



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PRÓTESIS
ASIGNATURA DE PRÓTESIS TOTALES**

**ASOCIACIÓN ENTRE RECuento SALIVAL DE LEVADURAS DEL GÉNERO
CANDIDA Y ESTOMATITIS PROTÉSICA EN PACIENTES PORTADORES DE
PRÓTESIS REMOVIBLE**

Nataly Cajas Cajas

**TRABAJO DE INVESTIGACION
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Ximena Lee Muñoz

TUTORES ASOCIADOS

Prof. T. M. Leyla Gómez Carranza

Prof. Dr. Cristian Vergara Núñez

**Adscrito a Proyecto de Investigación: PRI-ODO 2011 11-04: “Estudio
cuantitativo de la ocurrencia de levaduras del género *Candida* en pacientes
chilenos portadores y no portadores de prótesis, con o sin estomatitis
protésica”**

Santiago – Chile

2013

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Casa de Bello por abrirme sus puertas al conocimiento con la libertad de pensamiento y expresión que la caracteriza.

Gracias a la Facultad de Odontología por permitir mi desarrollo en el área de la salud, y al Proyecto de Investigación 2011 11-04, al cual está adscrito este trabajo, por darme la posibilidad de aportar con un granito de arena al saber odontológico y contribuir al producto resultante de este.

Especialmente a las profesoras Ximena Lee Muñoz y Leyla Gómez Carranza quienes han sido mis guías, apoyándome en todo momento y dándome consejos para lograr que este trabajo se llevara a cabo, les doy las gracias por todo el tiempo, conocimiento y confianza vertidos en este proceso.

Doy las gracias al profesor Cristián Vergara Núñez por su valiosa contribución en el desarrollo y análisis estadístico de los resultados y por sus magníficas fotografías. A Elizabeth Astorga Bustamante y Mariana Ivanković Silva, colaboradoras del PERIODO 2011 11-04, gracias por esas largas jornadas de trabajo, discusión y reflexión.

Doy las gracias a los profesores Marta Gajardo Ramírez por su ayuda y sugerencias, Patricia Palma Fluxá por contribuir con los medios cromogénicos y a la redacción de este trabajo, Danilo Ocaranza Tapia por sus consejos e indicaciones, y Carla Lozano Moraga por facilitar la cepa ATCC de *Candida albicans*.

Gracias al grupo de estudios CMPLT 305 por su permanente contribución al desarrollo de esta investigación y al personal del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile quienes facilitaron mi paso y aprendizaje por este.

Agradezco a Andrea Muñoz Martínez y a Mauricio “Pachá” Vargas Sepúlveda por hacer de la estadística algo incluso entretenido, y a Silvana Núñez Becerra la ayuda brindada en lingüística y por su amistad.

A María Cajas González quien todos los días me dio consejos y sabias palabras, y fue la impulsora y gran responsable de que yo haya llegado hasta esta instancia; gracias mamá por tu esfuerzo y trabajo, principalmente por tu cariño, paciencia y dedicación. Eres mi guía en el camino de la vida.

Especial agradecimiento a Montserrat Sánchez Carvajal quien ha estado a mi lado de manera incondicional dándome aliento y fuerzas en momentos de ansiedad, y por supuesto acompañando en los momentos de grandes dichas.

Gracias a mi familia que siempre me ha apoyado ya sea con un abrazo o palabras de aliento, incluso desde tierras lejanas. Agradezco a Teresa Armijo Lorca, Gaspar Gómez Donoso, Mauricio Gómez Armijo, Carolina Carvajal Caro y Robert Astudillo Bové por el cariño sincero y apoyo en todo momento. A Denisse Lagos Tissie, Pablo Castro Espina, Germán Contreras Silva y Orietta Candia Pérez gracias por su amistad, compañía y risas proporcionadas por años y que no dudo seguirán por siempre.

ÍNDICE

	Página
Agradecimientos.....	1
Resumen.....	4
Marco teórico.....	6
Introducción.....	6
Tratamiento rehabilitador.....	7
Estomatitis protésica.....	8
Relación hospedero-patógeno.....	11
Levaduras del género <i>Candida</i>	13
Hipótesis.....	21
Objetivos.....	21
Materiales y Métodos.....	22
1. Descripción del grupo humano.....	22
2. Análisis clínico.....	23
3. Toma de muestras.....	24
4. Procesamiento de las muestras: Siembra y aislamiento.....	25
5. Recuento viable.....	25
6. Criopreservación de los aislados.....	26
7. Identificación de especies de levaduras del género <i>Candida</i>	26
8. Análisis estadístico de datos.....	30
Resultados.....	31
Discusión.....	38
Conclusiones.....	48
Referencias bibliográficas.....	50
Anexos y apéndices.....	54
Anexo n° 1: Consentimiento informado.....	54
Anexo n° 2: Ficha Clínica.....	58
Anexo n° 3: Informativo e indicaciones al paciente.....	59
Anexo n° 4: Instrucciones del fabricante de Cromocandida®.....	60

RESUMEN

Introducción

En Chile el 63,2% de la población mayor de 65 años usa prótesis removible. Cuando el estado protético no cumple con requisitos funcionales, produce lesiones en la mucosa oral y facilita la formación de biofilm en la superficie protésica.

El uso de prótesis removibles no funcionales conduce al desarrollo de estomatitis protésica, un proceso inflamatorio de la mucosa de soporte de diversa extensión y severidad, que tiene como factor etiológico principal la presencia e infección por *Candidas*.

El objetivo de esta investigación fue determinar presencia, cantidad y especies de *Candida* spp y su asociación con la estomatitis protésica en portadores de prótesis removible antes (con prótesis no funcionales) y después del tratamiento rehabilitador (con prótesis nuevas y funcionales).

Material y métodos

Se realizó un estudio descriptivo cuantitativo, con 34 pacientes, 69 años como edad promedio, portadores de prótesis removible no funcionales, con y sin estomatitis protésica atendidos en la Clínica Odontológica Universidad de Chile.

Se tomó muestras de saliva antes y después del tratamiento rehabilitador, sembrándolas en agar Sabouraud para verificar presencia, realizar recuento e identificación de levaduras del género *Candida*.

Las variables fueron analizadas con el test de correlación de Pearson con corrección de Yates, test exacto de Fischer o test Kruskal Wallis según correspondiese.

Resultados

La estomatitis protésica se presentó en 55,9% de los pacientes, correspondiendo 29,4% a tipo I, 26,5% tipo II, y sin presencia de tipo III en este estudio.

La presencia y recuento de *Candidas* fueron mayores en aquellos con estomatitis protésica tanto antes como después del tratamiento rehabilitador.

Al tener prótesis nuevas y funcionales el recuento disminuyó de manera significativa en todos los pacientes, sin embargo permaneció alto en aquellos con estomatitis protésica.

La especie identificada con más frecuencia fue *Candida albicans*.

Conclusiones

Se evidenció una alta presencia de estomatitis protésica en pacientes portadores de prótesis removible no funcionales, siendo un alto recuento de *Candidas* un factor de riesgo para el desarrollo de esta lesión.

Al cambiar las prótesis removible no funcionales por nuevas y funcionales, el conteo salival de *Candidas* disminuye, demostrando asociación entre recuento de levaduras del género *Candida* y desarrollo de estomatitis protésica cuando el estado protésico no cumple con los requisitos funcionales.

Palabras claves: Prótesis removible, estomatitis protésica, levaduras del género *Candida*.

MARCO TEÓRICO

Introducción

A nivel mundial está ocurriendo una transición demográfica que apunta hacia el envejecimiento poblacional. Esta transformación ha provocado un aumento progresivo del tamaño de la población y, simultáneamente, su envejecimiento a causa de la disminución de la fertilidad, del aumento de las expectativas de vida y de la reducción de la mortalidad. De todos los grupos etarios, el de las personas mayores de 60 años es el que está creciendo más rápidamente. Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, en el año 2009 aproximadamente 743 millones de personas tenían 60 años o más, correspondiendo al 11% de la población, cifra que se duplicaría para el año 2025, llegando a los 2 billones de personas para el año 2050, que corresponderían al 22% de los habitantes (Petersen y Yamamoto, 2005). En Chile, para el 2020 la población adulta mayor alcanzaría los 3,2 millones de habitantes frente a los 1,2 millones que había en 1990 y los 2,2 millones del 2010 (Instituto Nacional de Estadísticas, 2010).

El proceso de envejecimiento de la población conlleva un importante reto para las sociedades en el futuro, requiriendo una revisión de las reformas sociales, económicas y políticas. En el ámbito de la salud, el avance de la edad es responsable de cambios morfológicos y funcionales que se traducen en problemas en el aparato locomotor, la piel, el sistema digestivo, respiratorio, inmunológico, nervioso central y periférico, entre otros. Sin embargo estos cambios fisiológicos, son frecuentemente influenciados por la existencia de patologías crónicas tales como la hipertensión, diabetes, osteoporosis, cataratas, patologías dentales y trastornos emocionales, que además en muchos casos son concomitantes. Las enfermedades crónicas no transmisibles son las principales causas de mortalidad en los adultos mayores del siglo XXI (Morales, 2001).

Las enfermedades orales tienen factores de riesgo en común con varias enfermedades sistémicas crónicas como cardiopatías, diabetes, afecciones respiratorias, depresión o patologías reumáticas, por lo que realizar diagnósticos de manera precoz y tratamientos odontológicos adecuados repercute directamente en la salud general del paciente (Scully y Ettinger, 2007).

Adicionalmente, los tratamientos farmacológicos que reciben los pacientes con enfermedades sistémicas generan un riesgo incrementado de patologías orales como la reducción del flujo salival, alteración del gusto, reabsorción de hueso alveolar, movilidad dentaria, entre otras. Las malas condiciones orales causadas por la pérdida de piezas dentarias o por la presencia de infecciones orales crónicas o recurrentes, lleva a los adultos mayores a tener una disminución en su calidad de vida (Jiménez y cols., 2011).

A nivel mundial, la salud oral deficiente entre las personas mayores se ha evidenciado en la alta prevalencia de edentulismo, caries y enfermedad periodontal acompañado con otras condiciones como hiposialia, lesiones pre-malignas y cáncer oral (Petersen y Yamamoto, 2005).

En la población chilena, según los estudios citados en la Encuesta Nacional de Salud realizada el año 2003, la salud oral ha mejorado en el último tiempo, sin embargo aún existe una alta prevalencia de patologías orales. En esta se evaluó el estado de salud oral de la población de 65 años y más demostrando que el 0,7% de la población de esta edad tiene todos sus dientes y que la tercera parte de ella (33,4%) es desdentada total (Ministerio de Salud, 2003).

Tratamiento rehabilitador

La pérdida dentaria trae consecuencias en la eficacia masticatoria, la alimentación, la comunicación y la autoestima de las personas. Para recuperar función y estética, y a la vez preservar el remanente biológico, comúnmente se utilizan prótesis removibles en el tratamiento rehabilitador de las áreas edéntulas, puesto que esta opción es rápida y con una relación costo-efectiva favorable. En Chile, del total de la población mayor de 65 años el 63,2% usa prótesis removible, distribuidos en que 37,1% utiliza prótesis en ambos maxilares, 25,3% sólo usa prótesis en el maxilar superior y 0,8% en el maxilar inferior (Ministerio de Salud, 2003).

Las prótesis removibles pueden ser parciales o totales según reemplace algunos o todos los dientes, respectivamente. Para su confección se utilizan resinas acrílicas (polimetilmetacrilato) y aleaciones metálicas según corresponda (Silva y Albuquerque, 2008). Deben cumplir con determinados requisitos

funcionales para lograr una adecuada armonía con los tejidos orales y no agravar la situación de edentulismo del paciente tales como retención que corresponde a la resistencia cuando fuerzas verticales o extrusivas intentan desplazar la prótesis en sentido oclusal, soporte que permite mantenerla en posición ante fuerzas intrusivas, y estabilidad frente a fuerzas fisiológicas, tanto horizontales, verticales u oblicuas, que intentan cambiar la prótesis de posición (Loza y Valverde, 2006).

El uso de prótesis removible altera las condiciones de la mucosa oral causando queratinización y produciendo lesiones por microtraumatismos, debido a que la mucosa que recubre las zonas edéntulas y otorga soporte protésico es a menudo delgada e incapaz de tolerar tensiones funcionales, provocando ulceración y dolor, principalmente cuando los requerimientos protésicos funcionales no se cumplen (Huomonen y cols., 2012).

Las prótesis removibles se vuelven no funcionales por daño o fractura de la estructura de la base, extracción de piezas pilares, presencia de zonas de sobrecompresión, desgaste de dientes protésicos que generan disminución de la dimensión vertical, o por desajuste debido a la reabsorción del reborde residual, el cual sufre un proceso continuo de atrofia posterior a una extracción dentaria debido a que deja de ser funcional como estructura de soporte dentario, causando problemas con la estabilidad y la retención protésica (Huomonen y cols., 2012).

Factores como la higienización deficiente, irregularidades en la superficie, desajustes y la presión negativa existente en la zona de contacto prótesis-mucosa, llevan a la acumulación de detritus que facilitan la formación de la placa bacteriana en la superficie de la prótesis permitiendo la acción de los microorganismos en la mucosa adyacente. Cuando las prótesis no son controladas en el tiempo, y se vuelven no funcionales, irritan los tejidos generando una gran variedad de cuadros patológicos relacionados con procesos inflamatorios, infecciosos, traumáticos y/o alérgicos (Silva y Albuquerque, 2008).

Estomatitis protésica

Una de las lesiones de la mucosa oral de más alta prevalencia en las personas portadoras de prótesis removible es la estomatitis protésica, que corresponde a un proceso inflamatorio que afecta a la mucosa de soporte

protésico o tejidos adyacentes en diversa extensión y modalidad (Aguirre, 2002).

Su prevalencia varía en un rango desde 6,5% a 75% de acuerdo a la población y características del estudio (Emami y cols., 2012). En un estudio de prevalencia de lesiones de la mucosa oral en adultos mayores realizado en Santiago de Chile el año 2003, se evidenció que la lesión más común era la estomatitis protésica (22,3%); en este estudio, 65% de la muestra correspondía a pacientes portadores de prótesis removibles, de los cuales el 34% presentaba estomatitis protésica (Espinoza y cols., 2003). En otro estudio de prevalencia de lesiones de la mucosa oral en adultos mayores realizado en Valparaíso entre los años 2006 y 2009, en cuya muestra el 77% de los pacientes eran portadores de prótesis, los resultados develaron que el 37,1% presentaba estomatitis protésica (Cueto y cols., 2012).

Habitualmente la estomatitis protésica es asintomática, presentándose en una minoría de los pacientes con dolor, prurito o sensación de ardor, diagnosticándose esta alteración principalmente durante el examen intraoral con la presencia de inflamación o hinchazón de la mucosa oral cubierta por la prótesis (Gendreau y Loewy, 2011).

El diagnóstico de estomatitis protésica es principalmente clínico basándose en el reconocimiento de las lesiones en la mucosa oral [Figura 1]. De acuerdo a ello existen tres estadios identificables según la clasificación propuesta por Newton (Tabla 1), que es una de las más utilizadas para referirse a los diferentes tipos (Ayuso y cols., 2004).

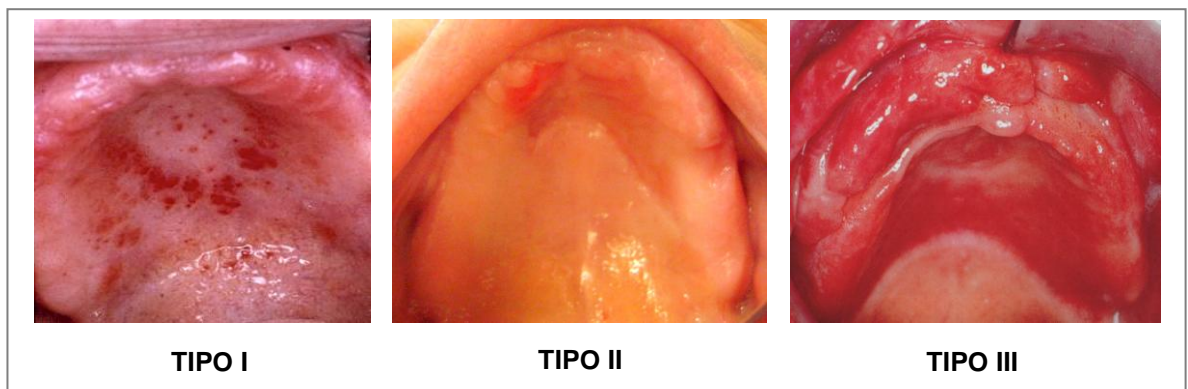


Figura 1: Características clínicas de los tipos de estomatitis protésica según clasificación propuesta por Newton.

Clasificación de Newton	Características clínicas de la mucosa
Tipo I	Mucosa con inflamación localizada puntiforme.
Tipo II	Mucosa de aspecto liso, atrófico y eritematosa, con inflamación difusa y amplia en relación a la zona de contacto de la prótesis.
Tipo III	Lesión inflamatoria de carácter crónica y caracterizada por una hiperplasia papilar.

Tabla 1: Clasificación propuesta por Newton de estomatitis protésica según severidad y características clínicas.

Actualmente no hay consenso acerca de los factores etiológicos de la estomatitis protésica. La deficiente higiene oral, el uso nocturno de la prótesis, trauma, tabaquismo, condiciones sistémicas, reacciones alérgicas a los materiales de las bases protésicas, e infecciones bacterianas y fúngicas, particularmente *Candida albicans*, han sido propuestos como factores asociados o causales de este trastorno que afecta la mucosa oral (Sakar y cols., 2012).

En un estudio de cohorte llevado a cabo por Figueiral, se le asigna un rol traumático a los factores protésicos, considerando antigüedad, reducción de la dimensión vertical, oclusión inestable y uso continuo; los hongos, específicamente *Candida albicans*, fueron asociadas con el desarrollo de estomatitis protésica (Figueiral y cols., 2007).

Una revisión bibliográfica, llevada a cabo por Gendreau y Loewy, concluyó que los factores claves que incrementan drásticamente el riesgo de estomatitis protésica son el ajuste protésico deficiente, y la inadecuada higiene con la consecuente colonización por *Candida albicans* de la superficie protésica y la mucosa oral en contacto con ella. Una prótesis con un cuidado e higiene deficiente conduce a la rápida formación de un biofilm y acumulación de depósitos duros en la prótesis. Los materiales de confección de las prótesis pueden contribuir con el riesgo de estomatitis protésica, ya que las áreas de rugosidad e hidrofobia de las superficies favorecen la unión de los microorganismos y el desarrollo del biofilm (Gendreau y Loewy, 2011).

De todos los factores asociados con su etiología, el que se encuentra más directamente relacionado con la estomatitis protésica es la presencia de levaduras del género *Candida*, y es por ello que este trastorno se conoce también con el nombre de candidiasis crónica atrófica (Aguirre, 2002). Las especies de *Candida* colonizan de manera comensal la cavidad oral, pero al romperse el equilibrio en la relación hospedero-patógeno, se transforman en patógenos oportunistas, infectando la mucosa oral (Rodríguez y cols., 2002).

Relación hospedero-patógeno

El organismo humano está compuesto por un sistema inmunológico innato o inespecífico y uno adquirido o específico capaz de protegerlo frente a la invasión microbiana. El sistema innato corresponde a la primera línea defensiva mediado por barreras naturales constituidas por la piel y mucosas de los aparatos respiratorio, digestivo y genitourinario, que están conformada por epitelios continuos que impiden la entrada de microorganismos; posee inmunidad celular otorgada por fagocitos y células *natural killer*, e inmunidad humoral que involucra el sistema del complemento, las proteínas de fase aguda e interferones α y β . La segunda línea de defensa corresponde al sistema inmunológico adquirido mediado por linfocitos como elemento celular, y la secreción de anticuerpos como las inmunoglobulinas, que corresponden al componente humoral; posee además memoria inmunológica que le otorga la capacidad de evitar infecciones cuando ocurre una re-exposición a un mismo patógeno. Existe interacción y cooperación entre ambos sistemas inmunes para cumplir la función defensiva (Fainboim y Geffner, 2011).

En la cavidad oral la inmunidad está dada por la integridad de la mucosa, el efecto mecánico de limpieza de la saliva, y por la presencia de inmunoglobulinas, citoquinas y una gran variedad de sustancias capaces de mediar la actividad antimicrobiana como las lisozimas, lactoferrina o defensinas, entre otras, que la protegen de la invasión por parte de los microorganismos presentes en sus superficies (Fainboim y Geffner, 2011).

Las bacterias de la cavidad oral se encuentran de manera planctónica en la saliva o formando una película conocida como placa bacteriana o biofilm que se

adhiera a la superficie dental y mucosas. Está compuesto por alrededor de 300 a 400 especies de microorganismos identificados, incluyendo 20 especies de levaduras del género *Candida*, que se desarrollan de manera comensal con el hospedero (Mizugai y cols., 2007). La patogenicidad del biofilm puede manifestarse por factores que estimulan la propagación de las levaduras, tales como la falta de higiene oral, alta ingesta de hidratos de carbono, reducción del flujo salival y el uso protésico continuo (Budtz-Jorgensen, 2000).

La transformación de *Candida* de comensal a patógeno depende de la combinación de los factores del hospedero, modificadores del microambiente de la cavidad oral y factores de patogenicidad del hongo (Aguirre, 2002).

Los factores relacionados al hospedero dependen de la efectividad de sus mecanismos defensivos. La mucosa oral presenta propiedades antifúngicas que la protegen contra la invasión debido a su capacidad de barrido mecánico que dificulta la adhesión del hongo, y a la presencia de proteínas y otros componentes defensivos como lisozimas, lactoferrina, lactoperoxidasas y glucoproteínas. La mayoría de los procesos infecciosos se establecen a través de la mucosa cuando la continuidad del epitelio se ve sobrepasada, todo lo que altere su integridad, como ocurre en los portadores de prótesis removibles, favorecen la adhesión de hongos y su invasión (Aguirre, 2002).

El uso de prótesis removible modifica el microambiente en la cavidad oral dificultando la llegada de anticuerpos provenientes de la saliva y determinando la aparición de un medio ácido y anaerobio que favorece la proliferación y adhesión de hongos (Brevis y cols., 2008). El ambiente ácido puede activar las fosfolipasas extracelulares y las proteinasas ácidas de *Candida*, promoviendo la adhesión de la levadura a la superficie mucosa y aumentando su potencial patógeno (Budtz-Jorgensen, 2000).

Las levaduras del género *Candida* se encuentran en las prótesis y la mucosa oral de los pacientes con o sin signos clínicos de estomatitis protésica, siendo una de las principales causantes de la formación del biofilm en las prótesis removibles, y correspondiendo al 80% de los microorganismos recolectados de mucosas orales de los portadores de prótesis. Al incorporar un elemento extraño en la cavidad oral, como las prótesis removibles, estas actúan como factor local que alteran la relación hospedero-parásito, mediando como reservorio y

permitiendo que los hongos del género *Candida* se transformen de comensales a patógenos oportunistas (Zomorodian y cols., 2011).

Dentro de los factores dependientes del microorganismo la patogenicidad de *Candida* se debe a su capacidad para evadir los mecanismos de defensa del hospedero, colonizando y persistiendo en el epitelio oral debido a su adherencia, secreción de enzimas hidrolíticas y el cambio morfológico desde levaduras a hifas o pseudohifas (Williams y cols., 2011).

Levaduras del género *Candida*

Las especies de *Candida* normalmente viven como comensales inofensivos en piel, sistema digestivo y mucosas, por lo que la presencia de *Candida* en la cavidad oral es frecuente y oscila entre 20% y 70% según la población estudiada (Rodríguez y cols., 2002). Entre las levaduras del género *Candida* existen más de 350 especies diferentes, pero una proporción mínima de ellas están implicadas en enfermedades humanas (Williams y cols., 2011).

La colonización de las mucosas orales o en otras partes del organismo por *Candida* se ha determinado como un factor importante para desarrollar infecciones profundas, sistémicas o diseminadas cuando las condiciones favorecen su propagación. Por lo anterior, un diagnóstico rápido y preciso de estas especies en las infecciones fúngicas es crítico para iniciar el tratamiento adecuado (Estrada y cols., 2011).

Candida albicans es la especie que más comúnmente produce las infecciones orales, siendo la más estudiada, comprendiendo entre 60% y 70% de los aislamientos de la cavidad oral, 7% corresponden a *Candida tropicalis* o *Candida glabrata*, mientras que *Candida krusei* y *Candida guilliermondii* son aisladas con mucha menor frecuencia (Aguirre, 2002). Recientemente se ha aislado *Candida dubliniensis*, que fue descrita por primera vez en 1995 en Dublín, Irlanda en pacientes portadores del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) con candidiasis oral recurrente, presentando ésta características fenotípicas similares a *Candida albicans* (Sullivan y cols., 1995). La diferenciación de *C. dubliniensis* es importante porque está involucrada en los casos de resistencia a los antifúngicos comúnmente utilizados, siendo aislado en la cavidad oral de

pacientes seropositivos a VIH y más específicamente en pacientes inmunosuprimidos o que cursan la etapa final del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, siendo raro que se encuentre en pacientes sanos inmunocompetentes (Quesada y cols., 2007).

Las levaduras son microorganismos eucariontes, que se reproducen asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación. Todas las especies del género *Candida* se desarrollan como células levaduriformes ovaladas, de 3 a 5 μm y son capaces además de sufrir cambios morfológicos desde levaduras a pseudohifas (formadas a partir de secuencias de gemaciones alargadas que permanecen unidas a la célula madre) o hifas verdaderas (estructura filamentosa y larga con células cilíndricas con varios núcleos), con excepción de *Candida glabrata*. En condiciones *in vitro*, casi todas las especies de este género dan lugar a colonias lisas, en forma de domo, de color blanco a crema (Morán y Ferreiro, 2001).

Algunas de las características morfológicas y metabólicas de las levaduras del género *Candida* son consideradas sus principales factores de patogenicidad, tales como la adhesión a las superficies del hospedero, secreción de enzimas hidrolíticas y la formación de hifas o pseudohifas (Williams y cols., 2011).

El estado inicial de adhesión de *Candida* a las superficies del hospedero ocurre por una combinación de mecanismos específicos como el efecto receptor-ligando, y mecanismos inespecíficos como la atracción hidrófoba de moléculas de superficie de las levaduras hacia los sitios de adherencia. La capacidad de adhesión de *Candida* a células epiteliales, endoteliales y fagocíticas, está mediada por adhesinas, un receptor presente en la superficie del hongo, que permite su unión a ligandos de superficies de células humanas y a otras levaduras, así como también la coagregación con otros microorganismos formando el biofilm oral (Williams y cols., 2011).

La colonización de la prótesis requiere unión a la película salival que recubre la prótesis en la cavidad oral, y que se forma por adsorción de proteínas salivales y glicoproteínas. Además la adhesión de las especies de *Candida* a la superficie protésica ocurre por interacción de fuerzas electrostáticas e hidrófobas mediante fuerzas de *Van der Waals* (Webb y cols., 1998).

Las especies de *Candida* son capaces de generar enzimas hidrolíticas que

degradan la queratina, colágeno, albúmina y proteínas salivales (Budtz-Jorgensen, 2000). Las enzimas secretadas relacionadas con la patogenicidad de estas levaduras incluyen aspartil-proteinasas, fosfolipasas, lipasas, fosfomonoesterasas y hexosaminidasas; de estas la aspartil-proteinasas es la más importante en el desarrollo de la infección por *Candida*. Esta enzima muestra actividad proteolítica solamente con condiciones ácidas inferior a pH 4. El medio ambiente bajo una prótesis removible es ácido, proporcionando las condiciones adecuadas para la producción y la actividad de las aspartil-proteinasas secretadas por *Candida* (Williams y cols., 2011).

La alta actividad proteolítica es característico de las especies de *Candida* más virulentas, encabezada por *C. albicans* que es capaz de secretar nueve aspartil-proteinasas distintas y a niveles mucho más altos en comparación con otras especies, seguida de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata*. Los posibles efectos nocivos de las proteinasas con respecto a la patogénesis de la estomatitis protésica podría ser una degradación de la queratina del epitelio así como un rompimiento de IgA1, IgA2 del exudado seroso o de IgA secretora, que es la principal inmunoglobulina de las membranas mucosas (Budtz-Jorgensen, 2000).

Dependiendo de las condiciones medioambientales, las especies de *Candida*, excepto *C. glabrata*, pueden sufrir modificaciones fenotípicas, en las que una cepa se transforma morfológicamente de manera reversible desde la típica colonia lisa, blanca formada principalmente por células levaduriformes de gemación a colonias vellosas compuestas fundamentalmente por pseudohifas o hifas, que forman pseudomicelios o micelios, respectivamente (Morán y Ferreiro, 2001). Esta transición morfológica de *Candida* a hifas o pseudohifas incrementan sus propiedades de adherencia y resistencia a la fagocitosis comparado con las células levaduriformes (Williams y cols., 2011).

Se ha demostrado que la invasión de tejidos por *Candida*, limitada a las capas epiteliales superficiales, se produce muy raramente en la estomatitis protésica y que usualmente en frotis de mucosa las células de levadura son relativamente pocas. Sin embargo las pseudohifas de *Candida*, suelen ser abundantes en muestras obtenidas de la superficie protésica. Probablemente la transformación desde células levaduriformes a micelio es el resultado de las condiciones ambientales dadas entre la mucosa y la prótesis, tales como baja

tensión de oxígeno, pH ácido y la acumulación de las células epiteliales muertas (Budtz-Jorgensen, 2000).

Actualmente, debido al diferente patrón y grado de sensibilidad de las distintas especies de *Candida* frente a los fármacos antifúngicos, y al aumento de la resistencia frente a estos que se ha registrado, es aconsejable la identificación de especies de las levaduras aisladas de muestras clínicas con el fin de realizar un adecuado tratamiento (Aguirre, 2002).

Los métodos diagnósticos microbiológicos permiten confirmar la sospecha clínica de estomatitis asociada a levaduras del género *Candida* e identificar la especie implicada. Para la identificación de especies se utilizan pruebas de laboratorio basados en criterios macroscópicos, microscópicos, bioquímicos, inmunológicos, o de asimilación de nutrientes (Díaz y cols., 2003).

Frente a determinadas condiciones medioambientales las diferentes especies de *Candida* pueden desarrollar características fenotípicas distintivas entre ellas, como la producción de clamidosporas o formación de tubos germinativos, lo que es utilizado para su identificación microbiológica. Cuando se realizan pruebas de crecimiento en un medio desfavorable como el agar maíz, *Candida albicans* presenta pseudohifas de manera conjunta con blastoconidios y clamidosporas, que corresponden a formas de resistencia redondeadas u ovals de 6 a 12 μm , de pared doble y gruesa a nivel terminal lo que permite diferenciar con este método a esta especies de las otras (Pemán y cols., 2007).

El tubo germinativo es una extensión filamentosa de la levadura, de paredes paralelas, sin estrechamiento en su origen, cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro veces mayor que ésta. Sólo *Candida albicans* es capaz de producir verdaderos tubos germinativos; sin embargo, otras especies como *Candida tropicalis* pueden producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinativos pero de paredes paralelas y con una zona de constricción adyacente a la célula madre, por lo que esta característica es útil para diferenciar *C. albicans* del resto de las especies de *Candida*, inoculando una porción de una colonia de levadura en plasma humano o suero de conejo (Pemán y cols., 2007), aunque según los últimos estudios *C. dubliniensis* también posee esta característica y además es capaz de formar clamidosporas en agar maíz (Quesada y cols., 2007).

Si se requiere diferenciar *Candida albicans* de *Candida dubliniensis*, se deben llevar a cabo pruebas bioquímicas, inmunológicas o de crecimiento en medios de cultivos incubados a diferentes temperaturas, debido a que ambas especies poseen características fenotípicas casi idénticas; algunas de las diferencias y similitudes que comparten se observan en la tabla 2 (Quesada y cols., 2007).

Diferencias	Similitudes
<i>Candida albicans</i> produce colonias verde esmeralda en medios cromogénicos, y <i>Candida dubliniensis</i> verde oscuro en aislamiento primario.	Crecimiento y características macro y microscópicas en medio de cultivo agar Sabouraud Glucosado prácticamente idénticas a 37°C.
<i>Candida albicans</i> es capaz de crecer a 45°C, no así <i>Candida dubliniensis</i> .	Producción de clamidosporas en medio de cultivo agar maíz.
<i>Candida albicans</i> no produce clamidospora en agar caseína a 24°C, <i>Candida dubliniensis</i> sí.	Prueba de tubo germinativo positivo en suero humano, de 2 a 3 horas a 37°C.

Tabla 2: Cuadro comparativo de diferencias y similitudes entre *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*.

En 1994 Odds y Bernaerts describieron un medio comercial cromogénico para identificar especies del género *Candida* clínicamente importantes como *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata* y *C. parapsilosis* en función de los colores que presentan las colonias al desarrollarse (Odds y Bernaerts, 1994). Este es un sistema bioquímico basado en la detección de determinadas reacciones enzimáticas especie-específicas por parte de las levaduras mediante hidrólisis de un sustrato con propiedades cromogénicas. En este medio las colonias de *Candida albicans* son lisas y de color verde esmeralda, *Candida tropicalis* crece en colonias azul oscuro con un halo púrpura-marrón, *Candida krusei* forma colonias grandes y rugosas con el centro rosa pálido y amplios bordes blancos, *Candida glabrata* origina colonias rosa oscuro o púrpura, y *Candida parapsilosis* genera colonias lisas de coloración rosa pálido o blanco marfil (Pemán y cols., 2007). Se ha sugerido que *Candida dubliniensis* generaría colonias de color verde oscuro en

los medios cromogénicos a 37°C después de 48 horas de incubación en los que *Candida albicans* generara colonias verde claro, siendo útil solamente en cultivos primarios de muestras clínicas (Sullivan y Coleman, 1998), sin embargo estudios recientes indican que esa prueba presenta una baja sensibilidad para la discriminación entre las especies mencionadas, puesto que la intensidad del color verde claro u oscuro es subjetiva y no puede discriminar entre las dos especies de *Candida*, al compararla con la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR (Pasligh y cols., 2010).

Al aislar levaduras desde la cavidad oral es importante diferenciar a los portadores sanos de los que presentan infección. En el año 1980 Epstein y cols., establecieron que existe una correlación entre la presencia de signos y síntomas de infección oral por *Candida* y el recuento de *Candida albicans* sobre las 400 Unidades Formadoras de Colonias por ml (UFC/ml) de saliva. En ese estudio los sujetos sin evidencia clínica de la enfermedad tuvieron recuentos salivales inferiores a 400 UFC/ml, siendo estos categorizados como portadores sanos de *Candida albicans* (Epstein y cols., 1980).

Ese punto de corte ha sido utilizado como referencia por varios autores, Torres y cols., concluyeron que los pacientes con diagnóstico clínicos de candidiasis oral tienen un recuento promedio de 10.100 UFC/ml versus un recuento de 400 UFC/ml de *Candidas* en saliva de pacientes con mucosa oral sana (Torres y cols., 2003). Salazar y Sacsquispe confirmaron que los sujetos sin presencia de signos clínicos de infección por *Candidas* presentan recuento salivales promedio menores a 400 UFC/ml de levaduras del género *Candida* (Salazar y Sacsquispe, 2005). Otro estudio demuestra que los pacientes con candidiasis presentan en promedio 41.933 UFC/ml, en un rango entre 15.000-53.000 UFC/ml de especies *Candida* en saliva (Mohammad y cols., 2004). Sin embargo, Hofling y cols., estudiando solamente pacientes sin signos clínicos de infección oral por levaduras del género *Candida* al momento de la muestra, evidenciaron que la mayoría presentaba recuentos superiores a 400 UFC/ml (Höfling y cols., 1999).

Un estudio realizado por Pires y cols., en que se analizó el recuento y especies de *Candida* y su asociación con la estomatitis protésica en portadores de prótesis totales antes y seis meses después de su remplazo, concluyó que el

recuento salival en pacientes con estomatitis protésica fue mayor a 400 UFC/ml en 53,8% de los individuos antes, y en 85,7% después del remplazo de la prótesis, la prevalencia de estomatitis protésica fue de 50,6% y de 18,2% en la primera y segunda evaluación, respectivamente; los resultados sugieren que la expresión clínica de la estomatitis protésica no está relacionada directamente con la presencia de levaduras del género *Candida* en saliva, sino más bien con la calidad de la prótesis, siendo una nueva menos apropiada para su colonización. Los altos recuentos persistentes en saliva después del remplazo debe ser considerado como un importante factor que predispone a la recurrencia de estomatitis protésica (Pires y cols., 2002).

Considerando que determinar el recuento salival de las levaduras del género *Candida* en pacientes portadores de prótesis removibles con y sin estomatitis protésica permitiría establecer la cantidad de microorganismos que podrían marcar la diferencia entre salud y enfermedad, la importancia de ello radica en que un recuento alto detectado de manera precoz podría indicar la necesidad de ejecutar acciones oportunas para prevenir o tratar la instalación de un cuadro de estomatitis protésica causado por levaduras del género *Candida*, siendo esta la relevancia de este estudio.

La cavidad oral es la principal puerta de entrada de patógenos para el cuerpo humano, por lo que la prevención y el diagnóstico temprano son necesarios para el tratamiento oportuno, evitando así complicaciones que puedan repercutir en un deterioro físico de los pacientes y alteren su calidad de vida. La resolución de la estomatitis protésica es compleja debido a su etiología multifactorial. El tratamiento actual incluye el control de la placa bacteriana del aparato protésico y de la mucosa oral del paciente, evitar el uso nocturno de la prótesis, la prescripción de antifúngicos y antisépticos bucales y el control periódico de los aparatos para diagnosticar y tratar traumas de origen protésico. Si la prótesis se encuentra muy deteriorada, reemplazarla por una nueva podría eliminar la estomatitis protésica en algunos pacientes, pues se elimina el reservorio de *Candidas* (Ayuso y cols., 2004).

Esta investigación permitirá mediante métodos convencionales y comerciales, rápidos, sencillos y económicos, realizar recuento salival e identificar levaduras del género *Candida* en pacientes portadores de prótesis removible no

funcionales con o sin estomatitis protésica antes y después del tratamiento rehabilitador. Para ello se realizará recolección de muestras de saliva a los pacientes seleccionados entre quienes son atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile que cumplan con los criterios de inclusión, se procesará la muestra en los medios apropiados para ello, se evidenciará presencia, se realizará el recuento de levaduras del género *Candida*, y se procederá a la identificación de especies antes y después del tratamiento rehabilitador, cuando el paciente reciba prótesis nuevas y funcionales.

HIPÓTESIS

El recuento salival de levaduras del género *Candida* en pacientes portadores de prótesis removibles no funcionales con estomatitis protésica disminuye después del tratamiento rehabilitador

OBJETIVOS

Objetivo General

Comparar el recuento de levaduras del género *Candida* en saliva de pacientes portadores de prótesis removible no funcionales con estomatitis protésica antes y después del tratamiento rehabilitador

Objetivos Específicos

- 1) Establecer presencia de levaduras del género *Candida* en saliva de pacientes portadores de prótesis removible no funcionales, con o sin estomatitis protésica, antes y después del tratamiento rehabilitador.
- 2) Determinar el recuento salival de levaduras del género *Candida*, en pacientes portadores de prótesis removible no funcionales, con o sin estomatitis protésica, antes y después del tratamiento rehabilitador.
- 3) Identificar especies de levaduras del género *Candida* aisladas de muestras de saliva en pacientes portadores de prótesis removible no funcionales, con o sin estomatitis protésica, antes y después del tratamiento rehabilitador.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Descripción del grupo humano

Este estudio de tipo descriptivo cuantitativo comprendió a 34 pacientes portadores de prótesis removible no funcionales, de los cuales 21 eran de sexo femenino y 13 de sexo masculino. El rango de edad de los pacientes fue de 48 a 83 años, seleccionados entre quienes fueron atendidos y cuyo tratamiento rehabilitador fue finalizado en la asignatura de Prótesis Totales, de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile el año 2011. El tamaño muestral contemplado inicialmente fue de 60 pacientes; sin embargo, no fue posible contar con esa cantidad debido a que del total de pacientes atendidos en la clínica de prótesis totales durante el año 2011 varios no cumplían con uno o más de los criterio de inclusión o no aceptaron participar en el estudio; adicionalmente por razones externas a este estudio las actividades clínicas estuvieron suspendidas por seis semanas, disminuyendo el tiempo contemplado para el reclutamiento de pacientes y realización de la primera fase, significando además el abandono del tratamiento por parte de algunos pacientes que ya habían participado en la toma de muestra inicial, disminuyendo el tamaño de la muestra de 54 a 34 pacientes.

Los pacientes que aceptaron participar en el estudio debieron firmar el consentimiento informado, aceptando el protocolo metodológico del estudio aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. [Anexo nº1]

Criterios de inclusión:

- Pacientes adultos atendidos en la Clínica de Prótesis Totales de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.
- Pacientes sanos o con enfermedad sistémica leve a moderada controladas (ASA I y II).
- Paciente desdentados parciales o totales portadores de prótesis removible no funcionales.
- Pacientes con o sin estomatitis protésica.

Criterios de exclusión:

- No aceptar participación en el estudio.
- Pacientes con enfermedades sistémicas descompensadas o graves (ASA III o superior).
- Pacientes que hayan consumido fármacos antibióticos, antifúngicos y/o esteroidales 0 a 15 días previo a la toma de muestra.

2. Análisis clínico

A cada paciente se le realizó una ficha clínica [Anexo n°2] diseñada para el estudio, con el objetivo de diagnosticar y clasificar al paciente. El examen clínico y diagnóstico de todos los pacientes fue realizado por un odontólogo, categorizándolos de acuerdo a la condición clínica inicial de la mucosa oral (Tabla 3) en sin estomatitis protésica, cuando presentaban mucosa oral sana, y con estomatitis protésica, cuando presentaban signos clínicos de esta lesión, los cuales a su vez fueron subcategorizados de acuerdo a la severidad según la clasificación propuesta por Newton en tipos I, II y III (Ayuso y cols., 2004).

Diagnóstico clínico inicial	
Mucosa oral sana	Con estomatitis protésica <ul style="list-style-type: none"> - Tipo I - Tipo II - Tipo III

Tabla 3: Categorización de los pacientes según diagnóstico clínico inicial de la mucosa oral.

Los pacientes diagnosticados con estomatitis protésica fueron tratados según la severidad del cuadro durante el período en que se llevó a cabo el tratamiento rehabilitador en la asignatura de Prótesis Totales, presentándose todos los pacientes con mucosa oral sana al finalizar este estudio.

Las prótesis removibles fueron evaluadas mediante examen directo y clasificadas como no funcionales según la presencia de uno o más criterios descritos en la tabla 4.

Prótesis removible no funcional (Huomonen y cols., 2012)
Daño o fractura de la estructura protésica
Desgaste de dientes protésicos
Falta de retención y/o soporte
Inestabilidad protésica
Desajuste

Tabla 4: Criterios para clasificar las prótesis removibles en no funcionales.

3. Toma de muestra

El estudio tuvo dos fases de recolección de muestras llevadas a cabo en la Clínica Odontológica Universidad de Chile cumpliendo con los reglamentos de bioseguridad y ética para la atención de pacientes (Constenla y cols., 2012).

Previamente, a cada paciente se le solicitó suspender el uso de colutorios bucales 15 días antes de la toma de muestras, tener al menos dos horas de ayuno el día de la citación, y no haber fumado ni realizado ningún procedimiento de higiene bucal. Además, se corroboró que el paciente no hubiera consumido antibióticos o antifúngicos por cualquier vía de administración. Las indicaciones fueron proporcionadas por escrito a cada uno de los participantes [Anexo n° 3].

Fase 1: Toma de muestras de saliva no estimulada antes del tratamiento rehabilitador en la etapa de examen de los pacientes.

Fase 2: Toma de muestras de saliva no estimulada al término del tratamiento rehabilitador en los pacientes que fueron analizados en la primera fase, pasadas tres semanas desde la instalación de la nueva prótesis removible.

El tiempo promedio transcurrido entre la primera (antes del tratamiento rehabilitador) y la segunda fase de la toma de muestras (después del tratamiento rehabilitador) fue aproximadamente de cinco meses.

A cada individuo se le solicitó que depositara en un tubo de ensayo estéril aproximadamente 2 ml de saliva, dicho tubo fue sellado y rotulado. Las muestras

se trasladaron refrigeradas al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, siendo procesadas en un plazo inferior a 4 horas.

4. Procesamiento de las muestras: Siembra y aislamiento

Todos los procedimientos fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile siguiendo los protocolos de bioseguridad para el manejo, traslado, procesamiento y desecho de muestras biológicas incluidos en PRI-ODO 2011 11-04.

Para obtener la cantidad de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro de saliva (UFC/ml), se realizó el método de recuento viable en placa de agar. Para ello, cada muestra de saliva fue agitada en un Vortex (Thermolyne Maxi Mix II) durante 30 segundos con el fin de homogenizar la muestra, diluyendo 1/100 en buffer fosfato de potasio estéril, pH 7.4. A partir de esta dilución se sembró 100 μ l. en placas de agar Sabouraud suplementadas con Cloranfenicol (0,5mg/ml). Las placas de agar fueron incubadas en estufa Pasteur, a 37°C durante 48 horas, en condiciones de aerobiosis. (Figura 2)

Una vez finalizado el tiempo de incubación, se observó el desarrollo de colonias en las placas de agar y se realizó frotis y tinción de Gram a las colonias compatibles con levaduras del género *Candida*. Se observó con microscopio de transmisión (Zeiss, Axiostar plus) con aumento 100X, para confirmar que las colonias observadas en las placas estuvieran formadas por microorganismos micromorfológicamente compatibles con levaduras, según tamaño y forma, descartando así la presencia de otros microorganismos como bacterias.

5. Recuento viable (Figura 2)

Se contaron las colonias crecidas en las placas de agar correspondientes a cada muestra compatibles con levaduras del género *Candida*. El resultado de cada recuento se multiplicó por el factor de dilución obteniendo de esta forma las Unidades Formadoras de Colonias de levaduras por mililitro de saliva (UFC/ml).

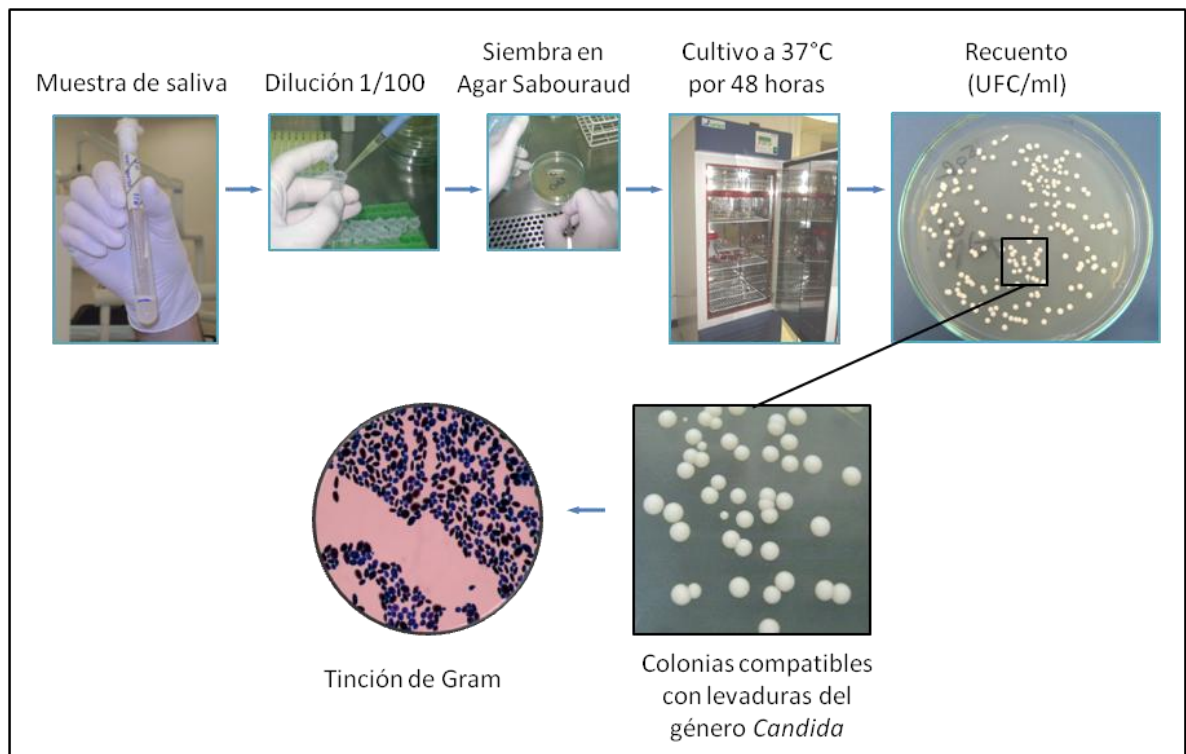


Figura 2: Procesamiento de las muestras y recuento viable.

6. Criopreservación de los aislados (García y Uruburu, 2000)

A partir de aislados de levaduras del género *Candida* obtenidas de las muestras de saliva en placas de agar, se sembró una colonia representativa en 2 ml de caldo Todd Hewitt, incubando en estufa Pasteur a 37° C durante 48 horas, en condiciones de aerobiosis. Luego de verificar el crecimiento en el caldo y realizar un Gram para confirmar la pureza del cultivo, se homogenizó y envasó en viales para criopreservar con glicerol estéril, en cantidades que permitieron obtener una concentración final de 20%. Los viales fueron correctamente rotulados y guardados en freezer a -20° C para realizar estudios posteriores.

7. Identificación de especies de levaduras del género *Candida*

Los aislados de levaduras del género *Candida* obtenidos de cada una de las muestras de saliva fueron sometidos a pruebas de identificación basadas en criterios fenotípicos, bioquímico-enzimáticos y de termoresistencia. Las especies identificables por estos métodos se detallan en la Tabla 5.

Especies
<i>Candida albicans</i>
<i>Candida dubliniensis</i>
<i>Candida tropicalis</i>
<i>Candida krusei</i>
<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Candida glabrata</i>

Tabla 5: Especies de levaduras del género *Candida* identificables mediante los métodos utilizados en este estudio.

7.1. Pruebas fenotípicas.

A partir de una colonia representativa obtenida de las muestras sembradas en placas de agar les realizó las siguientes pruebas de laboratorio: Microcultivo en agar maíz y prueba del tubo germinativo.

- Microcultivo en agar maíz (Pemán y cols., 2007). (Figura 3)

Para la realización de esta prueba se utilizaron cámaras húmedas (placas de Petri) compuestas de papel filtro, soporte y portaobjetos cubiertos con agar maíz. A partir de cultivos frescos de levaduras obtenidos de las muestras de saliva crecidas en agar Sabouraud, se inoculó el agar maíz con un asa de platino fina, formando al menos tres líneas paralelas sobre la superficie. Los microcultivos se incubaron a 25°C durante 48 horas, en condición de aerobiosis.

Trascurrido el tiempo de incubación, se observó el preparado en un microscopio de transmisión (Zeiss, Axiostar plus) a 10X y 40X, verificando la presencia de Clamidosporas terminales o subterminales, blastosporas y pseudohifas.

Las muestras en las que se observaron Clamidosporas se consideraron positivas para *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*. Las muestras que no presentaron estas estructuras se consideraron como *Candida* spp no *albicans*.



Figura 3: Microcultivo en agar maíz.

- Prueba del tubo germinativo (Pemán y cols., 2007). (Figura 4)

A partir de una colonia representativa de levaduras crecidas en placas de agar Sabouraud se sembró un inóculo en 0,5 ml de suero humano estéril y se incubó a 37°C durante 2 horas, en condición de aerobiosis. Transcurrido el tiempo de incubación se depositó una gota del preparado entre un porta y un cubreobjeto, y se observó al microscopio de transmisión (Zeiss, Axiostar plus) a 10X y 40X para ver la presencia de tubos germinativos.

Se consideró positiva la prueba para *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* cuando se observó la formación de un tubo delgado de paredes rectas, paralelas y sin punto de constricción en el inicio del tubo. Las muestras que no lo presentaron fueron consideradas como *Candida* spp no *albicans*.

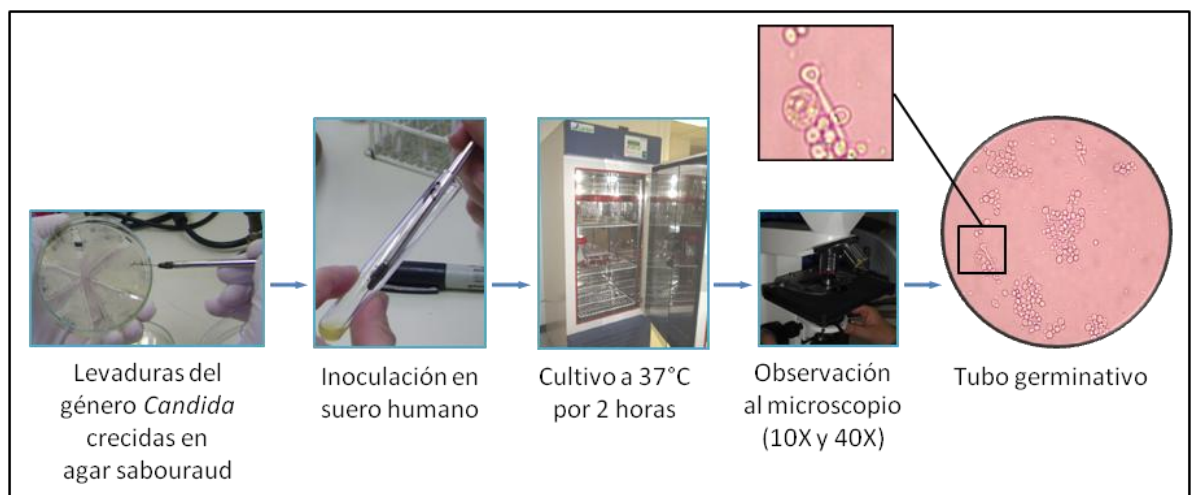


Figura 4: Prueba del tubo germinativo.

7.2 Identificación por criterios bioquímico-enzimáticos (Pemán y cols., 2007).

- Cultivo en medio cromogénico Cromocandida®

Desde cultivos frescos de aislados de levaduras del género *Candida* se inoculó una asada en una placa de Cromocandida® y se incubó a 37° C durante 48 horas en condición de aerobiosis. Posteriormente se realizó examen visual para evaluar morfología y color de las colonias. (Figura 5) Las cepas crecidas en este medio fueron identificadas de acuerdo a las características colorimétricas indicadas por el fabricante [Anexo 4] y a la morfología de las colonias en medio cromogénicos publicadas por Odds y Bernaerts, descritas en la Tabla 6 (Odds y Bernaerts, 1994).

Cepa	Color	Características morfológicas
<i>Candida albicans</i>	Verde	Colonias lisas
<i>Candida glabrata</i>	Rosa-rojizo-púrpura	Colonias lisas
<i>Candida krusei</i>	Rosa pálido	Colonias grandes, planas y rugosas con amplios bordes blancos
<i>Candida parapsilosis</i>	Blanco-marfil	Colonias lisas
<i>Candida tropicalis</i>	Azul-violáceo	Colonias lisas con halo purpura-marrón

Tabla 6: Identificación de cepas en medio Cromocandida® según color y características morfológicas.

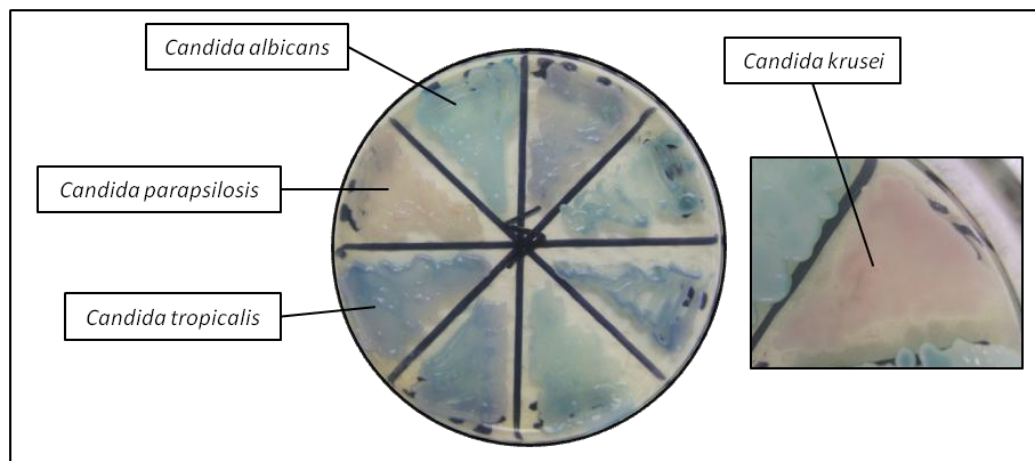


Figura 5: Especies identificadas en medio cromogénico Cromocandida®.

7.3 Prueba de termoresistencia

- Crecimiento a 45° C (Pinjon y cols., 1998)

A partir de aislados de levaduras del género *Candida* obtenidos de las muestras de saliva, se sembró una colonia en placas de agar Sabouraud suplementadas con Cloranfenicol (0,5mg/ml). Se incubó durante 48 horas a 45° C con controles para *Candida albicans* ATCC 90029, para posteriormente evaluar crecimiento.

Las muestras que presentaron crecimiento transcurrido el periodo de incubación a 45°C fueron consideradas como *Candida albicans*, las que no presentaron desarrollo se identificaron como *Candida dubliniensis*.

8. Análisis estadístico de datos

La información y datos obtenidos fueron ingresados en una planilla Excel 2007[®] y procesados con el *software* estadístico Stata[®] versión 11. Las variables fueron relacionadas entre sí y sometidas a análisis estadístico con el test de correlación de Pearson con corrección de Yates o con el test exacto de Fischer según correspondiese. Las variables con más de dos grupos fueron analizadas con el test Kruskal Wallis. La comparación estadística antes y después del tratamiento se realizó con el test del signo. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p \leq 0,05$ al aplicar el test estadístico.

RESULTADOS

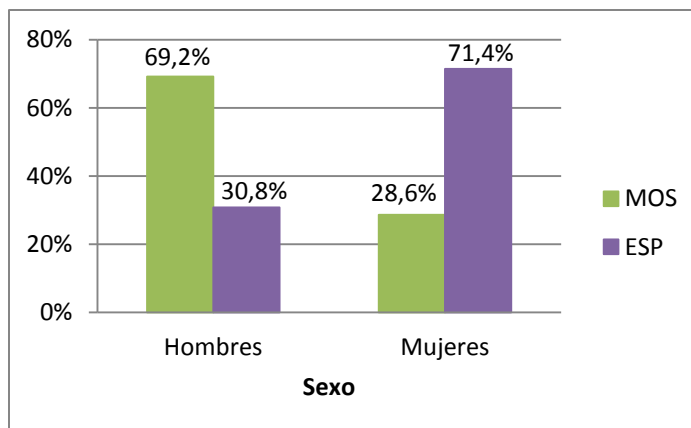
Este estudio comprendió a 34 pacientes portadores de prótesis removible no funcionales, de los cuales 21 eran de sexo femenino (61,8%) y 13 masculino (38,2%), con una edad promedio de 69 años (rango entre 48 y 83 años), siendo el 88,2% de los pacientes mayores de 60 años.

Del total de pacientes estudiados, antes del tratamiento rehabilitador el 55,9% presentaban estomatitis protésica, del cual el 29,4% presentaban estomatitis protésica tipo I y 26,5% tipo II. La estomatitis protésica tipo III no se presentó en los pacientes de este estudio. (Tabla 7)

Diagnóstico clínico inicial	Mucosa oral sana		Estomatitis protésica		
	44,1%		Tipo I	Tipo II	Tipo III
Frecuencia	15	10	9	0	
Porcentaje	44,1%	29,4%	26,5%	0%	

Tabla 7: Distribución de pacientes de acuerdo al diagnóstico clínico inicial: mucosa oral sana o estomatitis protésica (Tipos I, II y III según clasificación propuesta por Newton). (n=34)

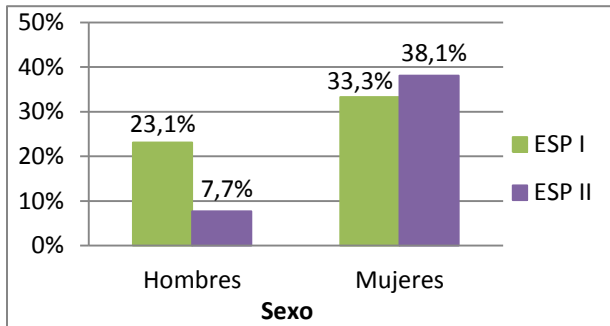
La presencia de estomatitis protésica fue mayor en mujeres portadoras de prótesis removible no funcionales (71,4%) que en hombres con la misma condición (30,8%), con diferencia estadísticamente significativa entre diagnóstico de estomatitis protésica y sexo ($p=0,049$). (Gráfico 1)



Diagnóstico clínico inicial
 MOS: Mucosa oral sana
 ESP: Estomatitis protésica

Gráfico 1: Distribución según diagnóstico clínico inicial por sexo. (n=34)

De los hombres, 23,1% presentaban estomatitis protésica tipo I y 7,7% tipo II; de las mujeres, 33,3% tipo I y 38,1% tipo II, sin diferencia estadística entre severidad y sexo ($p=0,3$). (Gráfico 2)



Severidad de estomatitis protésica

ESPI: Estomatitis protésica tipo I

ESP II: Estomatitis protésica tipo II

Gráfico 2: Distribución según severidad de estomatitis protésica por sexo. (n=34)

La presencia de levaduras del género *Candida* en saliva de pacientes portadores de prótesis removible no funcionales, antes del tratamiento rehabilitador, fue de 47,1%, siendo mayor en aquellos con estomatitis protésica (57,9%) que con mucosa oral sana (33,3%), sin diferencia estadística entre estomatitis protésica y presencia de levaduras del género *Candida* ($p=0,154$). El 60% de los pacientes con estomatitis protésica tipo I y el 55,6% de los con tipo II presentaron *Candida*, sin asociación estadísticamente significativa entre la severidad de la estomatitis protésica y la presencia de *Candidas* spp ($p=0,845$).

Al tener las prótesis removible nuevas y funcionales (después del tratamiento rehabilitador) 50% de los pacientes presentaron cultivos positivos para levaduras del género *Candida*. Asimismo, se observó *Candida* en el 26,7% de aquellos que inicialmente tenían mucosa oral sana y en el 68,4% de los diagnosticados con estomatitis protésica, con diferencia estadística entre estomatitis protésica y presencia de levaduras del género *Candida* ($p=0,038$). El 80% de los pacientes con estomatitis protésica tipo I y el 55,6% con tipo II tenían cultivos positivos para *Candida*, sin diferencia estadística entre severidad y presencia de *Candida* spp ($p=0,252$).

Al comparar la presencia de levaduras del género *Candida* antes y después del tratamiento rehabilitador, esta disminuyó en los pacientes que inicialmente tenían mucosa oral sana y aumentó en los con estomatitis protésica, sin diferencia estadística entre presencia de *Candidas* y estado protésico ($p=0,726$). (Gráfico 3)

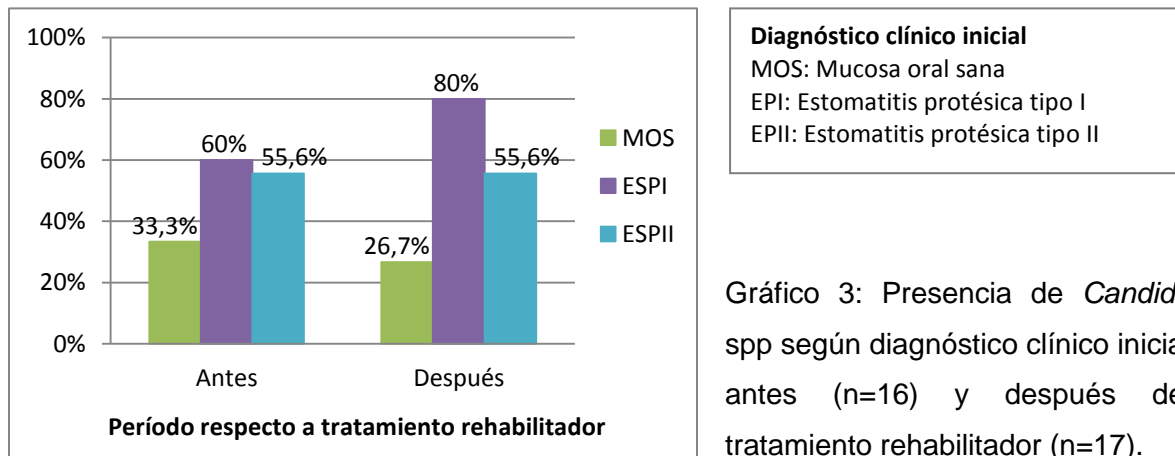


Gráfico 3: Presencia de *Candida* spp según diagnóstico clínico inicial antes (n=16) y después del tratamiento rehabilitador (n=17).

En relación a la cuantificación de levaduras del género *Candida*, se observa que antes del tratamiento rehabilitador existe diferencia en la mediana del recuento según el diagnóstico clínico inicial, siendo más alto en la categoría de pacientes con estomatitis protésica (4.000 UFC/ml) que en los con mucosa oral sana (1.000 UFC/ml), sin diferencia estadística ($p=0,7123$). (Tabla 8) Se evidencia que la mediana del recuento según severidad de la estomatitis protésica es mayor en los con tipo I (12.000 UFC/ml) que con tipo II (2.000 UFC/ml), sin significancia estadística entre recuento y severidad ($p=0,4780$). (Tabla 9)

Después del tratamiento rehabilitador los recuentos en todas las categorías clínicas disminuyeron, persistiendo una diferencia en la mediana según el diagnóstico inicial de mucosa sana oral (200 UFC/ml) o estomatitis protésica (700 UFC/ml), sin diferencia estadística ($p=0,8253$). (Tabla 8) Se verifica que la mediana del recuento según severidad de la estomatitis protésica también disminuyó, llegando a 550 UFC/ml para los tipo I y 1.200 UFC/ml para tipo II, sin diferencia estadística ($p=0,3465$). (Tabla 9)

Diagnóstico clínico inicial	Antes del Tratamiento		Después del tratamiento	
	Rango	Mediana	Rango	Mediana
Sin estomatitis protésica	1.000-30.000	1.000	100-700	200
Estomatitis protésica	400-338.000	4.000	100-76.000	700

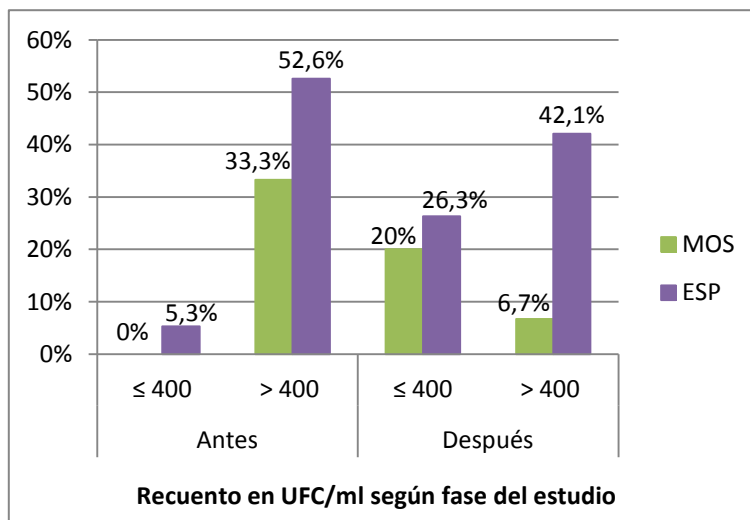
Tabla 8: Rango y mediana del recuento salival de *Candidas* spp en UFC/ml según diagnóstico clínico inicial antes (n=16) y después del tratamiento rehabilitador (n=17).

Severidad de la estomatitis protésica	Antes del Tratamiento		Después del tratamiento	
	Rango	Mediana	Rango	Mediana
Tipo I	400-65.600	12.000	100-76.000	550
Tipo II	1.000-338.000	2.000	200-75.000	1200

Tabla 9: Rango y mediana del recuento salival de *Candidas* spp en UFC/ml según severidad de la estomatitis protésica antes (n=11) y después del tratamiento rehabilitador (n=13).

Antes del tratamiento rehabilitador, el 33,3% de los pacientes con mucosa oral sana y el 52,6% de aquellos con estomatitis protésica presentaron recuento salival mayor a 400 UFC/ml, sin diferencia estadística entre diagnóstico clínico inicial y alto recuento ($p=0,486$). (Gráfico 4) El 50% de los pacientes con estomatitis protésica tipo I y 55,6% de los con tipo II presentaban recuentos superiores a 400 UFC/ml, sin diferencia estadística ($p=0,338$). (Gráfico 5)

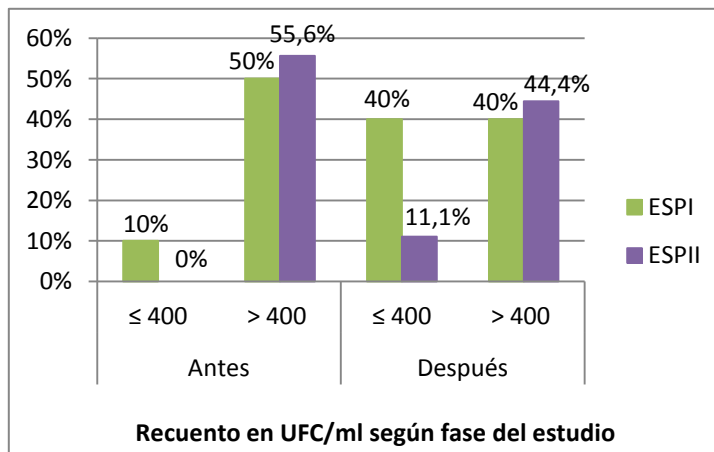
Los recuentos superiores a 400 UFC/ml en saliva después del tratamiento rehabilitador se presentaron en 6,7% de los pacientes con mucosa oral sana y en 42,1% de los con estomatitis protésica, sin diferencia estadística entre diagnóstico clínico inicial y alto recuento ($p=0,2$). (Gráfico 4) El 40% de los pacientes con estomatitis protésica tipo I y 44,4% de los con tipo II presentaban recuentos superiores a 400 UFC/ml, sin diferencia estadística ($p=0,279$). (Gráfico 5)



Diagnóstico clínico inicial

MOS: Mucosa oral sana
ESP: Estomatitis protésica

Gráfico 4: Recuento salival de *Candidas* (UFC/ml) según diagnóstico clínico inicial antes y después del tratamiento rehabilitador (n=34).



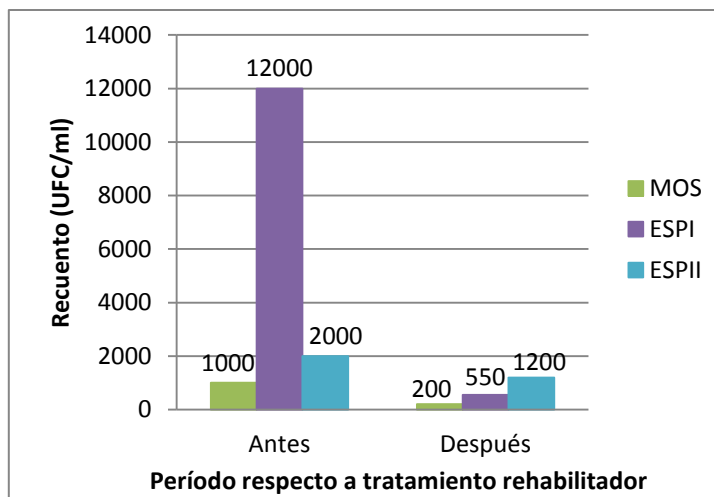
Severidad de estomatitis protésica

ESPI: Estomatitis protésica tipo I

ESPII: Estomatitis protésica tipo II

Gráfico 5: Recuento salival de *Candidas* (UFC/ml) según severidad de la estomatitis protésica antes y después del tratamiento rehabilitador (n=34).

Se observó una disminución en el recuento de levaduras del género *Candida* en todos los grupos estudiados después del tratamiento rehabilitador, con diferencia estadística entre recuento y estado protésico ($p=0,0327$). (Gráfico 6)



Diagnóstico clínico inicial

MOS: Mucosa oral sana

ESPI: Estomatitis protésica tipo I

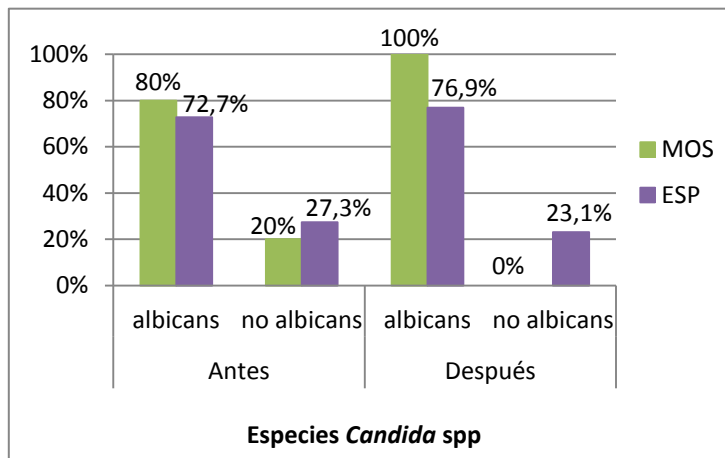
ESPII: Estomatitis protésica tipo II

Gráfico 6: Comparación de medianas del recuento de *Candidas* según diagnóstico clínico inicial antes (n=16) y después del tratamiento rehabilitador (n=17).

Al verificar especies de levaduras del género *Candida* antes del tratamiento protésico en todos los pacientes, el 75% de los aislados fueron identificados como *Candida albicans* y el 25% como *Candida* spp no *albicans*. Según el diagnóstico clínico inicial, el 80% de los aislados de pacientes con mucosa oral sana y el 72,7% de aquellos con estomatitis protésica presentaban *C. albicans*. Por otro lado, *C. spp no albicans* se observó mayormente en los diagnosticados con estomatitis protésica. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre presencia de la lesión y especies de levaduras del género *Candida* ($p=0,755$). (Gráfico 7) En cuanto a las especies según

severidad de estomatitis protésica 66,7% de los diagnosticados con tipo I y 80% de los con tipo II presentaron *C. albicans*, siendo *C. spp* no *albicans* en aquellos con menor severidad, sin diferencia estadística ($p=0,621$). (Gráfico 8)

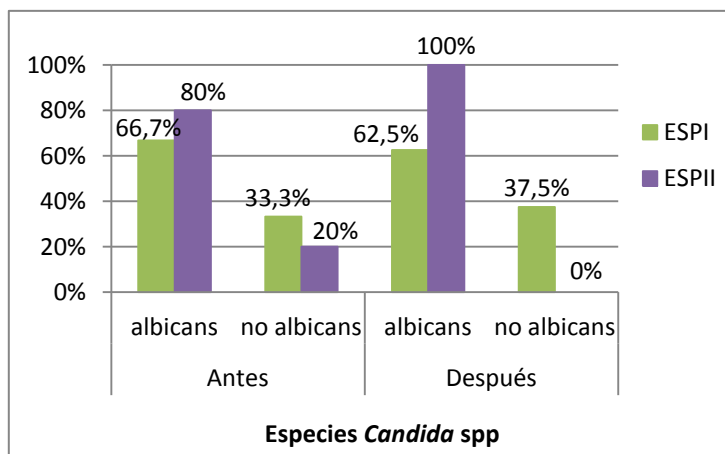
Después del tratamiento rehabilitador, de todas las muestras estudiadas 82,4% de los aislados correspondían a *Candida albicans* y 17,6% a *Candida spp* no *albicans*. En los pacientes con diagnóstico inicial de mucosa oral sana, 100% de los aislados fueron identificados como *Candida albicans*, y en aquellos diagnosticados con estomatitis protésica el 76,9% correspondían a *Candida albicans* y 23,1% a *Candida spp* no *albicans*, sin asociación estadísticamente significativa entre estomatitis protésica y especies de levaduras del género *Candida* ($p=0,290$). (Gráfico 7) En cuanto a las especies según severidad de estomatitis protésica, 62,5% de los con tipo I presentaron *C. albicans* y 37,5% *C. spp* no *albicans*, de los con tipo II el 100% tenía *C. albicans*, sin diferencia estadística entre severidad y especie ($p=0,118$). (Gráfico 8)



Diagnóstico clínico inicial

MOS: Mucosa oral sana
ESP: Estomatitis protésica

Gráfico 7: Distribución porcentual de *Candida spp* según diagnóstico clínico inicial antes (n=16) y después del tratamiento rehabilitador (n=17).



Severidad de estomatitis protésica

ESPI: Estomatitis protésica tipo I
ESPII: Estomatitis protésica tipo II

Gráfico 8: Distribución porcentual de *Candida spp* según severidad de la estomatitis protésica antes (n=11) y después del tratamiento rehabilitador (n=13).

Al comparar antes y después del tratamiento rehabilitador hay un aumento de *Candida albicans* frente a una disminución de *Candida* spp no *albicans*, sin diferencia estadística entre especie de levaduras del género *Candida* y estado protésico ($p=0,5$).

Las especies clasificadas como *Candida* spp no *albicans* fueron identificadas como *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida parapsilosis*. En este estudio no se detectaron las especies *Candida glabrata* y *dublinskiensis*. (Tabla 10)

Especie	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida</i> spp no <i>albicans</i>		
		<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
Antes del tratamiento rehabilitador	75%	25%		
		12,5%	6,3%	6,3%
Después del tratamiento rehabilitador	82,4%	17,6%		
		5,9%	5,9%	5,9%

Tabla 10: Distribución porcentual de especies *Candida* identificadas antes (n=16) y después del tratamiento rehabilitador (n=17).

DISCUSIÓN

Esta investigación develó una alta frecuencia de estomatitis protésica (55,9%) en pacientes portadores de prótesis removibles no funcionales, coincidiendo con la alta prevalencia descrita a nivel mundial, que alcanza hasta el 75% según la población estudiada (Emami y cols., 2012). Este resultado se asimila al encontrado por Freitas y cols. en poblaciones rurales de Brasil, cuya prevalencia de estomatitis protésica en adultos mayores portadores de prótesis totales fue de 58,2% (Freitas y cols., 2008). Este resultado es mayor al demostrado en un estudio realizado por Espinoza y cols., que evidenció una prevalencia de 34% de esta lesión en adultos mayores chilenos portadores de prótesis removible, cuyo estado protésico no fue evaluado (Espinoza y cols., 2003); también es superior a un estudio de prevalencia realizado en Valparaíso, en cuya muestra el 77% de los pacientes eran portadores de prótesis removible y el 37,1% presentaban estomatitis protésica (Cueto y cols., 2012).

En este estudio sólo portadores de prótesis removible no funcionales fueron incluidos, siendo este un factor de riesgo importante para el desarrollo de estomatitis protésica según lo demuestran diferentes investigaciones (Figueiral y cols., 2007; Gendreau y Loewy, 2011), por lo que la mayor frecuencia de estomatitis protésica encontrada respecto a otros estudios nacionales tiene gran concordancia.

La distribución según tipo de estomatitis protésica indica que la más frecuente es la tipo I (29,4%), seguida de la tipo II (26,5%) y sin presencia de la tipo III en este estudio, concordando con lo descrito por Abaci y cols., cuya prevalencia fue de 22,2% para tipo I y 15,6% para tipo II, y sus pacientes tampoco presentaron tipo III (Abaci y cols., 2010); Pires y cols., también evidenciaron que la estomatitis protésica tipo I es la más común presentándose en 27,3% de los pacientes estudiados, correspondiendo el 18,2% a tipo II y 5,2% a tipo III (Pires y cols., 2002). Varios estudios epidemiológicos han demostrado que aproximadamente el 50% de los individuos que presentan estomatitis protésica corresponden a inflamación localizada compatible con tipo I, por sobre tipo II y III. Se ha sugerido que la estomatitis protésica tipo I se asocia al uso de prótesis removibles deficientes y mal ajustadas que generan irritación y trauma en la

mucosa oral, mientras las formas más severas como la estomatitis tipo II o III se deberían a higiene deficiente e infección por *Candidas* (Gendreau y Loewy, 2011).

La estomatitis protésica fue más frecuente en mujeres (71,4%) que en hombres (30,8%) en este estudio similar a lo encontrado por Pires y cols. (mujeres 59,2%; hombres 35,7%) en portadores de prótesis totales que acudían a la clínica por un recambio protésico (Pires y cols. 2002). Los resultados de múltiples estudios no han logrado establecer una clara relación entre la prevalencia de estomatitis protésica y sexo debido principalmente a variaciones entre los diferentes criterios clínicos al realizar las evaluaciones (Gendreau y Loewy, 2011), sin embargo en este estudio se obtuvo una relación estadísticamente significativa entre sexo y presencia de estomatitis protésica evaluada según las características clínicas propuestas por Newton.

Las razones de una prevalencia mayor de estomatitis protésica en las mujeres no están claras sugiriéndose que el cambio hormonal relacionado al periodo post-menopáusico podría estar relacionado con un crecimiento aumentado de *Candidas* (Golecka y cols., 2010; Abaci y cols., 2010) y la presencia de osteoporosis que incrementaría el riesgo de reabsorción del reborde residual (Sanfilippo y Bianchi, 2003) implicando un mayor desajuste protésico; considerando que los principales factores etiológicos de estomatitis protésica corresponden al ajuste protésico deficiente y la presencia de *Candidas* (Gendreau y Loewy), la evidencia indica que sería importante considerar controles protésicos de manera periódica para mujeres post-menopáusicas con el objetivo de verificar precozmente un posible desajuste de manera tal de realizar rebasados o el cambio de la prótesis removible según correspondiese, y también la evaluación microbiológica para detección temprana de un mayor crecimiento de *Candidas*. Lo anterior de ninguna forma implica que los hombres no deban acudir a controles protésicos periódicamente, también deben realizarlos ya que hay otros factores etiológicos implicados en el desarrollo de la estomatitis protésica.

En los hombres la estomatitis protésica tipo I (23,1%) fue más frecuente que la tipo II (7,7%); en cambio en las mujeres fue más común la tipo II (38,1%) que la tipo I (33,3%). Estos resultados son disímiles a los reportados por Pires y cols. en cuyo estudio la estomatitis protésica tipo I fue la de mayor frecuencia para ambos sexo (Pires y cols., 2002). Los estudios que relacionen severidad de la

estomatitis protésica y sexo son pocos, siendo este un factor que debe ser más estudiado.

Candida fue aislada desde la saliva en 47,1% de los portadores de prótesis removible que no cumplían con requisitos funcionales y en 50% de los mismos pacientes cuando tenían sus prótesis nuevas y funcionales instaladas. Los resultados de este estudio concuerdan con lo reportado por Williams y cols. destacando que la presencia de *Candida* ocurre en la cavidad oral en aproximadamente 50% de los individuos, porque estas levaduras viven de manera comensal ahí y en otras partes del organismo frecuentemente (Williams y cols., 2011). Pires y cols. encontraron una prevalencia más alta que la de este estudio, presentándose levaduras del género *Candida* en la primera evaluación en 84,4% de los pacientes, y en 79,2% en la segunda evaluación a los seis meses de finalizado el tratamiento rehabilitador (Pires y cols., 2002).

La presencia en saliva de levaduras del género *Candida* en este estudio fue mayor en pacientes con estomatitis protésica (ESP) que en los con mucosa oral sana (MOS), tanto antes (ESP 57,9%; MOS 33,3%) como después (ESP 68,4%; MOS 26,7%) del tratamiento rehabilitador, similar a lo evidenciado por Pires y cols., que asocia mayor frecuencia de estos hongos a pacientes con estomatitis protésica que con mucosa oral sana, de hecho el 100% de los pacientes con estomatitis protésica tenían *Candida* en ambas evaluaciones (antes y seis meses después de recibir prótesis removible nuevas), correspondiendo a 68,4% y 74,6% en aquellos con mucosa oral sana, en la primera y segunda evaluación, respectivamente (Pires y cols., 2002).

La mayor presencia de *Candidas* en pacientes con estomatitis protésica podría deberse tanto a la pérdida de continuidad del epitelio de la mucosa de soporte debido al trauma generado por el uso de prótesis removible no funcionales (Aguirre, 2000), como a otros factores como el uso nocturno o la higiene protésica y oral deficientes, que crea un entorno favorable para un mayor crecimiento de estas levaduras en la cavidad oral (Figueiral y cols., 2007).

Candida es el factor infeccioso más importante relacionado con el desarrollo de estomatitis protésica (Figueiral y cols., 2007), pero también se ha demostrado que la combinación de esta levadura con otros microorganismos es un agente etiológico importante para la aparición de esta lesión, y que a veces la

infección puede ser causada predominantemente por otros microbios como *Haemophilus* spp o *Bacteroides* spp, principalmente asociado a estomatitis protésica tipo II y III (Brevis y cols., 2008), explicando así la existencia de pacientes que presenten la lesión, pero tienen cultivos negativos para *Candida* spp.

La presencia de *Candidas* en saliva por sí sola no es suficiente para indicar infección debido a que normalmente viven como comensales en la cavidad oral, por lo que es importante diferenciar a los portadores sanos de los que presentan infección. En 1980 Epstein y cols., reportaron una correlación entre la presencia de signos y síntomas de infección por *Candidas* y un recuento superior a 400 UFC/ml (Unidades Formadoras de Colonias por mililitro) en saliva (Epstein y cols., 1980). Este punto de corte es utilizado en varios estudios, a pesar de que ha sido rechazado por algunos autores y comprobado por otros (Höfling y cols., 1999; Salazar y Sacsquispe, 2005).

En esta investigación los resultados arrojaron que presentan un alto recuento salival de levaduras del género *Candida* los portadores de prótesis removibles no funcionales (antes del tratamiento rehabilitador) con la condición clínica de mucosa oral sana (1.000 UFC/ml), y mayor aún aquellos con diagnóstico de estomatitis protésica (4.000 UFC/ml), lo que es inferior a lo reportado por Budtz-Jorgensen, que evidencia que el recuento de levaduras en portadores de prótesis con estomatitis protésica es aproximadamente 100 veces más alto que en aquellos con mucosa oral sana (Budtz-Jorgensen, 2000).

Después del tratamiento rehabilitador, al cambiar las prótesis removible que no cumplían con los requisitos funcionales por nuevas y funcionales, el recuento de *Candida* en saliva disminuyó con diferencia estadísticamente significativa tanto en pacientes que inicialmente presentaban mucosa oral sana (200 UFC/ml) como en aquellos con estomatitis protésica (700 UFC/ml), verificándose la hipótesis propuesta en esta investigación. Sin embargo, la disminución en el recuento en aquellos pacientes que presentaban estomatitis protésica no alcanzó a llegar a niveles habituales observados (400 UFC/ml) en los pacientes con la condición clínica de mucosa oral sana (Epstein y cols., 1980; Torres y cols., 2003; Salazar y Sacsquispe, 2005), develando estos resultados un asociación positiva entre alto recuento de *Candida* y presencia de estomatitis

protésica en portadores de prótesis removible.

Las prótesis removibles actúan como reservorio permitiendo que los hongos se transformen de microorganismos comensales a patógenos oportunistas (Zomorodian y cols., 2011). Las prótesis removibles no funcionales, ya sea por daño o fractura en su estructura, desajuste, pérdida de retención y soporte, o por presentar inestabilidad, irritan los tejidos causando ulceraciones y diversas lesiones en la mucosa oral (Silva y Albuquerque, 2008); la infección por parte de *Candida* se establece cuando el epitelio que recubre la zona de soporte protésico pierde su integridad, favoreciendo su adhesión e invasión (Aguirre, 2002). Además el uso de prótesis genera una disminución de la irrigación sanguínea de la mucosa al ejercer presión (Silva y Albuquerque, 2008), dificulta la llegada de anticuerpos provenientes de la saliva y determina la aparición de un medio ácido y anaerobio favorable para la proliferación del hongo (Brevis y cols., 2008), el que va aumentando en cantidad hasta desequilibrar la relación hospedero-patógeno, generando la aparición de cuadros clínicos como la estomatitis protésica, cuya lesión tiene como uno de los factores etiológicos principales la presencia de una gran cantidad de levaduras del género *Candida* (Gendreau y Loewy, 2011).

Antes del tratamiento rehabilitador el 33,3% de los pacientes con mucosa oral sana y el 52,6% de aquellos con estomatitis protésica presentaban recuentos en saliva superiores a 400 UFC/ml, concordando con lo evidenciado por Pires y cols. en cuyo estudio obtuvo que antes del tratamiento rehabilitador 39,5% de los individuos con mucosa oral sana y 53,8% de aquellos con estomatitis protésica tenían recuento salival mayor a 400 UFC/ml (Pires y cols., 2002). El recuento superior a 400 UFC/ml se presentó con mayor frecuencia en pacientes con estomatitis protésica tipo II (55,6%) que en los con tipo I (50%), similar a los reportado por Pires y cols. en su primera evaluación: ESP tipo I (47,6%) y ESP tipo II (57,1%), con la diferencia de que en ese estudio habían pacientes con estomatitis protésica tipo III que fueron los que en definitiva presentaban con más frecuencia (75%) recuentos mayor a 400 UFC/ml (Pires y cols., 2002).

Con las prótesis nuevas y funcionales instaladas, la frecuencia de recuentos superiores a 400 UFC/ml en saliva disminuyó, presentándose en 6,7% de aquellos con mucosa oral sana y en 42,1% de los con estomatitis protésica, disimiles a lo reportado por Pires y cols. a los seis meses de instaladas las prótesis

removibles nuevas, en el cual 41,3% de los pacientes con mucosa oral sana y 85,7% de aquellos con estomatitis protésica presentaron recuentos salivales mayores a 400 UFC/ml, cifras que aumentaron probablemente por el mayor tiempo de uso protésico previo a la toma de muestra en ese estudio (Pires y cols., 2002). El 40% de los pacientes con estomatitis protésica tipo I y 44,4% de los con tipo II presentaban recuentos superiores a 400 UFC/ml, sin diferencia estadística.

Considerando una relación de riesgo entre la cantidad de levaduras del género *Candida* y el desarrollo de estomatitis protésica, si no se detiene su crecimiento a tiempo, además de generar la aparición de la lesión, el cuadro clínico se agrava con el tiempo, observándose en este estudio que los pacientes con mayor severidad de la estomatitis protésica poseen altos recuentos con mayor frecuencia.

Si bien los pacientes con prótesis removible nuevas y funcionales presentaron una disminución en el recuento, sigue siendo alto en aquellos con diagnóstico inicial de estomatitis protésica, principalmente los con tipo II, indicando que a pesar de que el reemplazo de las prótesis removible no funcionales por nuevas y funcionales es parte del tratamiento de la estomatitis protésica, la mejoría clínica de la estomatitis protésica no necesariamente es seguida por una disminución a un nivel bajo en el recuento.

Considerando que en este estudio los pacientes portadores de prótesis removibles que no cumplen con requisitos funcionales pero cuya mucosa oral se encuentra clínicamente sana, poseen recuentos de levaduras del género *Candida* en saliva más altos que los estipulados por Epstein y cols. para la aparición de signos y síntomas de infección (Epstein y cols., 1980), se debe considerar que un alto recuento puede ser un elemento predictor para la aparición de estomatitis protésica, o un factor predisponente para la recurrencia de esta lesión en aquellos con recuentos altos y diagnóstico inicial de estomatitis protésica.

La disminución significativa en el recuento salival de *Candidas* en todos los grupos estudiados, principalmente en aquellos pacientes con estomatitis protésica tipo I, después de instaladas las prótesis removibles nuevas y funcionales demuestra asociación entre recuento de levaduras del género *Candida* y desarrollo de estomatitis protésica cuando el estado protésico no cumple con los requisitos funcionales. En la investigación realizada por Abaci y cols. revelaron que

la frecuencia de desarrollo de estomatitis protésica es más alta en individuos con recuentos mayores a 400 UFC/ml con resultados estadísticos significativos (Abaci y cols., 2010).

Candida albicans fue la especie detectada con mayor frecuencia en saliva antes (75%) y después (82,4%) del tratamiento rehabilitador, similar a lo evidenciado por Abaci y cols. cuyo estudio develó que 82,2% de los aislados en saliva de pacientes portadores de prótesis removible correspondían a levaduras identificadas como *C. albicans* (Abaci y cols., 2010).

Antes del tratamiento rehabilitador 80% de los aislados de saliva de pacientes con condición clínica inicial de mucosa oral sana y 72,7% de aquellos con estomatitis protésica fueron identificados como *Candida albicans*, aproximándose a lo reportado por Abaci y cols. en que 100% de los aislados de pacientes con mucosa oral sana y 67,7% de aquellos con estomatitis protésica correspondían a *Candida albicans* (Abaci y cols., 2010).

Al instalar prótesis removible nuevas y funcionales en los pacientes, las especies de levaduras en saliva cambian, presentándose *Candida* spp no *albicans* solamente en pacientes con diagnóstico inicial de estomatitis protésica tipo I, correspondiendo los aislados de aquellos con tipo II y mucosa oral sana a *Candida albicans*. Probablemente esto se deba a que durante el periodo en que se realiza el tratamiento rehabilitador en la Clínica Odontológica Universidad de Chile, el paciente es tratado de la estomatitis protésica de acuerdo a su severidad mediante control de la oclusión, rebasados y aplicación de acondicionador de tejidos (ADT) en las prótesis antiguas, llegando a utilizarse antifúngicos de manera tópica o disueltos en ADT para los cuadros más severos o recurrentes asociados principalmente a estomatitis protésica tipo II o III, lo que generalmente no sucede en aquellos con tipo I y por lo tanto no sufren cambio en su microbiota fúngica. Esto es importante ya que el diagnóstico microbiológico precoz permite detectar la presencia y recuento de *Candida*, lo que posibilita ejecutar las acciones necesarias de manera oportuna para tratar la estomatitis protésica o prevenir su instalación en pacientes susceptibles controlando el factor infeccioso involucrado en su etiología.

Las *Candidas* spp no *albicans* detectadas en saliva de pacientes portadores de prótesis removibles antes del tratamiento rehabilitador fueron *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida parapsilosis*, correspondiendo a

12,5%, 6,3% y 6,3%, respectivamente. Después del tratamiento rehabilitador, al tener prótesis removible nuevas y funcionales, la frecuencia fue de 5,9% para todas las especies. Estos porcentajes se asimilan al 7% de prevalencia atribuido por Aguirre a estas especies. Aunque la presencia de *Candida* spp no *albicans* es menor, su identificación en pacientes con estomatitis protésica es importante cuando se presenta resistencia al tratamiento con antifúngicos convencionales o hay recurrencia del cuadro clínico. Al identificarlas se puede realizar el tratamiento adecuado considerando el diferente patrón y grado de sensibilidad de las distintas especies de *Candida* (Aguirre 2002).

El uso de prótesis removibles modifica el microambiente de la cavidad oral permitiendo que levaduras del género *Candida* pasen de comensales a patógenos oportunistas, lo que sumado al deficiente estado protésico y los factores de patogenicidad de los microorganismos, conduce al desarrollo y manifestación de estomatitis protésica en la mucosa oral (Gendreau y Loewy, 2011). Siendo esta habitualmente asintomática, es el odontólogo quien debe diagnosticarla y detectar los factores etiológicos asociados en cada paciente para realizar el tratamiento indicado, pero es también él quien debe ayudar a su prevención al momento de realizar rehabilitaciones con prótesis removible, enfatizando en las medidas de higiene, indicando retirarlas para dormir y la realización periódica de controles protésicos para realizar posibles reparaciones, acondicionamiento de tejidos o el cambio de la prótesis según amerite, e identificar de manera precoz el surgimiento o recurrencia de la estomatitis protésica.

Cuando la lesión ya ha sido diagnosticada, el tratamiento debe estar enfocado a todos los factores etiológicos de la estomatitis protésica, ya sean protésicos o infecciosos, haciendo énfasis en la importancia del diagnóstico microbiológico como parte importante para un correcto uso de antifúngicos, que tenga el efecto deseado sobre la especie presente en el paciente y sin realizar sobretratamientos que generen resistencia a los fármacos de uso convencional. El objetivo del tratamiento de la estomatitis protésica no debe ser tan solo la búsqueda de una mucosa oral sana clínicamente, sino que además se debiera lograr mantener la microbiota fúngica a un nivel tal que mantenga el equilibrio en la relación hospedero-patógeno, siendo esta la importancia clínica de este estudio.

El análisis microbiológico realizado en esta investigación corresponde a métodos convencionales y comerciales, sencillos de realizar y que otorgan resultados confiables de manera rápida y relativamente económica. La identificación de especies se llevó a cabo con el uso de pruebas fenotípicas (prueba del tubo germinativo y microcultivo en agar maíz), bioquímica-enzimáticas (Cromocandida®) y de termoresistencia (crecimiento a 45°C).

La prueba del tubo germinativo es la más aceptada y económica cuando no se cuenta con métodos comerciales para la identificación de levaduras. Corresponde al paso inicial en la detección sistemática de *Candida albicans* en una gran cantidad de aislamientos (Forbes y cols., 2009). La producción de pseudohifas precoces por parte de otras especies como *Candida tropicalis* pueden ser confundidas con tubos germinativos, pudiendo generar falsos positivos para *Candida albicans*. Asimismo, la capacidad de *Candida dubliniensis* de formar tubos germinativos al igual que *Candida albicans* hace que esta prueba deba ser complementada con métodos adicionales (Pemán y cols., 2007; Quesada y cols., 2007).

Como complemento al tubo germinativo, se utiliza el microcultivo en agar maíz. En esta prueba la producción de clamidospora se considera positiva para *Candida albicans*, siendo este método satisfactorio para su identificación definitiva cuando la prueba del tubo germinativo es negativa (Forbes y cols., 2009). Se debe tener en consideración que *Candida dubliniensis* también es capaz de producir clamidosporas en este medio.

Debido a las similitudes fenotípicas entre *Candida dubliniensis* y *Candida albicans*, para diferenciar ambas especies se debe recurrir a otros métodos, como la prueba de crecimiento a 45°C, que al ser comparada con el pruebas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), presenta alta sensibilidad y especificidad (Pasligh y cols., 2010).

Los sistemas comerciales, como Cromocandida®, también permiten la identificación de especies *Candida* con alta sensibilidad y especificidad, comparados con el método de la PCR, entregando resultados más estandarizados en la identificación de levaduras del género *Candida* (Estrada y cols., 2011).

Este estudio tiene algunas limitaciones, ya que no todos los pacientes incluidos presentaban la misma condición sistémica, algunos estaban sanos y

otros tenían enfermedades que controlaban con medicamentos. La higiene oral y protésica, así como la antigüedad y frecuencia de uso de las prótesis removibles no fueron evaluadas, presentando estos factores relación con el desarrollo de la estomatitis protésica (Sakar y cols., 2012), que debieran ser considerados en estudios a futuro.

Otros estudios que asocien presencia y recuento salival de *Candida* con estomatitis protésica deben corroborar los resultados de la presente investigación. Sería importante comparar estos resultados con los obtenidos de pacientes que no usen prótesis removible, o realizar un seguimiento a portadores de prótesis removibles funcionales en el tiempo, considerando los demás factores protésicos e infecciosos en la etiología de la estomatitis protésica. Además sería interesante considerar la relación entre estomatitis protésica y algunas condiciones del hospedero que aumentarían el recuento de levaduras del género *Candida*, como diabetes mellitus, tabaquismo, inmunosupresión farmacológica, disminución del flujo salival o déficit nutricional, entre otras (Aguirre, 2002; Torres y cols., 2003).

CONCLUSIONES

- Hay una alta frecuencia de estomatitis protésica en pacientes portadores de prótesis removible no funcionales, siendo la más común la tipo I, seguida de la tipo II, y sin presencia de la tipo III en este estudio, la cual es de menor prevalencia.
- Las mujeres portadoras de prótesis removible no funcionales presentan significativamente mayor frecuencia de estomatitis protésica que los hombres en la misma condición.
- Las mujeres muestran mayor severidad presentando principalmente estomatitis protésica tipo II, en contraste con los hombres que mayormente presentan tipo I.
- La presencia de levaduras del género *Candida* en saliva es mayor en pacientes con estomatitis protésica que en los con mucosa oral sana, tanto antes como después del tratamiento rehabilitador, constituyéndose en un factor de riesgo para el desarrollo de esta lesión, que debe ser considerado junto a los demás factores.
- Los portadores de prótesis removibles no funcionales presentan un alto recuento salival de levaduras del género *Candida* aún con la condición clínica de mucosa oral sana, sugiriendo que la prótesis constituye un reservorio para este microorganismo, facilitando su crecimiento y desarrollo.
- El recuento salival de *Candidas* es mayor en portadores de prótesis removible con estomatitis protésica que en aquellos que presentan mucosa oral sana.
- El recuento de *Candidas* en saliva disminuye significativamente al cambiar las prótesis removible no funcionales por nuevas y funcionales, tanto en pacientes que inicialmente presentaban mucosa oral sana como aquellos con estomatitis protésica.

- Los pacientes con prótesis removible nuevas y funcionales presentan una disminución en el recuento salival de levaduras del género *Candida*, pero este sigue siendo alto en aquellos con diagnóstico inicial de estomatitis protésica, principalmente en los con tipo II.

- Existe asociación, sin diferencia estadísticamente significativa en este estudio, entre alto recuento salival de levaduras del género *Candida* y presencia de estomatitis protésica en pacientes portadores de prótesis removible no funcional tanto antes como después del tratamiento rehabilitador.

- *Candida albicans* es la especie detectada con mayor frecuencia en la saliva de portadores de prótesis removible, ya sean estas no funcionales o nuevas y funcionales.

- Los portadores de prótesis removible no funcionales presentan mayormente *Candida albicans* que *Candida* spp no *albicans* en saliva, con porcentajes similares según condición clínica inicial de mucosa oral sana o diagnóstico de estomatitis protésica en todos sus tipos.

- Las especies de levaduras en saliva cambian al instalar prótesis removible nuevas y funcionales en los pacientes, presentándose *Candida* spp no *albicans* solamente en pacientes con diagnóstico inicial de estomatitis protésica tipo I en este estudio.

- Las especies *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida parapsilosis*, se encuentran en bajos porcentajes en la saliva de los portadores de prótesis removibles.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre J. (2002). "Candidiasis orales". Rev. Iberoam. Micol.,19: 17- 21.
- Abaci O., Haliki A., Ozturk B., Toksavul S., Ulusoy M., Boyacioglu H. (2010). Determining *Candida* spp incidence in denture wearers. Mycopathologia. 169:365-372.
- Ayuso R., Torrent J., Lopez J. (2004). Estomatitis protésica: puesta al día. RCOE. 4 (6): 657-662.
- Brevis, P., Cancino, J., Cantín, M. (2008) Estomatitis subprótesis: estudio clínico y microbiológico de *Candida*. Int. J. Odontostomat., 2(1):101-108.
- Budtz-Jørgensen E. (2000). Ecology of *Candida*-associated denture stomatitis. Microb Ecol Health Dis. 12: 170–185.
- Constenla L., Palma M., Caravantes R. (2012) Manual de normas para las actividades clínicas de los alumnos. Clínica Odontológica Universidad de Chile.
- Cueto A., Martínez R., Niklander S., Deichler J., Barraza A., Esguep A. (2012). Prevalence of oral mucosal lesions in an elderly population in the city of Valparaíso, Chile. Gerodontology (en prensa).
- Díaz M., Silva V., Hermosilla G. (2003). Curso Internacional de Micología Médica – Manual Práctico. 10:53-73.
- Emami E., Taraf H., Grandmont P., Gauthier G., Koninck L., Lamarche C., Souza R. (2012). The Association of Denture Stomatitis and Partial Removable Dental Prosthesis: A Systematic Review. Int J Prosthodont. 25(2):113–119.
- Epstein J., Pearsall N., Truelove E. (1980). Quantitative relationships between *Candida albicans* in saliva and the clinical status of human subjects. J Clin Microbiol. 12(3):475-476.
- Espinoza I., Rojas R., Aranda W., Gamonal J. (2003). Prevalence of oral mucosal lesions in elderly people in Santiago, Chile. J Oral Pathol Med. 32(10):571-575.
- Estrada D., Dávalos A., Flores L., Mendoza R., Sánchez L. (2011). Comparación entre métodos convencionales, ChromAgar Candida® y el método de la PCR para la identificación de especies de *Candida* en aislamientos clínicos. Rev Iberoam Micol. 28(1):36–42.
- Fainboim L., Geffner J. (2011). Introducción a la Inmunología Humana. Editorial Médica Panamericana. 1-12:1-326.

Figueiral M., Azul A., Pinto E., Fonseca P., Branco F., Scully C. (2007). Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors - a large cohort. *J Oral Rehabil.* 34(6):448-455.

Forbes B., Sahm D., Weissfeld A. (2009). Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. Editorial Médica Panamericana. 12° Edición. 50(5):696-704.

Freitas J., Gomez R., De Abreu M. Ferreira E. (2008). Relationship between the use of full dentures and mucosal alterations among elderly Brazilians. *J Oral Rehabil.* 35(5):370–374.

García M., Uruburu F. (2000). La conservación de cepas microbianas. *Bol Inf Soc Esp Microb.* 30:12-16.

Gendreau L., Loewy Z. (2011). Epidemiology and Etiology of Denture Stomatitis. *J Prosthodont.* 20(4):251-60.

Golecka M., Mierzwinska E., Bychawska M. (2010). Influence of hormone supplementation therapy on the incidence of denture stomatitis and on chemiluminescent activity of polymorphonuclear granulocytes in blood of menopausal-aged women. *Eur J Med Res.* 15(2):46-9.

Höfling J., Moreira D., Spolidorio D., Rosa E., Pereira C. (1999). Salivary counts of *Candida* species and biotypes in Brazilian children aged 6-8 year old having a socio-economic background. *Act Odont.* 37(2):4.

Huumonen S., Haikola B., Oikarinen K., Derholm A., Remes-Lyly T., Sipila K. (2012). Residual ridge resorption, lower denture stability and subjective complaints among edentulous individuals. *Journal of Oral Rehabilitation* 39; 384–390.

Instituto Nacional de Estadísticas. (2010). Población adulta mayor en el bicentenario. Enfoque Estadístico - Boletín Informativo del Instituto Nacional de Estadísticas. Subdepartamento de Estadísticas Demográficas. Edición: Oficina de Comunicaciones.

Jiménez M., Hernandez J., Jacinto L. (2011). Envejecimiento y cavidad oral: un proceso irreversible pero manejable. *Rev Asoc Aut Pers Acad UNAM.* 3(4):287-290.

Loza D., Valverde H. (2006). Diseño de Prótesis Parcial Removible. Editorial Médica Ripano. 2:15-92.

Ministerio de Salud. (2003). Encuesta Nacional de Salud.

- Mizugai H., Isogai E., Hirose K., Chiba I. (2007). Effect of Denture Wearing on Occurrence of *Candida* Species in the Oral Cavity. *J Appl Res.* 7(3):250-254.
- Mohammad A., Giannini P., Preshaw P., Alliger H. (2004). Clinical and microbiological efficacy of chlorine dioxide in the management of chronic atrophic candidiasis: an open study. *Int Dent J.* 54(3):154–158.
- Morales M. (2001). Los adultos mayores chilenos en el siglo XXI: un enfoque politológico. *Acta Bioeth.* 7(1):71-95.
- Morán E., Ferreiro A. (2001). La candidiasis como manifestación bucal en el SIDA. *Rev Cubana Estomatol.* 38 (1):25-32.
- Odds F., Bernaerts R. (1994). ChromAgar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol.* 32(8):1923-1929.
- Pasligh J., Radecke C., Fleischhacker M., Ruhnke M. (2010). Comparison of phenotypic methods for the identification of *Candida dubliniensis*. *J Microbiol Immunol Infect.* 43(2):147-154.
- Pemán J., Martín E., Rubio M.(2007). Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. *Rev Iberoam Micol.* 2(11):1-20.
- Petersen P., Yamamoto T. (2005) Improving the oral health of older people: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol.* 33:81–92.
- Pinjon E., Sullivan D., Salkin I., Shanley D., Coleman D. (1998). Simple, inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol.* 36(7):2093-2095.
- Pires F., Santos E., Bonan P., De Almeida O., Lopes M. (2002) Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil.* 29:1115–1119.
- Quesada C., Murillo L., Ureña M., Vargas E. (2007). *Candida dubliniensis*: Caracterización, diagnóstico, Importancia en pacientes Inmunocomprometidos y diferenciación de *C. albicans*-Revisión Bibliográfica. *Rev Méd Costa Rica Centoamerica.* 64(578):43-48.
- Rodríguez J., Miranda J., Morejón H., Santana J. (2002). Candidiasis de la mucosa oral. Revisión bibliográfica. *Rev Cubana Estomatol.* 39(2):7.

- Sakar O., Sulun T., Bilhan H, Ispirgil E. (2012). Does the Presence of Anterior Mandibular Teeth Increase the Incidence of Denture Stomatitis? J Prosthodont.1–5.
- Salazar M., Sacsquispe S. (2005). Presencia de hifas de *Candida* en adultos con mucosa oral clínicamente saludable. Rev Estomatol Hered. 15(1):54–59.
- Sanfilippo F, Bianchi A. 2003. Osteoporosis: the effect on maxillary bone resorption and therapeutic possibilities by means of implantprotheses-a literature review and clinical considerations. Int J Periodontics Restorative Dent. 23(5):447-57.
- Scully C., Ettinger R. (2007).The Influence of Systemic Diseases on Oral. J Am Dent Assoc.138:7-14.
- Silva R., Albuquerque Z. (2008) Materiais e métodos de higienização para próteses removíveis. Int J Dent. 7(2):125-132.
- Sullivan D., Coleman D. (1998). *Candida dubliniensis*: Characteristics and Identification- Minireview. J Clin Microbiol. 36(2):329-334.
- Sullivan D., Westerneng T., Haynes K., Bennett D., Coleman D. (1995) *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. Microbiology. 141(7):1507-1521.
- Torres S., Peixoto C., Caldas D., Silva E., Magalhães A., Uzeda M., Nucci M. (2003). Clinical aspects of *Candida* species carriage in saliva of xerostomic subjects. Med Mycol. 41:411-415.
- Webb B., Thomas C., Willcox M., Harty D., Knox K. (1998). *Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: A review. Part1. Factors influencing distribution of *Candida* species in the oral cavity. Aust Dent J. 43(1):45-50.
- Williams D., Kuriyama T., Silva S., Malic S., Lewis M. (2011). *Candida* biofilms and oral candidosis: treatment and prevention. Periodontology 2000. 55(1):250–265.
- Zomorodian K., Nejabat N., Rajaei N., Peakshir K., Tarazooie B., Vojdani M., Sedaghat F., Vosoghi M. (2010). Assesment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. Med Mycol. 49:208–211.

ANEXOS Y APÉNDICES

Anexo n° 1: Consentimiento Informado

Aprobado por Comité Ético Científico de la Facultad (2011-18) correspondiente al protocolo de estudio clínico 2011-20.

Fecha de edición: 17 de octubre de 2011

CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL PROTOCOLO : “ESTUDIO CUANTITATIVO DE LA OCURRENCIA DE LEVADURAS DEL GÉNERO *CANDIDA* EN PACIENTES CHILENOS PORTADORES Y NO PORTADORES DE PRÓTESIS, CON O SIN ESTOMATITIS PROTÉSICA”

INVESTIGADOR PRINCIPAL : PROF. DRA. XIMENA LEE MUÑOZ

SEDE DEL ESTUDIO : UNIVERSIDAD DE CHILE. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. DEPARTAMENTO DE PRÓTESIS. ASIGNATURA DE PRÓTESIS TOTALES.

DIRECCIÓN : SERGIO LIVINGSTONE 943. SANTIAGO

NOMBRE DEL PACIENTE :

FECHA :

Yo Ximena Lee Muñoz, docente de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, Departamento de Prótesis, asignatura de Prótesis Totales, estoy realizando una investigación acerca de una levadura (hongo), el cual produce una enfermedad muy frecuente en la población, especialmente en aquella que utiliza prótesis dental, y que se llama Candidiasis. Le proporcionaré información y lo(a) invitaré a ser parte de ella. No tiene que decidir hoy si lo hará o no. Antes de hacerlo puede hablar acerca de la investigación con cualquier persona de su confianza. Este proceso se conoce como Consentimiento Informado y puede que contenga términos que usted no comprenda, por lo que siéntase con la absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido la Investigación y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme este formulario. Los aspectos de este formulario tratan los siguientes temas: Justificación de la Investigación, Objetivo de la Investigación, Tipo de Intervención y procedimiento, Beneficios y Riesgos Asociados a la Investigación y Aclaraciones.

Justificación de la Investigación: La Candidiasis es una de las enfermedades más frecuentes de la boca. La magnitud de la infección depende fundamentalmente de las condiciones del paciente, por ejemplo, si usa prótesis y cuál es su estado de mantención. Esta enfermedad se puede manifestar de diferentes formas: cuando se inspecciona la boca los signos principales son enrojecimiento y manchas blancas que se desprenden al raspado, como también podemos

encontrar fisuras o boqueras en las comisuras. La sintomatología es variable y generalmente mínima o asintomática, hasta cuadros de ardor o quemazón de variada intensidad.

Objetivo de la Investigación: Esta investigación tiene por objetivos detectar la presencia y cantidad en la cavidad oral, de la levadura del género *Candida albicans*, que es la que produce la Candidiasis, en aquellos pacientes que usan prótesis, con o sin síntomas y/o signos de su presencia. El estudio incluirá a un número total de 196 pacientes, que son atendidos en la asignatura de Prótesis Totales de esta Facultad. Los pacientes seleccionados presentan un nivel de salud que se clasifica como “Pacientes ASA I y II”, es decir sanos o con tratamiento médico controlado; Portadores y no portadores de prótesis removible y pacientes desdentados totales o parciales (sin dientes o con algunos dientes), con o sin estomatitis protésica (enrojecimiento bajo la prótesis) y/o candidiasis oral.

Beneficio de la Investigación. Usted tendrá el beneficio de poder someterse a un examen de salud bucal donde podrá conocer el estado actual de boca, y evaluar así la necesidad de posibles tratamientos. Conocer la cantidad de *Candida albicans* que usted posee, nos permitirá mejorar el pronóstico de su tratamiento protésico, estableciendo una terapia oportuna y eficaz según su riesgo individual.

Tipo de Intervención y Procedimiento. Si usted acepta participar, será sometido **dos veces**, una al principio y otra al final de su tratamiento, a la toma de una muestra de saliva y torulado de un área de su boca. Un torulado se realiza con un cotonito especial, el cual se pasa suavemente por su paladar. Para la muestra de saliva se le pedirá que deposite una pequeña cantidad de ella dentro de un frasquito.

Antes del examen es necesario que **se abstenga de utilizar colutorios (enjuagues bucales) 15 días antes de la toma de la muestra. El día de la citación deberá estar en ayunas de 2 horas, tampoco debe haber fumado ni realizado ningún procedimiento de higiene bucal.** Estas instrucciones le serán entregadas y explicadas oportunamente por escrito

Lugar donde se realizará la intervención. El procedimiento se llevará a cabo en la Asignatura de Prótesis Totales, ubicada en la Clínica Odontológica de la Facultad de Chile, 2º y 3º pisos, cuya dirección es Av. La Paz 750, Comuna de Independencia, los días martes de 09:00 a 13:15 horas.

La aplicación de este examen no representa ningún peligro para usted, pero si necesita información, puede comunicarse al teléfono 978 18 35, con la secretaria del Departamento de Prótesis, Sra. Erika Vásquez, quien gestionará su consulta, con los responsables del Proyecto: Dra. Ximena Lee Muñoz (ximenalee@gmail.com) , Dr. Cristian Vergara Núñez, Dra. Elizabeth Astorga Bustamante o Dra. Sara Cabezas Sepúlveda. El horario de atención telefónica es de 08:30 a 13:00 horas, y desde las 14:00 a 17:30 horas, de lunes a viernes.

Las técnicas en estudio serán aportados por la Facultad de Odontología, **sin costo alguno para usted**, durante el desarrollo de este proyecto.

Riesgo de la Investigación. Usted no correrá ningún riesgo durante y posterior al procedimiento de la investigación debido a que el cotonito sólo entrará en contacto con su paladar, el cual tampoco sufría daño alguno debido a que la presión ejercida es mínima y el material no es perjudicial para el mismo.

Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento y el mejor tratamiento de futuros pacientes, su participación en este estudio le traerá como beneficio el diagnóstico de una posible infección que usted porte, y el tratamiento oportuno, absolutamente gratuito, para que el pronóstico de la prótesis que se está realizando sea mejor. Esto incluye los controles periódicos hasta que se le otorgue el alta clínica.

Toda la información derivada de su participación en este estudio, será conservada en forma de **estricta confidencialidad**, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la

investigación será completamente anónima. Cabe destacar que sus datos personales serán codificados, es decir, se les asignará un número. Bajo ninguna circunstancia la investigadora responsable o los coinvestigadores divulgarán estos antecedentes. Sólo se trabajará con el código asignado. Tampoco se le tomarán fotografías ni videos.

Aclaraciones

- La participación es completamente voluntaria
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la intervención
- Si usted decide puede retirarse cuando lo desee.
- Las muestras obtenidas serán de exclusiva utilización para este estudio.
- No tendrá que efectuar gasto alguno como consecuencia del estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- Usted podrá solicitar información actualizada sobre el estudio, al investigador responsable.

La información obtenida de la Investigación, respecto de la identificación de pacientes, será mantenida con estricta confidencialidad por los investigadores, para esto, no se utilizará su nombre sino un sistema de código que enumerará las muestras.

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento, y de haber podido aclarar todas mis dudas, puede, si lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado del Proyecto: “Niveles salivales, prevalencia e identificación de levaduras del Género *Candida* en pacientes portadores de Prótesis Removible”.

Carta de Consentimiento Informado

A través de la presente, declaro y manifiesto, libre y espontáneamente y en consecuencia acepto que:

1. He leído y comprendido la información anteriormente entregada y que mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria.
2. He sido informado /a y comprendo la necesidad y fines de ser atendido.
3. Tengo conocimiento del procedimiento a realizar.
4. Conozco los beneficios de participar en la Investigación
5. El procedimiento no tiene riesgo alguno para mi salud.
6. Además de esta información que he recibido, seré informado/a en cada momento y al requerimiento de la evolución de mi proceso, de manera verbal y/o escrita si fuera necesaria y al criterio del investigador.

7. Autorizo a usar mi caso para investigación protegiendo mi identidad

Doy mi consentimiento al investigador y al resto de colaboradores, a realizar el procedimiento diagnóstico pertinente, **PUESTO QUE SE QUE ES POR MI PROPIO BENEFICIO.**

Nombre del Paciente, Tutor o Representante Legal: _____

RUT: _____

realizar la investigación con seres humanos y me apego a ella.

Nombre del Investigador Principal: _____

Firma: _____

Fecha: _____

En caso de cualquier duda puede acudir personalmente a Av. La Paz 750, Facultad de Odontología de Universidad de Chile, los días martes de 09:00 a 13:15 horas, o comunicarse al teléfono 978 18 35, con la secretaria del Departamento de Prótesis, Sra. Erika Vásquez, quien gestionará su consulta, con los responsables del Proyecto: Dra. Ximena Lee Muñoz, Dr. Cristian Vergara Núñez, Dra. Elizabeth Astorga Bustamante o Dra. Sara Cabezas Sepúlveda. El horario de atención telefónica es de 08:30 a 13:00 horas, y desde las 14:00 a 17:30 horas, de lunes a viernes.

Ante cualquier duda también puede preguntar al Comité de Ética de la Facultad de Odontología cuyo Presidente es el Dr. Juan Cortés; teléfono: 9781702 y su dirección es Facultad de Odontología de la U. de Chile, Edificio Administrativo, Oficina Vicedecanato, 4º piso, Sergio Livingston P. 943, Independencia.

Anexo n° 2: Ficha Clínica

FICHA CLÍNICA

Revisor:**Fecha:****N° Ficha:** _____**NOMBRE:** _____**EDAD:** _____**GENERO:** _____**Grado de Desdentamiento:**Total Superior Parcial Superior Total Inferior Parcial Inferior **Usa prótesis actualmente:** SI NO MAXILAR MANDIBULAR**Material de la prótesis:** Acrílico Metal Valplast**Estado Prótesis:****Adecuada**Superior Inferior **Deficiente****Estado de la mucosa subyacente:**CON Estomatitis Subprotésica SIN Estomatitis Subprotésica CON Candidiasis Clínica Tipo: _____**Condiciones Sistémicas:** (consignar estado de la patología)HTA DM Osteoporosis Otras **Observaciones:** (consignar uso de ADT, colutorios, fármacos, condiciones relevantes para la muestra.)

Anexo n° 3: Informativo e indicaciones al paciente



Informativo e Indicaciones al Paciente

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: “IDENTIFICACIÓN, CUANTIFICACIÓN Y PREVALENCIA DE LEVADURAS DEL GÉNERO *CANDIDA* EN PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESIS TOTALES. FACULTAD ODONTOLÓGICA. UNIVERSIDAD DE CHILE. 2011.”

El día martes ____/_____/2011, usted será sometido(a) a la toma de muestra de saliva y torulado durante su atención en la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile, según lo informado y aceptado en el Consentimiento Informado.

Para la toma de muestra usted debe:

- Suspender el uso de colutorio bucales 15 días antes de la toma de la muestra.
- El día de la citación usted debe estar en ayunas de 2 horas y sin haber fumado.
- No debe realizar ningún tipo de procedimiento de higiene bucal (cepillado de dientes, enjuagues, limpieza de prótesis, etc) en las 2 horas previas a la toma de las muestras.

Agradecemos su participación en este proyecto.

Anexo n° 4: Instrucciones del fabricante de Cromocandida®



EMPRESA CON CERTIFICACIÓN ISO
9001:2000

*Elaboración, Comercialización, y Distribución de Re-
activos y Productos Biológicos de Diagnóstico

MEDIO: CROMOCANDIDA

USOS: Medio cromogénico para la diferenciación de *Candidas*

PRESENTACION: Placas de 5 cm de diametro

Es un medio de cultivo selectivo para el desarrollo de levaduras provenientes de muestras clínicas; y para la diferenciación de estas especies en base a los diferentes colores de sus colonias producidos por reacciones enzimáticas de especie específicas con un sustrato cromógeno contenido en el medio.

Este medio está formulado especialmente para el desarrollo de *Candidas*, teniendo un comportamiento igual o mejor al medio Sabouraud dextrosa siendo ligeramente más selectivo para las levaduras, las bacterias están altamente inhibidas y retardadas en su crecimiento en este medio.

Candida albicans que es la especie de levadura aislada en mayor cantidad de muestras clínicas, se desarrolla en este medio con colonias verdes. Otras especies de *Candida* presentan distintos colores de colonias como: *C. krusei* colonias rosa pálido; *C. tropicalis* colonias azul violeta; *C. glabrata* rosa intenso a rojo. (ver tabla adjunta)



cepas control	ATCC	desarrollo	color de la colonia
<i>Candida albicans</i>	10231	muy bueno	verde
<i>Candida albicans</i>	90028	muy bueno	verde
<i>Candida glabrata</i>	15126	muy bueno	rosa-rojizo-purpura
<i>Candida krusei</i>	96685	muy bueno	rosa pálido
<i>Candida parapsilosis</i>	22019	muy bueno	blanco-marfil
<i>Candida tropicalis</i>	9968	muy bueno	azul-vidáceo

Preparado según especificaciones del fabricante y según norma ISO/TS11133-1:2000

CONTROL DE CALIDAD según especificaciones del estándar ISO/TS 11133-2:2003

Incubación: 24 hrs. a 35°C en aerobiosis.

Conservación: De 8 a 12 °C hasta la fecha de vencimiento.