



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS
ÁREA SALUD PÚBLICA - ÁREA BIOQUÍMICA

Efecto de Aceite de Coco Virgen y Clorhexidina en personas mayores que presentan candidiasis oral asociada a estomatitis subprotésica y su relación con las especies de *Candida no- albicans*.

Eric Manuel Rojas Pacheco

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Ximena Lee Muñoz

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Carla Lozano Moraga

Dr. Cristian Vergara Núñez

Adscrito a Proyecto de investigación Fonis SA19I0025

Santiago – Chile

2024



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS
ÁREA SALUD PÚBLICA - ÁREA BIOQUÍMICA

Efecto de Aceite de Coco Virgen y Clorhexidina en personas mayores que presentan candidiasis oral asociada a estomatitis subprotésica y su relación con las especies de *Candida no- albicans*.

Eric Manuel Rojas Pacheco

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Ximena Lee Muñoz

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Carla Lozano Moraga

Dr. Cristian Vergara Núñez

Adscrito a Proyecto de investigación Fonis SA19I0025

Santiago – Chile

2024

Dedico este trabajo a mis padres Ciria Pacheco y Nivaldo Rojas, a mis hermanos Nivaldo, Tito y Bárbara y a mi compañera de vida Katherine.

AGRADECIMIENTOS.

Quisiera expresar mi profundo agradecimiento a todas las personas que contribuyeron de alguna manera a la realización de esta tesis. Sus apoyos, orientaciones y palabras alentadoras fueron fundamentales para alcanzar este logro.

En primer lugar, agradezco a mis tutores Dra. Ximena Lee, Dra. Carla Lozano y Dr. Cristián Vergara, por su dedicación y orientación experta a lo largo de todo el proceso de investigación. Sus comentarios perspicaces y sugerencias constructivas fueron esenciales para dar forma a este trabajo.

Mi agradecimiento se extiende a mis profesores de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile quienes proporcionaron recursos valiosos y un ambiente propicio para el aprendizaje. Su compromiso con la excelencia académica ha sido una inspiración constante.

Agradezco a mi familia por su apoyo incondicional a lo largo de este viaje. Sus palabras de aliento y amor me han dado la fuerza necesaria para superar los momentos difíciles.

ÍNDICE.

1. RESUMEN.....	8
2. MARCO TEÓRICO.....	9
2.1 Envejecimiento y salud oral.....	9
2.2 Lesiones orales en personas mayores.....	10
2.3 Definición y clasificación de estomatitis subprotésica.....	10
2.4 Factores asociados a estomatitis subprotésica.....	11
2.5 Tratamientos contra estomatitis subprotésica.....	12
2.6 Planteamiento del problema.....	14
3. Hipótesis.....	15
4. Objetivo General.....	15
5. Objetivos Específicos.....	15
6. METODOLOGÍA.....	16
6.1 Tipo de estudio.....	16
6.2 Individuos participantes en el estudio.....	16
6.3 Cálculo del tamaño muestral.....	16
6.4 Procedimiento de aleatorización.....	16
6.5 Definición de ciegos.....	17
6.6 Diseño del estudio.....	17
6.7 Definición de indicadores de resultados (Outcomes).....	18
6.8 Notificación de efectos adversos.....	18
6.9 Coordinación de trabajo de campo.....	18
6.10 Examen clínico.....	19
6.11 Toma de muestra.....	19
6.12 Procesamiento de las muestras.....	19
6.13 Identificación presuntiva mediante medio cromogénico.....	20
6.14 Identificación de especies de Candida spp. por métodos moleculares.....	20
6.15 Identificación de C. albicans / C. dubliniensis por PCR.....	20
6.16 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	21
6.17 Electroforesis de ADN.....	21
6.18 Análisis Estadístico.....	21
7. RESULTADOS.....	23
7.1 Caracterización de la muestra.....	23
7.2 Prevalencia y severidad de ESP en pacientes en tratamiento con CHX 0,12% o ACV 100%.....	23
7.3 Identificación presuntiva de Candida spp.....	26

7.4 Identificación molecular de Candida spp.	29
7.5 Relación entre severidad de ESP y especies de Candida no- albicans. ...	32
8. DISCUSIÓN.....	33
8.1 Epidemiología.....	33
8.2 Análisis del efecto del ACV o CHX en la severidad de la ESP.....	34
8.2.1 Actividad antiinflamatoria de ACV.	34
8.2.2 Efectos adversos de ACV.	35
8.2.3 Actividad antimicrobiana CHX.....	35
8.2.4 Efectos adversos CHX.	36
8.3 Análisis del efecto del ACV o CHX en la prevalencia de Candida spp.	38
8.3.1 Actividad antimicrobiana de ACV.	40
8.4 Consideraciones sobre la investigación y limitaciones.	41
9. Conclusiones.	42
10. Referencias Bibliográficas.....	43
11. Anexos.....	50

1. RESUMEN.

Introducción: La Estomatitis Subprotésica (ESP) es una inflamación altamente prevalente en Personas Mayores (PM). Esta patología presenta diferentes factores predisponentes, uno de ellos es la presencia de levaduras *Candida* spp. El tratamiento farmacológico involucra antifúngicos y desinfectantes. Recientemente, se están investigando compuestos naturales con efecto antimicrobiano, como Aceite de Coco Virgen (ACV), que no ha sido probado en estomatitis subprotésica.

Materiales y Métodos: Se realizó un ensayo clínico controlado y aleatorizado con el propósito de demostrar la eficacia del aceite de coco virgen al 100% y Clorhexidina (CHX) al 0,12% en el tratamiento de la estomatitis subprotésica en personas mayores. La muestra final incluyó a 22 pacientes diagnosticados con estomatitis subprotésica, distribuidos en dos grupos: 12 en el grupo de control, tratados con clorhexidina 0,12%, y 10 en el grupo experimental, sometidos a la técnica de *Oil Pulling* con aceite de coco virgen al 100%. La evaluación de severidad de estomatitis subprotésica se realizó al inicio del tratamiento (T0), así como en los controles a los 8 (T1) y 15 (T2) días. Se empleó la identificación presuntiva de *Candida* spp. a través de medios de cultivo selectivo (CHROMagar *Candida*) y la identificación molecular (PCR) de *C. albicans* y *C. dubliniensis*.

Resultados: Se observó una disminución significativa en la severidad de estomatitis subprotésica a dos semanas de iniciar el tratamiento en el grupo control y experimental. En la detección presuntiva y molecular de *Candida* spp. en ambos grupos predominó la presencia *C. albicans*, seguido de *C. dubliniensis*. No fue posible establecer una relación entre la severidad de estomatitis subprotésica y las especies de *Candida* no- *albicans* debido al número limitado de muestras.

Conclusiones: El aceite de coco virgen al 100% y la clorhexidina al 0,12% demuestran eficacia en el tratamiento de la estomatitis subprotésica en personas mayores con prótesis removible. Para determinar una relación microbiológica entre el aceite de coco virgen y la severidad de la estomatitis subprotésica, son necesarios estudios adicionales con un mayor número de pacientes.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 Envejecimiento y salud oral.

A nivel mundial la proporción de Personas Mayores (PM) de 60 años está aumentando más rápido que cualquier otro grupo de edad, esto debido a un incremento de la esperanza de vida y la disminución de la tasa de natalidad (OMS, 2015). De momento sólo Japón tiene una proporción de personas mayores superior al 30%. Sin embargo, en la segunda mitad del siglo, muchos países tendrán una proporción similar, entre ellos Chile (OMS, 2015).

Según el Censo del 2017, en Chile hasta ese año había 2.003.256 personas mayores, es decir, un 11,4% del total de la población del país (INE, 2020). El Instituto Nacional de Estadísticas (INE) proyecta para el 2050 que el grupo de mayores de 64 años crecerá en más de tres millones con respecto a la situación actual. Además, no solo aumentará la población mayor de 64 años, sino que también se modificará la estructura al interior de ese grupo de edad, elevándose el número de personas de 80 y más años (INE, 2017).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el envejecimiento como el *“Proceso fisiológico que comienza en la concepción y ocasiona cambios en las características de las especies durante todo el ciclo de la vida; esos cambios producen una limitación de la adaptabilidad del organismo en relación con el medio”* (OMS, 2018). Este proceso desafía todas las áreas de la salud y la odontología no está exenta. En los tejidos orales y periorales se observan diversos cambios: en los tejidos de revestimiento se produce un adelgazamiento, deshidratación, reducción de vascularización y cantidad de tejido adiposo de la mucosa oral, que se traduce en una pérdida de resistencia y elasticidad; en la piel se van atrofiando las glándulas sudoríparas y sebáceas; en el tejido óseo comienzan a predominar los procesos de reabsorción por sobre los de reparación ósea, especialmente en la población femenina, lo que determina una disminución de la altura del hueso alveolar; hay

cambios en la función salival tanto en cantidad como en calidad, que se pueden deber tanto a la atrofia de los acinos glandulares o a los efectos colaterales de algunos medicamentos. Específicamente, en los tejidos dentarios y paradentarios también se observan modificaciones: en el esmalte se observa un desgaste natural en las superficies de trabajo, fracturas o trizaduras, y lesiones de caries; el cemento dentario aumenta su grosor, especialmente en su extremo apical (Minsal, 2010).

En Chile, según la Encuesta Nacional de Salud (ENS) 2016-2017, un 81,7% de las personas de 65 y más años tiene menos de 20 dientes, es decir, no cuentan con una dentición funcional, y un 65,8% usa prótesis dental removible (Minsal, 2017).

2.2 Lesiones orales en personas mayores.

Producto del uso masificado de prótesis dentales removibles en los adultos mayores se han descrito diversas lesiones en mucosa oral. Dentro de las lesiones más comunes encontramos la Estomatitis Subprotésica (ESP) con una prevalencia del 22,3%, seguido de hiperplasia irritativa con 9,4% (Espinoza y cols., 2003).

2.3 Definición y clasificación de estomatitis subprotésica.

La ESP es el término utilizado para describir los cambios inflamatorios de la mucosa en la bóveda palatina cubierta por la prótesis. Se caracteriza por edema y eritema crónico de la mucosa oral, principalmente en la mucosa palatina (Hilgert y cols., 2016), provocada por la base acrílica o metálica desajustada, asociada generalmente a una deficiente higiene bucal y hábitos personales en el uso de la prótesis (Moreira y cols., 1984).

La ESP se clasifica en tres tipos (Barata y cols., 2002) descritos a continuación:

- Tipo I o ESP localizada simple: es una inflamación de carácter local con obstrucción de los ductos salivales por la prótesis y con mínimos signos inflamatorios. Se evidencia clínicamente como un punteado rojizo sobre la mucosa.

- Tipo II o ESP difusa simple: inflamación difusa con enrojecimiento general de la mucosa que se aprecia hiperémica, lisa y atrófica en toda el área cubierta por la prótesis.
- Tipo III o ESP granular: se caracteriza por una inflamación intensa, hiperemia de la mucosa y aspecto nodular en el área cubierta por la prótesis.

2.4 Factores asociados a estomatitis subprotésica.

Se han descrito distintos factores predisponentes para la ESP. Los cuales pueden ser divididos en factores locales del hospedero: uso de prótesis removible antiguas, deficiente higiene protésica, alteraciones salivales, pH de la cavidad oral, hábito tabáquico, alergias, uso ininterrumpido de la prótesis, presencia de biopelícula, traumas. Y factores sistémicos del hospedero: depresión, alteraciones nutricionales, diabetes mellitus, desórdenes inmunológicos, farmacoterapia. Asimismo, su patogenicidad está principalmente asociada a la presencia de microorganismos oportunistas como levaduras del género *Candida* y dentro de esta categoría, principalmente la especie *Candida albicans* (Salerno y cols., 2011).

C. albicans y el resto de las especies que conforman el género persisten como comensales en la cavidad oral, pero pueden volverse patógenas cuando el ambiente en que habitan es favorable para su crecimiento y reproducción. Poseen numerosos factores de virulencia, los cuales están agrupados en cuanto a facilitar su adherencia, la evasión de las defensas, además de la invasión y la destrucción de tejido del hospedero (Williams y Lewis, 2011).

Ciento cincuenta especies de este género han sido aisladas en la cavidad oral, y el 80% de los aislados corresponden a *C. albicans*, que puede colonizar la cavidad sola o en combinación *Candida glabrata* y/o *Candida tropicalis*. Las especies de *Candida* más comúnmente aisladas en la cavidad oral son *C. albicans*, *C. tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida glabrata* y

Candida dubliniensis (Gleiznys y cols., 2015). *C. albicans* posee factores de virulencia que le permiten desarrollar la enfermedad con más frecuencia que otras especies (Gleiznys y cols., 2015). Sin embargo, en la literatura no se ha descrito una asociación entre la severidad de la ESP con la especie de *Candida* presente en el transcurso de la enfermedad.

2.5 Tratamientos contra estomatitis subprotésica.

El tratamiento de la ESP asociada a *Candida* es complejo debido a su etiología multifactorial. La mala higiene protésica es ampliamente aceptada como un elemento crítico en el desarrollo de ESP. Sin embargo, el cepillado de las prótesis, por sí solo, no es factor suficiente para mantener una higiene adecuada, por lo que se necesita agregar otros métodos como parte de la rutina diaria en la limpieza y desinfección protésica (Gendreau y Loewy, 2011).

Las estrategias terapéuticas más comúnmente utilizadas incluyen el uso de antifúngicos tópicos y sistémicos, uso de desinfectantes, irradiación con microondas y la remoción escrupulosa y control de la placa presente en la prótesis y la mucosa oral (Salerno y cols., 2011).

Los tratamientos antimicóticos más utilizados son nistatina en suspensión oral, anfotericina-B, miconazol gel y fluconazol (Otero y cols., 2015). Se ha estudiado que la nistatina y anfotericina-B, se unen al ergosterol en las membranas celulares de *Candida*. El ergosterol regula diversas actividades fisiológicas, como la fusión de vacuolas, la endocitosis y la señalización mediada por receptores de membrana. De esta manera, por el simple hecho de unir el fármaco al ergosterol, interfiere con funciones vitales para las células fúngicas. También se ha demostrado la capacidad para formar poros en la membrana fúngica, lo cual altera la permeabilidad de la membrana (Rivera y cols., 2020). No obstante, estos fármacos presentan efectos secundarios como náuseas, vómitos, cefaleas, pruritos y daño hepático (Matsubara y cols., 2016), lo que puede provocar la interrupción del tratamiento farmacológico

por parte del paciente. Además, su uso indiscriminado ha provocado la generación de resistencia fúngica (Tay y cols., 2014).

También se utilizan sustancias antisépticas como el gluconato de clorhexidina al 0,12% administrado 3 o 4 veces al día. La Clorhexidina (CHX) es una bisguanida catiónica que se ha empleado como antimicrobiano de amplio espectro, por ser un potente bacteriostático y bactericida según concentración. Dentro de este espectro, se encuentra el efecto tópico antimicótico, pues es capaz de inhibir la adhesión de *Candida*, tanto a mucosas como a superficies inertes, como las PR (Williams y Lewis, 2011). Pero su uso prolongado, causa efectos adversos sobre los tejidos orales (dientes y mucosas), además de provocar tinciones en las restauraciones presentes en boca (Balagopal y Arjunkumar, 2013).

Otra sustancia desinfectante utilizada es el hipoclorito de sodio. Es muy útil para remover manchas de las prótesis, disuelve algunos componentes salivales y otras sustancias orgánicas. Además de ser bactericida y fungicida, actúa directamente sobre la matriz orgánica de la placa dental y causa la destrucción de la estructura del polímero del acrílico. Aunque son limpiadores eficaces presentan diversos inconvenientes como la corrosión del metal, lo que restringe su empleo a aparatos sin componentes metálicos. Por otra parte, estas soluciones blanquean las resinas acrílicas y su efectividad disminuye cuando aumentan las concentraciones de material inorgánico (Ucar y cols., 2007).

La irradiación con microondas se ha propuesto como un método rápido, efectivo y barato para la desinfección de PR. En ensayos *in vitro*, la exposición a microondas fue capaz de causar la muerte celular de *Candida*. Evaluaciones clínicas han demostrado la eficacia real de esta metodología para desinfectar las prótesis y para tratar la *Candida* asociada ESP. La terapia consiste en la exposición de la prótesis a las microondas (350 vatios, 2450 MHz) por 6 minutos, eliminando la presencia de *Candida* y bacterias.

Sin embargo, este tratamiento es responsable de producir cambios conformacionales de la PR. La formación de ondas induce una producción de energías que podría interferir con la dimensión y estabilidad de la prótesis (Sanitá y cols., 2009).

2.6 Planteamiento del problema.

La resistencia antimicrobiana, los efectos adversos y la toxicidad de los medicamentos y colutorios, han promovido el estudio de productos naturales de origen vegetal, que presentan pocas o nulas reacciones adversas, y que además poseen altas propiedades antimicrobianas. Uno de estos productos han sido aquellos aceites, que en su composición poseen una alta concentración de ácidos grasos de cadena media, tales como el aceite de sésamo, oliva y de coco. Este último, el Aceite de Coco de Virgen (ACV), presenta mayor concentración de dichos ácidos grasos, confiriéndole mayor capacidad antimicrobiana especialmente en levaduras del género *Candida* (Abbas y cols, 2018; Nur y cols, 2017; Gbinigie y cols., 2016). La mayor parte de las plantas que contienen aceites comestibles contienen ácidos grasos de cadenas largas; ACV es una excepción pues contiene tanto cadenas cortas y medianas, por lo cual se ha clasificado como un triglicérido de cadena media, que contiene cadenas de 6 a 12 carbonos. El ACV contiene los siguientes ácidos: caproico (C6), caprílico (C8), cáprico (C10) y láurico (C12). El 50% de esta composición corresponde a Ácido Láurico (AL). La alta proporción de AL le confiere la propiedad antimicrobiana, incluida la antimicótica. En un estudio *in vitro*, se observó que los ácidos cáprico y AL tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de *Candida albicans*, incluso en bajas concentraciones. Otras especies susceptibles a las propiedades antimicóticas fueron *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Candida stellatoidea* y *Candida krusei*. (Nur y Cols, 2017). Por lo tanto, las cadenas medianas tienen mayor bioactividad anti *Candida* que las cortas o largas, cualidad que aumenta según la concentración y pureza del aceite. En un cultivo de *Candida* spp. en agar, se observó que a una concentración de 100% de ACV, todas las especies *Candida* fueron sensibles.

3. Hipótesis.

Las personas mayores portadores de prótesis removible, que presentan candidiasis oral asociada a estomatitis subprotésica y que son tratados con aceite de coco virgen al 100% o clorhexidina al 0,12%, manifiestan remisión de los signos clínicos de candidiasis a causa de la disminución de levaduras orales de especies *Candida no-albicans*.

4. Objetivo General.

Evaluar la eficacia del aceite de coco virgen al 100% y la clorhexidina al 0,12% como tratamientos contra candidiasis oral asociada a estomatitis subprotésica, en términos de severidad de signos clínicos y la presencia de especies de *Candida no-albicans*, en personas mayores que utilizan prótesis removibles.

5. Objetivos Específicos.

5.1 Determinar la severidad de los signos clínicos de candidiasis oral asociada a estomatitis subprotésica, en personas mayores portadores de prótesis removible antes y después de ser tratados con aceite de coco virgen al 100% o clorhexidina al 0,12%.

5.2 Identificar, a través de métodos presuntivos, especies de *Candida* en personas mayores portadores de prótesis removible con candidiasis oral asociada a estomatitis subprotésica antes y después de ser tratados con aceite de coco virgen al 100% o clorhexidina al 0,12%.

5.3 Identificar, a través de métodos moleculares, *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*, en personas mayores portadores de prótesis removible con candidiasis oral asociada a estomatitis subprotésica antes y después de ser tratados con aceite de coco virgen al 100% o clorhexidina al 0,12%.

5.4 Relacionar los resultados clínicos y microbiológicos obtenidos en personas mayores portadores de prótesis removible, que presentan candidiasis oral asociada a estomatitis subprotésica y que son tratados con aceite de coco al 100% o clorhexidina al 0,12%.

6. METODOLOGÍA.

6.1 Tipo de estudio.

Ensayo clínico aleatorizado triple enmascaramiento (ciego), con una modalidad de análisis “por intención de tratar”. La variable en estudio es la candidiasis oral asociada a ESP, medida a través de la disminución de los signos clínicos de ESP según severidad.

6.2 Individuos participantes en el estudio

Criterios de inclusión: PM sanas sistémicamente, o con enfermedades de base controladas por el médico tratante, que portan prótesis removibles, con signos clínicos de ESP con severidad I o II y que acepten participar previa firma del consentimiento informado.

Criterios de exclusión: PM con enfermedades de base no controladas, sujetos con alergia a alguno de los componentes de la CHX o el ACV, o que no cuenten con el permiso del médico tratante. También se excluyen aquellos que presentan deterioro cognitivo diagnosticado, portadores de prótesis removible con ESP severidad tipo III y que no acepten participar del estudio.

6.3 Cálculo del tamaño muestral.

Se estimó una diferencia de proporciones entre los grupos de 10% con un error alfa de 0,05, una potencia de 0,8, lo que arrojó un tamaño muestral de 78 individuos por grupo. Se estimó una pérdida de datos del 20%, con un total de 188 personas a seleccionar. Se esperó una efectividad clínica de 95% con ACV y una diferencia máxima de 10% para indicar equivalencia con el nuevo tratamiento.

6.4 Procedimiento de aleatorización.

Se generó una lista de aleatorización mediante el software Random Allocation. Corresponde a una aleatorización simple que identifica secuencialmente los sujetos que son asignados al grupo de intervención y al grupo control. Se realizó

ocultamiento de la secuencia de aleatorización al equipo de investigadores a cargo de la evaluación clínica.

6.5 Definición de ciegos.

Fueron ciegos, los sujetos voluntarios, los miembros del equipo de investigación que tuvieron comunicación con los sujetos voluntarios, los miembros del equipo de investigación que actuaron como asignadores de eventos y quienes analizaron los datos.

6.6 Diseño del estudio.

Al grupo de individuos de los cuales se seleccionó la muestra, que hayan aceptado su participación informada y voluntaria, un equipo de odontólogos clínicos calibrados les realizó una anamnesis y un examen clínico. Se determinó la presencia de candidiasis oral protésica basado en los signos clínicos. Se les informó el estado de su salud oral y en caso de ser necesario se les orientó sobre cómo proceder para su posterior atención y tratamiento. A los individuos seleccionados, se les evaluó clínicamente la mucosa palatina y se tomó muestra de saliva para determinar la presencia de colonias del género *Candida*. A la mitad de los individuos se les entregó un enjuague oral en base a CHX al 0,12% y a la otra mitad el experimental, un frasco con ACV al 100%. Todos los individuos aplicaron el siguiente esquema: buchadas con 15 ml de CHX al 0,12%, durante 5 minutos, dos veces al día por una semana, posterior a la limpieza mecánica de dientes, mucosas y prótesis; y una cucharadita de té de ACV (5 gr.), de preferencia en ayunas, antes de la higiene mecánica, oral (dientes y mucosas) y protésica, por 5 minutos cada vez (*Oil Pulling*) (Kumar & Shanbhag, 2017). En ambos casos, el sujeto debió eliminar el líquido resultante; de ningún modo este debió ser digerido. Junto con esto, las buchadas, independiente del tipo de colutorio, debieron realizarse sin las prótesis en boca. Al día 7, volvieron a la clínica para una evaluación clínica y toma de muestra de saliva. Se entregó el mismo esquema

nuevamente y se repitió el tratamiento por otra semana (de ser necesario, se entregó más colutorios: ACV 100% o CHX 0,12%). Al día 14, volvieron a la clínica para otra evaluación clínica y toma de muestra de saliva. En aquellos individuos en que no desaparecieron los signos de candidiasis protésica, se continuó el tratamiento con un antimicótico convencional.

6.7 Definición de indicadores de resultados (*Outcomes*).

6.7.1 Principal: Disminución de los signos clínicos de ESP según severidad: la severidad de ESP se determinó clínicamente, clasificando a los voluntarios según severidad, en lesiones inflamatorias Tipo: *I*, simple y localizada; *II*, simple generalizada, antes y después de ser tratados con el antimicrobiano convencional o el experimental (Koeck, 2007). Con los datos registrados en la ficha del sujeto, se clasificó clínicamente la reducción o no de la severidad de ESP.

6.7.2 Secundarios: Identificación de levaduras del género *Candida*: se realizó identificación presuntiva (medios selectivos) y molecular (PCR) para diferenciar *C. albicans* de *C. dubliniensis* obtenidas de la saliva, antes y después de ser tratados con el antimicrobiano convencional o el experimental.

6.7.3 Reacciones adversas: Se consideró la aparición de signos o síntomas como irritación de la mucosa bucal, sensación de ardor, sabor, náuseas y/u olores desagradables u otros.

6.8 Notificación de efectos adversos.

Se instruyó a los participantes en el estudio, comunicar a la enfermera del equipo de ensayo clínico, al más breve plazo, cualquier evento sucedido.

6.9 Coordinación de trabajo de campo.

Se incorporó un Coordinador de trabajo de campo, que desempeñó funciones de abastecimiento de los insumos, según aleatorización, al Departamento de Salud de la Ilustre Municipalidad de Recoleta, mantuvo contacto con los odontólogos

clínicos encargados del seguimiento de los individuos voluntarios, aseguró la asistencia de voluntarios a los controles vía contacto telefónico.

6.10 Examen clínico.

Se realizó por 3 Odontólogos Clínicos. Se utilizaron guantes, mascarilla, espejo, sonda dental y luz artificial. La información obtenida fue consignada en una ficha clínica. Las lesiones compatibles con ESP y candidiasis según severidad, fueron registradas siguiendo los criterios clínicos desarrollados, establecidos y validados en las Áreas Docente asistenciales involucradas en este estudio. Se analizaron caso a caso aquellos sujetos que requerían tratamiento urgente y que presentaban ESP tipo III, excluyéndose del estudio. Los casos que requirieron recambio de aparatos para la mejora de la salud, fueron invitados a ser atendidos en nuestra Facultad en el curso de Clínica del Adulto Mayor una vez terminado el estudio. Se midió la concordancia inter e intra-examinadores del diagnóstico de ESP al inicio del estudio, se aceptó un índice *Kappa* de al menos 0,7 al inicio de los exámenes.

6.11 Toma de muestra.

En el día de la visita, el sujeto debió estar en ayunas mínimo 2 h, no fumar, ni realizar procedimientos de higiene oral previo a la toma de muestra. Se corroboró que éste no hubiese estado bajo tratamiento antibiótico, antimicótico o esteroideal. Se solicitó depositar 2 mL de saliva en un frasco plástico estéril, el cual será sellado y rotulado. Las muestras fueron trasladadas y refrigeradas al Laboratorio de Bioquímica y Biología Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, siendo procesadas en menos de 4 h.

6.12 Procesamiento de las muestras.

Las muestras de saliva se homogeneizaron y diluyeron en PBS. Se sembraron 100 µL de una dilución de saliva (1/10) y también saliva sin diluir en duplicado, en medio Sabouraud agar suplementado con Cloranfenicol a una concentración final de 20 µg/mL. Las placas se incubaron a 37°C por 48 h en condiciones de

aerobiosis. Luego, se observaron al microscopio óptico (Carl Zeiss, Axiostar plus) para confirmar que las colonias eran compatibles con levaduras del género *Candida* y descartar la presencia de bacterias. El 10% de las colonias de *Candida* obtenidas (UFC/mL) provenientes de cada muestra se cultivaron y envasaron en viales con glicerol estéril a una concentración final de 20%. Los viales se almacenaron a -80°C hasta realizar la identificación de especie.

6.13 Identificación presuntiva mediante medio cromogénico.

Los aislados criopreservados se refrescaron y sembraron en medio CHROMagar *Candida*. Las placas se incubaron a 37°C por 48 h. Las levaduras fueron identificadas presuntivamente según las instrucciones del fabricante en *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. dubliniensis* y *C. glabrata*.

6.14 Identificación de especies de *Candida* spp. por métodos moleculares.

Las levaduras aisladas y sembradas en medio CHROMagar *Candida* que presentaron color verde claro y verde oscuro se identificó presuntivamente como *C. albicans* y *C. dubliniensis*, respectivamente. A estas levaduras se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para confirmar molecularmente y poder diferenciar ambas especies. El templado de las levaduras que se utilizó para esta técnica fue mediante el método del uso de papel filtro y lavado con NaOH descrito por Lefimil y cols. (2013).

6.15 Identificación de *C. albicans* / *C. dubliniensis* por PCR.

En esta reacción, se realizó una amplificación del gen que codifica la proteína 1 hifal de pared (HWP1) en ambas especies. La diferencia fundamental entre ellas radica en el tamaño del fragmento amplificado, que fue de 1.180 pares de bases para *C. albicans* y 930 pares de bases para *C. dubliniensis* (Romeo y cols., 2006). Los partidores utilizados en este proceso de amplificación fueron los siguientes: Wall F: 5'- GTTTTTGCAACTTCTCTTTGTA -3' y Wall R: 5'- ACAGTTGTATCATGTTTCAGT -3'.

6.16 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La mezcla de reacción de PCR, en un volumen final de 25 μ L, incluyó: 2 μ L de *Taq* polimerasa (Biolase), ADN molde (obtenido como ya se mencionó anteriormente), 1 μ L de $MgCl_2$ 50 mM, 1 μ L de cada uno de los partidores a una concentración de 25 μ M, 0,5 μ L dNTP's 10 mM, 2,5 μ L de tampón de PCR 10X pH 8,4 (Tris-HCl 200 mM y KCl 500 mM) y agua estéril. La amplificación del ADN correspondiente se realizó en un termociclador DNA Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems) utilizando el siguiente programa: desnaturación inicial a 95°C por 5 min, 35 ciclos de desnaturación a 94°C por 1 min, alineación de los partidores a 55°C por 45 s y elongación a 72°C por 3 min. Finalmente, las reacciones se dejaron para una extensión final a 72 °C por 10 min y luego se mantuvieron a 4 °C hasta su análisis.

6.17 Electroforesis de ADN.

Los productos de PCR se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%. Para su visualización, los geles se tiñeron con Safe View (Fermelo Biotec) a una concentración final de 0,5 μ g/mL. Los geles se prepararon en amortiguador TAE 1X (Tris-acetato 40 mM y EDTA 1 mM pH 8,0). Como estándar de peso molecular se utilizó AccuRuler 100 bp plus ADN Ladder (Maestrogen). El ADN se visualizó con luz U.V. en un transiluminador y la fotografía se obtuvo a través de un sistema de captura de imagen (Carestream).

6.18 Análisis Estadístico.

Se utilizó el test Shapiro Wilk para analizar el tipo de distribución de los datos, el cual dio como resultado que presentaban distribución no normal.

En la descripción de los datos con variables categóricas se utilizó frecuencias y porcentajes.

Para el análisis comparativo de la severidad de ESP entre los tiempos T0, T1 y T2

según tratamiento CHX o ACV, se utilizó el test de Wilcoxon para datos pareados.

Para el análisis comparativo de *Candida* spp. en los tiempos T0, T1 y T2 intragrupo e intergrupo según tratamiento CHX o ACV, se utilizó el test de Wilcoxon para datos pareado.

Se analizaron los datos utilizando el software STATA 14/SE (Facultad de Odontología de la Universidad de Chile). Se determinó como diferencia estadística un error alfa igual o menor a 0,05 y un intervalo de confianza del 95%.

7. RESULTADOS.

7.1 Caracterización de la muestra.

Se consideró un grupo preliminar de 79 participantes interesados en el estudio. Tras la evaluación clínica inicial se clasificó a 43 (54%) que presentaban ESP y cumplían con los criterios de inclusión y exclusión, mientras que 36 (45%) no presentaban ESP.

Dentro de los participantes con ESP, 10 no asistieron a algunos de los controles en los días 7 y/o 14. Además, 11 no contaban con datos de severidad o muestras de *Candida spp.*

Por lo tanto, para el análisis, se consideraron los sujetos que participaron tanto en el examen de ingreso (T0) como en el examen alrededor del día 7 (T1) y 14 (T2), lo que resultó en un total de 22 sujetos: 12 en el grupo control, tratados con CHX 0,12%, y 10 en el grupo experimental, tratados con ACV al 100%. Todos los individuos de la muestra fueron mujeres, con una edad promedio de 65 años.

7.2 Prevalencia y severidad de ESP en pacientes en tratamiento con CHX 0,12% o ACV 100%.

Conforme a los datos presentados en la Figura 1, entre los 12 pacientes que recibieron tratamiento con CHX, al inicio del estudio (T0), el 33% (n= 4) exhibió ESP tipo I, mientras que el 66% (n= 8) manifestó ESP tipo II.

En la primera evaluación (T1), se observó que el 10% (n= 1) logró una remisión completa de los signos clínicos de ESP, mientras que el 30% (n=3) mantuvo la severidad tipo I y el 60 % (n= 6) la severidad tipo II. Al concluir el tratamiento (T2), el 33% (n= 4) experimentó una remisión completa de la lesión de ESP, el 25% (n= 3) presentó severidad tipo I, y el 42 % (n= 5) continuó con la severidad tipo II.

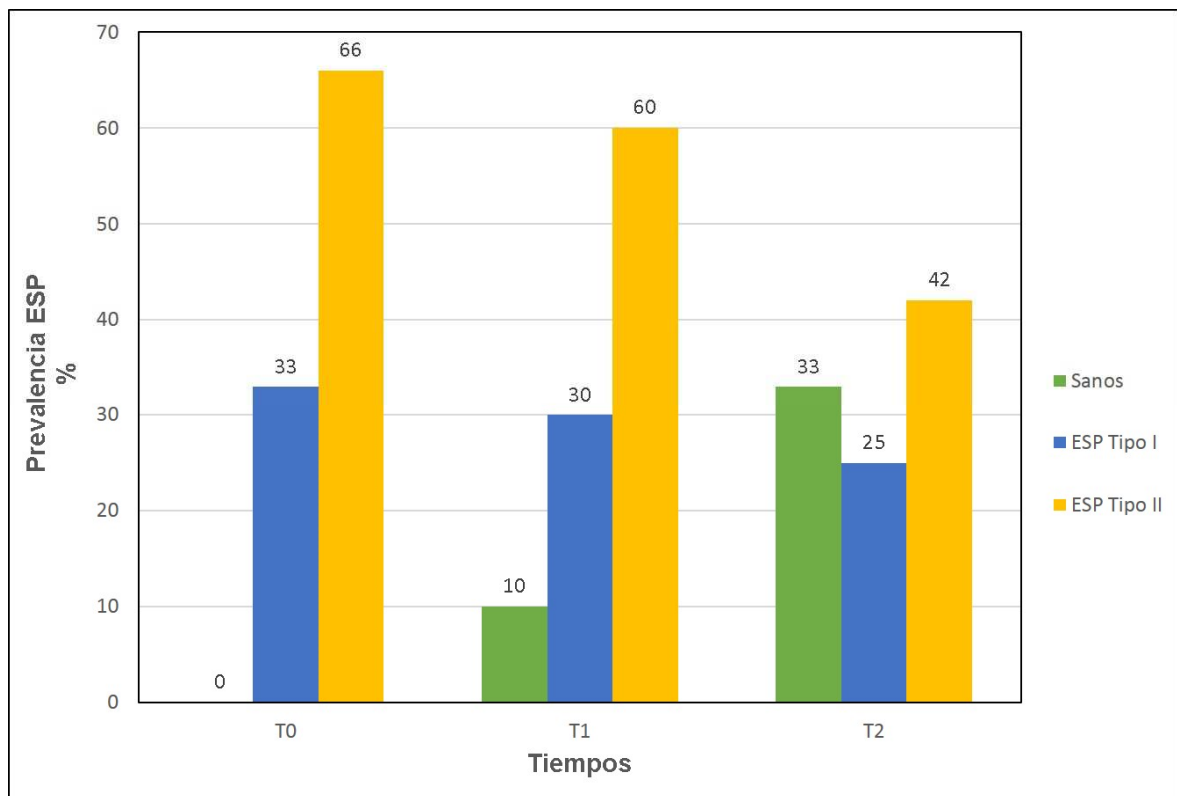


Figura 1. Distribución de tipo severidad de ESP expresado en porcentaje según tiempo de atención en grupo control tratado con CHX al 0,12%.

Según la información proporcionada en la Figura 2, de los 10 pacientes sometidos al tratamiento con ACV, al comienzo del estudio (T0), el 60% (n= 6) presentó ESP tipo I, mientras que el 40% (n= 4) mostró ESP tipo II.

En la primera evaluación (T1), 11% (n= 1) experimentó la remisión completa de los signos clínicos de ESP, mientras que el 67% (n= 6) mantuvo la severidad tipo I y el 22% (n= 2) la severidad tipo II.

Al finalizar el tratamiento (T2), el 40% (n= 4) logró una remisión completa de la lesión de ESP, el 30% (n= 3) presentó severidad tipo I y el 30% (n= 3) continuó con la severidad tipo II.

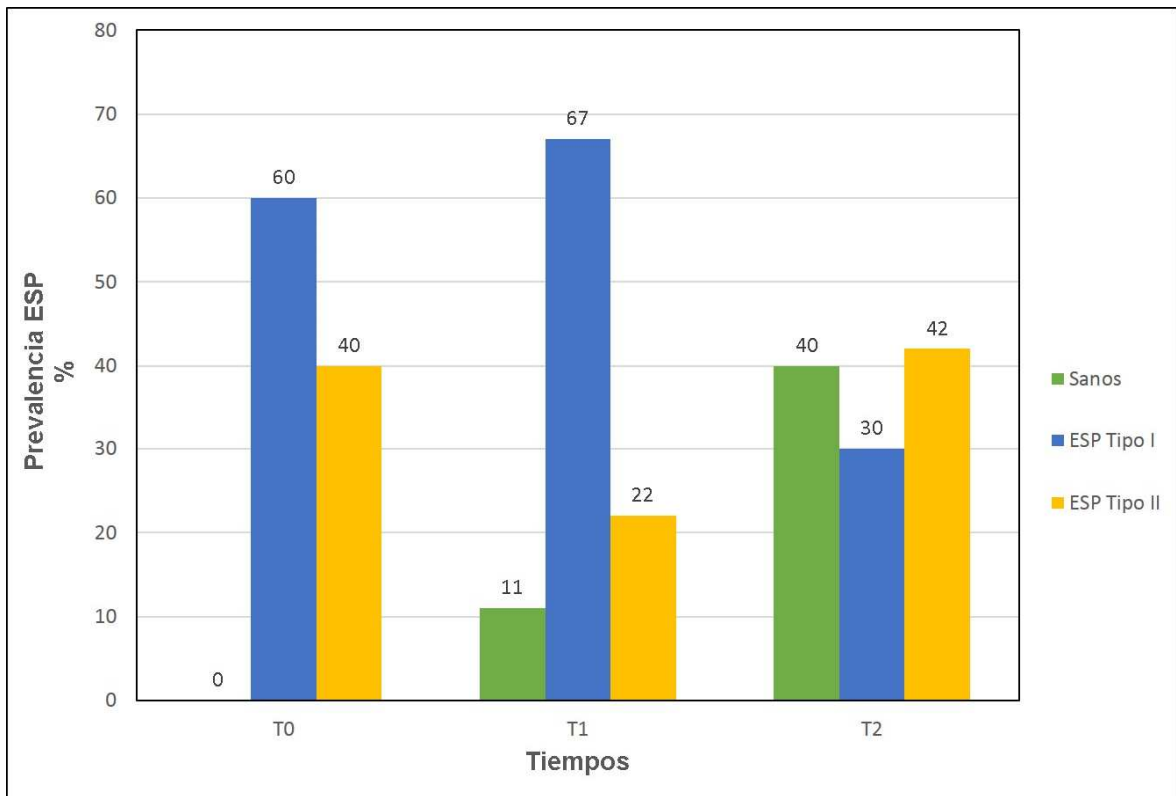


Figura 2. Distribución de tipo severidad de ESP expresado en porcentaje según tiempo de atención en grupo experimental tratado con ACV 100%.

Para el análisis de severidad de ESP en relación al tipo de tratamiento se tomaron los resultados obtenidos del trabajo de investigación (Lee y cols., 2023) que está adscrita esta tesis. En el cual se aplicó la prueba estadística de Wilcoxon al grupo control y experimental para comparar la severidad de ESP según los tres tiempos de atención (Tabla 1). Entre T0 y T1 en el grupo control no se observó diferencias significativas ($p=0,317$). Sin embargo, en el grupo experimental si existió diferencia significativa ($p=0,045$). En la comparación entre T1 y T2 así como entre T0 y T2 en ambos grupos también existió diferencias significativas.

TABLA 1. Comparación de severidad ESP entre los tiempos T0, T1 y T2 (intergrupo) según tratamiento CHX o ACV. Utilizando Test de Wilcoxon.

Comparación severidad ESP intergrupo		
Tiempos	Tratamiento CHX	Tratamiento ACV
T0 vs T1	p=0,317	p=0,045
T1 vs T2	p=0,046	p=0,025
T0 vs T2	p=0,014	p=0,002

7.3 Identificación presuntiva de *Candida spp.*

Se realizó la identificación presuntiva de *Candida spp.* utilizando el medio selectivo Chromagar *Candida*, según instrucciones del fabricante. El color verde claro corresponde a *C. albicans*, mientras el color verde oscuro a *C. dubliniensis*.

Según la información proporcionada en la Figura 3, de los 12 pacientes que fueron sometidos al tratamiento con CHX, al inicio del estudio, 10 sujetos se distinguieron por la presencia de *C. albicans*, mientras que 5 pacientes presentaron *C. dubliniensis*. Además, 3 de los sujetos presentaron ambas especies. Tanto en T1 como T2 sólo 4 muestras se identificaron con *C. albicans* respectivamente.

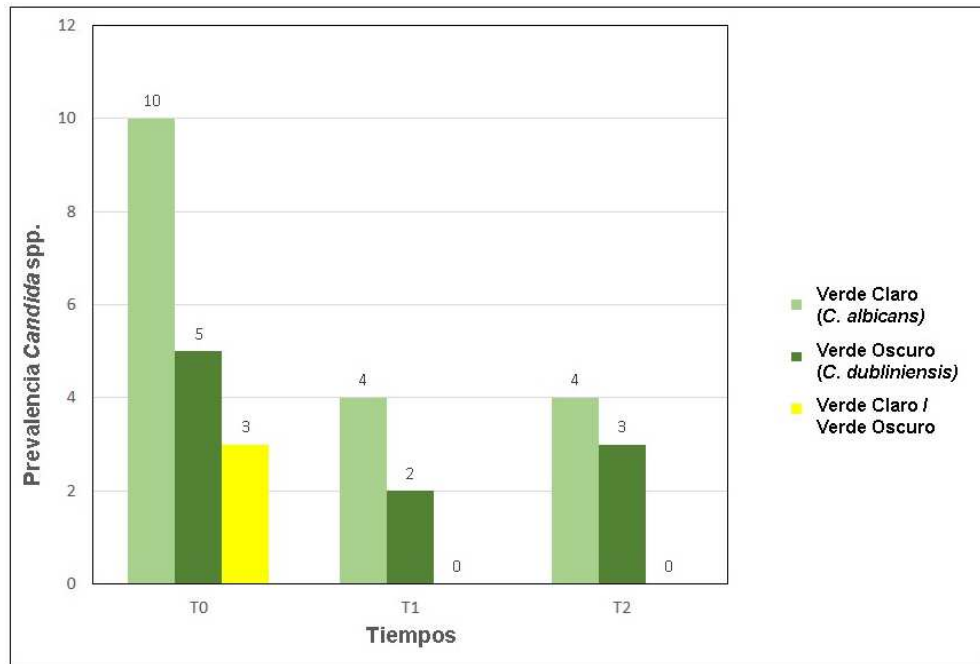


Figura 3. Prevalencia de *Candida* spp. según tiempo de atención en grupo control tratado con CHX al 0,12%.

En el grupo tratado con ACV se identificó, en los tres tiempos evaluados, una distribución similar, con una prevalencia destacada de *C. albicans*. En cada uno de los tiempos (T0, T1 y T2) solo un sujeto presentó simultáneamente ambas especies (Figura 4).

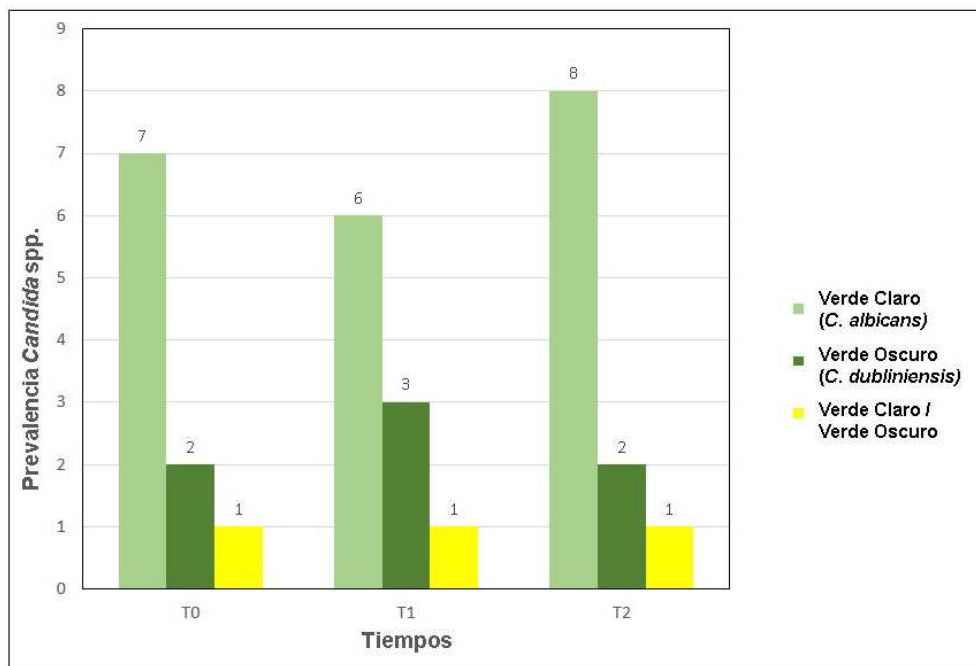


Figura 4. Prevalencia de *Candida* spp. según tiempo de atención en grupo experimental tratado con ACV 100%.

Dentro de otras especies de *Candida* se identificó la presencia de *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. utilis* y *C. globosa*, en una menor prevalencia en comparación con *C. albicans* y *C. dubliniensis* como se describe en la Tabla 2.

TABLA 2. Prevalencia de *Candida* spp. según el tiempo de atención en el total de las muestras (grupo control y experimental).

Tiempo	Verde Claro/ <i>C. albicans</i>	Verde Oscuro/ <i>C. dubliniensis</i>	Rosado/ <i>C. krusei</i>	Morado / <i>C. glabrata</i>	Azul/ <i>C. tropicalis</i>	Gris/ <i>C. utilis</i>	Blanquecino / <i>C. globosa</i>
T0	17	8	3	0	1	2	2
T1	10	4	4	2	0	0	0
T2	12	6	3	2	0	3	0

7.4 Identificación molecular de *Candida* spp.

La identificación de especies de *Candida*, como *C. albicans* y *C. dubliniensis* se realizó mediante la técnica de PCR. En la Figura 5 se puede observar una fotografía representativa de un gel agarosa sometido a electroforesis. La presencia de bandas en el gel confirma la amplificación de los fragmentos de ADN específicos para *C. albicans* y *C. dubliniensis*.

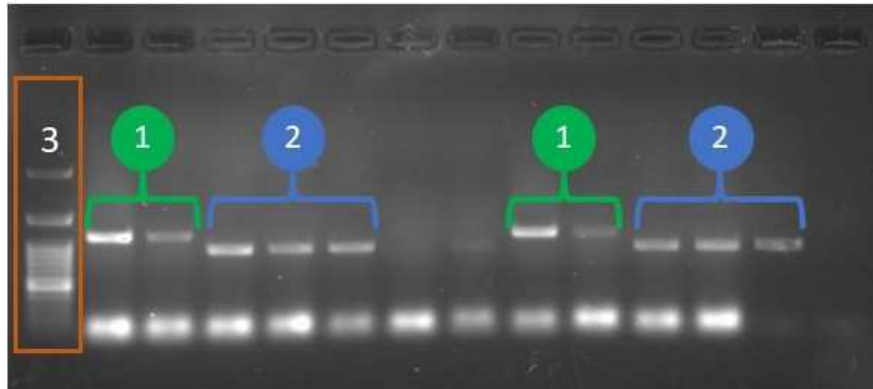


Figura 5: Electroforesis de ADN. Diferenciación de *C. albicans* y *C. dubliniensis* por el método PCR. Carriles con N°1: *C. albicans*; Carriles N°2: *C. dubliniensis*; Carril N°3: marcador peso molecular ADN Ladder.

El grupo control tratado con CHX al 0,12% en T0 todos los casos (n= 12) presentaron *C. albicans*, sin presencia de *C. dubliniensis* ni otras especies de *Candida* no- *albicans*. En T1 la prevalencia de *C. albicans* disminuyó al 42% (n= 5), no se detectó *C. dubliniensis*, pero se detectó 17% (n=2) de otras especies de *Candida* no- *albicans*. Similar ocurrió en el T2 donde la prevalencia de *C. albicans* se registró en un 50% (n= 6) de las muestras, pero continuó siendo inferior al nivel inicial (T0). No se identificó *C. dubliniensis*, pero sí hubo 17% (n=2) de especies de *Candida* no- *albicans* (Figura 6).

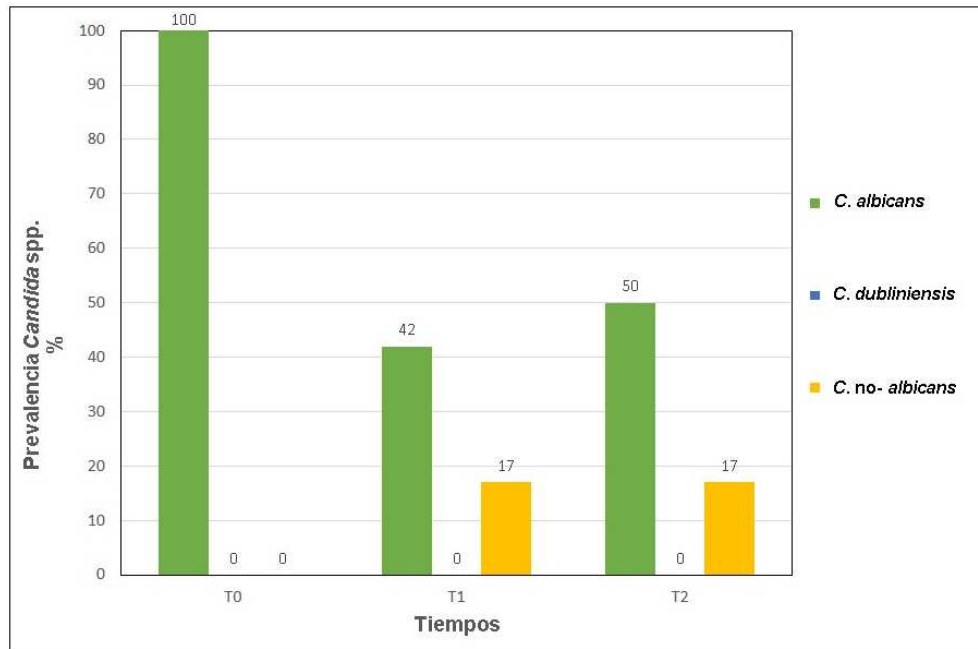


Figura 6. Prevalencia de *Candida* spp. expresado en porcentaje según tiempo de atención en grupo control con tratamiento con CHX al 0,12%.

En el grupo experimental, según la Figura 7, al inicio del estudio (T0), se identificó una distribución de especies de *Candida* con una prevalencia del 60% (n= 6) de *C. albicans*, 20% (n= 2) de *C. dubliniensis* y 10% (n=1) de otras especies de *Candida* no- *albicans*. Después del tratamiento en el tiempo T1, se observó una disminución general en la prevalencia, siendo una reducción al 50% (n= 5) de *C. albicans* y 10% (n=1) de *C. dubliniensis*. En el tiempo T2, se registró un aumento en la prevalencia de *C. albicans* al 70% (n=7), mientras que las demás especies se mantuvieron en niveles similares.

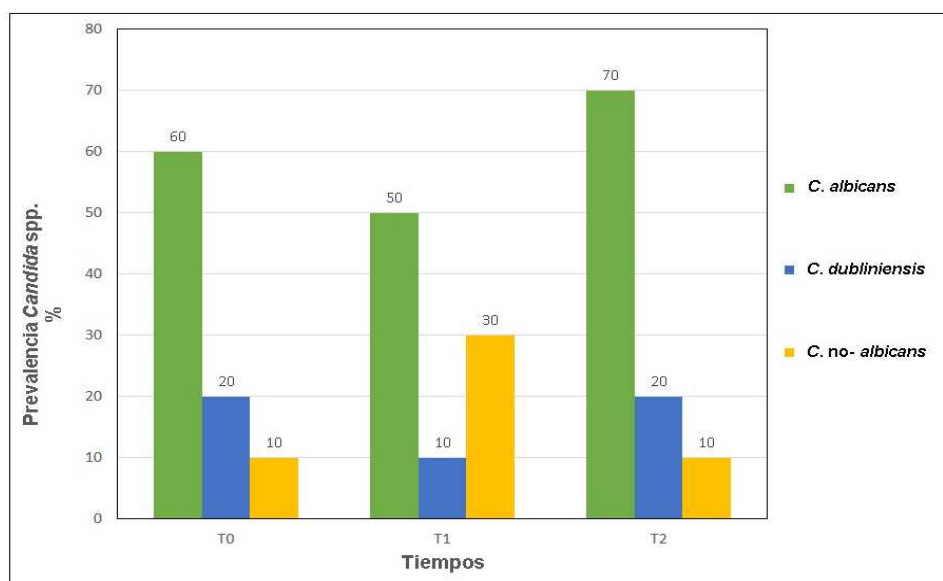


Figura 7. Prevalencia de *Candida* spp. expresado en porcentaje según tiempo de atención en grupo experimental con tratamiento con ACV 100%.

Posteriormente, como se resume en la Tabla 3, se aplicó la prueba estadística de Wilcoxon al grupo control y experimental por separado para comparar las especies de *Candida* en los tiempos T0, T1 y T2 dando como resultado diferencia estadística ($p < 0,05$) en los tres tiempos de cada grupo, excepto en el tiempo 0 del grupo tratado con CHX, ya que solo contaba con especies de *C. albicans*.

TABLA 3. Comparación *Candida* spp. en los tiempos T0, T1 y T2 (intragrupa) según tratamiento CHX o ACV.

Comparación <i>Candida</i> spp. intragrupa		
Tiempo	Tratamiento CHX	Tratamiento ACV
T0	*	0,0047
T1	0,0143	0,0047
T2	0,0082	0,0027

*No hay un valor específico proporcionado para comparación directa, solo presencia de *C. albicans*.

En el análisis de los datos de la Tabla 4 se utilizó la prueba de Wilcoxon para realizar la comparación intergrupala entre los tiempos T0, T1 y T2 en las muestras tratadas con CHX o ACV. Se obtuvo que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) en la presencia del género *Candida*. Entre T0 y T1, así como entre T0 y T2, no se observaron cambios significativos ni en las muestras tratadas con CHX ni con ACV. Asimismo, no se detectaron diferencias significativas entre los tiempos T1 y T2 en ambos grupos de tratamiento. Estos resultados sugieren una consistencia en la presencia de *Candida* spp. a lo largo de los diferentes periodos de tiempo y entre los tratamientos de CHX y ACV.

TABLA 4. Comparación *Candida* spp. entre los tiempos T0, T1 y T2 (intergrupo) según tratamiento CHX o ACV.

Comparación <i>Candida</i> spp. intergrupo		
Tiempos	Grupo CHX	Grupo ACV
T0 v/s T1	0,1573	0,5637
T0 v/s T2	0,1573	1,0000
T1 v/s T2	1,0000	0,3173

7.5 Relación entre severidad de ESP y especies de *Candida* no- *albicans*.

La comparación de los resultados clínicos y microbiológicos obtenidos en este trabajo de investigación que da resolutiveidad al objetivo específico N°4 no se realizó debido al bajo número de muestras analizadas microbiológicamente. Por este motivo el análisis estadístico realizado preliminarmente no representa una real relación entre la severidad de ESP y el tipo de especie de *Candida*.

8. DISCUSIÓN.

El presente estudio clínico controlado aleatorizado con triple enmascaramiento, comparó la eficacia de aceite de coco virgen en el tratamiento de la severidad de la estomatitis subprotésica y su efecto sobre las especies de levaduras *Candida non-albicans* en personas mayores de 60 años o más portadoras de prótesis removible, respecto a la efectividad del tratamiento con clorhexidina al 0,12%.

8.1 Epidemiología.

La ESP es una afección inflamatoria que afecta la mucosa oral en personas que utilizan prótesis dentales removibles. Estudios a nivel nacional han revelado que la ESP presenta una alta prevalencia, alrededor de un 45% seguida de hiperplasia irritativa (11%) y úlcera traumática (10%) (Lozano y cols., 2018). Situación que no ha cambiado en el transcurso del tiempo ya que Espinoza y cols. (2003) describieron hace 20 años que la ESP era una de las lesiones orales en PM con mayor prevalencia (23%). En el presente trabajo de investigación se ha descrito una frecuencia de 54% de ESP, datos que confirman lo reportado anteriormente.

En cuanto a la distribución de género, todos los participantes fueron del sexo femenino. Gutierrez y cols. (2013) han descrito resultados similares, donde explican la mayor prevalencia de ESP en mujeres producto de una mayor preocupación por la estética y las consultas odontológicas. Además, se ha estudiado que el incremento de la fragilidad capilar en mujeres durante el proceso de envejecimiento podría estar vinculado con la aparición de ESP. Asimismo, se plantea que las alteraciones psicósomáticas generadas por el estrés durante y después del climaterio podrían afectar los tejidos bucales al modificar la irrigación sanguínea, la tasa de flujo salival y los niveles de anticuerpos circulantes (Sifontes y cols., 2008).

8.2 Análisis del efecto del ACV o CHX en la severidad de la ESP.

Cuando se comparó la severidad de ESP en los tres tiempos estudiados, entre T0 y T1, sólo se registró una reducción significativa en el grupo experimental, lo que sugiere que el ACV fue más eficaz que el CHX después de 1 semana de tratamiento. Por otro lado, se observó una reducción significativa en el grupo con CHX a las 2 semanas de tratamiento. Luego de finalizado el ensayo, en el grupo experimental, la prevalencia de pacientes sanos aumentó en un 40%; en el caso de ESP tipo I y II, ambas presentaron un 30% de prevalencia. Esto sugiere que el tratamiento con ACV tiene una eficacia similar tanto en los casos leves de ESP como en los moderados. En cambio, en el grupo control, se observó remisión del 33% de los casos, siendo ESP tipo II quien tuvo una mayor disminución en el porcentaje de casos, de 66 a 42%, mientras que ESP tipo I sólo disminuyó de 33 a 25%. Por ende, el tratamiento con CHX resultó más eficaz para ESP tipo II.

8.2.1 Actividad antiinflamatoria de ACV.

Se ha descrito que el ACV posee actividad antiinflamatoria debido a la presencia de ácidos grasos de cadena media, como el ácido láurico y el ácido cáprico. Estos componentes tienen la capacidad de suprimir la expresión génica de citoquinas proinflamatorias como Interleuquina 8 (IL-8) y Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α) (Huang y cols., 2014). Además, se ha estudiado la actividad antiinflamatoria del ácido láurico al regular negativamente la vía TLR4 (Khan y cols., 2020) en la cual, al unirse el receptor TLR4 con su ligando, forma un complejo con otras proteínas, como el factor de diferenciación mieloide 2, lo que desencadena la activación de una serie de vías de señalización intracelular. Esto lleva a la activación de factores de transcripción, como el factor nuclear kappa B y las proteínas reguladoras de interferón, que a su vez inducen la producción de citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa y las interleuquinas 1 y 6 (Płóciennikowska y cols., 2014). Por otro lado, el monoglicérido del ácido láurico, la monolaurina, puede actuar como inhibidor de la proliferación de

células T. Se ha descrito que una cadena de acilo con 12-14 carbonos, un grupo de cabeza polar, un enlace éster y un único grupo laurato en cualquier posición, son necesarios para que la monolaurina inhiba la agrupación de proteínas y la señalización de calcio (Fosdick y cols., 2021). Estos hallazgos amplían nuestra comprensión actual de los mecanismos de acción del ACV.

8.2.2 Efectos adversos de ACV.

En relación con los posibles efectos adversos, en el presente trabajo de investigación no se reportaron. Situación que se alinea con la mayoría de los estudios relacionados a ACV. Hasta la fecha solo se han reportado informes limitados de casos, como uno que describe una neumonía lipoidea presuntamente relacionada con la aspiración de ACV, los autores no han presentado pruebas concluyentes que establezcan de manera definitiva que esta neumonía fue causada por la ingesta de ACV (Wong y cols., 2018). Es fundamental tener en cuenta que la evidencia científica puede evolucionar con el tiempo, y la ausencia de informes de efectos adversos en estudios puede deberse a la limitada investigación disponible hasta la fecha. Además, los informes de casos individuales pueden ofrecer información relevante, pero no son suficientes para establecer relaciones causales definitivas.

8.2.3 Actividad antimicrobiana CHX.

A diferencia del ACV, la CHX no presenta actividad antiinflamatoria, sin embargo, se encuentra ampliamente documentada su actividad antimicrobiana. El mecanismo de acción de la CHX contra *Candida* spp. se basa principalmente en su relación con la membrana celular, en el cual, la molécula catiónica de CHX es atraída hacia la superficie celular cargada negativamente. Este proceso altera la integridad de la membrana y conduce a la unión de la CHX a los fosfolípidos en la membrana interna, provocando alteraciones en la estructura y la permeabilidad. Esta interacción con la membrana celular fúngica permite la fuga de iones

esenciales como el potasio y otros componentes intracelulares. Además, el aumento de la concentración de CHX conlleva a una coagulación y precipitación del citoplasma, reflejado en la formación de complejos fosfatados (Balagopal y Arjunkumar, 2013).

La CHX también puede interferir con enzimas claves involucradas en procesos metabólicos fundamentales para la supervivencia de las levaduras. Al inhibir estas enzimas, la CHX compromete la capacidad de los hongos para llevar a cabo funciones esenciales, lo que contribuye a la detención del crecimiento y la replicación celular (Kadir y cols., 2007). La CHX paralelamente exhibe propiedades que previenen la adhesión de los hongos a superficies, una característica importante en la prevención de infecciones fúngicas al evitar la colonización en áreas específicas (Ellepola y Samaranayake, 2001).

En conjunto, el mecanismo de acción de la CHX contra *Candida* spp. involucra la perturbación directa de la membrana celular y la interferencia en procesos metabólicos críticos, lo que resulta en la inhibición del crecimiento y la viabilidad celular (Balagopal y Arjunkumar, 2013). Estas características, junto con el empleo masificado de CHX como antiséptico pre-operatorio en la atención dental (Hassan y cols., 2022) y la similitud en la modalidad de administración del compuesto respecto a la aplicación del agente experimental mediante enjuagues orales, llevaron a seleccionar la CHX al 0,12% como grupo de control para este estudio.

8.2.4 Efectos adversos CHX.

Sistémicos

Se ha descubierto que el uso de CHX provoca cambios en el microbioma oral que conduce a una disminución posiblemente desfavorable en la concentración de nitrito en la saliva, lo que a su vez se ha postulado que produce efectos adversos en el control de la presión arterial tanto en adultos sanos como en aquellos con hipertensión. Los resultados de un estudio longitudinal de 3 años encontraron que

el uso diario de enjuagues bucales de venta libre (independientemente de sus componentes) representa un factor de riesgo independiente para el desarrollo de prediabetes/diabetes mellitus e hipertensión. Curiosamente, los pacientes que no tenían factores de riesgo reconocidos para la hipertensión (p. ej., consumo de tabaco y/o alcohol, dieta alta en sal o edad avanzada) eran más propensos a los efectos del uso de enjuague bucal en el aumento de la presión arterial que aquellos que sí tenían riesgos identificables. No obstante, los investigadores reconocieron la necesidad de realizar más estudios para su verificación (Alrashdan y cols., 2023).

Locales

Debido a su propensión a reaccionar con especies aniónicas, también es importante tener en cuenta la formulación de la CHX en enjuagues bucales, aerosoles, geles, etc. La molécula de CHX reacciona con los tensioactivos aniónicos presentes en la formulación, reduciendo así la actividad del agente. De manera similar, la CHX no debe usarse antes o inmediatamente después de usar pasta de dientes; La interacción con los tensoactivos aniónicos que se encuentran en estas formulaciones reducirá la entrega efectiva de CHX a la superficie del diente en forma activa. Se debe usar pasta de dientes antes de usar CHX y el exceso de pasta de dientes se debe enjuagar con agua antes de aplicar CHX (Balagopal y Arjunkumar, 2013).

La actividad superficial de la CHX en los dientes explica el efecto secundario de las manchas dentales asociadas a este antiséptico. Basado en el trabajo de Addy y cols. (1991) la tinción se explica en términos de una reacción de precipitación local que ocurre entre la CHX adherida a los dientes y los cromógenos que se encuentran en los alimentos y bebidas. El efecto puede minimizarse limitando la ingesta de dichos alimentos y bebidas durante el tratamiento con CHX, especialmente justo después de usar el colutorio. Por tanto, parece sensato reducir la ingesta de té y café durante el período inmediato después del enjuague matutino, ya que es cuando la CHX unida por vía oral estará en su concentración más alta.

8.3 Análisis del efecto del ACV o CHX en la prevalencia de *Candida* spp.

En el estudio se observó una variación en la distribución de especies en la identificación presuntiva de *Candida* spp. en ambos grupos a lo largo del tiempo. Específicamente, en el grupo control tratado con CHX, donde ocurrió una disminución en la prevalencia de *C. albicans* de T0 a T1, no así desde T1 a T2 donde la prevalencia de *C. albicans* se mantuvo constante. En el grupo experimental tratado con ACV mostró una prevalencia constante de T0 a T1 e incluso aumentada de *C. albicans* de T1 a T2.

La respuesta diferencial de las especies de *Candida* a los tratamientos con CHX y ACV es un hallazgo significativo. La prevalencia constante de *C. albicans* en el grupo control de T1 a T2 podría sugerir una posible resistencia o adaptación de esta especie al CHX. Se ha encontrado que cultivos de biopelícula de *C. albicans* se han vuelto progresivamente más resistente a la acción de CHX adquiriendo una resistencia fenotípica, debido a cambios en composición lipídica de la membrana celular (Suci y Tyler, 2003).

La identificación de otras especies de *Candida*, como *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. utilis* y *C. globosa*, destaca la diversidad de la microbiota fúngica oral. La menor prevalencia de estas especies en comparación con *C. albicans* y *C. dubliniensis* podría indicar diferencias en la susceptibilidad a los tratamientos aplicados. Pardi y cols. (2001) confirman estos datos ya que en su estudio no sólo detectaron *C. albicans*, también encontraron otras especies en la mucosa palatina, tales como: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* y *C. rugosa*, lo que sugiere que *C. albicans* no es la única especie responsable de la aparición de ESP. También, tal como menciona Baena y cols. (2005), Pardi y Cardozo de Pardi (2003), se ha sugerido que ESP, puede deberse a bacterias que están usualmente presente en la cavidad oral como *Streptococcus* spp. y *Staphylococcus* spp. Además, un estudio de Kim y cols., (2017) demostró interacciones entre *S. mutans* y *C. albicans*, donde la presencia de *C. albicans* resultó en un aumento en

la formación de microcolonias y la posterior virulencia de *S. mutans*. Otra especie bacteriana que ha sido identificada en pacientes con ESP es *Myroides odoratimimus*, esta especie se relaciona en infecciones de tejidos blandos y en casos de bacteremia en pacientes diabéticos. Por tanto, es posible que pueda contribuir a la manifestación de ESP (Morse y cols., 2019).

Se ha descrito que los géneros de bacterias más prevalentes y abundantes, independientemente de la superficie o del estado de salud - enfermedad, se encuentran *Actinomyces*, *Capnocytophaga*, *Streptococcus*, *Veillonella* y *Neisseria*. Estos géneros están entre los más predominantes en la cavidad bucal y han sido identificados como principales colonizadores de prótesis removibles. Especialmente *Actinomyces* y *Streptococcus* se consideran colonizadores tempranos de la cavidad bucal y se adhieren fácilmente a las superficies, así como entre sí. Permiten la colonización de otros géneros microbianos, incluidos *Capnocytophaga* y *Neisseria* (Shi y cols., 2016).

Además de la identificación presuntiva, se utilizó la técnica de PCR para la identificación molecular de especies de *Candida*, centrándonos en *C. albicans* y *C. dubliniensis*. Los resultados obtenidos a través de la electroforesis de ADN confirmaron la presencia de bandas específicas para ambas especies, lo que validó la amplificación de los fragmentos de ADN deseados.

En el grupo control, tratado con CHX al 0,12%, se observó una prevalencia inicial del 100% de *C. albicans* en el tiempo T0. Sin embargo, con el transcurso del tratamiento, hubo una disminución en la prevalencia de *C. albicans* en los tiempos T1 y T2, acompañada por la aparición de otras especies de *Candida* no- *albicans*. Este cambio en la distribución intragrupal de especies fue estadísticamente significativo.

En contraste, el grupo experimental, tratado con ACV al 100%, mostró una distribución inicial más diversa, con el 60% de *C. albicans*, 20% de *C. dubliniensis*

y 10% de otras especies de *Candida* no- *albicans*. A lo largo del tratamiento, se observó una reducción general en la prevalencia de todas las especies, aunque la proporción de *C. albicans* aumentó en el tiempo T2. La comparación intragrupo reveló diferencias significativas en la distribución de especies a lo largo del tiempo, sin embargo el análisis intergrupo no indicó diferencias significativas. Por lo cual se puede interpretar que la distribución de *Candida* spp. de la muestra tratada con ACV se mantuvo constante durante el tratamiento.

8.3.1 Actividad antimicrobiana de ACV.

El mecanismo antimicrobiano del ACV aún no está claro, pero se presume que la monolaurina causa la muerte del microorganismo al alterar la membrana celular, penetrar e inhibir las enzimas relacionadas con la producción de energía y la transferencia de nutrientes (Shanbhag, 2016). También se ha descubierto que en *C. albicans* el ácido láurico reprime la expresión del gen *HWP1* (Kim y cols., 2022) esencial para el desarrollo de hifas. Se considera que el cambio de células de levadura a hifas desempeña un papel importante en la formación de biopelículas y la patogénesis de infecciones fúngicas (Douglas, 2003). Además, la expresión del gen *CHT4* que codifica quitinasa es inducida por el ácido láurico. Las quitinasas son enzimas que hidrolizan la quitina en *C. albicans*. Estas enzimas tienen un papel importante en el reordenamiento de la pared celular y en procesos de morfogénesis, también podrían desempeñar un papel en la inhibición de la formación de hifas y biopelícula (Kim y cols., 2022).

Otra característica del ACV es que posee un elevado índice de saponificación, debido a que alrededor de la mitad de su composición consiste en ácido láurico. Este ácido tiene la capacidad de reaccionar con los álcalis presentes en la saliva, como el hidróxido de sodio y los bicarbonatos. Esta reacción da lugar a la formación de una sustancia análoga al jabón de laurato de sodio, que confiere al ACV una acción de limpieza más pronunciada. Este proceso contribuye a reducir la adhesión y acumulación de placa bacteriana, según estudios como el de Peedikayil y cols. (2015).

8.4 Consideraciones sobre la investigación y limitaciones.

La presente investigación proporciona información valiosa sobre la eficacia del ACV en comparación con CHX en el tratamiento de ESP en PM con prótesis removible. Sin embargo, es crucial considerar algunas limitaciones y aspectos que podrían influir en el desarrollo de este trabajo de investigación.

Tamaño de la muestra: Para este trabajo se calculó un total de 78 individuos en cada uno de los dos grupos, sin embargo, este número no se pudo concretar. Este hecho limitó la elaboración de asociaciones y significancia a partir de los datos, ya que hicieron falta individuos para asegurar una distribución representativa y ser extrapolables a la población.

Homogeneidad del grupo de estudio: La participación solo de pacientes femeninos podrían limitar la extrapolación de los resultados a otras poblaciones.

Efectos adversos: Aunque no se informaron efectos adversos en el grupo de ACV, es esencial destacar la necesidad de una vigilancia continua, ya que la ausencia de efectos adversos en este estudio no excluye la posibilidad de que puedan surgir con un mayor número de participantes o un seguimiento más prolongado.

Interacciones con otras variables: Factores externos, como la higiene oral, la adherencia al tratamiento y otros hábitos de vida, podrían haber influido en los resultados. Una consideración más detallada de estos factores podría ofrecer una comprensión más completa de la efectividad de los tratamientos.

Mecanismos de acción: Aunque se exploraron los posibles mecanismos de acción del ACV, se necesita investigación adicional para comprender completamente los procesos biológicos que subyacen a la eficacia de este tratamiento.

9. Conclusiones.

- El tratamiento con ACV al 100% es eficaz para disminuir la severidad de ESP en PM que utilizan prótesis removibles. Esta eficacia se equipara a la lograda mediante el uso del enjuague bucal de CHX al 0,12%, ya que ambos tratamientos demostraron una reducción significativa en la severidad de ESP a dos semanas de iniciada su administración.
- Basado en la evidencia de este estudio la presencia de especies de *Candida no- albicans*, no desempeñan un papel significativo en la severidad de ESP en PM tratados con ACV al 100% o CHX al 0,12%. Sin embargo, es crucial no subestimar la presencia de estas especies, ya que aún queda por comprender de manera más detallada su potencial relación con ESP.
- Se requieren más estudios, con un alto número de personas, para tener un mayor poder estadístico, y así validar o desestimar una posible relación entre la severidad de ESP y especies de *Candida no- albicans*.

10. Referencias Bibliográficas.

Abbas A, Ernest B, Akeh M, Upla P, Tuluma K (2017). Antimicrobial Activity of Coconut Oil and its Derivate (Lauric acid) on Some Selected Clinical Isolates. *Int J Med Science and Clin Invention*. 4(8): 3173-3177.

Addy M, Wade W, Goodfield S. Staining and antimicrobial properties in vitro of some chlorhexidine formulations. *Clin Prev Dent* 1991; 6: 13-17.

Alrashdan MS, Leao JC, Doble A, McCullough M, Porter S. The Effects of Antimicrobial Mouthwashes on Systemic Disease: What Is the Evidence? *Int Dent J*. 2023 Nov;73 Suppl 2(Suppl 2):S82-S88. Doi: 10.1016/j.identj.2023.08.012.

Barata D, Duran A, Carrillo S (2002). Estomatitis Protésica. Aspectos clínicos y tratamiento. *Prof. Dent*. 5(10):622–627.

Balagopal, S, y Arjunker, R. (2013). Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplaque Agent. *Journal of Pharmaceutical*. 5: 270-274.

Douglas LJ (2003). Candida biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol*. Doi: 10.1016/s0966-842x(02)00002-1. PMID: 12526852.

Ellepola AN, y Samaranyake LP. (2001). Adjunctive use of chlorhexidine in oral candidoses: a review. *Oral Dis*. 2001 Jan;7(1):11-7. PMID: 11354914.

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.

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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2007.01709.x>.

Fosdick MG, Chheda PR, Tran PM, Wolff A, Peralta R, Zhang MY, Kerns R, Houtman JCD (2021). Suppression of human T cell activation by derivatives of glycerol monolaurate. Doi: 10.1038/s41598-021-88584-y.

Gbinigie O, Onakpoya I, Spencer E, McCall M, Heneghan C (2016). Effect of oil pulling in promoting oro dental hygiene: A systematic review of randomized clinical trials. *Complementary Therapies in Medicine* 26 (2016) 47–54

Gendreau L, Loewy ZG (2011). Epidemiology and Etiology of Denture Stomatitis. *J Prosthodont.* 20:251–260.

Gleiznys, A., Zdanavičienė, E., & Žilinskas, J. (2015). *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. *Stomatologija*, 17(2), 54–66.

Gutiérrez C, Bustos L, Sánchez M, Zaror L, Zambrano M (2013). Denture stomatitis in patients of the IX region, Chile. *Int J Odontostomat* 7:207–213.

Hassan S, Dhadse P, Bajaj P, Sethiya K, Subhadarsanee C. Pre-procedural Antimicrobial Mouth Rinse: A Concise Review (2022). *Cureus*. 2022 Oct 24;14(10):e30629. Doi: 10.7759/cureus.30629. PMID: 36426310; PMCID: PMC9681683.

Hilgert JB, Giordani JM do A, de Souza RF, Wendland EMDR, D'Avila OP, Hugo FN (2016). Interventions for the Management of Denture Stomatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Geriatr Soc.* 64:2539–2545.

Huang, W. C., Tsai, T. H., Chuang, L. T., Li, Y. Y., Zouboulis, C. C. & Tsai, P. J. (2014). Anti-bacterial and anti-inflammatory properties of capric acid against *Propionibacterium acnes*: A comparative study with lauric acid. *Journal of Dermatological Science*, 73(3), 232-240. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2013.10.010>

Instituto Nacional de Estadísticas (INE) (2017). Estimaciones y proyecciones de la población de Chile 1992-2050. Santiago (Chile). Disponible en: https://www.ine.cl/docs/default-source/proyecciones-de-poblacion/publicaciones-y-anuarios/base-2017/ine_estimaciones-y-proyecciones-de-poblaci%C3%B3n-1992-2050_base-2017_s%C3%ADntesis.pdf?sfvrsn=c623983e_6 . Revisado mayo 2021.

Instituto Nacional de Estadísticas (INE) (2020). Adultos Mayores en Chile: ¿Cuántos hay? ¿Dónde viven? ¿Y en qué trabajan?. Disponible en: <https://www.ine.cl/prensa/2020/04/15/adultos-mayores-en-chile-cu%C3%A1ntos-hay-d%C3%B3nde-viven-y-en-qu%C3%A9-trabajan> . Revisado mayo 2021.

Kadir T, Gümrü B, Uygun-Can B. Phospholipase activity of *Candida albicans* isolates from patients with denture stomatitis: the influence of chlorhexidine gluconate on phospholipase production (2007). Arch Oral Biol. 2007 Jul;52(7):691-6. Doi: 10.1016/j.archoralbio.2006.12.008. Epub 2007 Jan 22. PMID: 17241611.

Khan HU, Aamir K, Jusuf PR, Sethi G, Sisinthy SP, Ghildyal R, Arya A. (2020). Lauric acid ameliorates lipopolysaccharide (LPS)-induced liver inflammation by mediating TLR4/MyD88 pathway in Sprague Dawley rats. Doi: 10.1016/j.lfs.2020.118750.

Kim YG, Lee JH, Park S, Kim S, Lee J (2022). Inhibition of polymicrobial biofilm formation by saw palmetto oil, lauric acid and myristic acid. Microb Biotechnol. 2022 Feb;15(2):590-602. Doi: 10.1111/1751-7915.13864. Epub 2021 Jun 22. PMID: 34156757; PMCID: PMC8867970.

Kim D, Sengupta A, Niepa TH, Lee BH, Weljie A, Freitas-Blanco VS, Murata RM, Stebe KJ, Lee D, Koo H (2017). *Candida albicans* stimulates *Streptococcus mutans* microcolony development via cross-kingdom biofilm-derived metabolites. *Scientific Reports*. 2017;7:41332. doi: 10.1038/srep41332.

Koeck B (2007). *Prótesis Completas*. (4a ed.) Urban & Fischer. 13: 344-346.

Kumar V, Shanbhag L (2017). Oil Pulling for maintaining Oral Hygiene- A Review. *J Traditional and Complementary Medicine*. 7: 106-109.

Lefimil C, Lozano, C, Morales-Bozo I, Plaza A, Maturana C, Urzúa B. (2013). DNA from oral bacteria by sodium hydroxide-paper method suitable for polymerase chain reaction. *Anal Biochem*. 15;433(2):129-31. Doi: 10.1016/j.ab.2012.10.024.

Ley-Sifontes L, Silva Y, Martín Reyes O, Paz E, Landrián C (2008). Eficacia del aceite de girasol ozonizado en el tratamiento de la estomatitis subprótesis grado I y II. *AMC* 12:1–10.

Lozano, C., Vergara, C. & Lee, X. M. M. (2018). Prevalence of oral lesions and chronic non-communicable diseases in a sample of Chilean institutionalized versus non-institutionalized elderly. *Journal of Oral Research*, 7(3), 108-113. <https://doi.org/10.17126/joralres.2018.025>

Ministerio de Salud (Minsal) (2010). *Guía Clínica Salud Oral Integral para Adultos de 60 años*. Disponible en: <https://www.minsal.cl/portal/url/item/7221747c2c9484b7e04001011f0141a4.pdf>. Revisado mayo 2021.

Ministerio de Salud (Minsal) (2017). Encuesta nacional de salud 2016-2017. Disponible en: https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2018/01/2-Resultados-ENS_MINSAL_31_01_2018.pdf. Revisado mayo 2021.

Moreira E, Bernal A, Rodríguez PI. Estudio clínico histopatológico de la estomatitis subprótesis. *Rev Cub Estomatol*. 1984; 6(21): 189-97.

Morse DJ, Smith A, Wilson MJ, Marsh L, White L, Posso R, Bradshaw DJ, Wei X, Lewis MAO, Williams DW (2019). Molecular community profiling of the bacterial

microbiota associated with denture-related stomatitis. *Sci Rep.* 2019 Jul 15;9(1):10228. Doi: 10.1038/s41598-019-46494-0.

Nucci, M., Queiroz-Telles, F., Tobón, A. M., Restrepo, A., & Colombo, A. L. (2010). Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 51(5), 561–570. <https://doi.org/10.1086/655683>

Nur M, Zurainie A, Anil J, Intan S (2017). Virgin Coconut Oil and Its Antimicrobial Properties against Pathogenic Microorganisms: A review. *Adv in Health Res.* 8: 192-199.

Organización Mundial de la Salud (OMS) (2015). Informe mundial sobre el envejecimiento y la salud. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/186466/9789240694873_spa.pdf?sequence=1. Revisado mayo 2021.

Organización Mundial de la Salud (OMS) (2015). Envejecimiento. Disponible en: <http://www.who.int/topics/ageing/es/>. Revisado mayo 2021.

Organización Mundial de la Salud (OMS) (2018). Envejecimiento y Salud. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/envejecimiento-y-salud>. Revisado mayo 2021.

Pardi G, Cardozo E, Perrone M, Salazar E. (2001). Detección de Especies de *Candida* en Pacientes con Estomatitis Sub-Protésica. *Acta Odontológica Venezolana*, 39(3), 32-44.

Peedikayil, F., Sreenivasan, P., & Narayanan, A. (2015). Effect of coconut oil in plaque related gingivitis - A preliminary report. *Nigerian Medical Journal*, 56(2), 143.

Płóciennikowska A, Hromada-Judycka A, Borzęcka K, Kwiatkowska K. Co-operation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling. Doi: 10.1007/s00018-014-1762-5.

Rivera E, Jiménez U, Manzano P. (2020). Antifúngicos poliénicos. Mecanismo de acción y aplicaciones. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 63(2), 7-17

Romeo O, Racco C, Criseo G. Amplification of the hyphal wall protein 1 gene to distinguish *Candida albicans* from *Candida dubliniensis*. *J Clin Microbiol*. 2006;44:2590–2592.

Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L y cols. (2011). *Candida*-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 16:e139-43.

Sanitá PV, Vergani CE, Giampaolo ET, Pavarina AC, Machado AL (2009). Growth of *Candida* species on complete dentures: Effect of microwave disinfection. *Mycoses*. 52:154–160.

Shanbhag VK (2016). Oil pulling for maintaining oral hygiene - A review. *J Tradit Complement Med*. Doi: 10.1016/j.jtcme.2016.05.004.

Shi B, Wu T, McLean J, Edlund A, Young Y, He X, Lv H, Zhou X, Shi W, Li H, Lux R (2016). The Denture-Associated Oral Microbiome in Health and Stomatitis. *mSphere*. 2016 Dec 28;1(6):e00215-16. Doi: 10.1128/mSphere.00215-16.

Suci PA, Tyler BJ (2003). A method for discrimination of subpopulations of *Candida albicans* biofilm cells that exhibit relative levels of phenotypic resistance to chlorhexidine. *J Microbiol Methods*. 2003 Jun;53(3):313-25. Doi: 10.1016/s0167-7012(02)00247-6. PMID: 12689709.

Tay LY, Jorge JH, Herrera DR, Campanha NH, Gomes BP, Andre Dos Santos F (2014). Evaluation of different treatment methods against denture stomatitis: a randomized clinical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 118(1):72-7.

Ucar A, Rojas G, Ballester A. (2007). Acción de agentes químicos en la eliminación de *Cándida albicans* sobre Prótesis Dentales. *Acta Odontológica Venezolana*, 45(2), 172-177.

Williams D, Lewis M (2011). Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *J Oral Microbiol* 3: 5771.

Wong, C. F., Yan, S. W., Wong, W. M. & Ho, R. S. (2018). Exogenous lipid pneumonia associated with oil pulling: Report of two cases. *Monaldi Archives for Chest Disease*, 88(3). <https://doi.org/10.4081/monaldi.2018.922>.

11. Anexos.

Anexo 1. Consentimiento informado FONIS SA19I0025.



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS



Documento en versión 2, corregido el 5 de junio de 2020

Título del proyecto: Triglicéridos de Cadena Media v sus Efectos Antimicrobianos frente a *Candida albicans* oral.

Nombre de la investigadora principal: Dra. Ximena Lee Muñoz

RUT: 10.404.150-7

Institución Patrocinante: Universidad de Chile, Facultad de Odontología, a través del Fondo Nacional de Investigación y Desarrollo en Salud (FONIS), Programa de ANID, Gobierno de Chile.

Teléfonos: Dra. Ximena Lee: 22978954 / Enfermera del equipo Dra. Vilma Mejía: 229786234. Horarios: 08:00 a 17:00 hrs., de lunes a viernes.

Invitación a participar: Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación titulado "Triglicéridos de Cadena Media y sus Efectos Antimicrobianos frente a *Candida albicans* oral". Mediante esta acta de consentimiento le entregaremos toda la información necesaria para que su participación en este estudio sea libre, informada y voluntaria.

Objetivos: Las personas adultas mayores que usan prótesis removibles pueden presentar una infección en el paladar producida por un hongo llamado *Candida*. En algunos casos esta infección produce ardor o molestias. Para eliminar este hongo, se pueden utilizar enjuagues bucales o remedios. En Chile, se utiliza con frecuencia un enjuague bucal llamado clorhexidina y que puede ser eficiente en eliminar la *Candida*. Pero si utiliza este enjuague por mucho tiempo, puede producir ciertos efectos sobre su boca, como por ejemplo, manchas en los dientes. Por tal motivo, en el último tiempo se han estudiado alternativas naturales que ayudan a mejorar, pero sin los efectos negativos descritos. Uno de ellos es el aceite de coco virgen.

Procedimientos: Si desea participar en este estudio, un o una dentista les hará preguntas sobre datos personales, problemas de salud, medicamentos que toma y le examinará su boca para ver si tiene problemas de infección en el paladar. Por sorteo, le corresponderá

12 JUN 2020



4



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

utilizar el enjuague bucal clorhexidina o aceite de coco para tratar el hongo. El tratamiento con cualquiera de los dos productos será por dos semanas en total. Cada vez que le toque asistir a control, es decir, los días 1, 8 y 15 desde el inicio de tratamiento, recibirá el producto que le corresponda. Junto con aquello, deberá entregar una muestra de saliva para medir cuántos hongos tiene en su boca cada vez. Esta entrega se refiere a echar saliva en un frasquito, además de que él o la dentista, le pasará un cotonito por el paladar en donde tiene la infección. Ninguno de los procedimientos genera molestia alguna. La forma de utilizar los productos es el siguiente:

- Si le toca clorhexidina, primero lávese muy bien los dientes, las encías, la lengua y las prótesis. Enjuáguese con una tapita del producto durante 5 minutos y luego bote todo el líquido. Use este enjuague dos veces al día, en la mañana y en la noche.
- Si le toca aceite de coco, primero lávese muy bien los dientes, las encías, la lengua y las prótesis. Enjuáguese con una cucharadita de aceite de coco durante 5 minutos y luego bote todo el líquido. Use este enjuague dos veces al día, en la mañana y en la noche.

Riesgos: Ambos tipos de enjuagues no presentan riesgos para la salud de las personas, pues han sido utilizados para tratamiento por muchos años, pero es muy importante que no se los trague. Si por alguna razón le dan náuseas, no utilice los productos e informe de aquello cuando le toque control.

Costos: Ninguno de los procedimientos mencionados tendrá un costo para usted (examen clínico, entrevista, tomas de muestra y uso de enjuagues). Cabe señalar que no se financiará ningún tipo de tratamiento que no tenga relación con la enfermedad en estudio, el cual debería ser financiado por usted o por su sistema previsional.

Alternativas: Si decide no participar en esta investigación recibirá el estudio y el tratamiento que se aplica habitualmente en su Centro de Salud Familiar (CESFAM). Del mismo modo, si al día 15 se detecta que no le ha desaparecido el enrojecimiento bajo su prótesis, se continuará el tratamiento que su dentista tratante le indique, el cual pertenece al Centro de Salud Familiar (CESFAM) del Departamento de Salud de la Ilustre Municipalidad de Recoleta. Hay que tener claro que dicho tratamiento también puede tener efectos adversos similares a los que se han planteado anteriormente.

Compensación: Como una forma de compensar los gastos que se generen por su asistencia a los controles, se le entregará una tarjeta BIP con una carga de \$5000.- para financiar su transporte en locomoción colectiva.

12 JUN 2020



5



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

Garantía de Seguro: Si de alguna manera usted siente que el tratamiento le haya generado algún tipo de daño, corresponderá una garantía de compensación que será tramitada por la Institución Patrocinante (Facultad de Odontología de la Universidad de Chile).

Confidencialidad: Sus datos personales durante este estudio serán absolutamente confidenciales. En vez de usar su nombre se utilizará un número. Estos datos serán conocidos exclusivamente por el equipo de investigación. Ante cualquier publicación de los resultados de esta investigación, también se mantendrán sus datos de forma anónima.

Usos potenciales de los resultados de la investigación: Los resultados de esta investigación serán comunicados al Ministerio de Salud, para que sean incorporados como tratamiento para personas que tengan su misma enfermedad.

Información adicional: Por el hecho de participar en el estudio, tendrá derecho a que se le informe sobre los resultados de los exámenes que se le realicen y puede hacer preguntas relacionadas con las dudas que le surjan acerca de la investigación antes, durante y después del tratamiento. Del mismo modo, puede previamente consultar con su médico de confianza respecto de su participación en el estudio.

Voluntariedad: Su participación en este estudio es totalmente voluntaria y por este motivo, se puede retirar en cualquier momento. Para ello debe comunicarlo a la investigadora principal o a su profesional tratante. Su retiro no significa de ninguna manera que se cambie el tratamiento habitual que se utiliza para sanar su enfermedad.

Complicaciones: En el improbable caso de que presente complicaciones producto del uso de los enjuagues (clorhexidina o aceite de coco), usted recibirá el tratamiento completo para dicha complicación, financiado en su totalidad por su CESFAM y/o por su sistema previsional. Esto no incluye las complicaciones propias de su enfermedad y de su curso natural.

Derechos de la o el participante: Usted recibirá una copia íntegra de este documento firmado. Si requiere de cualquier otra información sobre su participación o de los resultados de la investigación, usted puede comunicarse con la investigadora responsable, Dra. Ximena Lee, al teléfono 22978954; o con la Decana de la Facultad de Odontología, Dra. Irene Morales, al teléfono: 229781702. Los resultados de la investigación de la cual usted participa, redactada en un lenguaje comprensible, será enviada a la I. Municipalidad de Recoleta, para que sea distribuida a quienes así lo soliciten.

12 JUN 2000



6



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

Otros derechos de la o el participante: Si siente que ha desarrollado algún tipo de problema durante el tratamiento, el equipo de salud informará inmediatamente al Presidente del Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos, Dr. Manuel Oyarzún, al teléfono: 229789536, dirección de correo electrónico (e-mail): comiteceish@med.uchile.cl, cuya oficina se encuentra ubicada a un costado de la Biblioteca Central de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile, en Av. Independencia 1027, Comuna de Independencia.

Conclusión:

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para participar en el proyecto "Triglicéridos de Cadena Media y sus Efectos Antimicrobianos frente a *Candida albicans* oral".

Nombre del participante Firma Fecha
RUT:

Nombre de Director de
Institución o Delegado Firma Fecha
Art. 11 Ley 20120
RUT:

Nombre de la investigadora Firma Fecha
RUT:



Anexo 2. Acta de aprobación de proyecto por Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile.



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

ACTA DE APROBACIÓN DE PROYECTO

(Documento en versión 2 corregida 28.05.2018)

Con fecha 12 de junio de 2020, el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile, integrado por los siguientes miembros:

Dr. Manuel Oyarzún G., Médico Neumólogo, Presidente
Dra. Lucia Cifuentes O., Médico Genetista, Vicepresidente Subrogante
Sra. Claudia Marshall F., Educadora, Representante de la comunidad.
Dra. Grisel Orellana, Médico Neuropsiquiatra
Prof. Julieta González B., Bióloga Celular
Dra. María Angela Delucchi Bicocchi, Médico Pediatra Nefrólogo.
Dr. Miguel O’Ryan, Médico Infectólogo
Dra. María Luz Bascuñán Psicóloga PhD, Prof. Asociado
Sra. Karima Yarmuch G., Abogada
Srta. Javiera Cobo R., Nutricionista, Secretaria Ejecutiva

Ha revisado el Proyecto de Investigación titulado: **TRIGLICÉRIDOS DE CADENA MEDIA Y SUS EFECTOS ANTIMICROBIANOS FRENTE A CANDIDA ALBICANS ORAL**. Cuyo investigador responsable es la Dra. Ximena Lee, quien desempeña funciones en el Departamento De Educación En Ciencias De La Salud, Facultad De Medicina, Universidad De Chile.

El Comité revisó los siguientes documentos del estudio:

- Proyecto Concursable FONIS
- Curriculum vitae del Investigador
- Consentimiento Informado
- Carta Compromiso del investigador para comunicar los resultados del estudio una vez finalizado este

El proyecto y los documentos señalados en el párrafo precedente han sido analizados a la luz de los postulados de la Declaración de Helsinki, de las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos CIOMS 2016, y de las Guías de Buena Práctica Clínica de ICH 1996.

Teléfono: 29789536 - Email: comitecelsh@med.uchile.cl

12 JUN 2020





UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

Sobre la base de esta información el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile se ha pronunciado de la siguiente manera sobre los aspectos del proyecto que a continuación se señalan:

- a) Carácter de la población a estudiar (cautivo/no cautiva; investigación terapéutica/no terapéutica): Pacientes adultos mayores con estomatitis protésica por *Candida albicans* en que se evaluarán dos alternativas terapéuticas.
- b) Utilidad del proyecto: Puede ser un proyecto de interés terapéutico.
- c) Riesgos y beneficios: Bien balanceados.
- d) Protección de los participantes (asegurada por el consentimiento informado): Si.
- e) Notificación oportuna de reacciones adversas: N/A
- f) Compromiso del investigador responsable en la notificación de los resultados del estudio al finalizar el proyecto: Si.

Requiere seguimiento o visita en terreno: Si No tiempo estimado:
N.º de vistas: 1

Por lo tanto, el comité estima que el estudio propuesto está bien justificado y que no significa para los sujetos involucrados riesgos físicos, psíquicos o sociales mayores que mínimos.

Este comité también analizó y aprobó los correspondientes documentos de Consentimiento Informado en su versión modificada recibida el 08 de junio de 2020, que se adjunta firmado, fechado y timbrado por este CEISH.

Sin perjuicio de lo anterior, según lo establecido en el artículo 10 bis del D.S N° 114 de 2011, del Ministerio de Salud que aprueba el reglamento de la ley N° 20.120; es preciso recordar que toda investigación científica en seres humanos deberá contar con la autorización expresa del o de los directores de los establecimientos dentro de los cuales se efectúe, la que deberá ser evacuada dentro del plazo de 20 días hábiles contados desde la evaluación conforme del CEISH, siendo de responsabilidad del investigador enviar a este Comité una copia de la misma dentro del plazo señalado.

Teléfono: 29789536 - Email: comiteceish@med.uchile.cl

12 JUN 2020





UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

En virtud de las consideraciones anteriores el Comité otorga la aprobación ética para la realización del estudio propuesto, dentro de las especificaciones del protocolo.

Se extiende este documento por el periodo de **03 años** a contar desde la fecha de aprobación prorrogable según informe de avance y seguimiento bioético.

Lugar de realización del estudio:

- Departamento de Salud de la Ilustre Municipalidad de Recoleta.



Srta. Javiéra Cobo Riveros
Secretaria Ejecutiva CEISH

Santiago, 12 de junio de 2020

Proyecto: Nº 026-2020
Archivo acta: Nº 032



Anexo 3. Ficha clínica FONIS SA13I20113.

Código:

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

Nombre Revisor:

Fecha:

NOMBRE (s):

APELLIDOS:

GÉNERO EDAD (años) NIVEL EDUCACIONAL ESTADO CIVIL

1- Femenino

2- Masculino

1. Sin escolaridad

2. Primaria

3. Secundaria

4. Superior

1. Soltero(a)

2. Casado(a)

3. Viudo(a)

HOGAR:

I. Enfermedades crónicas no transmisibles. (Marque con una X)

1. Hipertensión		7. Colon irritable	
2. Respiratorias crónicas		8. Arritmias y cardiopatías	
3. Hipercolesterolemia		9. Úlcera péptica	
4. Depresión		10. Artritis/ Artrosis	
5. Sobrepeso/ obesidad		11. Osteoporosis	
6. Diabetes Tipo II		12. Alergia(s): ¿Cuál?(es)	
		Otra(s) (Especifique)	

II. Enfermedades agudas

	Enfermedad aguda (especifique)	Fecha
1		
2		
3		
4		

III. Otras condiciones

	Sí	No
Intolerancia a la lactosa		

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

IV. Fármacos que consume: (especifique)

	Fármaco	Dosis
1		
2		
3		
4		
5		

V. Higiene oral y protésica

Higiene de:	Sí	No	Frecuencia (veces al día) 1 vez; 2 veces	¿Qué utiliza?	Sí	No
1. Dientes				1. Cepillo de dientes		
				2. Hilo/ seda dental		
				3. Cepillo interdentario		
				4. Enjuague bucal		
				5. Otro ¿cuál?		
2. Mucosas				1. Cepillo suave		
				2. Gasas		
3. Lengua				1. Limpiador lingual		
4. Prótesis				1.- Cepillo protésico		
				2.- Cloro		
				3.- Pastillas de limpieza		
				4.- Otro		

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

VI. Patologías orales:

VII. Mucosa Oral

LESIONES

LOCALIZACIÓN

0	Ningún estado anormal	0	Borde bermellón
1	Leucoplasia	1	Comisuras
2	Liquen plano	2	Labios
3	Eritroplasia	3	Fondo de vestibulo
4	Estomatitis protésica	4	Mucosa oral
5	Queilitis angular	5	Piso de la boca
6	Glositis romboidal	6	Lengua
7	Candidiasis pseudomembranosa	7	Paladar duro y/o blando
8	Hiperplasia irritativa	8	Bordes alveolares/ encías
9	Úlcera traumática	9	No registrado
10	Úlcera no asociada a trauma		
11	Gingivitis necrotizante aguda		
12	Absceso (especificar origen)		
13	Otro trastorno (especificar)		
14	No registrado		

Lesión	Localización

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

VIII. Xerostomía

	Si	No
¿Tiene sensación de boca seca?		
¿Siente la saliva espesa?		
¿Tiene sensación de ardor en la lengua?		
¿Tiene dificultades para tragar?		
¿Tiene que tomar agua para tragar alimentos?		

XI. ESTOMATITIS PROTÉSICA: (Clasifique según Newton)

TIPO

1. Tipo I
2. Tipo II
3. Tipo III

UBICACIÓN MAXILAR

1. Paladar duro
2. Paladar
3. Borde alveolar

UBICACIÓN MANDIBULAR

1. Borde alveolar
2. Otra ubicación (especifique): _____

IX. Uso de prótesis

Tipo de prótesis	Si		No		Antigüedad de la prótesis (años)	Frecuencia de uso		
	Maxilar	Mandibular	Maxilar	Mandibular		Día	Noche	Social
1. Removible acrílica								
2. Removible metal acrílica								
3. Implanto retenida								

FICHA CLÍNICA FONIS SA13120113

X. **Periodonto: enfermedad periodontal** (consignar presencia o secuela, observable clínicamente)

1. Gingivitis

Ausente	Localizada	Generalizada
---------	------------	--------------

2. Periodontitis

Ausente	Localizada	Generalizada
---------	------------	--------------

Observaciones:

XI. **Lesiones de caries:** (consignar lesiones de caries)

	Identifique		Actividad de caries
Número de dientes presentes		Inactiva	
Cavitada:		Activa	
No cavitada		Observaciones:	

XII. **Edentulismo:** (Clasifique según Kennedy)

Maxilar	Mandíbula
1. Clase I	4. Clase IV
2. Clase II	5. Desdentado total
3. Clase III	

Notas del examinador:

Anexo 4. Certificado de aprobación por el Comité Institucional de Bioseguridad de la Universidad de Chile.



Comité Institucional de Bioseguridad
Administración Conjunta Campus Norte
FDO Nº 131

Santiago, 11 de Noviembre de 2019.

C E R T I F I C A D O

El Comité Institucional de Bioseguridad (CIB) ha analizado el Proyecto FONIS N°SA19I0025 titulado **"TRIGICÉRIDOS DE CADENA MEDIA Y SUS EFECTOS ANTIMICROBIANOS FRENTE A *Candida albicans* ORAL"**. La Investigadora Responsable de este proyecto es la Dra. Ximena Lee Muñoz, Académica del Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile (FOUCH).

Los ensayos propuestos en este Proyecto se realizarán en el Laboratorio de Bioquímica y Biología Oral perteneciente a la Unidad Académica mencionada anteriormente e involucran el manejo de:

- Muestras de saliva y torulado de mucosa oral humana, las cuales serán transportadas a la FOUCH para el análisis microbiológico.
- Manejo de aislados clínicos de levaduras del género *Candida* (cultivos líquidos y sólidos); las cepas de *C. albicans* en ATCC tienen Nivel de Bioseguridad 1 ó 2.

El CIB certifica que la Facultad de Odontología cuenta con las facilidades para el manejo y desecho del material biológico a utilizar en el proyecto de acuerdo al Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados, Conicyt 2018. Además, el investigador se compromete a velar por el cumplimiento de las normas de bioseguridad junto al Manual de Procedimientos para el Manejo y Desechos de Residuos biológicos de la Facultad, durante el desarrollo del proyecto.

Se extiende el presente certificado a solicitud de la Dra. Carla Lozano, Investigadora Alternativa del mencionado Proyecto, para ser presentado al XVI Concurso FONIS 2019.