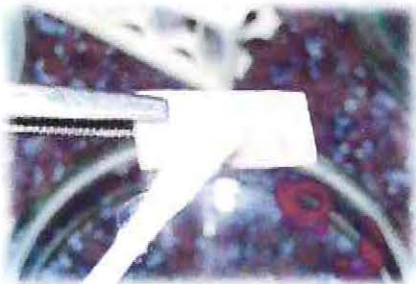
29. Rectángulos acrílicos sembrados, y separados en tubos de ensayos.



30. Cultivo a 37°C por 24 horas.



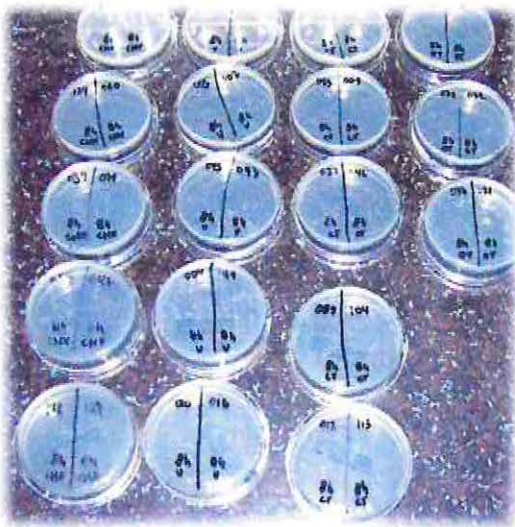
31. Inmersión en forma aleatoria de los acrílicos en lo tratamientos de ácido acético, clorhexidina, tabletas Oralgene, Corega Tabs y suero fisiológico; en los tiempos de 5, 60 y 480 minutos.



32. Toma de muestra con hisopo estéril.



33. Cultivo en zigzag sobre el Agar-Cromocandida.



34. Placas petri debidamente identificadas.



35. Cultivo por 48 horas a 37°C.



36. Medios de cultivo Agar Cromo-Candida, una vez terminado el tiempo de cultivo.