



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS
LABORATORIO DE NANOBIO MATERIALES

Evaluación del recuento de levaduras del género *Candida* de pacientes portadores de prótesis removibles antimicrobianas a base de nanopartículas de cobre: Ensayo clínico controlado aleatorizado.

Mónica de la Fuente Escalona

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Dr. Cristián Covarrubias

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Ximena Lee

Prof. Leyla Gómez

Dra. Madeleine Urzúa

Adscrito a Proyecto FIOUCH 2016 DIFO 17/005

Santiago – Chile

2019



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS
LABORATORIO DE NANOBIO MATERIALES

Evaluación del recuento de levaduras del género *Candida* de pacientes portadores de prótesis removibles antimicrobianas a base de nanopartículas de cobre: Ensayo clínico controlado aleatorizado.

Mónica de la Fuente Escalona

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Dr. Cristián Covarrubias

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Ximena Lee

Prof. Leyla Gómez

Dra. Madeleine Urzúa

Adscrito a Proyecto FIOUCH 2016 DIFO 17/005

Santiago – Chile

2019

Dedicatoria

A mis padres Miguel y Rosa, quienes me han inculcado valores y apoyado desde pequeña para alcanzar mis metas. Sin duda, han sido mi pilar fundamental a lo largo de este camino, brindándome siempre una palabra de aliento y cariño.

Gracias por su esfuerzo, paciencia y amor infinito.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Universidad de Chile por otorgarme una formación íntegra, con gran sentido social, pensamiento crítico y libertad de expresión.

Agradezco a la Facultad de Odontología por la formación profesional entregada en estos años. Así mismo, a la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile, por permitir el desarrollo de esta investigación que se encuentra adscrito al Proyecto FIOUCH 2016 DIFO 17/005.

A mi tutor principal, Dr. Cristián Covarrubias, por el gran apoyo, tiempo y conocimientos proporcionados a lo largo de este proceso. Sumo los agradecimientos para la Dra. Madeleine y Dra. Ximena, y en forma especial, a la profesora Leyla Gómez, por su dedicación y enseñanzas vertidos en este trabajo.

Agradezco al Laboratorio de Microbiología y al Laboratorio de Nanobiomateriales de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, por posibilitar la realización de mi investigación. Doy gracias a Carla, Darna y Miguel, por su cariño y ayuda.

A mi compañero de tesis, Hetiel, gracias por su apoyo y amistad.

A mis amigos, quienes me han acompañado en estos años y con los cuales he compartido grandes momentos. En especial, a Felipe y Andrés, por su constante apoyo, comprensión y afecto. Gracias también a Pamela, Esteban, Danilo y a los amigos de la vida; Paolo, Miguel, Jaime, Antonio, Jorge y Kako, quienes me han entregado diversidad, risas y amor.

Al básquetbol, que me permitió conocer personas bellas y me ayudó a lidiar con la vida académica.

Desde luego, doy gracias a mi familia, a quienes les debo la persona que soy hoy en día. A mi padre, por todo su esfuerzo e incansable apoyo. Igualmente a mis hermanes José y Marcela.

A ti mamá, te agradezco enormemente. Has sido mi sostén, independiente de los kilómetros que nos separan, has estado presente para contenerme y apoyarme en todo tipo circunstancias.

Tu amor ha sido inmenso.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. MARCO TEÓRICO	4
3.1. Etiología de la Estomatitis Subprótesica	5
3.2. Tratamientos actuales de Estomatitis Subprótesica.....	9
3.3. Nanopartículas metálicas y su aplicación.....	10
3.4. Nanopartículas de Cobre.....	11
3.5. Prótesis acrílicas con Nanopartículas de Cobre.....	12
4. HIPÓTESIS	15
5. OBJETIVO GENERAL	15
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
7. METODOLOGÍA	16
7.1. Tipo De Estudio	16
7.2. Participantes.....	16
7.3. Tamaño Muestral.....	17
7.4. Distribución de los participantes.....	17
7.5. Intervención	18
7.6. Medición Microbiológica	19
7.7. Métodos estadísticos.....	22
8. RESULTADOS	23
8.1. Caracterización de la muestra.....	25
8.2. Análisis Microbiológico	26
9. DISCUSIÓN	30
10. CONCLUSIONES	¡Error! Marcador no definido.
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
12. ANEXOS Y APÉNDICES	42
12.1. ANEXO 1: Consentimiento Informado.....	42
12.2. ANEXO 2: Acta de aprobación de protocolo de investigación	48
12.3. ANEXO 3: Datos Demográficos del paciente	49
12.4. ANEXO 4: Cuestionario de Evaluación técnica (CET) adaptado	51

ABREVIACIONES

nCu	Nanopartículas de Cobre
ESP	Estomatitis Subprótesis
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
nAg	Nanopartículas de Plata
T0	Instalación de la Prótesis
T1	4 Meses post-instalación de prótesis
T2	7 Meses post-instalación de prótesis
T3	12 Meses post-instalación de prótesis
DABCO	Trietilendiamina
DMII	Diabetes Mellitus Tipo II
HTA	Hipertensión Arterial

1.- RESUMEN

Introducción

La rehabilitación mediante prótesis removible es una de las opciones más usada para devolver funcionalidad a pacientes desdentados. Sin embargo, su uso continuo y deficientes medidas de higiene lleva al desarrollo de estomatitis subprotésica (ESP), asociada a levaduras del género *Candida*. Los tratamientos actuales consistentes en antimicóticos tienen efectos adversos y no previenen la enfermedad.

Se ha desarrollado una tecnología antimicrobiana de prótesis acrílicas con nanopartículas de cobre (nCu), que cumplen las normas para su uso biomédico y poseen alta capacidad antimicrobiana contra *C. albicans* demostrada *in vitro*. De esta forma, surge la pregunta de investigación, si el uso de prótesis acrílica con nCu en pacientes disminuye el recuento de *Candida* spp. en comparación con el uso de prótesis convencional.

El presente estudio clínico evaluó el recuento de *Candida* spp. en pacientes que usaron prótesis con nCu comparado con portadores de prótesis convencionales

Material y métodos

Se realizó un ensayo clínico durante 2017-2018 en 25 pacientes de la Unidad de trabajo del estudiante (UTE) del Adulto Mayor III y área Prótesis Totales de la Clínica Odontológica Universidad de Chile. Se conformaron dos grupos, un grupo control rehabilitados con prótesis convencionales y un grupo estudio con prótesis con nCu. Se realizaron controles al momento de la instalación y posterior a ella, a los 4, 7 y 12 meses; para la toma de muestras de prótesis, paladar y saliva con el fin de evaluar recuentos de *Candida* spp. (UFC/mL) en cada grupo. Los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa GraphPad Prism7 aplicando t- Student con un nivel de significancia de 95% ($p < 0,05$).

Resultados

Se encontró en general que los recuentos de *Candida* spp. fueron menores en pacientes con prótesis con nCu respecto a aquellos con prótesis convencional. Particularmente a los 12 meses no se detectaron recuentos en la superficie de la prótesis ni en paladar de los pacientes con prótesis con nCu, mientras que en saliva no existieron diferencias significativas respecto al grupo control.

Conclusión

Los pacientes rehabilitados con prótesis con nCu presentaron una significativa disminución del recuento de *Candida* spp. respecto a los que utilizaron prótesis convencional, específicamente en la superficie de la prótesis y paladar. Este efecto antimicrobiano se puede correlacionar directamente con la disminución de incidencia y severidad de ESP reportado en otro trabajo para este mismo grupo de pacientes.

2.- INTRODUCCIÓN

A nivel mundial existe un envejecimiento rápido de la población y Chile no se encuentra exento de este cambio, viéndose reflejado en el aumento de la proporción de adultos mayores (Instituto Nacional de Estadísticas, 2017). Para rehabilitar adultos mayores edéntulos, el tratamiento brindado por el sistema de salud público chileno consiste en realizar todos los procedimientos odontológicos para devolver salud bucal, entre los cuales se encuentra la confección de prótesis acrílicas removibles (Ministerio de Salud Chile, 2010). Esta solución rehabilitadora es usada ampliamente a nivel mundial, sobre todo en aquellos pacientes de estrato socioeconómico medio o bajo. Sin embargo, su uso continuo, sumado a una deficiente higiene predispone a la aparición de una enfermedad llamada estomatitis subprotésica, que consiste en la inflamación crónica de la mucosa del paladar. Si bien la etiología es definida como multifactorial, su agente etiológico principal son levaduras del género *Candida*, la más frecuente según la literatura es *C. albicans* (Lee y cols., 2015). Para el tratamiento de esta patología, son diversos los tratamientos propuestos, tales como: extremar las medidas de higiene, uso de colutorios y aplicación de antimicóticos tópicos y/o sistémicos. Si bien, estos tratamientos disminuyen la sintomatología, son variados los efectos adversos que poseen. Lo que se traduce finalmente en la discontinuación del tratamiento (Lyu y cols., 2016).

Se propone actualmente apuntar hacia la modificación de los materiales usados en la confección de las prótesis, de tal forma de prevenir la proliferación de estos hongos reduciendo los signos y síntomas de la estomatitis subprotésica. Se ha estudiado la incorporación de elementos metálicos a las prótesis acrílicas, entre los cuales están las nanopartículas cobre, cuyo estudio *in vitro* ha demostrado la eficacia antimicrobiana que poseen (Gendreau & Loewy, 2011).

En el presente estudio se propuso evaluar los recuentos de levaduras del género *Candida* en pacientes portadores de prótesis dentales acrílicas modificadas con nanopartículas de cobre y compararlos con aquellos que portaban prótesis convencionales.

3.- MARCO TEÓRICO

Debido al explosivo aumento de esperanza de vida y a la disminución de la tasa global de fecundidad, la población de los países está envejeciendo rápidamente (United Nations Department of Economic and Social Affairs Population Division, 2015). Por su parte Chile, ha experimentado un aumento de la proporción de adultos mayores de más de 65 años, del 6,6% al 11,4% entre los años 1992 y 2017 (Instituto Nacional de Estadísticas, 2017). Esta transformación demográfica, plantea un desafío considerable para la salud pública.

El envejecimiento trae consigo que tanto la funcionalidad como la calidad de vida se vea disminuida, ya sea por la presencia de enfermedades crónicas, bajo estado nutricional o situaciones socioeconómicas desfavorables (Minsal, 2014). En cuanto al estado de salud bucal del adulto mayor, se pueden apreciar altos porcentajes de pérdida dentaria, caries dental, enfermedad periodontal, xerostomía y uso de prótesis parciales removibles. Porcentajes que se deben a una deficiente higiene oral sumado a una baja posibilidad de acceder a tratamientos dentales (Arteaga y cols., 2009).

La dentición no funcional total del país, entendiéndose como dentición no funcional aquella donde existen menos de 20 dientes en boca, es del 27%, y en mayores de 65 años sube a 81,7%. No existen diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres, sin embargo, el nivel de estudios juega un rol importante (Ministerio de Salud Chile, 2018).

El desdentamiento en adultos mayores trae como consecuencias una baja eficiencia masticatoria, limitada elección de comida, baja de peso, alteración de la comunicación oral, baja autoestima y menor bienestar. Generalmente para rehabilitar pacientes desdentados, ya sean parciales y/o totales, provenientes de niveles socioeconómicos bajos se utilizan prótesis removibles. De hecho, en Chile, esta es la principal forma de rehabilitación oral en servicios de salud pública (Ministerio de Salud Chile, 2010). En cuanto al uso de prótesis dentales totales, el 65,8% de adultos mayores son portadores, encontrándose mayor porcentaje en mujeres (Ministerio de Salud Chile, 2018).

Su uso altera las condiciones orales de los pacientes, causando queratinización de las mucosas, eritema, úlceras traumáticas y lesiones fibrosas irritativas en zonas edéntulas. Otros factores, tales como: higiene deficiente, irregularidades superficiales de la prótesis, desajustes y presión negativa en la zona de contacto prótesis-mucosa favorecen la formación de la biopelícula permitiendo la acción de microorganismos en la mucosa (Lee y cols., 2015).

En general, las prótesis dentales están fabricadas en base a una resina acrílica llamada polimetilmetacrilato (PMMA). Este material posee algunos inconvenientes que resultan problemáticos para la práctica clínica, particularmente sus propiedades superficiales de rugosidad y porosidad que actúan como reservorio para microorganismos (Gad y cols., 2017). Estos microorganismos forman una biopelícula sobre la superficie de la prótesis, algunos de ellos pueden provocar un proceso inflamatorio crónico de la mucosa en contacto con la prótesis, conocida como estomatitis subprotésica (ESP) que se caracteriza por la inflamación y eritema persistente de la mucosa de soporte que cubre la prótesis. ESP se encuentra presente en un rango que varía entre 20-67% de los pacientes portadores de prótesis removibles (Gual-Vaqués y cols., 2017). En Chile, se observa una situación similar; se reporta una prevalencia del 22,3% en adultos mayores (Espinoza y cols., 2003). Mientras que en otros países de América como Venezuela se encuentra en un 18%, en Brasil un 60% (Mujica y cols., 2008) y en Estados Unidos un 28% (Rivera-Hidalgo y cols., 2004).

3.1- Etiología de la Estomatitis Subprotésica

Su etiología es multicausal, que comprende tanto factores sistémicos como locales. Las levaduras del género *Candida* se presentan como el factor más relacionado a ESP (Lee y cols., 2015). Sin embargo, son levaduras comensales que residen en las membranas mucosas de cavidad oral y vaginal, así como en el tracto gastrointestinal de los humanos (Schaller y cols., 2005). La transformación de *Candida* de comensal a patógeno depende de una serie de combinaciones, tales como: factores del hospedero, modificadores del microambiente de cavidad oral y factores de patogenicidad del hongo (Aguirre, 2002).

Candida spp. compone del 25 al 50% de la microbiota oral de individuos sanos, aumentando al 80% en pacientes portadores de prótesis removibles (Nagaral y cols., 2014). No obstante, las levaduras del género *Candida* se encuentran en prótesis y en mucosa oral de los pacientes con o sin signos clínicos de estomatitis subprótesis, siendo una de las principales causas de la formación de biopelícula en las prótesis removibles (Zomorodian y cols., 2011).

En cuanto a los recuentos de *Candida* spp. se ha encontrado que son mayores en aquellos pacientes con estomatitis protésica, tanto antes como después del tratamiento. Además, el recuento disminuye significativamente al instalar prótesis funcionales, sin embargo, permanece alto en aquellos pacientes con ESP diagnosticada previamente al tratamiento rehabilitador. Un recuento > 400 UFC/ml de *Candida* spp. se considera como predictor de la aparición de ESP o factor predisponente de recurrencia en personas con recuentos iniciales altos y diagnosticados con ESP (Lee y cols., 2015). La especie del género *Candida* que comúnmente produce infecciones orales es *C. albicans*, comprendiendo hasta el 70% de los aislados. Además, especies no *C. albicans*, como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*, también puede contribuir al desarrollo de esta infección (Gleiznys y cols., 2015).

Candida expresa varios factores de virulencia, en los que se incluyen biomoléculas de reconocimiento del hospedero (adhesinas) y morfogénesis, que es la transición entre las células de levaduras unicelulares y las formas de crecimiento filamentosas. Además, se suma la secreción de fosfolipasas y aspartil proteinasas (Calderone & Fonzi, 2001). El uso de prótesis removible altera la efectividad de los mecanismos defensivos. La mucosa oral presenta propiedades antifúngicas que la protegen contra la invasión, como son su capacidad de barrido mecánico que dificulta la adhesión del hongo, la presencia de proteínas y otros componentes defensivos como lisozimas, lactoferrina, lactoperoxidasas y glucoproteínas (Calderone & Fonzi, 2001).

Candida albicans se presenta en forma de biopelícula sobre la superficie del acrílico de prótesis dentales, formando una matriz cerrada de microcolonias de levaduras e hifas, conteniendo un gran número de bacterias, como *Streptococcus* spp., polímeros extracelulares, e incluso un fenotipo distinto al que se presenta en estado planctónico (Aguirre, 2002).

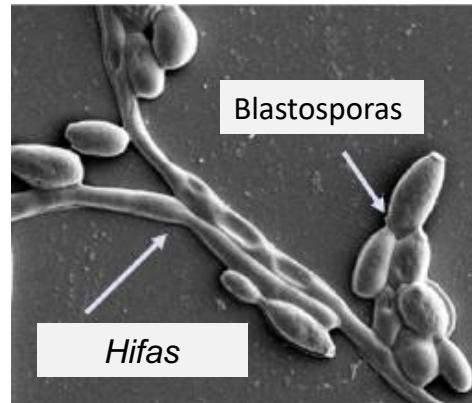


Fig.1 Hifas y blastosporas de *C. albicans* usando microscopía electrónica de barrido (SEM) (Farkash y cols., 2018).

Las biopelículas de bacterias orales y levaduras pueden causar una serie de enfermedades en cavidad oral, como caries dental, enfermedad periodontal y múltiples tipos de candidiasis (Marsh & Bradshaw, 1995). Debido a la biopelícula estos microorganismos son más resistentes a agentes antimicrobianos (Douglas, 2003). 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 altera el microambiente de cavidad oral dificultando que lleguen anticuerpos procedentes de la saliva, de esta forma se genera un medio ácido y anaerobio que favorece la proliferación y adhesión de hongos (Brevis y cols., 2008). Este ambiente activa las fosfolipasas extracelulares y las proteínas ácidas de *Candida*, promoviendo la adhesión de la levadura a la superficie mucosa y aumentando su potencial patógeno (Budtz-Jørgensen & Lombardi, 1996).

La ESP se clasifica según Newton en 3 subtipos dependiendo de la severidad (Samaranayake y cols., 2009).

- **Tipo I:** Inflamación localizada simple, áreas hiperémicas localizadas o puntos eritematosos.
- **Tipo II:** Lesión francamente inflamatoria, se observa el dibujo de los contornos de la prótesis, mucosa color rojo brillante, áreas eritematosas difusas. Es la más común.
- **Tipo III:** Tipo granular o papilar que involucra alteraciones máximas en la parte central de la mucosa palatina y reborde alveolar.

Existen factores predisponentes para la aparición de estomatitis subprotésica, estos se clasifican en la Tabla 1 en factores sistémicos y factores locales (Gleiznys y cols., 2015).

Tabla 1. Clasificación de factores predisponentes para ESP.

Factores Sistémicos	Desórdenes endocrinos e inmunológicos, depresión, xerostomía, farmacoterapia de amplio espectro, inmunomoduladores y drogas. Edades extremas y deficiente nutrición. Discrasias sanguíneas, quimioterapia y radioterapia, que producen una alteración de la respuesta inmune.
Factores Locales	Traumas generados por desajustes mecánicos de prótesis. Bajos niveles de calidad salival y del pH, que cambian la microbiología comensal hacia la proliferación de especies patógenas y favorecen la adhesión y proliferación de <i>C. albicans</i> . Además, la permeabilidad de las resinas acrílicas y la fácil adhesión de microorganismos a ellas. Prótesis con prolongado e ininterrumpido tiempo de uso y presencia de placa microbiana en la superficie de éstas. Alergias al monómero y/o acrílico. Hábito tabáquico y el sexo, relacionándose más a las mujeres.

3.2.- Tratamientos actuales de Estomatitis Subprótesica

Referente al tratamiento de la estomatitis asociada a prótesis removibles, se han propuesto variados tratamientos; la Guía Clínica “Salud Oral Integral para adultos de 60 años”, recomienda como esquema de tratamiento, controlar los factores irritativos y extremar las medidas de higiene tanto de la boca como de la prótesis, indicación antimicóticos sistémicos y tópicos específicos, generando una carga económica al servicio responsable de la atención (Ministerio de Salud Chile, 2010).

Los tratamientos antimicrobianos actuales consisten en uso de antifúngicos tanto tópicos como sistémicos, en estos últimos se incluyen triazoles, como fluconazol e itraconazol usados en pacientes que no responden a tratamientos tópicos o que son intolerantes a ellos, con un alto riesgo de desarrollar infecciones sistémicas. Sin embargo, poseen numerosas interacciones farmacológicas y existe resistencia de algunas especies de levaduras del género *Candida* como *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* hacia los azoles, lo cual limita su uso (Aslani y cols., 2018). Los agentes antifúngicos tópicos que se indican típicamente como tratamiento de primera línea son la nistatina, la anfotericina B, el miconazol y el clotrimazol. El tratamiento con antimicóticos trae efectos adversos como náuseas, mareos, dolor de cabeza y un sabor amargo desagradable, lo que conlleva a una discontinuación del tratamiento (Lyu y cols., 2016).

Se debe tener en cuenta respecto al uso de antifúngicos sistémicos, que la población geriátrica sufre cambios en su metabolismo, entre los que se distinguen disminución de la función hepática y renal (Barranco y cols., 2011). Además, se producen alteraciones farmacocinéticas como resultado de patologías concomitantes o interacciones inducidas por la polifarmacia. Por consiguiente, el margen terapéutico se vuelve estrecho y se deben individualizar las dosis de los medicamentos, de tal forma de obtener eficacia con una mínima o nula toxicidad (Calvo y cols., 2002).

Además, existen métodos químicos como colutorios de gluconato de clorhexidina al 0,2% que disminuye la cantidad de placa en prótesis y el uso de hipoclorito de sodio al 0,02%, que si bien logran reducir estas levaduras, causan efectos adversos sobre las características físicas de la prótesis. Otro método es la irradiación con microondas, siendo rápido y efectivo para la desinfección de la prótesis, no obstante, produce cambios conformacionales que se traduce en cambios dimensionales de la prótesis (Gleiznys y cols., 2015).

Se ha demostrado que los métodos mecánicos no son efectivos para reducir por completo los patógenos de la superficie de la prótesis y que el uso de antimicóticos es una terapia a corto plazo, pero no siempre efectiva (Tripathi, 2008).

Otra alternativa es el uso de plantas y aceites esenciales, como son *Pelargonium graveolens*, *Satureja hortensis* y *Zataria multiflora* y aceites como α -terpineol y tyrosol, carva- crol; que por sus propiedades antifúngicas y fungicidas podrían ser incluidos en colutorios o pastas dentales (Gleiznys y cols., 2015). A pesar que existen algunos estudios de toxicidad de carva-crol, está pendiente comprobar todavía su efecto en humanos (Sharifi-Rad y cols., 2018).

Debido a lo anteriormente expuesto, se propone modificar los materiales de fabricación de la prótesis, proveyendo una superficie en el acrílico con propiedades biocidas y/o que prevengan la adhesión de los microorganismos, reduciendo su exposición a la mucosa que está en contacto íntimo con la prótesis (Gendreau & Loewy, 2011).

3.3.- Nanopartículas metálicas y su aplicación

Los materiales de tamaño nanométrico han contribuido a aplicaciones avanzadas en el campo de la nanomedicina y las ciencias biomédicas debido a sus brillantes propiedades físicas y químicas. En la odontología son múltiples sus usos, desde materiales de impresión y pulido hasta resinas compuestas y cerámicas moldeables (Gad y cols., 2017).

Entre las nanopartículas, se encuentran las de plata, cobre y los óxidos metálicos, que se caracterizan no sólo por su amplia variedad de propiedades físicas y químicas, sino también, por su efecto antibacteriano. La reactividad química y la energía superficial de las nanopartículas juegan un papel central en la definición de las propiedades antibacterianas y antifúngicas.

3.4.-Nanopartículas de Cobre

Con el avance de la nanotecnología también ha sido posible producir partículas de cobre con tamaño nanométrico. Este metal es conocido desde hace mucho tiempo por sus propiedades antimicrobianas. Debido a su reducido tamaño y a su gran superficie de contacto en relación con su volumen, las nanopartículas de cobre (nCu) presentan excelentes propiedades bactericidas y antifúngicas, ya que estas características físicas les permiten interactuar fácilmente con las membranas de los microorganismos (Covarrubias y cols., 2018). La muerte celular por contacto es uno de los mecanismos antimicrobianos más aceptado (Figura 2), en el que el cobre tiene como principal objetivo el daño a la membrana celular, posteriormente los iones ingresarían a la célula e interactuarían con peróxidos de hidrógeno produciendo especies reactivas de oxígeno (ROS), causando estrés oxidativo y daño al DNA con la consecutiva muerte celular (Grass y cols., 2011; Matamala, 2016).

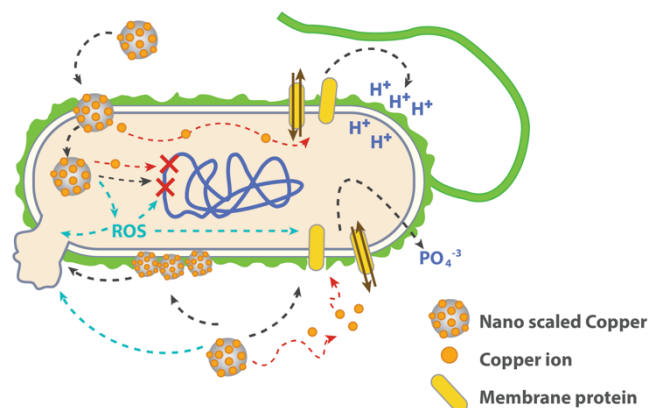


Fig.2 Mecanismo antimicrobiano de nCu. Ingreso de Cu a la célula, generación de ROS, daño al DNA y muerte celular (Matamala, 2016)

Existe otro antecedente respecto a su mecanismo antibacteriano, en un estudio se observó cambio en la morfología de *Escherichia coli*, siendo esta más filamentosa y produciendo muerte celular. Lo anterior, se explicaría por la sobreproducción de especies reactivas del oxígeno, lo que resulta en una considerable peroxidación lipídica, oxidación de proteínas y degradación de DNA (Chatterjee y cols., 2014).

A pesar de lo descrito, varios autores concluyen que es probable que no exista un sólo mecanismo de acción antimicrobiano, sino que se deba tanto al agente activo de la partícula misma como a los iones que se liberan al medio desde ella. La actividad antimicrobiana de las nCu ha sido estudiada *in vitro*, y se ha demostrado frente a algunos patógenos orales tales como *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Enterococcus faecalis* (Matamala, 2016).

Esto nos lleva a pensar en la incorporación de nCu en materiales acrílicos, como las prótesis dentales, con el fin de evitar la adhesión de *C. albicans* y prevenir su proliferación en ellos. Esta alternativa podría reducir el recuento de colonias obtenidas desde la superficie de la prótesis, mucosa palatina y saliva.

3.5.- Prótesis acrílicas con Nanopartículas de Cobre

El laboratorio de Nanobiomateriales de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, ha estudiado sistemáticamente en los últimos años el uso de nanopartículas de cobre en diferentes aplicaciones odontológicas. Las nCu destacan por ser reconocidas como antimicrobianos de amplio espectro y de poseer una propiedad que evita la adhesión de bacterias sobre superficies, denominada “*antifouling*”. Además, las investigaciones han demostrado que las nCu son excelentes antibacterianos frente a bacterias cariogénicas como *S. mutans* evitando la adhesión de estas bacterias sobre el esmalte dentario y/o siendo bactericida (Covarrubias y cols., 2018). Las nCu también han demostrado ser efectivas frente a bacterias asociadas a procesos infecciosos tanto periodontales como endodónticos (Galleguillos, 2015) y frente a levaduras responsables de estomatitis (Correa, 2012).

Entendiendo el comportamiento y las propiedades que presentan las nCu en condiciones del medio oral, se desarrolló una patente de invención sobre materiales acrílicos dentales a base de nanopartículas de cobre. Esta patente involucra el proceso de preparación de materiales acrílicos a base de nCu con propiedades antimicrobianas y biocompatibles, manteniendo las características estéticas y mecánicas de las prótesis convencionales. Además, cumple con las exigencias de bioseguridad para su uso en biomedicina (Covarrubias y cols., 2017). Se debe destacar también, que la patente se encuentra con protección tanto nacional (Nº 3781-2015) como internacional (PCT/CL2016/050079, 2017).

El cobre es un oligoelemento necesario en la dieta humana, el valor recomendado de ingesta diaria es de 900 µg/día, mientras que el promedio por persona se encuentra entre 1,0-1,6 mg/día (Institute of Medicine, 2001). Sumado a esto, el cobre se encuentra presente en el agua potable en concentraciones máximas de 2 mg/L (NCh409-INN, 2005). Se debe destacar que los valores anteriormente citados son bastante elevados en comparación a los muy bajos niveles de cobre liberados al medio ($5,8 \times 10^{-3}$ µg/ml/40 días) por las prótesis modificadas con nCu, ya sea en contacto con saliva u otro fluido fisiológico. Las prótesis modificadas con nCu inhiben el 92% de *C. albicans*, logrando su efecto antimicrobiano sin causar daño a células fibroblásticas humanas, característica que se debe a los bajos contenidos de nanopartículas que posee el material (Matamala, 2016).

Respecto a estudios clínicos acerca de la evaluación de prótesis dentales antimicrobianas, sólo se reporta un trabajo reciente en la literatura (Liu y cols., 2016), donde acrílicos fueron preparados con un monómero antimicrobiano (silicato metacriloxi amonio cuaternario, QAMS). El estudio fue realizado utilizando discos del acrílico antimicrobiano insertados en la superficie del acrílico de aparatos ortodóncicos. En el análisis microbiológico se midió la cantidad de bacterias vivas/muertas en la superficie de los discos utilizando microscopia de fluorescencia, encontrándose que en los grupos antimicrobianos aumentó la cantidad de bacterias muertas.

En cuanto a estudios *in vitro*, se reportan casos como la utilización de nanopartículas de óxido de zirconio (nZr) en el material acrílico (Gad y cols., 2017) para evitar la adhesión de *Candida albicans*. El resultado arrojó que la adhesión de *C. albicans* disminuyó significativamente en las muestras acrílicas modificadas con nZr en comparación a las de acrílicos convencionales. Otro estudio *in vitro*, incorporó el uso de nanopartículas de plata (nAg) al 5% en acrílico protésico (Li y cols., 2016), encontrándose una reducción de la adhesión de *C. albicans* en las muestras acrílicas modificadas con nAg. La literatura sin embargo no reporta estudios clínicos de prótesis antimicrobianas con nanopartículas de cobre u otro tipo de agente antimicrobiano, tampoco orientados al problema específico de estomatitis causada por *C. albicans*.

En una primera tesis del presente proyecto se evaluó el efecto de la prótesis con nCu en la incidencia y severidad de ESP (Miranda, 2019). En el presente trabajo de tesis se presentan los resultados del efecto de la prótesis antimicrobiana con nCu respecto a su capacidad para reducir los recuentos de levaduras del género *Candida* en pacientes portadores de prótesis.

4.- HIPÓTESIS

El uso de prótesis acrílica modificada con nanopartículas de cobre en pacientes desdentados disminuye el recuento de levaduras del género *Candida* en la superficie de la prótesis, mucosa palatina y saliva en comparación con el uso de prótesis convencional.

5.-OBJETIVO GENERAL

Evaluar el recuento de levaduras del género *Candida* en pacientes que usan prótesis modificadas con nCu, tanto en la superficie de la prótesis, mucosa palatina y saliva en comparación con pacientes que usan prótesis convencionales.

6.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Medir el recuento de levaduras del género *Candida* en prótesis, mucosa palatina y saliva en pacientes que portan prótesis convencionales.
2. Medir el recuento de levaduras del género *Candida* en prótesis, mucosa palatina y saliva en pacientes que usan prótesis modificadas con CuNP.
3. Comparar el recuento de levaduras del género *Candida* de los portadores de prótesis modificadas con nCu en aquellos que usan prótesis convencionales.

7.- METODOLOGÍA

7.1.-Tipo De Estudio

Estudio experimental, ensayo clínico ciego simple.

7.2.- Participantes

Durante el año 2017, los pacientes fueron reclutados de los cursos de Prótesis Totales y UTE Clínica Odontológica del Adulto Mayor III de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. Se aplicaron los criterios de inclusión y de exclusión, de esta forma a los pacientes que cumplieron con los requisitos de inclusión se les entregó el consentimiento informado (Anexo 1). Este fue leído y explicado, antes de su firma. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, cuya Acta aprobación es la N°:11/2017 (Anexo 2). Sumado a lo anterior, el estudio está adscrito al Proyecto FIOUCH 2016 DIFO 17/005 “Evaluación de prótesis removibles antimicrobianas a base de nanopartículas de cobre en la disminución de la severidad de la estomatitis subprotésica: Ensayo clínico controlado aleatorizado”.

Criterios de inclusión:

- Hombres y mujeres sano/as.
- Hombres y mujeres con enfermedad de base controlada y no incapacitante (ASA II).
- Pacientes sin signos clínicos de ESP.
- Desdentados totales superiores
- Portadores o no de prótesis.
- Que aceptaran ingresar estudio clínico previa firma del consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

- Hombres y mujeres con enfermedad sistémica no controlada.
- Pacientes con signos clínicos de ESP.
- Hipersensibilidad a los metales, acrílico protésico y/o monómero.

- Pacientes desdentado parcial superior.
- Pacientes que no aceptaron participar en el estudio.
- Haber consumido antibióticos, antifúngicos y/o esteroideos hasta 15 días antes a la toma de la muestra.

Cabe señalar, que las fichas clínicas de cada paciente fueron revisadas para obtener datos como: edad, sexo, enfermedades sistémicas, consumo de fármacos, hábitos nocivos, diagnóstico clínico, uso previo de prótesis e historia de ESP. Los datos se consignaron en el Cuestionario 1 (Anexo 3).

7.3.- Tamaño Muestral

El tamaño muestral se determinó utilizando la calculadora de muestra WinEpi 2.0 (Working in Epidemiology, An Online Epidemiological Tool). Se calculó el tamaño muestral de 50 pacientes, considerando un porcentaje de pérdida del 10%. Luego, la muestra obtenida fue dividida en dos grupos:

- Grupo Control: 25 pacientes portadores de prótesis acrílica convencionales.
- Grupo Estudio: 25 pacientes portadores de prótesis acrílica modificadas con nCu.

7.4.- Distribución de los participantes

La distribución se efectuó de forma alternada por los observadores, de esta forma a medida que iban incorporándose los pacientes al estudio, se iba igualando el tamaño muestral en ambos grupos. Es necesario indicar, que ningún paciente del estudio fue informado del grupo al cual perteneció durante todo el tiempo que duró la investigación.

7.5.- Intervención

La intervención se basó en la instalación de prótesis modificadas con nCu en aquellos pacientes que componían el grupo estudio. Todos los participantes de la investigación fueron examinados y tratados en las clínicas de Prótesis Totales y UTE Clínica Odontológica del Adulto Mayor III. Con el fin de devolver salud oral, los alumnos tratantes realizaron procedimientos clínicos que consistieron en destartrajes supra y subgingavales, restauraciones y exodoncias. Lo anterior, estuvo en todo momento supervisado por su docente clínico.

Para la fabricación de las prótesis modificadas con nCu, se utilizó nanotecnología desarrollada por el Laboratorio de Nanobiomateriales de la Facultad de Odontología Universidad de Chile, cuyos detalles y especificaciones técnicas están protegidos tanto nacional (N° 3781-2015) como internacionalmente (PCT/CL2016/050079, 2017). En la patente se precisan los contenidos de cobre en el acrílico de la prótesis y los requisitos de biocompatibilidad con los que cumple (Covarrubias y cols., 2015). El Laboratorio Dental a cargo de la confección de las prótesis acrílicas fue Beraudent®, Santiago, Chile (Figura 3).

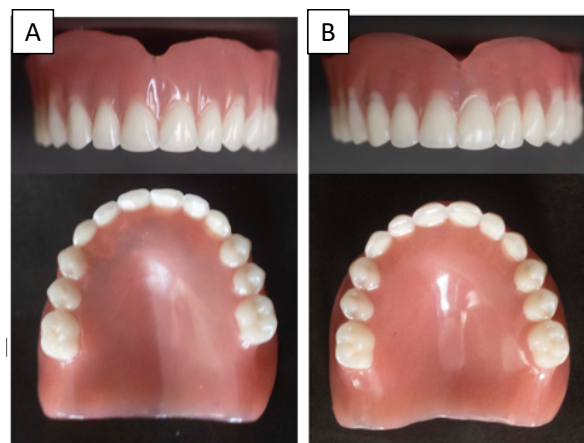


Fig. 3 Prótesis removibles fabricadas en laboratorio dental comercial. **a)** Convencional y **b)** modificadas con nCu (Olivares, 2018).

Cuando se procedió a la instalación de las prótesis dentales acrílicas, se aplicó un cuestionario de evaluación técnica (Pennacchiotti, 2006) adaptado (Anexo 4).

Los miembros del equipo de investigación, calibrados previamente, fueron quienes lo realizaron. Lo anterior, tenía como propósito evaluar la calidad técnica de las prótesis, de tal forma de instalar sólo aquellas que obtuvieron el puntaje máximo del cuestionario. Las restantes que presentaron alguna deficiencia técnica y que no alcanzaron el puntaje ideal, fueron informadas de inmediato al tratante y docente clínico. Para estas situaciones se aplicó un protocolo que consideraba la reparación o renovación completa de las prótesis, dependiendo de cada caso.

Luego de ser instaladas, se procedió a dar instrucciones de higiene prótesisica a cada paciente, las cuales se detallan a continuación:

- El cepillado de la prótesis debe ser diario.
- La limpieza prótesisica debe ser realizada con agua y jabon líquido.
- Antes de dormir, debe retirar sus prótesis.
- Una vez por semana debe sumergir las prótesis en una solución de agua con 5 gotas de hipoclorito de sodio, esta solución debe cubrir por completo las prótesis.

7.6.- Medición Microbiológica

El propósito del estudio fue evaluar los recuentos de levaduras del género *Candida* tanto en pacientes portadores de prótesis acrílicas modificadas con nCu como en aquellos portadores de prótesis convencionales. Se definieron 4 controles para la toma de muestras microbiológicas, los cuales están detallados en la Tabla 2.

Tabla 2. Frecuencias de toma de muestras microbiológicas.

CONTROL	ABREVIACIÓN	MESES
INICIO	TO	0 MESES
PRIMER CONTROL	T1	4 MESES
SEGUNDO CONTROL	T2	7 MESES
TERCER CONTROL	T3	12 MESES

A través del recuento de levaduras del género *Candida* expresadas en unidades formadora de colonias (UFC/mL de saliva) fue posible realizar la medición. Para la evaluación microbiológica se tomaron tres tipos de muestra por cada paciente:

1. Muestra de torulado de mucosa palatina utilizando tórula estéril.
2. Muestra de la superficie de la prótesis, considerando la zona que hace contacto con la mucosa palatina en un área de 4 cm² usando tórula estéril.
3. Muestra de saliva sin estimular y recolectada en tubos de centrifuga de 15 mL estériles.

Las tórulas fueron introducidas en tubos tipo falcon que contenían 1 mL de buffer fosfato de potasio (PBS) pH 7,4 estéril, todos los tubos con las muestras fueron rotulados, sellados y trasladados refrigerados al Laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (Figura 4a).

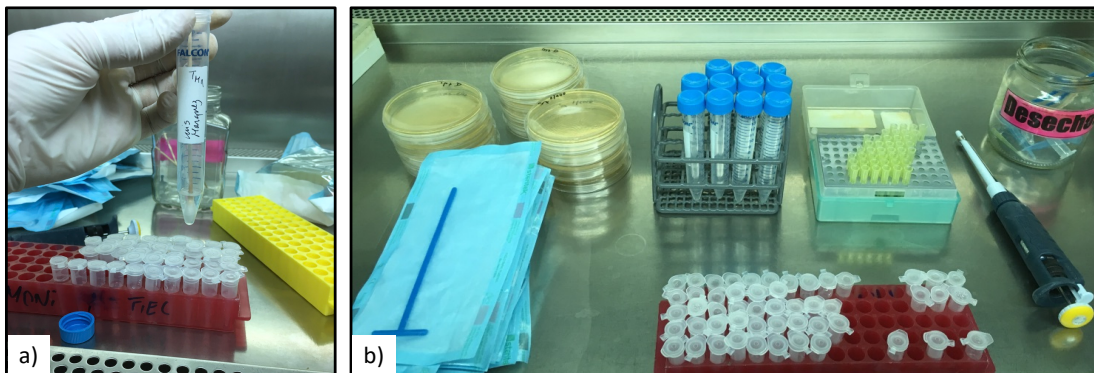


Fig.4 a) Muestras rotuladas en tubos Falcon. **b)** Materiales de procedimiento en Gabinete de Bioseguridad clase II tipo A Filtromet.

Cada una de las muestras se agitó en vórtex (IKA MS3 Digital) por 30 segundos. Luego se realizaron diluciones en base 10 en buffer PBS; utilizando tubos eppendorf estériles para cada dilución. La siembra se llevó a cabo tomando de cada dilución 100 µL y sembrándolos en placas de agar Sabouraud Cloranfenicol a pH 5,7 (Figura 5) previamente preparadas en la cabina de flujo laminar (Facmet).

Además, se incluyó una siembra directa, sin diluir, en el mismo medio de cultivo. Los procedimientos de siembra se realizaron siempre bajo gabinete de bioseguridad Filtromet, clase II, tipo A (Figura 4b).

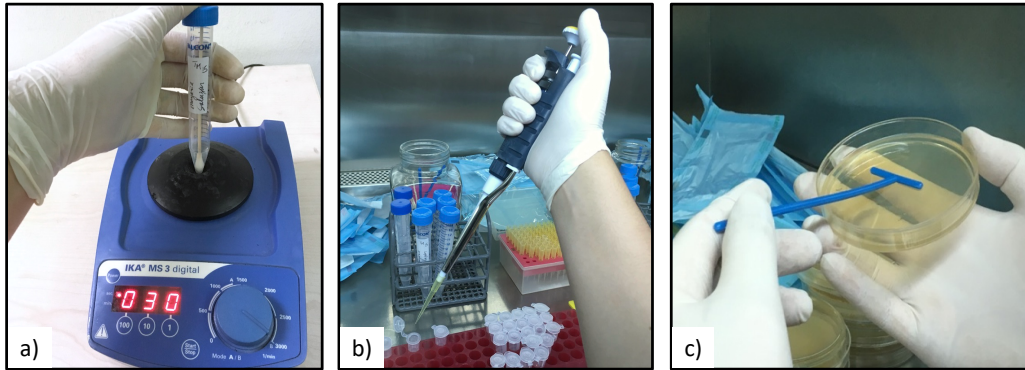


Fig.5 a) Muestra en Agitador vórtex (IKA MS3 Digital). **b)** Dilución de muestra. **c)** Siembra en placa agar Sabouraud.

Las placas se cultivaron a 37 °C durante 48 h, en condiciones de aerobiosis. Una vez finalizado el tiempo de incubación se contaron las colonias que crecieron en las placas de agar Sabouraud Cloranfenicol, compatibles con levaduras del género *Candida* (Figura 6). Paralelamente se confirmó la presencia de levaduras del género *Candida* mediante tinción de Gram de las colonias crecidas en agar Sabouraud para observar al microscopio óptico formas levaduriformes teñidas color azul-violeta.

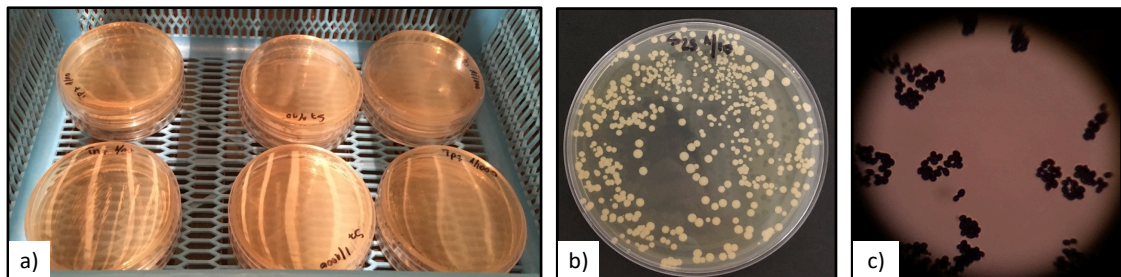


Fig. 6 a) Placas en estufa a 37°C. **b)** Placa posterior a 48hrs con colonias de *Candida* spp. **c)** Blastosporas de *Candida* spp. (Microscopio óptico Axiostar Plus ZEIS).

7.7.- Métodos estadísticos

La información obtenida previamente de las fichas clínicas sirvió para comparar la heterogeneidad entre ambos grupos de estudio. Los recuentos obtenidos de la siembra en placa de cada una de las muestras fueron recolectados y registrados para cada control realizado. Con el fin de estandarizar los recuentos de colonias se seleccionó la dilución 1/10 de todas las diluciones realizadas a partir de las muestras en cada uno de los controles. En el análisis de datos (recuentos de colonias), se evaluó si la distribución de las variables cuantitativas era normal, realizando la prueba de Shapiro-Wilk. Para las variables con distribución normal se utilizó la media como medida de tendencia central y el rango como medida de dispersión. Para las variables sin distribución normal se utilizó la mediana. Los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa *GraphPad Prism7* aplicando *t- Student* con un nivel de significancia de 95% ($p < 0,05$).

8.- RESULTADOS

El estudio clínico se realizó durante 12 meses. Al inicio del estudio se incorporaron 45 pacientes, sin embargo, se registró una pérdida de 20 pacientes. Las pérdidas se debieron a decisiones de parte de los alumnos tratantes y/o docentes por no continuar en el estudio atribuyendo razones de cumplimiento de los tiempos de la asignatura clínica, y en algunos casos de pacientes que por motivos personales no continuaron.

En la figura 7 se muestra el flujo de pacientes durante el tiempo que duró el estudio. En resumen, la cantidad de pacientes reclutados fueron 25, los cuales fueron rehabilitados en las clínicas correspondientes. De los 25 pacientes, 12 fueron portadores de prótesis convencionales y 13 portadores de prótesis modificadas con nCu. Los pacientes fueron reclutados durante el mes de diciembre del año 2017, mientras que el primer control se realizó en abril de 2018, el segundo control en julio, y el tercer control en diciembre del mismo año. En la Tabla 3 se observa el número de asistentes de ambos grupos en cada control.

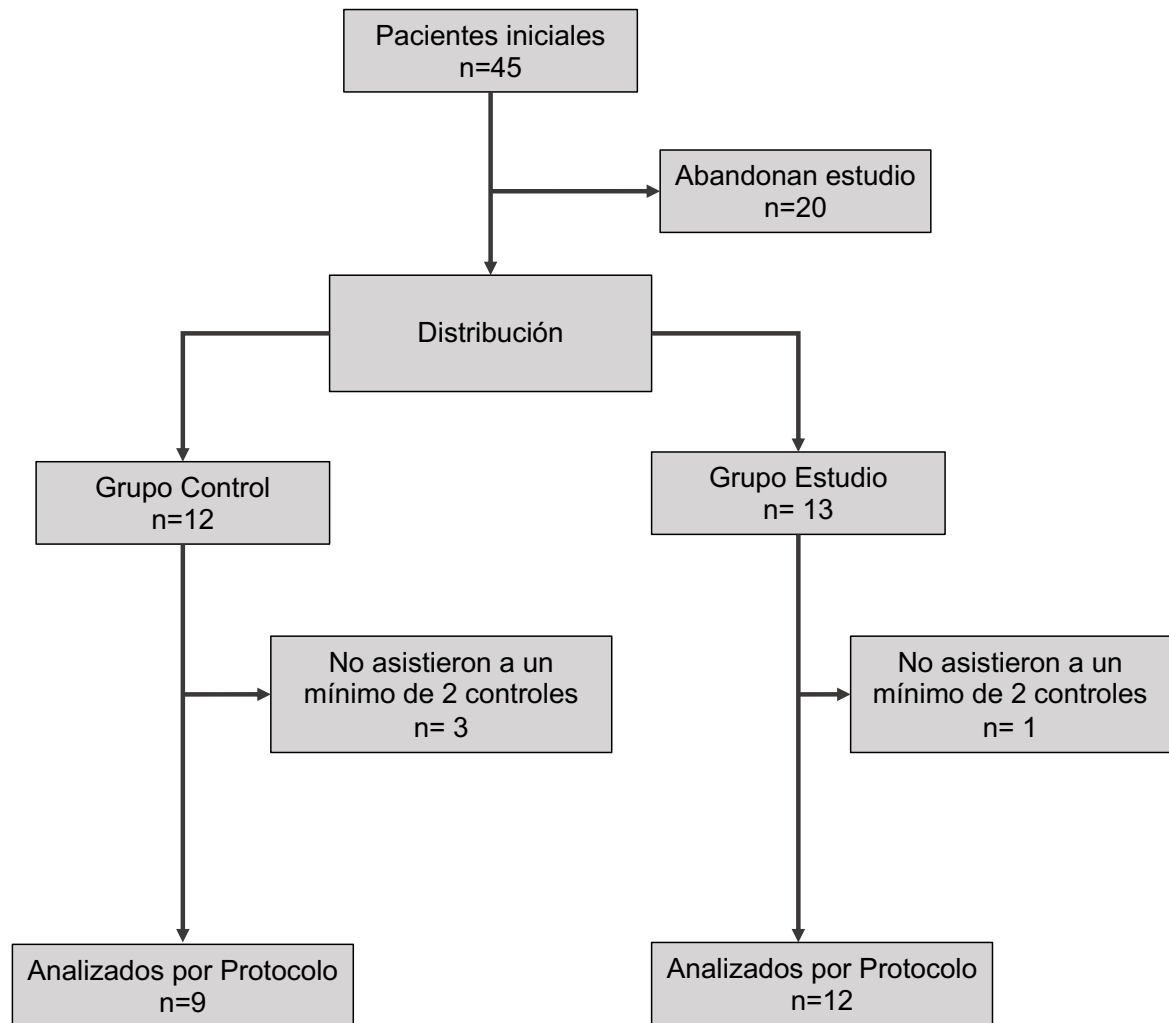


Fig. 7 Diagrama de flujo pacientes durante el estudio.

Tabla 3. Asistencia a controles a los 4 meses (T1), 7 meses (T2) y 12 meses (T3).

	T0	T1	T2	T3
Grupo Control (n)	12	10	8	8
Grupo Estudio(n)	13	12	11	11

8.1.- Caracterización de la muestra

Como se detalla en la Tabla 4, la muestra fue dividida en Grupo Control y en Grupo Estudio; y se encuentra ordenada según las siguientes características: sexo, grupo etario, enfermedades sistémicas, consumo de fármacos, hábitos nocivos e historia tanto prótesis como de ESP.

Tabla 4. Caracterización de la muestra del estudio clínico.

	Grupo Control n=12	Grupo Estudio n=12
Características	n(%)	n(%)
Sexo Femenino	10 (83,3)	7 (53,7)
Sexo Masculino	2 (16,7)	6 (46,2)
<i>Grupo Etario</i>		
45-49 años	1 (8,3)	0 (0)
50-59 años	1 (8,3)	2 (15,3)
60-69 años	4 (33,3)	6 (46,1)
70-79 años	3 (25)	4 (30,7)
80 años o más	3 (25)	1 (8)
<i>Enfermedades sistémicas</i>		
Diabetes Mellitus, n(%)	3 (25)	5 (38,4)
Hipertensión Arterial n(%)	7 (58,3)	5 (38,4)
Depresión, n(%)	0 (0)	2 (15,3)
<i>Consumo de Fármacos, n(%)</i>	8 (67,6)	6 (46,1)
<i>Hábitos Nocivos</i>		
Consumo de Alcohol	5 (41,6)	8 (61,5)
Consumo de Tabaco	2 (16,6)	3 (23)
Usuario de prótesis por primera vez	9 (75)	5 (38,5)
Historia de ESP previa	2 (16,6)	6 (46,2)

8.2.- Análisis Microbiológico

En los siguientes gráficos se expondrán los recuentos de unidades formadoras de colonias de levaduras del género *Candida* obtenidos de las tres zonas analizadas (saliva, mucosa palatina y prótesis) al tiempo de instalación de la prótesis (T0) y luego de cuatro (T1), siete (T2) y doce (T3) meses de estudio.

8.2.1.- Recuentos de levaduras del género *Candida* en saliva

En la Figura 8 se presenta el recuento (UFC/mL) de levaduras del género *Candida* de muestras extraídas desde saliva no estimulada de los pacientes. Para todos los tiempos que se controlaron se registraron recuentos en ambos grupos, si bien siempre fueron menores para el grupo portador de prótesis con nCu en comparación al grupo de prótesis convencional, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas para todos los períodos.

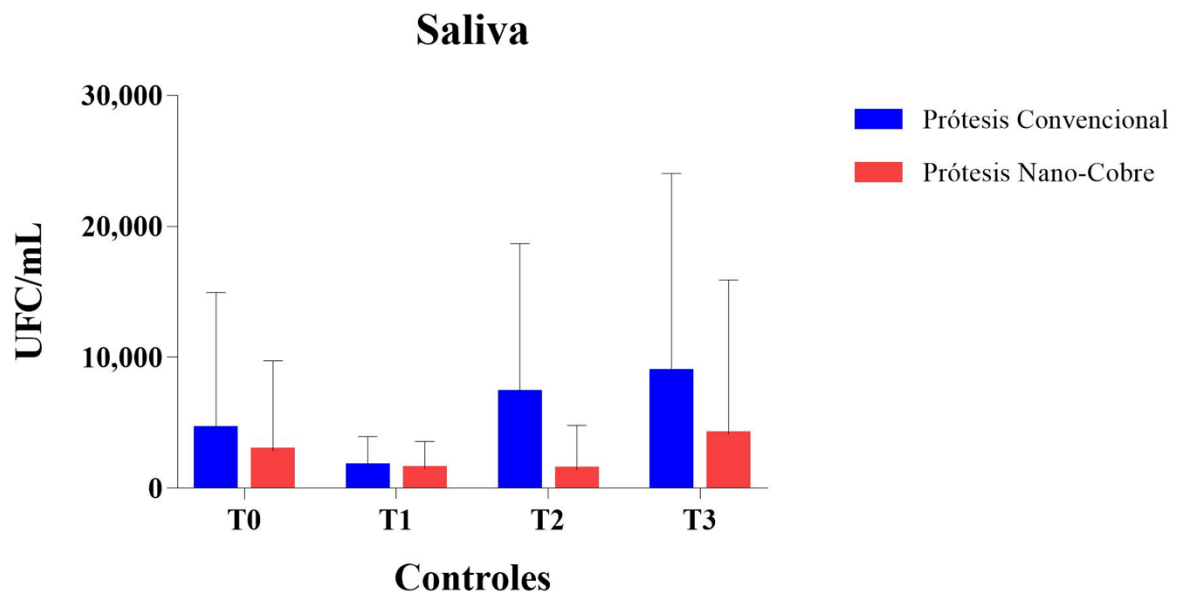


Fig. 8 Recuentos de *Candida* spp. en muestras obtenidas desde la saliva no estimulada de los pacientes. Medidos al tiempo de instalación de la prótesis (T0) y posterior a su instalación 4(T1) , 7(T2) y 12 (T3) meses.

8.2.2.- Recuentos de levaduras del género *Candida* en paladar

En la Figura 9 se presenta el recuento (UFC/mL) de levaduras del género *Candida* de muestras obtenidas de la mucosa palatina de los pacientes. Para el tiempo de instalación (T0) se encontró recuento cero para ambos grupos. Posterior a los 4 meses de instalación (T1), si bien presentaron recuentos, estas diferencias no fueron significativas entre ellos. En cambio, a los 7 meses (T2) el grupo portador de prótesis con nCu registró menor recuento que el grupo control, siendo estadísticamente significativo. Para el período 12 meses (T3), sólo se presentó recuento en el grupo control (~ 12.000 UFC/mL), siendo cero para el grupo estudio.

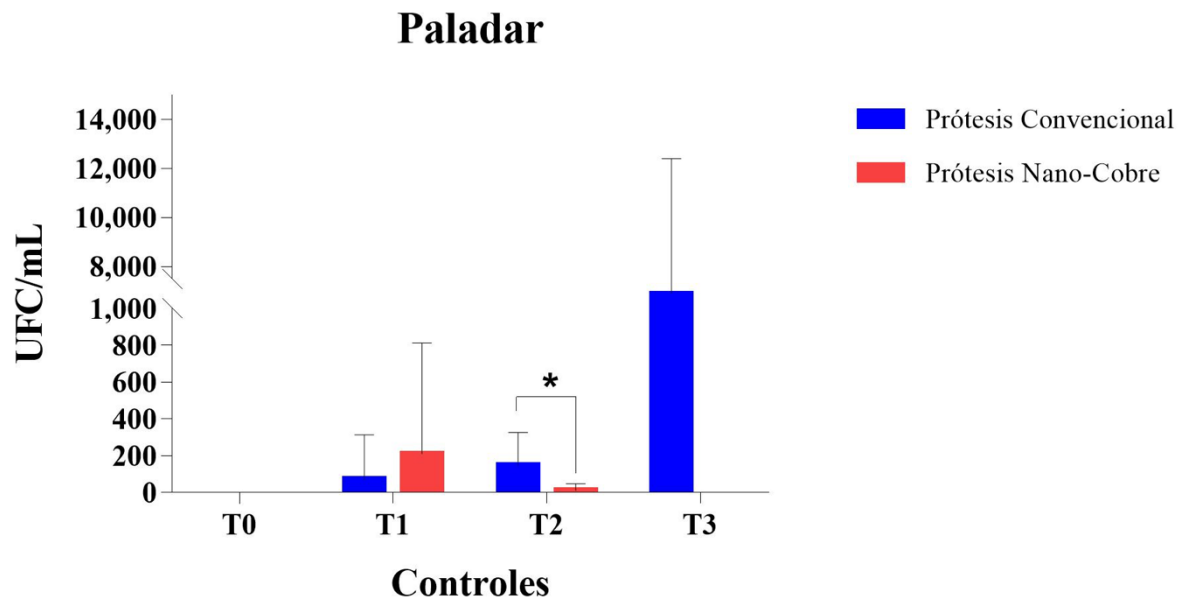


Fig. 9 Recuentos de *Candida* spp. en muestras obtenidas desde la mucosa palatina. Medidos al tiempo de instalación de la prótesis(T0) y posterior a su instalación 4(T1), 7(T2) y 12 (T3) meses.

8.2.3.- Recuentos de levaduras del género *Candida* en prótesis

En la Figura 10 se presenta el recuento (UFC/mL) de levaduras del género *Candida* de muestras obtenidas de la superficie de la prótesis de los pacientes. A los 4 meses posteriores a la instalación de la prótesis (T1) no existen diferencias significativas entre ambos grupos de estudio. Sin embargo, a los 7 meses (T2) el grupo portador de prótesis con nCu presentó un menor recuento de levaduras en comparación al grupo control, esta diferencia fue estadísticamente significativa. Esta diferencia fue aún más marcada a los 12 meses (T3), en donde no se registró recuento para el grupo estudio, mientras que el grupo control si presentó recuentos (~30.000 UFC/mL).

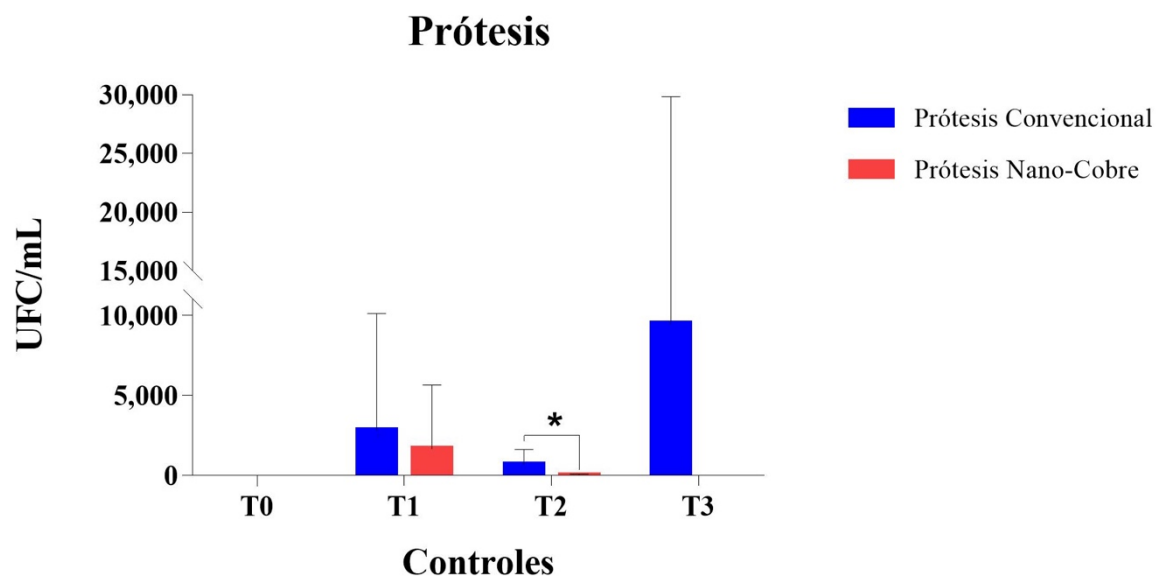


Fig. 10 Recuentos de *Candida* spp. en muestras obtenidas de la superficie de la prótesis acrílica convencional y modificada con nCu. Medidos al tiempo de instalación de la prótesis (T0) y posterior a su intalación 4 (T1), 7 (T2) y 12 (T3) meses.

8.2.4.- Pacientes Descompensados

Los pacientes con enfermedades sistémicas (diabetes, hipertensión) incluidos en el estudio se trataban de pacientes controlados al inicio y durante el estudio. Sin embargo, tres de estos pacientes con prótesis con nCu informaron que no siguieron sus controles médicos y tampoco su terapia farmacológica. Por este motivo los recuentos de estos tres pacientes especiales (P5, P6 y P13) portadores de prótesis con nCu son analizados de manera separada en esta sección al tiempo de 12 meses (T3).

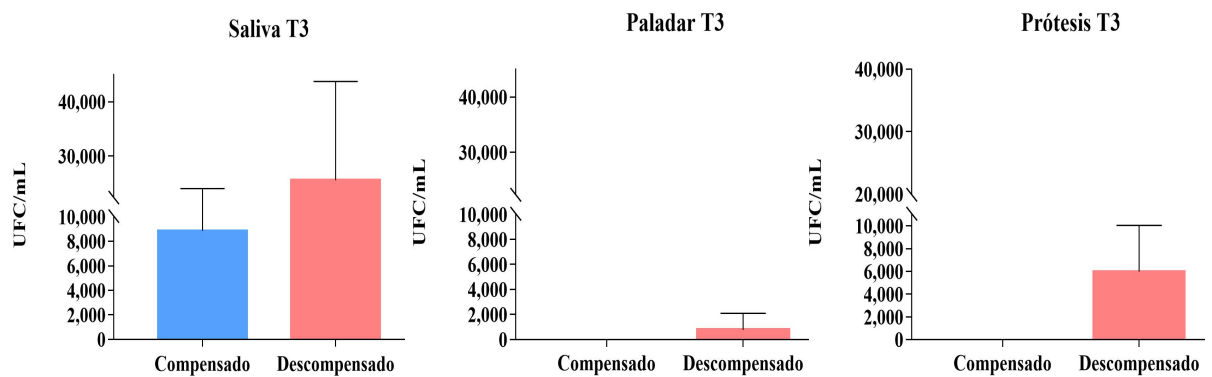


Fig. 11 Recuentos de levaduras del género *Candida* a T3 de pacientes con prótesis con nCu Compensados versus No compensados.

En general este tipo de pacientes registraron recuentos variables durante el estudio. La Figura 11 muestra que los valores obtenidos en pacientes descompensados fueron mayores (~10.000 UFC/mL a T3) en comparación a los encontrados en pacientes compensados que no registraron recuentos a T3 para prótesis y paladar. Para el mismo tiempo, los pacientes descompensados también presentaron en saliva recuentos superiores (~35.000 UFC/mL) respecto a los pacientes compensados (~18.000 UFC/mL).

9.- DISCUSIÓN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el recuento levaduras del género *Candida* en pacientes portadores de prótesis acrílicas modificadas con nCu versus aquellos portadores de prótesis convencionales. Para ellos se realizó un seguimiento durante 12 meses a partir de diciembre del 2017 de 21 pacientes seleccionados de las clínicas UTE Adulto Mayor III y del área de Prótesis Totales pertenecientes a la Universidad de Chile. Se conformaron 2 grupos, un grupo control y un grupo estudio; el primero compuesto por pacientes portadores de prótesis convencionales y el segundo por portadores prótesis modificadas con nCu.

En general, en el recuento microbiológico se pudo observar que no existieron diferencias estadísticamente significativas para las muestras obtenidas desde la prótesis, mucosa palatina y saliva al tiempo de instalación (T0) y a los 4 meses posterior a la instalación (T1) entre ambos grupos. Sin embargo, a los 7 y 12 meses posterior a la instalación (T2 y T3), los recuentos de *Candida* spp. en prótesis con nCu fueron estadísticamente menores respecto a los encontrados en el grupo control, particularmente en las zonas de paladar y prótesis. Por otro lado, los recuentos en saliva en todos los tiempos analizados, no arrojó diferencias significativas entre ambos grupos de la investigación.

La reducción de los recuentos a T2 y T3 se puede atribuir directamente al efecto antimicrobiano del acrílico protésico con nanocobre. La capacidad antimicrobiana del acrílico con nanocobre fue demostrada en estudios previos (Correa, 2012; Matamala, 2016), encontrándose que la superficie del acrílico inhibe el 92% del recuento *Candida albicans*. Por lo tanto, los resultados de la presente tesis demuestran que la capacidad antimicrobiana del acrílico con nCu permite reducir el recuento de *Candida* spp. en pacientes portadores de prótesis removibles. Se encontró que este efecto antimicrobiano ocurre especialmente en la superficie de la prótesis y en la mucosa palatina que se encuentra inmediatamente en contacto íntimo con la prótesis, no así en la saliva.

Este resultado es esperable debido a que los niveles de iones de Cu liberados por el acrílico al medio son extremadamente bajos ($5,8 \times 10^{-3} \mu\text{g/mL}$ /40 días), concentrándose en el líquido presente en la vecindad de la superficie de la prótesis y en la propia biopelícula (Matamala, 2016), lo que explica el significativo efecto antimicrobiano observado tanto en prótesis como en paladar.

En la Figura 12 se muestra que en la biopelícula, las microcolonias de *Candida* spp. se encuentran separadas por canales de agua que son claves para la circulación de nutrientes (Allaker, 2010). Todos estos espacios y canales generan un mecanismo de transporte y comunicación dentro de la biopelícula que estaría involucrado en el transporte de nanopartículas/iones liberados desde el nanocompósito acrílico (Matamala, 2016). Los iones de Cu tomarían contacto con *Candida* spp., ingresando a su interior, causando estrés oxidativo y daño en el DNA, produciendo muerte celular de acuerdo con el mecanismo antimicrobiano ya conocido para el cobre (Chatterjee y cols., 2014).

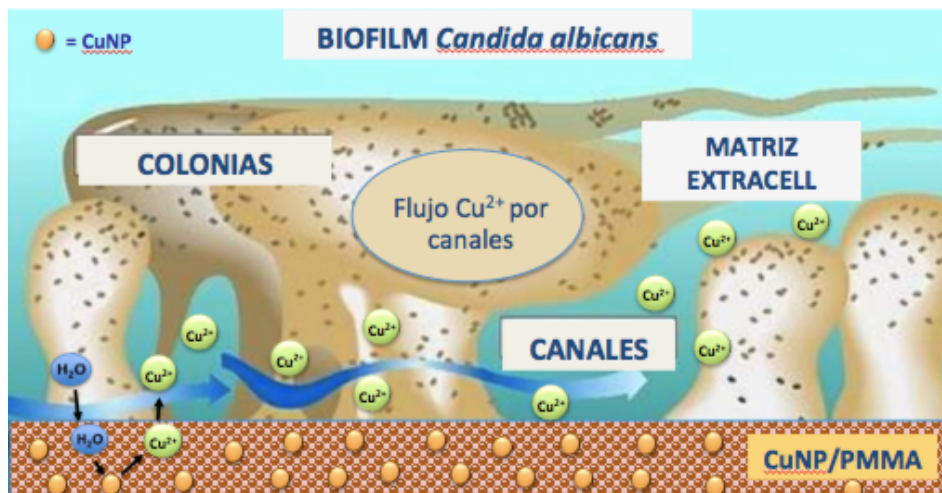


Fig. 12 Esquema del mecanismo antimicrobiano propuesto de nCu al interior del biofilm de *C. albicans* (Matamala, 2016).

En la actualidad existe un creciente aumento de la resistencia a antifúngicos por parte de levaduras del género *Candida*, sin embargo, en la literatura no se describe resistencia a nanopartículas de cobre (Mudiar & Kelkar-Mane, 2018). De acuerdo a la tendencia observada en el estudio la prótesis antimicrobiana con nCu aparece como una nueva y prometedora medida para reducir el recuento de levaduras del género *Candida* y de esta forma prevenir la ESP.

En una tesis paralela de este proyecto (Miranda, 2019), se evaluó la incidencia y severidad de sufrir ESP en este mismo grupo de pacientes. Se observó que el grupo de pacientes con prótesis con nCu presentó un 55,5% menos de incidencia de ESP a los 12 meses respecto al grupo control. Además, la severidad de ESP en los pacientes con prótesis convencional fue de tipo I, II y III, mientras que en los pacientes con nanocobre que presentaron ESP, ésta sólo alcanzó severidad tipo I y II. La disminución de la incidencia y severidad de ESP del estudio de Miranda, se podrían correlacionar directamente con la reducción en los recuentos de *Candida* spp. encontrados en la presente tesis. Confirmando que el efecto antimicrobiano de la prótesis con nCu en la superficie del acrílico y paladar sería responsable de la disminución de la incidencia de ESP.

Se debe señalar que a diferencia de otras sustancias antifúngicas usadas para el control de la proliferación del hongo, que son fundamentalmente terapéuticas, las prótesis con nCu ejercerían una acción fundamentalmente *preventiva* de la enfermedad. Sumado a esto, posee varias ventajas sobre los tratamientos antifúngicos y antisépticos tradicionales, ya que no presenta efectos adversos, no requiere la asistencia del paciente a la consulta de forma periódica para ser aplicado y no depende de la efectividad de la técnica de higiene del paciente. Este último aspecto, es especialmente sensible en adultos mayores que presentan deterioro o pérdida de la funcionalidad física, psíquica y social, lo cual afecta la eficacia de su técnica de higiene oral (Ministerio de Salud Chile, 2014). Lo anterior también se traduce en un ahorro económico, tanto para los pacientes como para los servicios de salud pública que suplen estos tratamientos.

Referente a estudios clínicos reportados en la literatura para disminuir recuentos de *Candida* spp. en pacientes portadores de prótesis acrílicas, un meta-análisis sólo reporta estudios sobre la aplicación externa de agentes antimicrobianos como antifúngicos, colutorios antisépticos, antimicrobianos naturales y métodos de desinfección como la terapia fotodinámica o microondas. Este estudio concluye que no existen diferencias estadísticamente significativas al evaluar su efecto respecto a la reducción de recuentos de levaduras del género *Candida* (Emami y cols., 2014).

En la literatura no se describen estudios clínicos sobre uso de nCu o de otra nanopartícula para disminuir recuentos de *Candida* spp. en pacientes que usan prótesis acrílica. Los estudios reportados hasta ahora sólo tratan de ensayos *in vitro*. Por ejemplo, Jalal y cols., (2019) evalúa el efecto de nCu biosintetizadas sobre *C. albicans* resistente a Fluconazol, encontraron que a una concentración de 5mg/mL de nCu lograban controlar tanto la tasa de crecimiento de *C. albicans* como la formación de biopelículas de esta levadura resistente. Otro estudio (Usman y cols., 2013) investigó las propiedades antimicrobianas de nCu sintetizadas en medio de polímeros de quitosano. Observaron actividad antibacteriana y antifúngica, específico contra *C. albicans*, debido a que las nCu influyen en su tasa de crecimiento. En cuanto al uso de otras nanopartículas metálicas, un estudio de Gad y cols.,(2017) utiliza nanopartículas de óxido de zirconio en el material acrílico para evitar la adhesión de *Candida albicans*. El resultado arrojó que la adhesión *in vitro* de *C. albicans* disminuyó significativamente en las muestras acrílicas modificadas con nanopartículas de óxido de zirconio en comparación a las de acrílicos convencionales medidos a las 48 hrs. Otro estudio *in vitro*, incorporó el uso de nanopartículas de plata al 5% en acrílico protésico (Li y cols., 2016), encontrándose una reducción significativa de la adhesión de *C. albicans* a las 72 horas en las muestras acrílicas modificadas con nAg. También se probó *in vitro* el efecto antimicrobiano del compuesto orgánico DABCO, encontrándose una inhibición del 100% de levaduras del género *Candida* después de 24 horas, actividad inhibitoria que se mantuvo hasta los 2 meses. Sin embargo, los acrílicos modificados con DABCO presentaron una citotoxicidad leve en células orales de mamíferos (Herman y cols., 2017).

En cuanto a estudios sobre la utilización de prótesis acrílicas antimicrobianas para disminuir recuentos asociados a ESP, sólo se reporta un estudio (Liu y cols., 2016). En este trabajo se prepararon discos acrílicos polimerizados con un monómero antimicrobiano (silicato metacriloxi amonio cuaternario, QAMS) y se insertaron en la superficie del acrílico de aparatos ortodóncicos. Se encontró que la proporción del recuento total de bacterias muertas en la superficie de los discos antimicrobianos respecto a los discos convencionales era menor y estadísticamente significativo medidos a las 48 horas. Sin embargo, en este estudio no se evaluó su efecto sobre *Candida* spp., principal patógeno asociado a infecciones protésicas.

Aunque no estaba dentro de los objetivos de la presente tesis, también se detectó un efecto en tres pacientes pertenecientes al grupo de estudio que presentaban diabetes mellitus tipo II (DMII) y/o hipertensión arterial (HTA) y que en sus controles declararon encontrarse sin farmacoterapia. Estos tres pacientes descompensados presentaron recuentos de *Candida* spp. superiores al promedio. Existen algunas investigaciones que relacionan estas patologías a recuentos mayores de *Candida* spp. Para el caso de DMII, un estudio (Lydia Rajakumari & Saravana Kumari, 2016), evaluó prevalencia de *Candida* spp. en pacientes con DMII y en individuos sanos portadores de prótesis. Encontrando una mayor proporción de *Candida* spp. en pacientes con DMII. Otro estudio (Radović y cols., 2014) asocia DMII a una mayor riesgo de desarrollar ESP. En cuanto a la asociación con HTA, (Marchi-Alves y cols., 2017) evaluaron la presencia en saliva de *Candida* spp. en pacientes hipertensos y normotensos portadores de prótesis removibles, encontrando *Candida* spp. en mayor porcentaje (71,4%) en aquellos pacientes con HTA. A pesar de estos antecedentes, los pacientes portadores de prótesis con nCu con DMII y HTA que se encontraban compensados para las patologías antes señaladas, presentaron recuentos equivalentes a los encontrados en pacientes sanos.

Es importante destacar que el presente estudio completó un seguimiento de 12 meses en comparación a otros estudios sobre recuentos de *Candida* spp. que no superan los 2 meses y constituye el primer ensayo clínico sobre el uso de nCu aplicadas al ámbito odontológico. No obstante, se mencionan limitaciones como el uso de ciego simple y la reducción del número de pacientes ingresados.

La tecnología acrílicos dentales con nCu ha sido actualmente expandida hacia otros dispositivos de uso odontológico, como planos oclusales y aparatos ortodóncicos, permitiendo la reducción bacterias responsables de la caries y/o enfermedad periodontal. Adicionalmente, se ejecutan nuevos estudios en la evaluación de acondicionadores de tejidos formulados con nCu, que permitirá evaluar el efecto *terapéutico* en pacientes con ESP.

10.- CONCLUSIONES

Los pacientes rehabilitados con prótesis acrílicas removibles modificadas con nCu presentaron recuentos de levaduras del género *Candida* menores respecto a los que portaban prótesis convencional.

Las prótesis con nCu ejercen un efecto antimicrobiano en la superficie de la prótesis y en la mucosa palatina, mientras que no se observan diferencias significativas en los recuentos en saliva entre los grupos estudiados.

La disminución de los recuentos de *Candida* spp. producida por la prótesis con nCu se correlacionan directamente y explica la disminución en la incidencia y severidad de ESP de este grupo de pacientes estudiados clínicamente en paralelo en otro trabajo del mismo proyecto.

Las prótesis modificadas con nanopartículas de cobre surgen como una nueva alternativa para disminuir la proliferación levaduras del género *Candida*, agente etiológico principal de ESP.

11.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre, J. (2002). Candidiasis orales Factores etiopatogénicos. *Rev Iberoam Micol*, 19(699), 17–21.
- Allaker, R. P. (2010). The Use of Nanoparticles to Control Oral Biofilm Formation. *Journal of Dental Research*, 1175–1186.
- Arteaga, O., Urzúa, I., Espinoza, I., Muñoz, A., Mendoza, C., Arteaga, O., ... Mendoza, C. (2009). Prevalencia de Caries y Pérdida de Dientes en Población de 65 a 74 Años de Santiago, Chile. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, 2(3), 161–166.
- Aslani, N., Abastabar, M., Hedayati, M. T., Shokohi, T., Aghili, S. R., Diba, K., ... Vafaei Moghaddam, M. (2018). Molecular identification and antifungal susceptibility testing of *Candida* species isolated from dental plaques. *Journal de Mycologie Medicale*, 28(3), 433–436.
- Barranco, L., Neri Salvador, J. C., León Molina, H., Carrasco Portugal, M. D. C., Flores Murrieta, F. J., & Patiño Camacho, S. I. (2011). La farmacocinética poblacional y su importancia en la terapéutica. *Medicina Interna de Mexico*.
- Brevis, P., Cancino, J., & Cantin, M. (2008). Estomatitis Subprótesis: Estudio Clínico y Microbiológico de *Candida*. *Int. J. Odontostomat*, 101–108.
- Budtz-Jørgensen, E., & Lombardi, T. (1996). Antifungal therapy in the oral cavity. *Periodontology 2000*, 10(1), 89–106.
- Calderone, R. a., & Fonzi, W. a. (2001). Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in microbiology*, 9(7), 327–335.
- Calvo, M. V., García, M. J., Martínez, J., & Fernández, M. M. (2002). *Farmacocinética Clínica. Farmacia Hospitalaria*. 3ª Ed. Doyma. Madrid.
- Chatterjee, A. K., Chakraborty, R., & Basu, T. (2014). Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles. *Nanotechnology*, 25(13).
- Correa, S. (2012). *Preparación de resinas acrílicas cargadas con nanopartículas de cobre y sus propiedades antimicrobianas frente a *Cándida albicans**. universidad de Chile.
- Covarrubias, C., Correa, S., González, J., & Matamala, L. (2015). Solicitud (Nacional) de Patente de Invención N° 3781-2015, “Proceso de preparación de materiales acrílicos dentales y ortopédicos con propiedades antimicrobianas mediante tecnología de nanopartículas de cobre”. Chile.

- Covarrubias, C., Correa, S., Matamala, L., & González, J. (2017). Patent Application (Internacional) Wo/2017/113030. PCT/CI2016/050079 “Method for Producing Orthopaedic and Dental Acrylic Materials Having Antimicrobial Properties, Using Copper Nanoparticle Technology”. Chile.
- Covarrubias, C., Trepiana, D., & Corral, C. (2018). Synthesis of hybrid copper-chitosan nanoparticles with antibacterial activity against cariogenic *Streptococcus mutans*. *Dental Materials*, 37(3), 379–384.
- Douglas, L. (2003). *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in Microbiology*, 11(1), 30–36.
- Emami, E., Kabawat, M., Rompre, P. H., & Feine, J. S. (2014). Linking evidence to treatment for denture stomatitis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Dentistry*, 42, 99–106.
- Espinoza, I., Rojas, R., Aranda, W., & Gamonal, J. (2003). Prevalence of oral mucosal lesions in elderly people in Santiago, Chile. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 32(10), 571–575.
- Farkash, Y., Feldman, M., Ginsburg, I., Steinberg, D., & Shalish, M. (2018). Green Tea Polyphenols and Padma Hepaten Inhibit *Candida albicans* Biofilm Formation. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1–8.
- Gad, M. M., Al-Thobity, A. M., Shahin, S. Y., Alsaqer, B. T., & Ali, A. A. (2017). Inhibitory effect of zirconium oxide nanoparticles on *Candida albicans* adhesion to repaired polymethyl methacrylate denture bases and interim removable prostheses: A new approach for denture stomatitis prevention. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 5409–5419.
- Galleguillos, M. (2015). “Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de nanopartículas de cobre frente a *Enterococcus faecalis*. universidad de chile.
- Gendreau, L., & Loewy, Z. G. (2011). Epidemiology and Etiology of Denture Stomatitis. *Journal of Prosthodontics*, 20(4), 251–260.
- Gleiznys, A., Zdanavičienė, E., Žilinskas, J., Dds, –, prof Eglė Zdanavičienė, A., & DDS Juozas Žilinskas, –. (2015). *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. *Stomatologija Baltic Dental and Maxillofacial Journal REVIEWS Stomatologija Baltic Dental and Maxillofacial Journal*, 17(17), 54–66.

- Grass, G., Rensing, C., & Solioz, M. (2011). Metallic copper as an antimicrobial surface. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(5), 1541–1547.
- Gual-Vaqués, P., Jané-Salas, E., Egido-Moreno, S., Ayuso-Montero, R., Mari-Roig, A., & López-López, J. (2017). Inflammatory papillary hyperplasia: A systematic review. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 22(1), 36–42.
- Herman, J., Wang, Y., Lilly, E., Lallier, T., Peters, B., Hamdan, S., ... Noverr, M. (2017). Synthesis, antifungal activity, and biocompatibility of novel 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]Octane (DABCO) compounds and DABCO-containing denture base resins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(4), 1–16.
- Institute of Medicine. (2001). Copper. En *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001)* (pp. 502–553).
- Instituto Nacional de Estadísticas. (2017). Censo 2017 Resultados Población por Comuna. Recuperado a partir de http://www.censo2017.cl/wp-content/uploads/2017/12/Presentacion_Resultados_Definitivos_Censo2017.pdf
- Jalal, M., Ansari, M. A., Alzohairy, M. A., Ali, S. G., Khan, H. M., Almatroudi, A., & Siddiqui, M. I. (2019). Anticandidal activity of biosynthesized silver nanoparticles: effect on growth, cell morphology, and key virulence attributes of *Candida* species. *International Journal of Nanomedicine*.
- Lee, X., Cajas, N., Gómez, L., Vergara, C., Ivankovic, M., & Astorga, E. (2015). Ocurrencia de levaduras del género *Candida* y estomatitis protésica antes y después del tratamiento rehabilitador basado en prótesis removible. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, 8(1), 31–37.
- Li, Z., Sun, J., Lan, J., & Qi, Q. (2016). Effect of a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles on *Candida albicans* adhesion and biofilm formation. *Gerodontology*.
- Liu, S. Y., Tonggu, L., Niu, L. N., Gong, S. Q., Fan, B., Wang, L., ... Tay, F. R. (2016). Antimicrobial activity of a quaternary ammonium methacryloxy silicate-containing acrylic resin: A randomised clinical trial. *Scientific Reports*, 6.
- Lydia Rajakumari, M., & Saravana Kumari, P. (2016). Prevalence of *Candida* species in the buccal cavity of diabetic and non-diabetic individuals in and around Pondicherry. *Journal de Mycologie Médicale*.
- Lyu, X., Zhao, C., Yan, Z., & Hua, H. (2016). Efficacy of nystatin for the treatment of oral

- candidiasis: a systematic review and meta-analysis. *Drug Design, Development and Therapy*, 10(10), 1161–1171.
- Marchi-Alves, L. M., Freitas, D., Andrade, D. De, Godoy, S. De, Toneti, A. N., & Mendes, I. A. C. (2017). Characterization of Oral Microbiota in Removable Dental Prosthesis Users: Influence of Arterial Hypertension. *BioMed Research International*.
- Marsh, P. D., & Bradshaw, D. J. (1995). Dental plaque as a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology*, 15(3), 169–175. <https://doi.org/10.1007/BF01569822>
- Matamala, L. (2016). *Optimización de materiales acrílicos modificados con Nanopartículas de Cobre para el desarrollo de Prótesis Dentales con propiedades Antimicrobianas frente a Candida Albicans*. Universidad de Chile.
- Ministerio de Salud Chile. (2010). Guía Clínica Salud Oral Integral Para Adultos De 60 Años. *Serie de Guías Clínicas*, 1–110.
- Ministerio de Salud Chile. (2014). ORIENTACIÓN TÉCNICA PARA LA ATENCIÓN DE SALUD DE LAS PERSONAS ADULTAS MAYORES EN ATENCIÓN PRIMARIA.
- Ministerio de Salud Chile. (2018). Encuesta Nacional De Salud 2016-2017, *Segunda En*, 5–12.
- Minsal. (2014). Programa nacional de salud de las personas adultas mayores. *Minsal*, 239.
- Miranda, H. (2019). *Evaluación de la incidencia y severidad de estomatitis subprotésica en pacientes nanopartículas de cobre*. Universidad de Chile.
- Mudiar, R., & Kelkar-Mane, V. (2018). Targeting fungal menace through copper nanoparticles and Tamrajal. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*.
- Mujica, V., Rivera, H., & Carrero, M. (2008). Prevalence of oral soft tissue lesions in an elderly venezuelan population. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 13(5), 270–274.
- Nagaral, S., Desai, R. G., Kamble, V., & Kumar, A. (2014). Isolation of Candida species from the oral cavity and fingertips of complete denture wearers. *The journal of contemporary dental practice*, 15(6), 712–716.
- NCh409-INN. (2005). Nch 409/1 Norma calidad del agua potable y Nch 409/2 Norma muestreo del agua potable. *Dirección de Obras Hidráulicas*.
- Olivares, B. (2018). *Evaluación del proceso de fabricación de prótesis dentales removibles antimicrobianas a base de nanopartículas de cobre bajo condiciones de laboratorio dental*. Universidad de Chile.

- Pennacchiotti, G. (2006). *Factores que influyen en el uso de prótesis removible en adultos mayores recién rehabilitados*. Universidad de Chile.
- Radović, K., Ilić, J., Roganović, J., Stojić, D., Brković, B., & Pudar, G. (2014). Denture stomatitis and salivary vascular endothelial growth factor in immediate complete denture wearers with type 2 diabetes. *Journal of Prosthetic Dentistry*.
- Rivera-Hidalgo, F., Shulman, J. D., & Rivera-Hidalgo, F. A. (2004). The prevalence of oral mucosal lesions in U.S. adults. *J Am Dent Assoc*, 135, 1279–1286.
- Samaranayake, L. ., Keung Leung, W., & Jin, L. (2009). Oral mucosal fungal infections. *Periodontology 2000*, 49(1), 39–59.
- Schaller, M., Borelli, C., Korting, H. C., & Hube, B. (2005). Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses*, 48(6), 365–377.
- Sharifi-Rad, M., Varoni, E. M., Iriti, M., Martorell, M., Setzer, W. N., del Mar Contreras, M., ... Sharifi-Rad, J. (2018). Carvacrol and human health: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*.
- Tripathi, K. (2008). *Farmacología en Odontología. Fundamentos* (1ª Edición). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- United Nations Department of Economic and Social Affairs Population Division. (2015). *World Population Prospects: The 2015 Revision. World population prospects Volume II: Demographic Profiles* (Vol. Volume II:).
- Usman, M. S., El Zowalaty, M. E., Shamel, K., Zainuddin, N., Salama, M., & Ibrahim, N. A. (2013). Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*.
- Zomorodian, K., Haghighi, N. N., Rajaei, N., Pakshir, K., Tarazooie, B., Vojdani, M., ... Vosoghi, M. (2011). Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. *Medical Mycology*, 49(2), 208–211.

12.- ANEXOS Y APÉNDICES

12.1.- ANEXO 1: Consentimiento Informado



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Nombre de Estudio: Evaluación de prótesis removibles antimicrobianas a base de nanopartículas de cobre en la disminución de la severidad de la estomatitis subprotésica: Ensayo clínico controlado aleatorizado.

Investigador Principal: Prof. Dr. Cristian Covarrubias Gallardo.
Instituto de Investigación en Ciencias odontológicas
Fono: 29781719, E-mail: ccovarrubias@odontologia.uchile.cl

Co-investigadores: Prof. Dra. Ximena Lee
Departamento de Prótesis.
Fono: 29781845, E-mail: xlee@odontologia.uchile.cl

Prof. Dra. Madeleine Urzúa
Instituto de Investigación en Ciencias odontológicas.
Fono: 29781776, E-mail: murzua@odontologia.uchile.cl

Prof. Leyla Gómez
Departamento de Patología
Fono: 29781832, E-mail: leylagomezcarranza@gmail.com

Sede de Estudio: Facultad de Odontología, Universidad de Chile – Sergio Livingstone
943 – Independencia, Santiago.

Nombre del Participante: _____



Fecha firma / /



Este Documento de Consentimiento Informado se aplicará a lo/as pacientes que se atiendan en la Clínica odontológica de la Facultad de odontología, específicamente en las UTEs Clínica Odontológica del Adulto Mayor IV y Clínica Odontológica del Adulto IV, y consta de dos partes:

- Información (proporciona información sobre el estudio para usted)
- Formulario de Consentimiento (para firmar si está de acuerdo en participar)

Ud. recibirá una copia completa del Documento de Consentimiento Informado.

Solicitamos a Usted su colaboración con este estudio. Antes de decidir si colabora o no, debe conocer y comprender los aspectos que se exponen a continuación. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto sobre el cual tenga dudas. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea colaborar, entonces se le pedirá que firme este formulario.



Explicación del proyecto

En Chile, hay una gran cantidad de adultos que ha perdido parcial o totalmente sus dientes. En el sistema público de atención, la solución más utilizada para la recuperación de estos dientes son las prótesis de dientes.

A estas prótesis de dientes se pueden adherir unos hongos, llamados *Candida albicans*, que provocan la inflamación del paladar y los tejidos blandos de la boca, produciendo dolor y molestias, enfermedad que se conoce como estomatitis subprotésica.

En los laboratorios de investigación de la Universidad hemos desarrollado una prótesis de dientes con propiedades antimicrobianas, que contiene pequeñas cantidades de partículas de cobre en su interior. Esta es una nueva tecnología se encuentra en proceso de patentamiento (solicitud de patente N° 3781-2015). La prótesis con estas pequeñas partículas produce un efecto antimicrobiano que inhibe más del 92% de microorganismos, incluyendo la *C. albicans*, pero al mismo tiempo no daña las células humanas y no cambia el color ni las resistencia mecánica de la prótesis.

Objetivo de la Investigación

El objetivo del presente estudio es probar si la nueva prótesis con partículas de cobre disminuye el crecimiento de los hongos en la persona que la usa y si con ello se evita o disminuye la posibilidad de enfermarse de estomatitis en comparación con la prótesis actual que no tiene cobre. Lo hemos contactado porque usted requiere rehabilitación con prótesis **y quisiéramos solicitar a Usted, su participación.**

Para esto se harán dos grupos de pacientes, uno que tendrá la prótesis dental con partículas de cobre, y otro grupo que recibirá la prótesis actual sin cobre. Ud. puede ser elegido al azar en cualquiera de los dos grupos.

Si presenta algún problema o complicación, se detendrá inmediatamente el estudio, y Ud. recibirá el tratamiento convencional.



Beneficio de la Investigación.

Su participación permitirá aproximarnos al conocimiento de la efectividad de las partículas de

Fecha firma / /



cobre incorporadas en prótesis de dientes para disminuir la aparición de hongos e infecciones de la boca.

El beneficio que conlleva la participación en este estudio consiste en lo siguiente: a todos los participantes se les hará entrega gratuita de un cepillo de dientes y una pasta dental, además de la realización de talleres de instrucción de higiene oral y cuidados con la salud bucal durante las sesiones de examen oral, así como seguimiento y control de sus prótesis de dientes.

Tipo de Intervención y Procedimiento.

Si Ud. decide participar, el estudiante que le ha sido asignado junto al docente encargado del grupo, realizarán un examen y los procedimientos necesarios para recuperar el estado de salud de su boca (tapaduras, limpieza y extracciones si son necesarias) más la confección e instalación de su prótesis (impresiones dentales, pruebas de dientes, ajustes).

Se realizará también una muestra de diferentes zonas de la boca del paciente y de la prótesis, con una tórula de algodón, al momento del ingreso de su tratamiento, al mes, 4 y 8 meses de control. Por último, aplicaremos un cuestionario con algunas preguntas para tener información acerca de hábitos relacionados con el cuidado de su boca, prótesis y satisfacción de las mismas.

Riesgo de la Investigación.

Los riesgos del tratamiento de prótesis convencionales y con partículas de cobre son similares: dolor al momento de la instalación. En el caso de la prótesis con partículas de cobre, estas son compatibles con encías, paladar, dientes y lengua, disminuye al menos un 90% el crecimiento de los hongos y presenta una muy baja liberación del metal en contacto con saliva, inferiores a la ingesta máxima permitida por la legislación chilena.

Ante cualquier signo, se evaluará si corresponde a una reacción esperada después de la instalación de sus prótesis, en caso contrario, se detendrá el estudio y Ud. recibirá el tratamiento convencional.



Criterios para selección de los participantes en el estudio

Personas que se atenderán en la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile durante del año 2017.

Se seleccionarán hombres y mujeres mayores de 45 años, sano/as o con enfermedad de base controlada. Que nunca hayan usado prótesis removibles, con máximo 6 dientes remanentes, y que acepten participar previa firma del consentimiento informado.

Se excluirán adultos con enfermedad de base no controlada o que no cuenten con el permiso de su médico tratante, portadores de prótesis removible o con menos de 6 dientes en boca, hipersensibilidad a los metales. También se excluyen aquellos pacientes que presenten un deterioro cognitivo diagnosticado y que no acepten participar en el estudio. Haber consumido fármacos antibióticos, anti-fúngicos y/o esteroideos hasta 15 días previo a la toma de la muestra.

Confidencialidad y difusión de datos.

La información obtenida de la Investigación, respecto de la identificación de participantes, será mantenida con estricta confidencialidad por el investigador, para el uso exclusivo de este estudio y no serán identificados públicamente. Los resultados serán utilizados estrictamente para el

Fecha firma / /

3



cumplimiento del objetivo del estudio, y podrán ser publicados en revistas científicas y/o utilizados en otras instancias de difusión, como clases, conferencias o congresos.

Aclaraciones

La colaboración con el estudio es completamente voluntaria, y usted puede dejar de participar libremente.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted en caso de no aceptar la invitación.

No tendrá que efectuar gasto alguno como consecuencia del estudio.

No recibirá pago por su donación.

Si considera que no existen dudas ni preguntas acerca de su participación, le solicitamos firmar el Formulario de Consentimiento Informado anexo al documento.

Si usted desea conocer los resultados o tiene cualquier pregunta puede hacerla ahora o más tarde, contactando al Dr. Cristian Covarrubias (Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, U. de Chile. Fono: 9781719, E-mail: ccovarrubias@odontologia.uchile.cl).



Fecha firma / /



FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

He sido invitado a colaborar con la investigación de evaluación clínica de la nueva prótesis antimicrobiana con pequeñas partículas de cobre. Entiendo que colaboraré participando incorporándome en el grupo de pacientes que puede o no recibir la prótesis mejorada. Sé que no existen beneficios para mi persona y que no se me recompensará por participar. Se me ha proporcionado el nombre de un investigador que puede ser fácilmente contactado y su dirección de correo electrónico.

He leído la información proporcionada. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente colaborar en esta investigación donando mis dientes extraídos.

Nombre del Participante _____

Firma _____

Santiago, ____/____/____



Fecha firma / /



Sección a llenar por el Investigador o su representante:

He explicado al Sr(a)..... la naturaleza de la investigación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento

Nombre y Firma del Investigador que toma el CI	Fecha
--	-------

Dr. Cristian Covarrubias Gallardo (PhD) .

Nombre y Firma del Investigador Principal	Fecha
---	-------

Proyecto revisado y aprobado por el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Presidente CEC: Sr. Prof. Dr. Eduardo Fernández
 Presidente de la Comisión de bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile
 Sergio Livingstone Pohlhammer 943, Independencia, Santiago.
 Email: efernand@odontologia.uchile.cl

Fecha firma / /

12.2.- ANEXO 2: Acta de aprobación de protocolo de investigación



FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE CHILE

COMITÉ ÉTICO
CIENTIFICO

Ed-October 2017

ACTA DE APROBACION DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

Dr. Eduardo Fernandez Pte./ Dr.Marco Cornejo Vice presidente / Dra. Weronika Weil/ Dr.Mauricio Baeza/ Dr. Juan Estay/ Sr. Roberto La Rosa/

INFORME N°:11/2017

1. Acta de Aprobación del proyecto FIOUCH completo titulado “Evaluación de prótesis removibles antimicrobianas a base de nanopartículas de cobre en la disminución de la severidad de la estomatitis subprotésica: Ensayo clínico controlado aleatorizado”.
2. **Miembros del Comité Ético-Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile participantes en la aprobación del Proyecto.**

Dr. Eduardo Fernández
Presidente CEC

Dr. Juan Estay
Secretario CEC



Dr. Marco Cornejo
Vice Pdte. CEC

Dr. Mauricio Baeza
Miembro permanente CEC

Sr. Roberto La Rosa
Miembro permanente CEC

Dr. Alfredo Molina
Miembro permanente CEC

Dra. Weronika Weil
Miembro permanente CEC

3. **Fecha de Aprobación: 6/10/2017**
4. **Título completo del proyecto: “Evaluación de prótesis removibles antimicrobianas a base de nanopartículas de cobre en la disminución de la severidad de la estomatitis subprotésica: Ensayo clínico controlado aleatorizado”**
5. **Investigador responsable:** Dr. Cristian Covarrubias.
6. **Institución Patrocinante:** Facultad de Odontología – Universidad de Chile
7. **Documentación Revisada:**
 -  Proyecto FIOUCH
 -  Consentimiento Informado (CI) (Pacientes) aprobado por el CEC, con timbre.

8.- Fundamentación de la aprobación

Este proyecto es aprobado luego que se realizarán las modificaciones en relación al siguiente aspecto:

Este estudio se realizará en la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

En consecuencia, el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, ha aprobado el Protocolo del estudio titulado "Evaluación de prótesis removibles antimicrobianas a base de nanopartículas de cobre en la disminución de la severidad de la estomatitis subprotésica: Ensayo clínico controlado aleatorizado".


Dr. Eduardo Fernández G.
Presidente CEC



c/c.: Investigador Principal y Secretaría C.E.C.

12.3.- ANEXO 3: Datos Demográficos del paciente

Nombre:	
Edad:	
Sexo:	Fecha:

Pregunta	Sí	No
1. ¿Presenta signos de Estomatitis Subprotésica?		
2. ¿Qué tipo de ESP presenta?		
- Tipo I		
- Tipo II		
- Tipo III		
3. ¿Ha usado prótesis previamente?		
4. ¿Tiene alguna enfermedad? Indicar		
- Diabetes		
- Hipertensión		
5. - Depresión		
6. ¿Consume algún medicamento? Indicar		
7. ¿Consume alcohol?		
8. ¿Es fumador(a)?		

12.4.- ANEXO 4: Cuestionario de Evaluación técnica (CET) adaptado

N° de pregunta	Pregunta	Respuesta Marque con (x) según corresponda	
		Correcta (1)	Incorrecta (0)
	Extensión de límite posterior		
P.01	Superior		
P.02	Inferior		
	Límite vestibular		
P.03	Superior		
P.04	Inferior		
P.05	Límite lingual		

	Respuesta ante fuerzas intrusivas	Buena (1)	Mala (0)
P.06	Superior		
P.07	Inferior		
	Respuesta ante fuerzas extrusivas		
P.08	Superior		
P.09	Inferior		

	Estabilidad	Sí (1)	No (0)
P.10	Superior		
P.11	Inferior		
	Zona de alivio de tejido blando		
P.12	Superior		
P.13	Inferior		
	Zona de alivio de tejido duro		
P.14	Superior		
P.15	Inferior		

	Márgenes o bordes de la prótesis se presentan:	Delgados (1)	Gruesos (0)
P.16	Superior		
P.17	Inferior		
	Márgenes o bordes de la prótesis se presentan:	Romos (1)	Filosos (0)
P.18	Superior		
P.19	Inferior		

	Superficie del acrílico	Lisa (1)	Regular (0)
P.20	Superior		
P.21	Inferior		