

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD CARRERA DE ODONTOLOGÍA

TEMA:

"EFECTO IN VITRO DE HIPOCLORITO DE SODIO Y CLORHEXIDINA SOBRE CÁNDIDA ALBICANS EN RESINA ACRÍLICA DE TERMOCURADO".

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Odontóloga

Autora: Gladys Magdalena Palomino Villacis

Tutor: Dr. Carlos Eduardo Espinoza Chávez

Riobamba- Ecuador

2020

PÁGINA DE REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de sustentación del proyecto de investigación de título: "Efecto in vitro de hipoclorito de sodio y clorhexidina sobre *Cándida albicans* en resina acrílica de termocurado", presentado por la Srta. Gladys Magdalena Palomino Villacis y dirigido por el Dr. Carlos Eduardo Espinoza Chávez, una vez revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación, escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH; para constancia de lo expuesto firman:

A los 19 días del mes de Agosto del año 2020

Dr. Carlos Eduardo Espinoza Chávez

TUTOR

Firma

Dra. Silvia Reinoso

Silvia Reinoso

BIOQUIMICA FARMACEUTICA
MSD: 09-62-185

Miembro del Tribunal Firma

Dra. Tania Murillo

Miembro del Tribunal Firma

CERTIFICADO DEL TUTOR

El suscrito docente tutor de la Carrera de Odontología, de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de Chimborazo, Dr. Carlos Eduardo Espinoza Chávez, CERTIFICA, que la señorita Gladys Magdalena Palomino Villacis con C.I: 060485926-4, se encuentra apta para la presentación del proyecto de investigación: "Efecto *In Vitro* de hipoclorito de sodio y clorhexidina sobre Cándida albicans en resina acrílica de termocurado" y para que conste a los efectos oportunos, expido el presente certificado, a petición de la persona interesada, el ...20 de Agosto......en la ciudad de Riobamba en el año...2020.......

Atentamente,

Dr. Carlos Eduardo Espinoza Chávez

CI. 0602990897

DOCENTE TUTOR DE LA CARRERA DE ODONTOLOGÍA

AUTORÍA

Yo, Gladys Magdalena Palomino Villacis, portadora de la cédula de ciudadanía número 0604859264, por medio del presente documento certifico que el contenido de este proyecto de investigación es de mi autoría, por lo que eximo expresamente a la Universidad Nacional de Chimborazo y a sus representantes jurídicos de posibles acciones legales por el contenido de la misma. Asimismo, autorizo a la Universidad Nacional de Chimborazo para que realice la digitalización y difusión pública de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Gladys Magdalena Palomino Villacis

C.I. 060485926-4

ESTUDIANTE UNACH

AGRADECIMIENTO

Mis agradecimientos a la Universidad Nacional de Chimborazo por permitirme ser parte de tan distinguida institución, a mi tutor al Dr. Carlos Espinoza Chávez por ayudarme con el desarrollo del proyecto de investigación, por su confianza, paciencia y dedicación para llegar con éxito a la culminación de este trabajo, a la Dra. Natalia Gavilánez que también fue un apoyo importante en el desarrollo del proyecto, de la misma manera agradezco a los docentes de la carrera de Odontología por compartir sus conocimientos a lo largo del camino.

Gladys Magdalena Palomino Villacis

DEDICATORIA

El presente proyecto de investigación va dedicado a Dios por haber permitido culminar la carrera y bendecir cada día de mi vida. A mis padres, Juan Palomino y Magdalena Villacis que con amor, ejemplo y sabiduría me dieron su apoyo, motivación y confianza a lo largo del camino al enseñarme que con esfuerzo y perseverancia se alcanza los sueños, a mi papá por ser un pilar fundamental en mi vida que con su sacrificio me ha brindado la oportunidad de estudiar y cumplir mi objetivo, a mi enamorado Luis y a mis hermanos que también han estado presentes en todos los momentos motivándome y de la misma manera a toda mi familia por compartir sus consejos y palabras alentadoras en el trayecto de mi carrera.

Gladys Magdalena Palomino Villacis

ÍNDICE DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
3.	JUSTIFICACIÓN	5
4. (OBJETIVOS	7
4.1	Objetivo general	7
4.2	Objetivos específicos	7
5.]	MARCO TEÓRICO	8
5.1	Cavidad bucal o boca	8
5.1.1	Sistema masticatorio	8
5.2	Prótesis dentales	8
5.2.1	Clasificación de las prótesis dentales	8
5.2.2	Biofilm de las prótesis acrílicas	11
5.2.3	Estomatitis protésica	12
5.3	Limpieza de las prótesis dentales	14
5.3.1	Niveles de desinfección	14
5.3.2	Tipos de desinfectantes de prótesis dentales acrílicas	15
5.4	Técnicas de recuento bacteriano	16
5.4.1	Técnicas turbidimétricas	16
5.4.2	Técnica de recuento de microrganismos viables tras diluciones seriadas	17
5.5	Medios de cultivo	17
5.5.1	Clasificación de los medios de cultivo	17
6.]	METODOLOGÍA	19
6.1	Tipo de investigación	19
6.2	Diseño de la investigación	19
6.3	Población de estudio	19
6.3.1	Mue stra	19

6.4	Criterios de selección	20
6.4.1	Criterios de exclusión.	20
6.4.2	Criterios de inclusión.	20
6.5	Entorno	20
6.6	Recursos	20
6.6.1	Recursos institucionales	20
6.6.2	Recursos humanos	21
6.7	Técnicas e instrumentos	21
6.8	Operacionalización de las variables	21
6.8.1	Variable independiente	21
6.8.2	Variable dependiente	21
6.9	Intervenciones	22
6.9.1	Materiales	22
6.9.2	Procedimientos y técnicas	23
7. A	NÁLISIS DE RESULTADOS	33
8. D	DISCUSIÓN	41
9. C	CONCLUSIONES	43
10.	RECOMENDACIONES	44
11.	BIBLIOGRAFÍA	45
12.	ANEXOS	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura Nro. 1: Prótesis dental total acrílica	9
Figura Nro. 2: Tamaño de molde de cera	23
Figura Nro. 3: Muestras de cera	23
Figura Nro. 4: Moldes de cera sobre yeso tipo II	24
Figura Nro. 5: Moldes de cera cubiertas con yeso tipo III	24
Figura Nro. 6: Colocación de la contramufla y tapa	24
Figura Nro. 7: Espacios limpios en el yeso después de la cera derretida	25
Figura Nro. 8: Obtención de muestras acrílicas	25
Figura Nro. 9: Superficie pulida de la muestra de resina acrílica de termocurado2	26
Figura Nro. 10: Superficie sin pulir de la muestra de resina acrílica de termocurado 2	26
Figura Nro. 11: Turbidez de los medios de cultivo	27
Figura Nro. 12: Crecimiento de las cepas de <i>Cándida albicans</i>	27
Figura Nro. 13: Transferencia del medio de cultivo TSB a los tubos	28
Figura Nro. 14: Tubos con medio de cultivo e inoculación	28
Figura Nro. 15: Matraz con resinas acrílicas de termocurado	29
Figura Nro. 16: Incubación a 37 °C	29
Figura Nro. 17: Inmersión de las resinas acrílicas en el desinfectante	31
Figura Nro. 18: Enjuague de las resinas acrílicas en agua destilada	31
Figura Nro. 19: Colocación de resinas acrílicas sobre gasas	31
Figura Nro. 20: Siembra en medio Agar Sabouraud Dextrosa	32
Figura Nro. 21: Incubación de las cajas Petri a 37 °C	32
Figura Nro. 22: Conteo de número de colonias después de la desinfección	3
Figura Nro. 23: Crecimiento de Cándida albicans en el control positivo	18
Figura Nro. 24: Ausencia de crecimiento de Cándida albicans en el control negativo 4	18
Figura Nro. 25: Crecimiento en clorhexidina al 0.12% por 30s, 1 y 2 minutos	18
Figura Nro. 26: Crecimiento en hipoclorito de sodio al 0.5 % por 30s, 1 y 2 minutos 4	١9
Figura Nro. 27: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 0.5% por 5 minutos4	١9
Figura Nro. 28: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 0.5% por 10 minutos 5	50
Figura Nro. 29: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 0.5% por 30 minutos 5	50
Figura Nro. 30: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 1% por 5 minutos 5	50
Figura Nro. 31: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 1% por 10 minutos 5	51
Figura Nro. 32: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 1% por 30 minutos 5	51

Figura Nro. 33: Crecimiento de Cándida albicans en clorhexidina al 0.12% por 5 min 5	1
Figura Nro. 34: Ausencia de crecimiento en clorhexidina al 0.12% por 10 minutos 5	2
Figura Nro. 35: Ausencia de crecimiento en clorhexidina al 0.12% por 30 minutos 5	2
Figura Nro. 36: Ausencia de crecimiento en clorhexidina al 2% por 5 minutos5	2
Figura Nro. 37: Ausencia de crecimiento en clorhexidina al 2% por 10 minutos5	3
Figura Nro. 38: Ausencia de crecimiento en clorhexidina al 2% por 30 minutos5	3

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico Nro. 1: Determinación de la concentración efectiva de los desinfectantes..........37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla Nro. 1. Efecto In Vitro de hipoclorito de sodio y clorhexidina	21
Tabla Nro. 2. Cándida albicans	21
Tabla Nro. 3. Evaluación desinfectante a los 30"	33
Tabla Nro. 4. Evaluación desinfectante al 1'	34
Tabla Nro. 5. Evaluación desinfectante a los 2'	35
Tabla Nro. 6. Evaluación desinfectante a los 5'	35
Tabla Nro. 7. Evaluación desinfectante a los 10'	36
Tabla Nro. 8. Evaluación desinfectante a los 30'	36
Tabla Nro. 9. Determinación de la capacidad antifúngica del desinfectante	37
Tabla Nro. 10. Prueba de Normalidad	39
Tabla Nro. 11. Kruskall Wallis	39
Tabla Nro. 12. Prueba de muestras independientes	40

RESUMEN

La presente investigación trata de la evaluación del efecto In Vitro del hipoclorito de sodio y clorhexidina sobre las cepas de Cándida albicans en resina acrílica de termocurado. Se realizó un estudio de tipo experimental en donde se trabajó con la totalidad de la población es decir 60 muestras, 1 para el control positivo (inoculadas), 1 para el control negativo (sin inoculación) de cepas de Cándida albicans ATCC 10231, las demás fueron contaminadas en TSB e incubadas por 48 horas luego fueron sometidas a desinfección con hipoclorito de sodio al 0.5% y clorhexidina al 0.12% a tiempos de 30 segundos, 1, 2, 5, 10 y 30 minutos y clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 1% a tiempos de 5, 10 y 30 minutos y posterior incubar las siembras de 24 a 48 horas para la cuantificación de unidades formadoras de colonias. Los resultados indicaron que el hipoclorito de sodio en las dos concentraciones elimina en su totalidad las UFC a partir de los 5 minutos y la clorhexidina al 0.12% a partir de los 10 minutos, a diferencia de la clorhexidina al 2% que eliminó todas las UFC a los 5 minutos, los resultados mostraron que existieron diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes concentraciones y tiempos del proceso de desinfección de las resinas respecto a la UFC (p=0,002). Siendo el hipoclorito de sodio el más efectivo contra Cándida albicans con relación a la clorhexidina la cual necesita mayor concentración y tiempo de inmersión para alcanzar su actividad antifúngica.

Palabras Clave: hipoclorito de sodio, clorhexidina, cepas de Cándida albicans, actividad antifúngica.

ABSTRACT

This investigation deals with the evaluation of the In Vitro effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on the strains of Candida albicans in thermosetting acrylic resin. An experimental study was carried out where the entire population; that is, 60 samples, 1 for the positive control (inoculated), 1 for the negative control (without inoculation) Candida albicans strains ATCC 10231. Others were contaminated in TSB and incubated for 48 hours, then they were disinfected with 0.5% sodium hypochlorite and 0.12% chlorhexidine at times of 30 seconds, 1, 2, 5, 10 and 30 minutes and 2% chlorhexidine and hypochlorite of 1% sodium at times of 5, 10 and 30 minutes and then incubating the seeds for 24 to 48 hours for the quantification of colony forming units. The results indicated that sodium hypochlorite in the two concentrations completely eliminates CFUs after 5 minutes and chlorhexidine 0.12% after 10 minutes, unlike 2% chlorhexidine that eliminated all CFUs at 5 minutes. The results showed that there were statistically significant differences between the different concentrations and times of the resin disinfection process with respect to the CFU (p = 0.002). Being sodium hypochlorite the most effective against Candida albicans in relation to chlorhexidine which needs a higher concentration and immersion time to reach its antifungal activity.

Key words: sodium hypochlorite, chlorhexidine, Candida albicans strains, antifungal activity.

Reviewed and corrected by: Amijos Monar Jacqueline

xiv

1. INTRODUCCIÓN

La presente investigación aborda el tema de efecto *In Vitro* de hipoclorito de sodio y clorhexidina sobre *Cándida albicans* en resina acrílica de termocurado.

La resina acrílica tiene muchos usos además de la utilización en la elaboración de prótesis dentales acrílicas que son necesarias en la rehabilitación de las personas edéntulas totales o parciales que al ser elaboradas con acrílico de termocurado favorece a la población y multiplicación de microorganismos, las personas que hacen uso de este tipo de prótesis removible pueden presentar alteraciones en la mucosa oral, la etiología es multifactorial en la que puede ser de origen infeccioso, mecánico o alérgico. (1) (2)

Los desinfectantes de prótesis como el hipoclorito son fungicidas y se sabe que son efectivos al disolver la mucina y otras sustancias orgánicas brindando limpieza a las mismas. (3) El gluconato de clorhexidina presenta un amplio espectro de acción y una sustantividad significativa, por lo que puede usarse de manera efectiva cuando existen biofilms mixtos de bacterias y hongos. (4)

Existen factores que favorecen a la formación de biofilm como la higiene deficiente del aparato removible, irregularidades o rugosidad en el material, desajustes, película salival, la presión negativa que se da entre la zona de contacto de la prótesis con la mucosa oral. (1)(2) La salud bucodental se considera deficiente en las personas en edad avanzada, debido a que existe una elevada prevalencia de edentulismo, caries y enfermedad periodontal. (1)(2)

La lesión de la mucosa oral por la utilización de aparatos protésicos más frecuente es la estomatitis protésica la cual está dada por microrganismos oportunistas como la *Cándida* por lo que la higiene oral y protésica tiene un papel significativo en la disminución de infecciones. (1)(2)

Cándida albicans tiene varios factores de patogenicidad entre los cuales se encuentran, la expresión de adhesinas e invasinas, la transformación de morfología entre la forma de levadura a células hifales, el tigmotropismo, la formación de biofilms, secreción de enzimas hidrolíticas y el cambio fenotípico. (5) Además, se adaptan de manera rápida a los cambios de pH ambiental y metabólico. (5)

Para considerar esta problemática es necesario conocer algunas de las causas como: el desconocimiento de los desinfectantes o colutorios utilizados en la limpieza de la prótesis,

así como el nivel socioeconómico que puede influir en la falta de higienización debido al elevado costo monetario de productos usados en la limpieza y desinfección de prótesis. (1)(2)

Esta investigación se realiza con el interés de conocer que agente químico es eficaz en la eliminación de *Cándida albicans* en función del tiempo en resinas acrílicas de termocurado, lo cual contribuye a tomar medidas de prevención frente a infecciones locales.

Para obtener los resultados requeridos en esta investigación experimental la técnica a utilizar es la observación desarrollada en el laboratorio clínico de la Universidad Nacional de Chimborazo mediante la realización del estudio *In Vitro*, con el objetivo de evaluar el efecto de hipoclorito de sodio y clorhexidina sobre *Cándida albicans* en resina acrílica de termocurado.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Dra. Catherine Le Galès-Camus, subdirectora general de la OMS menciona que la caries dental afecta entre el 60% y el 90% de la población escolar y a la gran mayoría de los adultos produciendo pérdida de piezas dentales, siendo la enfermedad bucodental más prevalente en varios países asiáticos y latinoamericanos. (6)

Cuando existe la perdida de piezas dentales se recurre a tratamientos protésicos los cuales tienen la finalidad de devolver la funcionalidad y estética, entre estos se encuentra la prótesis total removible acrílica.

Entre la población que utiliza aparatos protésicos removibles existe poco conocimiento del tema, por ello es importante sugerir alternativas que puedan contribuir en la higienización, en las cuales se han encontrado evidencias de *Cándida albicans*. ⁽⁴⁾

Las características que presentan las prótesis dentales acrílicas pueden atribuir a la adhesión de bacterias como Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus y microorganismos fúngicos como Cándida albicans, una limpieza incorrecta conlleva a la aparición de infecciones de tipo micótico, así también la falta de educación a los pacientes por parte del profesional odontólogo, descuido del paciente, el solo uso de cepillo, jabón y agua, por la ineficacia de las sustancias que se utilizan en la desinfección, disminución de la habilidad manual en las personas adultas mayores. (7)(8)

En un estudio ejecutado por Karin Hermana menciona que la estomatitis protésica es la forma más común de infección bucal por *Cándida* que se encuentra en el paladar de los usuarios de prótesis del 11 a 70%. Alrededor del 93% de los individuos con signos clínicos de estomatitis manifiestan infección de tipo micótico, siendo *Cándida albicans* la especie más prevalente, identificada en un 50 a 98%. ⁽⁴⁾

Estudio elaborado por Diego Castillo y cols. en México en el año 2015 menciona que se obtuvieron aislamientos de *Cándida* de pacientes que utilizaban prótesis con diagnóstico de estomatitis protésica, para estudiar la susceptibilidad *In Vitro* a diferentes sustancias, en donde alude que el hipoclorito de sodio al 0,5% inhibe eficazmente *Cándida albicans* y *Cándida no albicans* por un tiempo de 5 minutos. (9)

Estudio realizado por Hugo Álvarez en el año 2017 en Perú indica que existe una mayor asociación de *Cándida albicans* cuando la severidad del grado de estomatitis subprotésica aumenta, el 65.5% de las prótesis totales están asociadas a *Cándida albicans*. (10)

María Pacheco en su estudio menciona que en Ecuador la frecuencia de la necesidad de tratamiento protésico es alta en mujeres con un 75% y en los hombres con un 65%, siendo edéntulos totales el 80% y edéntulos parciales el 20%. (11)

Edwin Mejía en la Universidad Nacional de Chimborazo se realizó un estudio de revisión de la literatura en el año 2018 sobre las lesiones de la mucosa oral asociadas al uso de prótesis odontológicas en pacientes edéntulos totales, en el que menciona que la principal lesión de la mucosa oral es la estomatitis protésica en un 71.43%. (12)

Se realizó un estudio en Brasil en el año 2015 en el que menciona sobre la acción antimicrobiana de hipoclorito de sodio y aceite de ricino para la limpieza de dentaduras postizas estudio *In Vitro*, en donde indica que el hipoclorito de sodio al 0.25% y 0.5% por 20 minutos eliminó completamente todos los microorganismos detectables. Las dos concentraciones fueron efectivas para eliminar todos los microorganismos, y pueden ser útiles como soluciones de limpieza para prótesis completas.(13)

Calderón en el año 2014 en Perú realizo un estudio *In Vitro* entre la clorhexidina al 0,12 % e hipoclorito de sodio al 0,5 % sobre *Cándida albicans* en resina acrílica de termocurado por un tiempo de 5 minutos y concluye que los dos desinfectantes son efectivos en la eliminación de *Cándida albicans* durante ese tiempo.⁽⁸⁾

En la Universidad Central del Ecuador en Quito se realizó un estudio *In Vitro* en el año 2017 sobre el efecto de diferentes colutorios sobre microrganismos presentes en prótesis acrílicas en el que alude que la clorhexidina al 0.12 % es eficaz en la erradicación de *Cándida albicans*. (2)

3. JUSTIFICACIÓN

Se han desarrollado estudios relacionados a la higiene de las prótesis dentales como en Arabia Saudita en el año 2010 en donde se determinó que la prevalencia de la estomatitis inducida por prótesis (EIP) en relación al procedimiento de higiene de la misma, edad, el género y la gravedad de la lesión a una población, en donde la higiene de las prótesis de los pacientes fue, buena en el 21,1 % de la muestra, regular el 43,6 % y pobre el 35,2 %. Además, se demostró que la incidencia de estomatitis inducida por prótesis fue mayor en pacientes de avanzada edad y se encontró una asociación entre la presencia de EIP y los hábitos de limpieza de las prótesis, así como el dormir con las mismas, sin diferencias en el género. (14)

El Centro para el Control de Enfermedades ha recomendado la utilización de hipoclorito de sodio al 0,05% -0,5% como agente eficaz en el protocolo de control de infecciones. El método de esterilización por inmersión de las prótesis deja la superficie relativamente sin cambios y por lo tanto, posiblemente menos susceptible a la formación de placa. (3)

Pellizzaro y col. en el año 2012 realizaron un estudio en el que menciona que el uso del método combinado de cepillado con agentes de limpieza es un método eficaz para reducir la biopelícula de *Cándida albicans*, siendo el 2% de clorhexidina y el 1% de hipoclorito de sodio las soluciones más efectivas.(15)

Calderón en el año 2014 realizó un estudio *In Vitro* entre la clorhexidina al 0,12 % e hipoclorito de sodio al 0,5 % sobre *Cándida albicans* en resina acrílica de termocurado por un tiempo de 5 minutos, siendo la clorhexidina efectiva como el hipoclorito de sodio en la eliminación de *Cándida albicans* durante ese tiempo.⁽⁸⁾

En base a las investigaciones anteriores se considera pertinente e importante realizar este estudio del efecto *In Vitro* de hipoclorito de sodio al 0.5, 1 % y clorhexidina al 0.12 y 2% sobre *Cándida albicans* en resina acrílica de termocurado a distintos tiempos de exposición.

Mediante esta investigación lo que se pretende es que la población que hace uso de este tipo de prótesis se concientice en la importancia que tiene la necesidad de la higienización y desinfección de las mismas, evitando así la aparición de infecciones orales como es la estomatitis protésica asociado a la placa bacteriana que se encuentra adherido al material.

Los principales beneficiarios directos son las personas portadoras de prótesis dentales acrílicas totales a los que se puede sugerir dos soluciones antifúngicas para ser utilizadas en la higiene protésica, así también los estudiantes de Odontología de la Universidad Nacional de Chimborazo ya que pueden hacer uso de esta información para fortalecer sus conocimientos y los beneficiarios indirectos son los familiares, estas soluciones químicas son aplicadas a concentraciones 0.5 % y 1% de hipoclorito de sodio, 0.12% y 2% de la clorhexidina a tiempos de inmersión recomendados por la literatura, de esta manera disminuir la viabilidad de microorganismos causantes de patologías en la cavidad oral.

Este estudio fue factible académicamente porque se contó con el apoyo del Dr. Carlos Espinoza que labora como catedrático en la Universidad Nacional de Chimborazo, el cual está a cargo de la revisión y asesoramiento del presente trabajo, el tiempo de duración de este trabajo investigativo es de aproximadamente de seis meses además fue factible en lo económico, porque la investigadora contó con los recursos económicos para asumir los costos de la investigación.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de hipoclorito de sodio y clorhexidina sobre *Cándida albicans* en resinas acrílicas de termocurado.

4.2 Objetivos específicos

- Evaluar los tiempos de exposición de 30 segundos, 1, 2, 5, 10 y 30 min de resinas acrílicas de termocurado a hipoclorito de sodio y clorhexidina.
- Determinar la capacidad antifúngica del hipoclorito de sodio al 0,5%, 1% y clorhexidina al 0,12%, 2% frente a *Cándida albicans* en resinas acrílicas de termocurado.
- Determinar la concentración efectiva de hipoclorito de sodio y clorhexidina frente a Cándida albicans en resinas acrílicas de termocurado.
- Comparar la eficacia de hipoclorito de sodio y clorhexidina frente a Cándida albicans en resinas acrílicas de termocurado.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Cavidad bucal o boca

La boca es un espacio que está situado en la porción inferior de la cara, abierto hacia adelante mediante el orificio bucal y en comunicación posterior con la faringe a través del istmo de las fauces.⁽¹⁶⁾

5.1.1 Sistema masticatorio

Es la unidad funcional del organismo, sus elementos desempeñan un importante papel en la masticación, el habla y la deglución, en el sentido del gusto y la respiración. Está formado por ligamentos, dientes, músculos, huesos y articulaciones.⁽¹⁷⁾

En los pacientes, la pérdida de dientes constituye un problema psicológico por lo que implica aspectos funcionales, estéticos y fonéticos, esto afecta a una parte de la población en donde presentan ausencias dentales.⁽¹⁸⁾

5.2 Prótesis dentales

Son aparatos o estructuras que se diseñan a medida de cada paciente los cuales restablecen la función del sistema masticatorio en donde se sustituye una o varias piezas dentarias perdidas. (18)

5.2.1 Clasificación de las prótesis dentales

Prótesis fija

Aparato en donde se sustituye una o más piezas ausentes en boca en el que se utiliza dos o más piezas remanentes como pilares con sus retenedores para soportar y mantener al póntico.⁽¹⁹⁾

• Prótesis removible

Es un aparato protésico que sustituye dientes naturales que esta puede ser colocada y retirada por el paciente. Se divide en prótesis parcial removible metálicas, prótesis parcial removible acrílica y prótesis total acrílica.⁽²⁰⁾

5.2.1.1 Prótesis dentales totales acrílicas

Para la rehabilitación oral de las personas edéntulas totales el tratamiento más utilizado es la prótesis removible que es elaborada con resina de acrílico de termocurado el cual es un medio favorable para el desarrollo y multiplicación de microorganismos como la *Cándida albicans* ya que estos poseen la capacidad de adherirse.⁽⁸⁾

El empleo continuo de las prótesis dentales intensifica la inflamación de los tejidos es decir que se use durante el día y la noche, el uso nocturno del aparato presenta desventajas como las siguientes: (21)(22) evita la limpieza por la lengua y la saliva, estimula el crecimiento de la placa bacteriana, no se da la oportunidad de recuperación tisular, impide un periodo prolongado de inmersión de las prótesis en un agente desinfectante. (21)(22)

Figura Nro. 1: Prótesis dental total acrílica



Fuente: www.redalyc.org Autor: Eugenio Brenes⁽²³⁾

• Clasificación de las resinas poliméricas (24)

- > Poliésteres del ácido acrílico
- > Poliésteres sustituidos del ácido acrílico
- Poliésteres vinílicos
- > Poliestireno
- Poliésteres del ácido acrílico modificados con elastómeros
- Policarbonatos
- Polisulfonas
- > Poliésteres del ácido dimetacrílico
- Poliacetales
- > Copolímeros o mezclas de todos los anteriores

Luego de descubrir el ácido acrílico se sintetizó a partir de este el polímero conocido como polimetacrilato (PMMA) que se encuentra en primer lugar dentro de esta clasificación. (24)

• Resina acrílica

Son polímeros a base de polimetacrilato de metilo (PMMA), siendo el mismo un producto de la polimerización de un monómero el metilmetacrilato, el cual es un líquido claro y transparente. (24)

El monómero es el disolvente que permite la mezcla con el polvo para dar lugar a una resina fluida y el polímero es una resina estable y transparente que puede ser pigmentada.

El PMMA se introdujo en el año 1937 desde entonces se ha convertido en un material esencial en la prostodoncia, en la elaboración de prótesis presenta características como facilidad de reparación, fácil disponibilidad, y bajo costo, además su color rosa se asemeja al color natural de la mucosa, ofrece propiedades biológicas, mecánicas pero puede presentar deficiencias en la resistencia del material, estéticas y es de fácil manipulación, bilógicamente es una resina sin olor (inodora), no tiene sabor (insípida), no es tóxica y no irrita los tejidos, al existir irritación en la mucosa se debe a la cantidad de monómero residual y este es proporcional a la polimerización que se obtenga, a mayor polimerización menor residuo monomérico. (24)(25)

Las resinas acrílicas para la elaboración de bases protésicas se clasifican según su forma de polimerización⁽²⁴⁾

Con la evolución de las resinas poliméricas se creó la norma ISO que las regula. Se incorporó un nuevo tipo de resina, la de tipo V: la clasificación actual quedó conformada de la siguiente manera. (24)

- > Tipo I: polímeros termopolimerizables
- > Tipo II: polímeros autopolimerizables
- > Tipo III: polímeros termoplásticos
- > Tipo IV: polímeros fotopolimerizables
- Tipo V: polímeros termopolimerizables con microondas

A continuación, se describe los tipos de resinas acrílicas más utilizadas en la elaboración de prótesis removibles totales

- **Tipo I:** son materiales termopolimerizables su reacción de polimerización se produce por un agente físico, la temperatura, que debe sobrepasar los 65°C. (24)
- **Tipo II:** son materiales autopolimerizables, su reacción de polimerización se produce por un agente químico que no requiere temperaturas superiores a 65°C.(24)

• **Tipo V:** Son materiales termopolimerizables que endurecen por la energía calórica procedente de microondas. Al igual que en los de tipo I, el polímero utilizado es el PMMA y el iniciador (peróxido de benzoílo) es activado por la temperatura.(24)

Composición resina acrílica de termocurado

Polvo

Polimetacrilato de metilo: material base

Copolimeros

Peróxido de benzoílo: iniciador

o Pigmentos o colorantes

Líquido

Metacrilato de metilo: disolvente

Dimetil metacrilato

o Hidroquinona: estabilizador. (24)

5.2.2 Biofilm de las prótesis acrílicas

La cavidad bucal es colonizada por diferentes especies bacterianas en donde crean biopelículas que pueden estar formadas por más de 700 especies al existir un desequilibrio dentro de este ecosistema da lugar a la multiplicación de especies patógenas produciendo enfermedades orales, se puede definir a la microflora oral como un medio que contiene una extensa diversidad de microorganismos que proporciona entornos óptimos para su desarrollo, supervivencia y permanencia en la cavidad oral. (26)

Los microorganismos presentes comienzan el proceso de adhesión para formar posteriormente una población patogénica llamada biofilms, la misma que puede ser dañina tanto para la mucosa oral como para la salud del paciente, produciendo enfermedades a nivel bucal o sistémico. Se puede definir al biofilm presentes en las prótesis dentales como una densa capa microbiana adherida a la superficie inerte que se encuentra constituida por diferentes microorganismos y productos metabólicos. (8)

Las especies que se encuentran aisladas con frecuencia en prótesis acrílicas son de tipo Cándida que se asocia a otro tipo de microorganismos como Staphylococcus aureus, Streptococcus mutans, Streptococcus sanguis, Streptococcus salivarius, Fusobacterium nucleatum, Actinomyces viscosus y Enterococus faecalis. (8)(27)

En donde *Cándida albicans* y *Streptococcus mutans* son habitantes comunes de la microflora oral que se adhieren a las superficies de las prótesis acrílicas y a la mucosa. (3)

11

• Streptococcus mutans

Es una bacteria anaerobia facultativa, coco gram positivo, sin movilidad que se encuentra en la boca y se presenta dispuesto en cadena, es un microrganismo que produce diferentes tipos de ácidos como el láctico al fermentar carbohidratos fructosa, lactosa, glucosa, vive y tiene afinidad de ácido, tiene la capacidad de cambiar un medio neutro a otro acido de un pH 7 a pH 4.2 en alrededor de 24 horas. (26) Estos ácidos afectan el esmalte dental disuelven rápidamente los minerales como el calcio y fosfato, los mismos que circulan fuera del esmalte, dando lugar al proceso desmineralización. (26)

• Cándida albicans

Es un hongo microscópico, de forma oval (levadura) y de forma filamentosa (hifas) de un tamaño de 2 a 4 μm, en tejidos que se encuentran inflamados se han identificado células hifales de diferentes longitudes con las extremidades redondeadas de 3 a 5 μm de diámetro y pseudohifas. (21) (27) Es un patógeno oportunista que ocasiona procesos infecciosos importantes en la cavidad oral, como la candidiasis bucal, que es común encontrar este microrganismo, además en el tracto gastrointestinal y vagina. (21)(27)

> Factores de virulencia

Entre ellos se encuentra la expresión de adhesinas e invasinas en la superficie celular, adhesión a las distintas superficies con dirección de crecimiento (tigmotropismo), la transformación morfológica entre las formas de levadura e hifas, la formación de biofilms, secreción de enzimas hidrolíticas, además se adaptan de manera rápida a los cambios de pH ambiental, flexibilidad metabólica.⁽⁵⁾

Entre las lesiones orales asociadas al uso de las prótesis se encuentran la estomatitis protésica, épulis fisurado, queilitis angular, candidiasis eritematosa, hiperplasia papilar del paladar y ulcera traumática, en donde la lesión más frecuente es la estomatitis protésica que a continuación es detallada. (28)(29)

5.2.3 Estomatitis protésica

Se puede definir como una patología de tipo micótico que afecta a una determinada población de los pacientes que hacen uso de prótesis dentales, se caracteriza como inflamación y eritema de las áreas de la mucosa bucal que se encuentra revestida por la prótesis dental, con frecuencia en el paladar duro y la cresta alveolar⁽¹²⁾, la prevalencia varía

según los estudios realizados, pero se considera que la mitad del 100 % de los que portan prótesis removible pueden padecer esta patología en algún instante. (30) En la mayoría de los casos se ha encontrado *Cándida albicans* que es un patógeno oportunista que afecta comúnmente a personas con un sistema inmunológico comprometido. En la cavidad oral, la candidiasis a menudo se relaciona con el uso de prótesis, lo que lleva al desarrollo de una afección denominada estomatitis inducida por la prótesis. (31)

5.2.3.1 Clasificación de la Estomatitis protésica

- ➤ **Grado I:** Inflamación mínima localizada simple que se manifiesta con puntos rojizos sobre la mucosa bucal. (30)(32)
- ➤ **Grado II:** Inflamación difusa de la mucosa con enrojecimiento en la parte que cubre el aparato protésico. (30)(32)
- ➤ Grado III: Inflamación de la mucosa con aspecto granular o nodular. (30)(32)

5.2.3.2 Factores predisponentes de la estomatitis subprotésica

La etiología es multifactorial, a continuación se menciona algunas causas: (32)

- Higiene oral y protésica deficiente: la presencia de placa favorece a la proliferación de microrganismos a nivel de la superficie de la base protésica como en la mucosa. (32)
- Edad: en los individuos de edad avanzada existe la disminución del flujo de la saliva y por consiguiente de las propiedades que contiene y reducción en la capacidad psicomotriz. (32)
- Usar en las noches las prótesis, es importante retirar al momento de descansar (32)
- Prótesis que se encuentran mal ajustadas (32)
- Enfermedades sistémicas
- Respuesta inmune disminuida por medicamentos, tabaquismo. (32)
- Respuesta irritante de los tejidos debido al monómero residual de la base protésica. (32)
- Infección por *Cándida*. (32)

5.2.3.3 Tratamiento de la estomatitis protésica

En primer lugar se debe eliminar las causas a nivel local, se debe limpiar las superficies de las prótesis dentales con un cepillo dental y jabón después de los alimentos, se debe colocar en inmersión en una solución de hipoclorito de sodio o clorhexidina, por un tiempo de diez minutos y suspender el uso nocturno de los aparatos protésicos. (32)(33)

Hay distintos protocolos en el tratamiento de estomatitis protésica, algunos autores recomiendan además de una limpieza adecuada, evaluar el estado de las prótesis y en caso de persistir la sintomatología asociar a una terapia antimicótica:

- Nistatina: Suspensión oral (100.000 U/ml) enjuagues de 1' y deglutir, cada seis horas. Comprimidos (200.000 U/comp), 3 comp/día disueltos en la boca. (32)
- ➤ Miconazol: Comprimidos 500 mg, 2 comp/día disueltos en la boca. Gel oral al 2% de una a dos aplicaciones al día. (32)
- Clotrimazol: Comprimidos 10 mg, 4 comp/día se debe disolver en la boca. (32)
- Ketoconazol: Comprimidos 200 mg, 1comp/día.
- Fluconazol: Cápsulas 50 mg 1cáp/día y de 150 mg dosis única.
- Amfotericina B: Vía endovenosa 5 mg/kg/día.

5.3 Limpieza de las prótesis dentales

El jabón y el agua son los mejores desinfectantes una vez comentados por Sir William Osler sin embargo, el jabón y el agua en la práctica actual pueden considerarse como el primer paso hacia el procedimiento de desinfección, que posteriormente debe seguir un protocolo de desinfección para hacer que las prótesis recién fabricadas no contengan microorganismos que causen infecciones.⁽³⁾

Desinfección

Es el procedimiento el cual consiste en destruir microorganismos patógenos en superficies inanimados al utilizar agentes químicos o físicos. (34)(35)

• Desinfectante

Se puede definir como un agente químico que se hace uso en el procedimiento de desinfección de objetos, superficies y ambiente, aunque no asegura la eliminación total de patógenos y esporas. (34)

5.3.1 Niveles de desinfección

• Desinfectantes de bajo nivel

Actúan en bacterias vegetativas, algunos hongos y virus envueltos de pequeño tamaño no son capaces de destruir en un periodo corto de tiempo, en este grupo se encuentra el lavado con agua y jabón.⁽³⁵⁾

Desinfectantes de nivel intermedio

Actúan contra bacterias, hongos y en gran parte de los virus pero probablemente no actuará contra las esporas bacterianas, incluso después de un tiempo de exposición prolongado. (35)

• Desinfectantes de alto nivel

Inactivan bacterias, virus y hongos, pero pueden mostrar cierta actividad contra las esporas, se requiere un tiempo de desinfección de 10 a 45 minutos, algunos pueden destruir las esporas bacterianas en un tiempo prolongado, en este grupo se encuentra los aldehídos. (35)

5.3.2 Tipos de desinfectantes de prótesis dentales acrílicas

5.3.2.1 Hipoclorito de sodio

Es un medio químico que se recomienda de forma rutinaria para limpiar las dentaduras postizas el cual disuelve componentes orgánicos, además es eficaz en la eliminación de las manchas, tiene acción fungicida y bactericida. (4) Sin embargo, este agente químico puede corroer los componentes metálicos de las prótesis y degradar los componentes de la resina acrílica, causando cambios de color y un aumento de la rugosidad de la superficie. (4)

• Mecanismo de acción

Su acción contra los microrganismos se da cuando interviene en la acción oxidativa celular con inactivación de enzimas de manera irreversible y degrada lípidos de la membrana plasmática, al entrar en contacto con las proteínas de los tejidos provoca que las cadenas peptídicas se rompan y de esta manera provocando disolución de compuestos orgánicos. (36)

5.3.2.2 Clorhexidina

La clorhexidina también se ha sugerido como un complemento en la higienización de los aparatos protésicos luego del cepillado. Este agente químico se usa ampliamente tanto para la prevención como para el tratamiento de infecciones orales, como antisépticos y desinfectantes para prótesis removibles.⁽⁴⁾

El gluconato de clorhexidina presenta un amplio espectro de acción y una sustantividad significativa, por lo que puede usarse de manera efectiva cuando existen biofilms mixtos de bacterias y hongos.⁽⁴⁾

Propiedades de la clorhexidina

Tiene la capacidad de eliminar microrganismos porque la clorhexidina absorbida es liberada en un tiempo prolongado (Sustantividad), es antimicrobiano de amplio espectro actuando como bactericida y bacteriostático. (37)

Mecanismo de acción

Produce filtración de los componentes intracelulares, al atravesar la pared celular de los microrganismos de esta manera alterando la permeabilidad y dando lugar a trastornos en metabolismo de las bacterias. (38) También ocasiona precipitación de las proteínas citoplasmáticas de las bacterias, inactivando los procesos vitales y de reproducción. (38)

5.3.2.3 Peróxidos alcalinos

Producen una solución alcalina efervescente al contactar con el agua, su acción limpiadora se da a la formación de pequeñas burbujas que ayuda a desalojar la placa dental que está unida a la superficie protésica, no son limpiadores particularmente eficaces ya que la capacidad de eliminación de microorganismos es limitada, son agradables de utilizar y no dañan los materiales utilizados en la elaboración de prótesis dentales. (22)

5.3.2.4 Limpiadores ultrasónicos

Son eficaces como el método de inmersión en limpiadores protésicos para reducir la población de *Cándida albicans*. (22)

5.3.2.5 Exposición a la radiación microonda

Se ha encontrado su eficacia al ser manipulada en conjunto con un limpiador de inmersión suprimiendo los microrganismos que se encuentran en las prótesis dentales. (22)

5.4 Técnicas de recuento bacteriano

Los métodos de recuento bacteriano más utilizados son las medidas de turbidez y el recuento de colonias tras siembra de diluciones sucesivas de la muestra. (39)

5.4.1 Técnicas turbidimétricas

Los cultivos de microrganismos absorben y reflejan la luz que incide sobre ellos entonces una suspensión se observa turbio a simple vista por aquello, para medir la turbidez se puede hacer uso del espectrofotómetro. (39)

McFarland

Se realiza la mezcla de cloruro bárico al 1% y ácido sulfúrico al 1% dando lugar a la formación de sulfato bárico, se relaciona la turbidez de unos patrones de sulfato bárico con el número de bacterias presentes en una muestra, se compara entre los dos para obtener el número aproximado de microrganismos. (39)

5.4.2 Técnica de recuento de microrganismos viables tras diluciones seriadas

Permite visualizar el número de microorganismos viables en una determinada muestra ya que las naturales tienen mayor número de colonias por lo cual es necesario realizar diluciones seriadas para sembrar posteriormente en un medio de cultivo en placas para su conteo. (39)

La inoculación de la placa con la muestra que contiene los microorganismos se puede realizar por dos métodos: método de vertido en placa y método de extensión sobre placa. (39)

5.4.2.1 Método de extensión sobre placa

La inoculación de los microorganismos se realiza directo sobre el medio de cultivo ya solidificado en la placa, tiene la ventaja adicional de permitir tomar las colonias para su resiembra en otro medio o para su identificación posterior. (39)

5.4.2.2 Método de vertido o siembra en profundidad

Consiste en mezclar una cantidad conocida de una dilución de la muestra con el medio de agar preparado y templado a 45-50°C y a continuación verterlo en una placa de estéril, tras mezclarlo y distribuirlo de manera uniforme se deja que solidifique y se incuba. (39)

5.5 Medios de cultivo

Es un medio equilibrado de todos los nutrientes y factores de crecimiento, que los microorganismos necesitan para multiplicarse y desarrollarse. (40)

5.5.1 Clasificación de los medios de cultivo

5.5.1.1 Por su estado físico

 Líquidos: se denominan comúnmente "caldos" los cuales se utilizan en el mantenimiento de los microorganismos por ejemplo el caldo nutritivo que están constituidos por nutrientes en solución acuosa. (40)

- **Sólidos:** llamados generalmente "agar" son utilizados en el aislamiento de distintos microorganismos, se obtienen agregando a un medio líquido una sustancia gelificante como el agar al 1,5-2%. (40)
- **Semisólidos**: son cultivos líquidos con el agregado de agar al 0,3 o 0,5%, que pueden ser utilizados en la determinación de la motilidad de los gérmenes. (40)

5.5.1.2 Por su origen

- Medios naturales: se obtienen a partir de sustancia vegetal o animal por ejemplo el suero, leche. (40)
- Medios sintéticos o artificiales: son aquellos cuyos componentes están químicamente definidos. (40)
- Medios semisintéticos o complejos: se adquieren al agregar factores de crecimiento a los medios sintéticos, como el extracto de levadura. (40)

5.5.1.3 Por su utilidad

- Medios generales o comunes: contienen nutrientes mínimos para el desarrollo de varios microorganismos metabólicamente no exigentes.⁽⁴⁰⁾
- Medios enriquecidos: favorecen el desarrollo de microorganismos exigentes debido a sus requerimientos nutritivos e inhiben parcialmente al resto de gérmenes. (40)
- **Medios selectivos:** permiten el crecimiento de determinado tipo de microorganismos, mientras que inhiben el desarrollo de otros gérmenes en la muestra. (40)
- Medios diferenciales: permiten la diferenciación de colonias de microorganismos con semejanza en base de alguna propiedad bioquímica. (40)
- **Medio de transporte**: asegura la viabilidad de las bacterias desde el instante que se toma la muestra hasta su estudio en el laboratorio como el caldo tioglicolato. (40)

A continuación, se describe algunos medios de cultivo

- Agar mínimo: medio de cultivo compuesto de sales y glucosa o lactosa como fuente de carbono, se emplea para el crecimiento de bacterias prototrofas o para el aislamiento de auxotrofos. (39)
- Agar sangre: medio rico en nutrientes preparado con un medio base como tripticasasoja (TSA) suplementado con sangre desfibrinada de animal, por lo que permite el crecimiento de diversas bacterias. (39)

- Agar Sabouraud Dextrosa con cloranfenicol: es un medio selectivo empleado para aislar diferencialmente los hongos en muestras heterogéneas, la fuente de nitrógeno es la peptona la cual es importante en el desarrollo fúngico junto con la glucosa. (41) (42)
- Caldo soya tripticasa: es un medio líquido adecuado para el crecimiento de microorganismos exigentes. Los nutrientes ricos en péptidos e hidratos de carbono están dado por la tripteína y la peptona de soya que incitan el desarrollo microbiano, el cual se observa la presencia de turbidez como en los siguientes microrganismos Cándida albicans ATCC 10231, Escherichia coli, Sthaphylococcus aureus. (43)

6. METODOLOGÍA

1.1 Tipo de investigación

El presente estudio es de tipo observacional descriptivo de corte trasversal.

1.2 Diseño de la investigación

Experimental debido a que en la investigación no solo se identificaron las características del objeto de estudio, sino que también se pudieron controlar y manipular.

1.3 Población de estudio

Al tratarse de un estudio *In vitro* la población la constituyen 60 resinas acrílicas de termocurado (Veracril), divididas en grupos según el desinfectante y el tiempo de exposición.

1.3.1 Muestra

El tipo de muestreo es no probabilístico intencional, el cual constó de 60 muestras de resina acrílica de termocurado, se utilizó patrones de cera del tamaño de 15mm x 15mm de ancho x 2mm de grosor, esta dimensión se aplicó a cada una de las muestras las cuales fueron ajustadas mediante una regla y un compás, las muestras de resina acrílica (Veracril polímero y monómero) se elaboraron siguiendo la secuencia de la técnica para la confección de las bases protésicas de termocurado en el laboratorio, se utilizó la técnica Biblock para el llenado de la contramufla que consiste en colocar dos capas de distintos yesos (yeso tipo II y yeso tipo III), para la obtención final de los acrílicos se realizó el pulido por dos etapas; el acabado grueso, se recortó los excesos con fresones cónicos de carburo de tungsteno para dar paso al acabado fino, en donde se empleó lija de grano fino (numero 400 y 600) seguido las gomas de baja abrasividad con forma de

conos, luego se pasa conos de fieltros con pasta de piedra de pómez, posteriormente se pulió con badanas y pasta de alto brillo que son discos de tela de algodón que le da el acabado final, para de esta manera alcanzar una similitud a la base protésica, una superficie fue pulida simulando la parte externa de la prótesis y la otra superficie fue rugosa simulando la superficie interna correspondiendo a la zona del paladar. Las muestras de resinas se dividieron en grupos según el agente desinfectante y tiempo de exposición, las cuales se distribuyó de esta manera, 1 para el control positivo, 1 para el control negativo, 6 para el hipoclorito de sodio al 0.5% por 30 segundos, 1 y 2 minutos, 4 para hipoclorito de sodio 0.5% por 5 minutos, 4 para hipoclorito de sodio 0.5% por 30 minutos, 4 para hipoclorito de sodio 1 % por 5 minutos, 4 para hipoclorito de sodio 1 % por 30 minutos, 4 para hipoclorito de sodio 1 % por 30 minutos, 4 para clorhexidina al 0.12 % por 30 minutos, 4 para clorhexidina al 0.12 % por 10 minutos, 4 para clorhexidina al 0.12 % por 5 minutos, 4 para clorhexidina al 0.12 % por 5 minutos, 4 para clorhexidina al 0.12 % por 5 minutos, 4 para clorhexidina al 0.12 % por 5 minutos, 4 para clorhexidina al 2 % por 5 minutos, 4 para clorhexidina 2 % por 5 minutos.

1.4 Criterios de selección

1.4.1 Criterios de exclusión.

 Resinas acrílicas de termocurado que no cumplan con las características físicas de la base protésica.

1.4.2 Criterios de inclusión.

 Resinas acrílicas de termocurado que cumplan con las características físicas de la base protésica.

1.5 Entorno

Laboratorio clínico de la UNACH

1.6 Recursos

1.6.1 Recursos institucionales

El estudio microbiológico se realizó en el laboratorio de Biología y Microbiología del Campus Edison Riera de la Universidad Nacional de Chimborazo.

1.6.2 Recursos humanos

Técnico Docente: Ing. Félix Falconi

Docente tutor: Dr. Carlos Espinoza

1.7 Técnicas e instrumentos

La técnica que se utilizó en el presente estudio es la observación y como instrumento la bitácora de laboratorio.

1.8 Operacionalización de las variables

1.8.1 Variable independiente

Tabla Nro. 1. Efecto In Vitro de hipoclorito de sodio y clorhexidina

Conceptualización	Dimensión	Indicador	Técnica	Instrumento
o caracterización				
Soluciones	Actividad	Cuantificación	Observación	Bitácora de
químicas que	antifúngica	del número de		laboratorio
tienen actividad		colonias		
antifúngica y				
antimicrobiana a				
concentraciones				
distintas.				

Fuente: Gladys Palomino

Autor: Gladys Palomino

1.8.2 Variable dependiente

Tabla Nro. 2. Cándida albicans

Conceptualización	Dimensión	Indicador	Técnica	Instrumento
o caracterización				
		Escala	Observación	Bitácora de
Es un hongo de	Hongo	McFarland		laboratorio
característica oval y				
en infecciones				
puede ser de forma				

filamentosa,	causa		
la candidiasis	oral.		

Fuente: Gladys Palomino **Autor:** Gladys Palomino

1.9 Intervenciones

1.9.1 Materiales

- Tubos de ensayo
- Matraz (Erlenmeyer)
- Cepa de Cándida Albicans (ATCC 10231)
- Cera base
- Hisopos estériles
- Cajas Petri desechables
- Algodón
- Gasas estériles
- Marcador de vidrio
- Guantes
- Gorro
- Cinta masking
- Toallas de limpieza
- Pinzas
- Bandejas metálicas
- Sustancias
- Agua destilada
- Hipoclorito de sodio
- Clorhexidina
- Alcohol
- Agar Sabouraud Dextrosa
- Caldo Soya Tripticasa
- Equipos
- Incubadora

- Autoclave
- Balanza

1.9.2 Procedimientos y técnicas

Fabricación de muestras

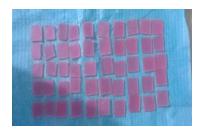
Se realizó 60 moldes de cera con las dimensiones (15mm x 15mm x 2 mm de grosor) estas medidas fueron ajustadas a cada uno de los moldes con una regla y un compás para posteriormente obtener las muestras de resina acrílica de termocurado.

Figura Nro. 2: Tamaño de molde de cera



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

Figura Nro. 3: muestras de cera



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

Posteriormente se colocó aislante en la mufla y a continuación se vierte el yeso tipo II en estado fluido, se utilizó este tipo de material porque se simuló la secuencia y procedimiento de la confección de la base protésica, es decir se colocó una cantidad suficiente de yeso tipo II que es necesario para contener el modelo y poder nivelar el exceso de yeso a nivel del borde de la mufla y del borde funcional del modelo de trabajo, esto facilita la extracción o separación con suaves golpes el yeso tipo II del yeso tipo III del modelo con menor riesgo de fractura, en este caso se colocó 11 muestras de cera base en la mufla hasta nivel del borde de la cera y mufla sin cubrir de yeso los patrones de cera, posteriormente se espera que el

yeso se fragüe un tiempo aproximado de 45 minutos, la mezcla fue realizada con una relación de agua y polvo de 45 ml/100 g de yeso tipo II.

Figura Nro. 4: Moldes de cera sobre yeso tipo II



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

Luego se colocó con un pincel el aislante (Separating Fluid marca Ivoclar) sobre el yeso tipo II y sobre los moldes de cera con la finalidad de aislar, posteriormente se colocó una porción de yeso tipo III sobre los moldes y yeso tipo II simulando la técnica Biblock empleada en el laboratorio para elaboración de prótesis dentales además las piezas dentarias se retienen en el yeso tipo III (primera capa) que evita movimientos, durante el prensado y polimerización de la futura base protésica, dado el menor volumen de este material facilita la separación del yeso con menor riesgo de fractura de las piezas dentarias y se consigue mayor resistencia y menor expansión en el fraguado del yeso tipo II (segunda capa), luego de instalar la contramufla para colocar otra porción de yeso tipo II, se espera el fraguado para posteriormente llevar a una olla de presión (debe ser de acero inoxidable, con válvulas de seguridad y un manómetro para observar la presión, en la actualidad están incluidos un reloj e indicador de temperatura) y calentar a una temperatura de 100°C por un tiempo de 5 minutos para que la cera se derrita y quede el espacio para colocar el acrílico.

Figura Nro. 5: Moldes de cera cubiertas con yeso tipo III



Figura Nro. 6: Colocación de la contramufla y tapa



Posteriormente se separa las partes para retirar la cera derretida y lavar con jabón y agua caliente dejando los espacios en el yeso limpios y secar para colocar aislante de acrílico en las dos partes, después se colocó acrílico (Veracril polímero y monomero) en estado plástico, se mezcló con la proporciones dadas por el fabricante 3 de polvo por 1 de líquido y colocó un volumen suficiente en los espacios que dejó la cera, se aplicó un papel de polietileno en la resina para aislar del modelo y luego se llevó a prensar en una prensa manual que está constituida por un cuerpo rígido que abraza la mufla armada y un tornillo que al girar se presiona la contramufla contra la mufla y así retirar o recortar los excedentes de acrílico, existen prensas hidráulicas que se puede dar lectura de la presión del prensado que oscila entre 500kg y 1000kg. La polimerización se obtuvo mediante una olla a presion por la ventaja de minimizar los riesgos de burbujas, poros y deformación de la prótesis, a 100°C por un tiempo de 1 hora, enfriarla lentamente hasta volver a la temperatura ambiente.

Figura Nro. 7: Espacios limpios en el yeso después de la cera derretida



Figura Nro. 8: Obtención de muestras acrílicas



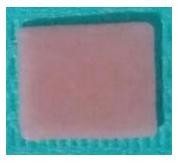
Posteriormente los cuadrados de resina acrílica de termocurado se eliminaron los excesos siguiendo el mismo procedimiento de pulido de una prótesis dental acrílica. Solo una superficie fue pulida (parte externa de la prótesis) y dejando la otra rugosa (parte interna de la prótesis), se realizó por dos etapas; el acabado grueso, se recortó los excesos con fresones cónicos de carburo de tugsteno para dar paso al acabado fino, en donde se empleó lija de grano fino (numero 400 y 600) seguido las gomas de baja abrasividad con forma de conos, luego se pasa conos de fieltros con pasta de piedra de pómez, posteriormente se pulió con badanas y pasta de alto brillo que son discos de tela de algodón que le da el acabado final, para de esta manera alcanzar una similitud a las superficies de base protésica..

Figura Nro. 9: Superficie pulida de la muestra de resina acrílica de termocurado



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

Figura Nro. 10: Superficie sin pulir de la muestra de resina acrílica de termocurado



Finalmente las muestras se esterilizaron en autoclave a 121 °C por 25 minutos

Reactivación de Cándida albicans cepas ATCC 10231

La reactivación se realizó en el laboratorio clínico de la UNACH en donde se preparó medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa con cloranfenicol en agua destilada, una vez realizada la mezcla se procedió a llevar a ebullición por tres ocasiones hasta eliminar probables grumos que se puedan presentar y para generar una mezcla homogénea, posteriormente fue llevado a esterilización húmeda y se colocó en tres cajas Petri para sembrar un inóculo de las cepas patrones y se dejó en incubación por 48 horas a 37 °C en donde se identificó un número de colonias no significativo para continuar con el protocolo, por lo que, posteriormente se preparó caldo cerebro corazón para colocar en 4 tubos y caldo tripticasa soya en 4 tubos cada uno con 10 ml de medio de cultivo obteniendo un total de 8 tubos, los cuales 7 fueron inoculados con 100 uL de colonias de *Cándida albicans* y uno no se inoculó dejándolo como control y dejar en incubación por 24 horas a 37 °C para posterior observar la turbidez.

Posteriormente al verificar la turbidez lo cual indica el crecimiento de microorganismos se procedió a sembrar en 3 cajas Petri con un inóculo del medio de cultivo en Agar Sabouraud Dextrosa para observar el crecimiento a las 48 horas, en donde de acuerdo a la morfología de las colonias y a la coloración de las mismas se pudo denotar que el crecimiento fue de *Cándida albicans*.

Figura Nro. 11: Turbidez de los medios de cultivo

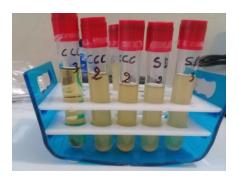
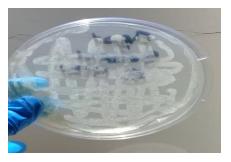


Figura Nro. 12: Crecimiento de las cepas de Cándida albicans



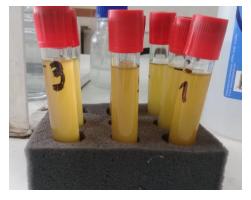
Después se realizó la preparación de 8 tubos con caldo tripticasa soya (TSB) de medio de cultivo más el inóculo anteriormente obtenido, los mismos que fueron transferidos con una pipeta automática y se dejó en incubación a 24 horas a 37°C, luego se observó la turbidez de los de los medios de cultivo en los tubos y se comparó con la escala Mc Farland al 0.5 previamente realizada, para posteriormente inocular los cuadrados de resina acrílica de termocurado con aquella turbidez.

Figura Nro. 13: Transferencia del medio de cultivo TSB a los tubos



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

Figura Nro. 14: Tubos con medio de cultivo e inoculación



Contaminación de las muestras de resina acrílica de termocurado

Después de la reactivación se realizó la inoculación de las cepas de *Cándida albicans* a 0,5 en un recipiente que contenía las resinas acrílicas, para ello se procedió a preparar 200 mL de caldo tripticasa soya (TSB), una vez realizada la mezcla entre el medio de cultivo y agua destilada se procedió a llevar a ebullición por tres ocasiones hasta eliminar probables grumos que se puedan presentar y para generar una mezcla homogénea, luego se le coloca en el autoclave por 15 minutos a 121 °C, se realizó el mismo procedimiento para todos los recipientes en donde se colocó las resinas tanto para la adición de colonias, como para el control positivo y control negativo; para el control positivo se realizó la inoculación de cepas de *Cándida albicans* en 200 ml del medio de cultivo con un cuadrado de resina, para el control negativo se colocó un cuadrado de resina en el medio cultivo TSB sin la inoculación de las cepas, en los recipientes sobrantes se colocó de 8 a 10 resinas acrílicas en cada matraz y se inoculó 2 mL de cultivo de *Cándida albicans* a la escala Mc Farland de 0.5, para posterior colocar en incubación a 37 °C por 48 horas.

Figura Nro. 15: Matraz con resinas acrílicas de termocurado



Figura Nro. 16: Incubación a 37 °C



Desinfección de los cuadrados de resina acrílica de termocurado

Se procedió a vaciar el contenido de medio de cultivo de los envases dejando las muestras de resina acrílica para posteriormente lavar en agua destilada cada muestra y colocar por grupos en los respectivos desinfectantes y tiempos de exposición, el hipoclorito de sodio en las concentraciones de 0.5% en los tiempos de 30 segundos, 1,2, 5, 10 y 30 minutos, hipoclorito de sodio al 1 % en los tiempos de 5, 10 y 30 minutos, clorhexidina al 0.12% en los tiempos de 30 segundos, 1,2, 5, 10 y 30 minutos y la clorhexidina al 2 % en los tiempos de 5, 10 y 30 minutos. La cantidad de desinfectante que fue colocado en cada vaso es de 40 ml.

Para obtener el hipoclorito de sodio a las concentraciones de 0.5% y 1 % se realizó diluciones mediante la siguiente formula:

$$V1 = (V2 *C2) / C1$$

V1 = (120 ml * 0.5%)/5.25%

V1 = 11.4 = 11 ml

Esto quiere decir que 11 ml es de hipoclorito de sodio al 5.25 %, para saber la porción de agua se resta este valor del total es decir de 120ml hay que restar 11 ml y se obtuvo un resultado de 109 ml que corresponde al agua destilada y así obtener una concentración al 0.5%.

$$V1 = (V2 *C2) / C1$$

V1 = (120 ml * 1%) / 5.25%

V1 = 22.8 = 23 ml

Esto quiere decir que 23 ml es de hipoclorito de sodio al 5.25%, y agua destilada 97 ml para obtener una concentración al 1 %.

Figura Nro. 17: Inmersión de las resinas acrílicas en el desinfectante



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

Una vez concluido el tiempo de desinfección se retiró con una pinza estéril del desinfectante para enjuagar en agua destilada con el fin de eliminar residuos del agente desinfectante, luego se procede a colocar con la superficie rugosa hacia arriba sobre una bandeja con gasas estériles para realizar el hisopado de cada una de las resinas acrílicas.

Figura Nro. 18: Enjuague de las resinas acrílicas en agua destilada

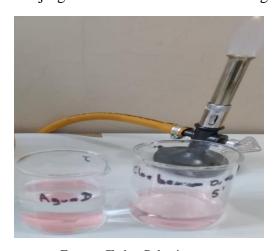


Figura Nro. 19: Colocación de resinas acrílicas sobre gasas



Hisopado de los cuadrados de resina acrílica de termocurado

Se realizó con hisopos estériles en las superficies rugosas para posteriormente sembrar en medio Agar Sabouraud Dextrosa colocado en cajas Petri previamente rotuladas con nombre, concentración y tiempo del desinfectante y a continuación colocar en incubación por 24 y 48 horas a 37 °C para su posterior lectura o conteo de UFC.

Figura Nro. 20: Siembra en medio Agar Sabouraud Dextrosa

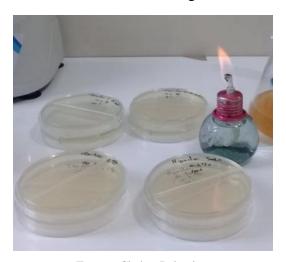
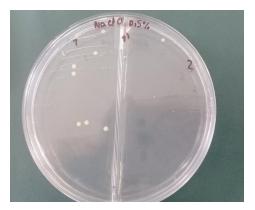


Figura Nro. 21: Incubación de las cajas Petri a 37 °C



Figura Nro. 22: Conteo de número de colonias después de la desinfección



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla Nro. 3. Evaluación desinfectante a los 30"

Agente desinfectante

UFC 30"	Hipoclorito de sodio 0.5%	Clorhexidina 0.12%
1 UFC	+	-
38 UFC	+	-
76 UFC	-	+
210 UFC	-	+

Elaborado por: Gladys Palomino Fuente: Pruebas de análisis de laboratorio

(+): Número de muestras evaluadas

Análisis: Al evaluar el agente desinfectante sobre el material contaminado en un tiempo de 30 segundos se pudo evidenciar la proliferación de microorganismos en la cantidad de 1

unidad formadora de colonia (UFC) en la muestra de hipoclorito de sodio y de la misma forma con 38 UFC, en el caso de la clorhexidina al 0,12% se pudo notar en este tiempo el crecimiento con 76 UFC y 210 UFC en estas muestras; se observó que la cantidad de UFC fue mayor en la clorhexidina que en el hipoclorito de sodio.

Tabla Nro. 4. Evaluación desinfectante al 1'

Agente desinfectante Hipoclorito de sodio 0.5% Clorhexidina 0.12%

1 UFC + 7 UFC + 120 UFC - +

UFC 1'

Elaborado por: Gladys Palomino Fuente: Pruebas de análisis de laboratorio

Análisis: Al evaluar el agente desinfectante sobre el material contaminado en un tiempo de 1' se pudo evidenciar la proliferación de microorganismos en la cantidad de 1 unidad formadora de colonia (UFC) en la muestra de hipoclorito de sodio al 0.5 % y de la misma forma con 7 UFC, en el caso de la clorhexidina al 0,12% se pudo notar en este tiempo el crecimiento con 120 UFC en estas muestras; se observó que la cantidad de UFC fue mayor en la clorhexidina que en el hipoclorito de sodio.

Tabla Nro. 5. Evaluación desinfectante a los 2'

Agente desinfectante

UFC 2'	Hipoclorito de sodio 0.5%	Clorhexidina 0.12%
0 UFC	+	-
1 UFC	+	-
80 UFC	-	+

Elaborado por: Gladys Palomino Fuente: Pruebas de análisis de laboratorio

Análisis: Al evaluar el agente desinfectante sobre el material contaminado en un tiempo de 2' no se evidenció proliferación de microorganismos en una muestra de hipoclorito de sodio al 0.5 % y en otra muestra 1 UFC, en el caso de la clorhexidina al 0,12% se pudo observar en este tiempo el crecimiento con 80 UFC en esta muestra; se observó que la cantidad de UFC fue mayor en la clorhexidina que en el hipoclorito de sodio.

Tabla Nro. 6. Evaluación desinfectante a los 5'

Agente desinfectante

UFC 5'	Hipoclorito de sodio 0.5%	Hipoclorito de sodio 1 %	Clorhexidina 0.12%	Clorhexidina 2%
0	++++	++++	-	++++
3	-	-	+	-
8	-	-	+	-
17	-	-	+	-
48	-	-	+	-

Elaborado por: Gladys Palomino Fuente: Pruebas de análisis de laboratorio

Análisis: Al evaluar el agente desinfectante sobre el material contaminado en un tiempo de 5' no se evidenció la proliferación de microorganismos en las muestras de hipoclorito de sodio al 0.5 % y 1% y de la misma forma en clorhexidina al 2 %, en el caso de la clorhexidina al 0,12% se pudo notar en este tiempo el crecimiento de 3, 8,17 y 48 UFC en estas muestras; se observó que la cantidad de UFC fue mayor en la clorhexidina al 0.12% a diferencia de los demás desinfectantes.

Tabla Nro. 7. Evaluación desinfectante a los 10'

Agente desinfectante

-	Hipoclorito de sodio	Hipoclorito de sodio	Clorhexidina	Clorhexidina
UFC 10'	0.5%	1 %	0.12%	2%
0	++++	++++	++++	++++

Elaborado por: Gladys Palomino

Fuente: Pruebas de análisis de laboratorio

Análisis: Al evaluar el agente desinfectante sobre el material contaminado en un tiempo de 10' no se observó UFC en ninguna de las muestras de clorhexidina y de hipoclorito de sodio; se evidenció que todos los desinfectantes a este tiempo eliminaron todos los microrganismos de tipo *Cándida albicans*.

Tabla Nro. 8. Evaluación desinfectante a los 30'

Agente desinfectante

UFC 30'	Hipoclorito de sodio 0.5%	Hipoclorito de sodio 1 %	Clorhexidina 0.12%	Clorhexidina 2%
0	++++	++++	++++	++++

Elaborado por: Gladys Palomino

Fuente: Pruebas de análisis de laboratorio

Análisis: Al evaluar el agente desinfectante sobre el material contaminado en un tiempo de 30' no se observó formación de unidades formadoras de colonias (UFC) en la muestra de hipoclorito de sodio al 0.5 % y 1 %, de la misma forma en la clorhexidina al 0.12% y 2%; se evidenció que todos los desinfectantes a este tiempo eliminaron todos los microorganismos de tipo *Cándida albicans*.

Tabla Nro. 9. Determinación de la capacidad antifúngica del desinfectante

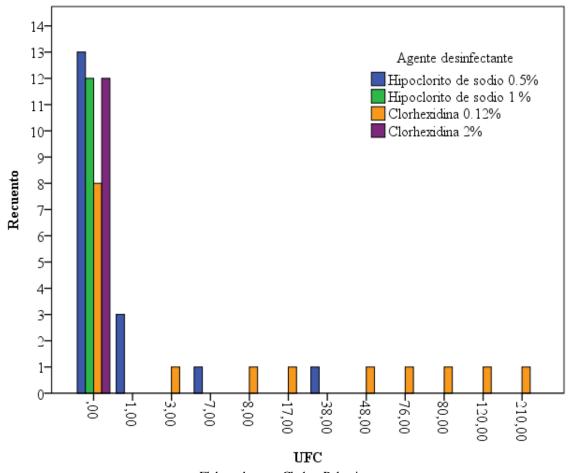
Agente desinfectante

	Hipoclorito de	Hipoclorito de	Clorhexidina	Clorhexidina	
UFC	sodio 0.5%	sodio 1 %	0.12%	2%	Total
0	13	12	8	12	45
1	3	0	0	0	3
3	0	0	1	0	1
7	1	0	0	0	1
8	0	0	1	0	1
17	0	0	1	0	1
38	1	0	0	0	1
48	0	0	1	0	1
76	0	0	1	0	1
80	0	0	1	0	1
120	0	0	1	0	1
210	0	0	1	0	1
Total	18	12	16	12	58

Elaborado por: Gladys Palomino Fuente: Pruebas de análisis de laboratorio

Análisis: Al determinar la capacidad antifúngica del agente desinfectante sobre el material contaminado no se evidenció crecimiento de *Cándida albicans* en 13 muestras de hipoclorito de sodio al 0.5%, en 12 muestras de hipoclorito de sodio al 1%, en 8 muestras de clorhexidina al 0.12%, en 12 muestras de clorhexidina al 2%, se apreció 1 UFC en 3 muestras de hipoclorito de sodio al 0.5%, 3 UFC en una muestra de clorhexidina al 0.12%, 7 UFC en una muestra de hipoclorito de sodio al 0.5%, 8 UFC en una muestra de clorhexidina al 0.12%, 17 UFC en una muestra de clorhexidina al 0.12%, 38 UFC en una muestra de hipoclorito de sodio al 0.5%, 48 UFC en una muestra de clorhexidina al 0.12%, 76 UFC en una muestra de clorhexidina al 0.12%, 80 UFC en una muestra de clorhexidina al 0.12%, 120 UFC en una muestra de clorhexidina al 0.12%; se observó que existe mayor número de muestras con crecimiento de *Cándida albicans* en el grupo de la clorhexidina al 0.12% con 8 muestras, seguido el hipoclorito de sodio al 0.5% con crecimiento en 5 muestras a diferencia de las demás concentraciones que no se evidenció unidades formadoras de colonias.

Gráfico Nro. 1: Determinación de la concentración efectiva de los desinfectantes



Elaborado por: Gladys Palomino Fuente: Pruebas de análisis de laboratorio

Análisis: Al evaluar la concentración de los agentes desinfectantes del material contaminado se observó que el hipoclorito de sodio eliminó todos los microorganismos (UFC) a las concentraciones de 0.5% y 1%, de la misma manera la clorhexidina al 2%, a contrario la clorhexidina al 0.12% necesita un tiempo mayor para alcanzar su actividad antifúngica; se evidenció que el hipoclorito de sodio a las diferentes concentraciones elimina en gran parte las unidades formadoras de colonias.

Análisis de significancia estadística

Para determinar la significancia estadística de la eliminación de microorganismos de *Cándida albicans* se realiza en función de las unidades formadoras de colonias presentados en el estudio, se realizará en primera instancia la prueba de normalidad de la variable cuantitativa (UFC), de esta forma se establecerá la asociación entre las diferentes concentraciones y tiempos.

Tabla Nro. 10. Prueba de Normalidad

	Kolmogorov-Smirnova		
	Estadístico	gl	Sig.
UFC	0,436	58	0,00

a Corrección de significación de Lilliefors

El valor de significancia de la prueba fue menor a 0,05 (p=0,00) por lo que se afirma que la distribución de datos no es normal. En consecuencia, la estadística de prueba a ser usado va hacer de tipo no paramétrico Kruskall Wallis.

H₀= No existen diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes concentraciones y tiempos del proceso de desinfección de las resinas respecto a la UFC.

IC = 95%

Error=5%

Decisión: Si p<0,05 rechazar H₀

Prueba

Tabla Nro. 11. Kruskall Wallis

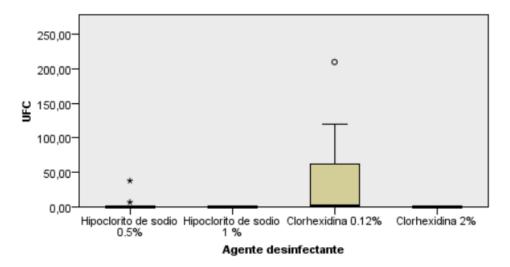
	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de UFC es la mism entre las categorías de Agente desinfectante.	Prueba de Kruskal- ^{Na} Wallis para muestras independiente s	,002	Rechace la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es ,05.

Conclusión: El valor de significación de la prueba fue menor a 0.05 (p=0.002) por lo que rechaza H_0 y se puede afirmar que existen diferencias estadísticamente significativas entre

las diferentes concentraciones y tiempos del proceso de desinfección de las resinas respecto a la UFC.

Tabla Nro. 12. Prueba de muestras independientes



N total	58
Estadístico de prueba	15,253
Grados de libertad	3
Significación asintótica (prueba bilateral)	,002

1. Los estadísticos de prueba se ajustan para empates.

8. DISCUSIÓN

Calderón y colaboradores⁽⁸⁾ estudiaron la eficacia "In Vitro" de hipoclorito de sodio al 0.5%, peróxido alcalino (Corega Tabs) y clorhexidina 0.12%, en un tiempo de 5 minutos de inmersión, en la eliminación de Cándida albicans, Enterococcus faecalis, Streptococcus mutans, en resina acrílica de termocurado, evidenciando que el NaClO al 0.5% y Clorhexidina al 0.12% eliminó el 100% de UFC de Cándida albicans, mientras que el peróxido alcalino presentó crecimiento en 4 muestras, todos los desinfectantes fueron eficaces contra Streptococcus mutans en un 100%, el NaClO al 0.5% y Clorhexidina al 0.12% eliminaron Enterococcus faecalis, mientras que el peróxido alcalino presentó crecimiento en una muestra; estos resultados no se muestran concordantes al presente estudio donde el crecimiento de Cándida albicans (UFC) fue observable en muestras de Clorhexidina al 0.12% en el tiempo de 5 minutos sin embargo, a los 10' y 30 ' no hubo evidencia de unidades formadoras de colonias, respecto a los análisis realizados en hipoclorito de sodio al 0.5% se encontraron resultados similares en los que a los 5 minutos hubo una eliminación del total de las UFC de la misma manera a los 10' y 30 minutos. Además, no se evidenció crecimiento de Cándida albicans en NaClO al 1% y clorhexidina al 2% a partir de 5 minutos.

Jafari y colaboradores⁽⁴⁴⁾, evaluaron la efectividad de hipoclorito de sodio en las concentraciones de 0.5%, 1%, 2% y clorhexidina al 2%, en 63 prótesis dentales totales en donde fueron aisladas las colonias (UFC) de *Cándida albicans*, se sumergió por grupos en los respectivos agentes desinfectantes por una hora, en donde se evidenció que en el hipoclorito de sodio al 0.5% presentó crecimiento en una prótesis con (6 UFC), hipoclorito de sodio al 1% en una prótesis con (4 UFC) , hipoclorito de sodio al 2% en una prótesis con (3 UFC), clorhexidina al 2% en dos prótesis con (5 UFC), el hipoclorito de sodio al 1% y 2% mostraron mayor reducción de la colonización de *Cándida albicans* y los demás desinfectantes mostraron una capacidad menor; dichos datos se presentaron de forma similar en la presente investigación, en el hipoclorito de sodio al 0.5% se evidenció crecimiento de *Cándida albicans* en 5 muestras con (1 UFC, 7 UFC y 38 UFC), sin embargo no concuerda con respecto a los análisis realizados de hipoclorito de sodio al 1% y clorhexidina al 2%, porque a estas concentraciones hubo una reducción total de unidades formadoras de colonias en las muestras analizadas.

Pellizzaro y colaboradores⁽¹⁵⁾, evaluaron la eficacia del cepillado mecánico con diferentes sustancias empleados en la limpieza de prótesis, por dos métodos (combinado e inmersión) en 90 muestras acrílicas distribuidas en grupos para el cepillado con, agua destilada, dentífrico (Colgate), clorhexidina al 2 %, NaClO al 1%, Polident fresh cleanse, e inmersión con dentífrico (Colgate), clorhexidina al 2%, NaClO al 1 %, Polident fresh cleanse, evidenciando que el método combinado (cepillado con clorhexidina y NaClO eliminó el 100 % *Cándida albicans*) fue más efectivo al igual que solo el método de inmersión en estos dos agentes desinfectantes; estos resultados son concordantes respecto al método de inmersión con hipoclorito de sodio al 1% y clorhexidina al 2% mismo procedimiento que eliminó en su totalidad las UFC de *Cándida albicans*.

Valentini y colaboradores (45), evaluaron diferentes protocolos de higiene química para prótesis completas, se aplicó a una población de 40 personas en donde se les indicó que cepillaran sus dentaduras postizas 3 veces al día durante un minuto con un cepillo de dientes y pasta de dientes (Colgate Palmolive), también se les indicó a cada paciente 4 tratamientos con diferentes sustancias (agua, hipoclorito de sodio al 0.5%, clorhexidina al 0.12%, bicarbonato de sodio al 5% inmersión por 10 minutos una vez a la semana por un periodo de dos semanas) al finalizar el primero se continuó con las demás hasta completar todos los tratamientos, las muestras se tomaron de la superficie del paladar y los dientes posteriores de la prótesis en donde se evidenció microrganismos tales como Cándida albicans, Cándida no albicans, estreptococos mutans, lactobacilos, determinó que después de los 7 días y 14 días de haber realizado el tratamiento se disminuyó la viabilidad de microrganismos en donde el hipoclorito de sodio funcionó mejor en comparación con el agua (P=<0.001) y bicarbonato de sodio (P=0.008), la clorhexidina también fue mejor que el agua (P=0.001) y el bicarbonato de sodio (P=0.048) y similar al hipoclorito de sodio (P=>0.05), la limpieza mecánica con un cepillo de dientes y el uso de hipoclorito de sodio y clorhexidina disminuyó la viabilidad microbiana en portadores de dentaduras postizas completas; en el presente estudio se mostraron resultados semejantes con hipoclorito de sodio al 0.5% siendo similar a la clorhexidina al 0.12% por un tiempo de 10 minutos de inmersión, las dos sustancias disminuyeron en su totalidad la viabilidad de microrganismos en la resina acrílica de termocurado.

9. CONCLUSIONES

Al evaluar los tiempos de exposición de las muestras de resina acrílica de termocurado los cuales fueron de 30 segundos, 1', 2', 5', 10' y 30 minutos para la clorhexidina al 0.12% e hipoclorito de sodio al 0.5% y los tiempos de 5', 10' y 30 minutos para la clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 1%, en donde se constató que en la clorhexidina al 0.12% eliminó todas las unidades formadoras de colonias a partir de los 10 minutos, mientras que en la clorhexidina al 2% y en el hipoclorito de sodio en las concentraciones de 0.5% y 1%, no mostraron proliferación de UFC a partir de los 5 minutos.

Se determinó que existe muestras con mayor número de unidades formadoras de colonias de *Cándida albicans* en el grupo de la clorhexidina al 0.12% en 8 muestras, seguido el hipoclorito de sodio al 0.5% con crecimiento en 5 muestras, a diferencia de las demás concentraciones como en el caso de clorhexidina al 2% e hipoclorito de sodio al 1% no se evidenció unidades formadoras de colonias.

Se determinó que todas las concentraciones de los desinfectantes empleados en esta investigación eliminaron la *Cándida albicans* en resinas acrílicas de termocurado, a menor concentración se necesita más tiempo de inmersión en el agente como es el caso de la clorhexidina al 0.12%.

Al realizar la desinfección con hipoclorito de sodio y clorhexidina se determinó que existieron diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes concentraciones y tiempos del proceso de desinfección con respecto a las UFC, es decir que el NaClO fue efectivo frente a Cándida albicans en las dos concentraciones y tiempos mayores a cinco minutos de inmersión, eliminando en su totalidad las UFC, con relación a la clorhexidina que necesitó mayor concentración y tiempo de inmersión para desinfectar el material protésico.

10.RECOMENDACIONES

Se sugiere que al conocer los tiempos en los cuales alcanzaron su acción antifúngica los diferentes desinfectantes por el método inmersión de las muestras (resina acrílica de termocurado) en clorhexidina al 0.12% y 2% e hipoclorito de sodio al 0.5% y 1%, se realice la desinfección como un medio de prevención de infecciones orales.

Realizar otros estudios aumentando las concentraciones de hipoclorito de sodio y clorhexidina disminuyendo los tiempos de inmersión para identificar la actividad antifúngica en las prótesis dentales acrílicas.

Se recomienda analizar otras alternativas para realizar la desinfección de prótesis dentales acrílicas y comparar la acción antifúngica, de la misma manera económicamente accesible que no alteren la superficie protésica y no produzca efectos secundarios.

Al constatar que el hipoclorito de sodio disminuyó las UFC en su totalidad a bajas concentraciones, se debería evaluar si con mayor concentración y menor tiempo de contacto con el material de las prótesis dentales acrílicas puede tener la reducción máxima de microorganismos, es decir si tiene mayor eficacia.

11.BIBLIOGRAFÍA

- 1. Pineda S, Mosquera J. Adherencia de Candida albicans a resinas acrílicas y poliamidas. Estudio in vitro. Biosalud. 2017;16(1):43–50.
- 2. Guerrero D. Efecto de diferentes colutorios sobre microrganismos presente en prótesis acrílicas: estudio in vitro [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2017. Available from: https://www.oreilly.com/library/view/designing-data-intensive-applications/9781491903063/%0Ahttp://shop.oreilly.com/product/0636920032175.d o%0Ahttps://www.packtpub.com/web-development/getting-started-webrtc%0Ahttps://www.oreilly.com/library/view/getting-s
- 3. Pawashe K, Tewary S, Sanyal PK, Nilesh K. An in vitro comparative evaluation of disinfectants on standard and clinical microbial strains on heat cure resins. J Clin Diagnostic Res. 2017;11(5):54–8.
- 4. Neppelenbroek K. The importance of daily removal of the denture biofilm for oral and Systemic diseases prevention. Appl Oral Sci. 2015;23(6):547–8.
- 5. Mayer F, Duncan W, Hube B. Candida albicans pathogenicity mechanisms. Virulence. 2013;4(2):119–28.
- 6. OMS. Informe sobre el problema mundial de las enfermedades bucodentales [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2004 [cited 2019 May 25]. Available from: https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr15/es/
- 7. González E. Efecto del borosan y del bicarbonato de sodio en la Cándida albicans: estudio in vitro [Internet]. UDLA; 2017. Available from: http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/7077/1/UDLA-EC-TEMRO-2017-01.pdf
- 8. Calderón M, Moromi H. Eficacia de diferentes agentes desinfectantes en la remoción de adheridos a resina acrílica de termocurado. Odontol Sanmarquina. 2014;17(2):72–5.
- 9. Castillo D, Tello C, Sáchez L, Gómez B, Nava N, Aranda S. Susceptibilidad in vitro de Candida albicans aisladas de prótesis dentales de pacientes con estomatitis protésica a tres sustancias de desinfección. Scielo. 2015;9(3):373–7.
- 10. Álbarez H. Candida albicans en pacientes con estomatitis subprotésica del centro del adulto mayor de Chiclayo, Perú. KIRU. 2017;14(2):144–8.
- 11. Pacheco M, Sarmiento P. Índice de CPOD y necesidad De tratamiento protésico en adultos mayores de la parroquia Chiquintad. Oactiva. 2018;3(2):25–8.
- 12. León M, Gavilanez N, Mejía E. Lesiones de la mucosa oral asociadas al uso de prótesis odontológicas en pacientes edéntulos totales. Dominio las Ciencias. 2019;5(1):603–23.
- 13. Salles M, Oliveira V, Souza R, Silva C, Oliveira H. Antimicrobial action of sodium hypochlorite and castor oil solutions for denture cleaning in vitro evaluation. Braz Oral Res. 2015;29(1):1–6.
- 14. Sadig W. The denture hygiene, denture stomatitis and role of dental hygienist. Int J Dent Hyg. 2010;8(2):227–31.

- 15. Pellizzaro D, Polyzois G, MacHado AL, Giampaolo ET, Sanitá PV, Vergani CE. Effectiveness of mechanical brushing with different denture cleansing agents in reducing in vitro Candida albicans biofilm viability. Braz Dent J. 2012;23(5):547–54.
- 16. Figún M, Garino R. Anatomía Odontológica Funcional y Aplicada. 2nd ed. Buenos Aires: El Ateneo; 1967. 462 p.
- 17. Okeson J. Tratamiento de oclusion y afecciones temporomandibulares. 7th ed. Barcelona: Elsevier; 2013. 488 p.
- 18. Rojas P, Mazzini M, Romero K. Pérdida dentaria y relación con los factores fisiológicos y psico-socio económicos. Dominio las ciencias médicas. 2017;3(2):702–18.
- 19. Watanabe R, Salcedo D, Ochoa J, Horna H, Herrera M, Paz J. Rehabilitación oral con prótesis fija. Odontol Sanmarquina. 2008;11(2):96–9.
- 20. Denturalia. Tipos de prótesis dentales [Internet]. Denturalia. 2012 [cited 2019 Nov 14]. Available from: http://www.denturalia.com/tipos-de-protesis-dentales/
- 21. Bonilla Y, Moreno V, Muñoz B, Palma G. In vitro adhesion of Candida albicans in three different tissue conditioners used in prosthodontics. Rev Odontológica Mex. 2012;16(1):40–5.
- 22. Basker R, Davenport J, Thomason J. Tratamiento prótesico en pacientes edéntulos. 5th ed. Venezuela: Amolca; 2012. 286 p.
- 23. Brenes E. Elaboración de prótesis totales: Presentación de Caso Clínico. Rev Científica Odontológica. 2005;1(1):17–9.
- 24. Alvarez H, Fassina N. Colección Fundamentos, Técnicas y Clínica en Rehabilitación Bucal. Prótesis total removible. 2nd ed. Buenos Aires: Hacheace; 2002.
- 25. Saeed F, Muhammad N, Khan A, Sharif F, Rahim A, Ahmad P, et al. Prosthodontics dental materials: From conventional to unconventional Elsevier [Internet]. 2020;1–17. Available from: https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110167
- 26. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. Streptococcus mutans and dental caries Streptococcus mutans y caries dental. Rev CES Odontol [Internet]. 2013;26(1):44–56. Available from: http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf
- 27. Baena T, Moreno V, Franco F, Aldape B, Quindós G, Sánchez L. Colonización por Candida albicans, Staphylococcus aureus y Streptococcus mutans en pacientes por tadores de prótesis dentales. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2005;10:27–39.
- 28. García B, Capote M, Morales TDJ. Prótesis totales y lesiones bucales en adultos mayores institucionalizados. Finlay [Internet]. 2012;2(1):32–44. Available from: http://www.revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/99
- 29. Gaur A, Gautam K, Saif S, Suyash A, Harjeet M, Sandesh G. Study of Prevalence of Oral Lesions in Complete Denture Wearers. J Int Oral Heal [Internet]. 2015;7(11):97–100. Available from: http://www.ispcd.org/userfiles/rishabh/V7I11/V7I11A21.pdf

- 30. Barata D, Durán A, Carrillo S. Estomatitis Protésica. Aspectos clínicos y tratamiento. Form Contin. 2002;5(10):622–7.
- 31. Pusateri C, Monaco E, Edgerton M. Sensitivity of Candida Albicans Biofilm Cells Grown on Denture Acrylic to Antifungal Proteins and Chlorhexidine. Arch Oral Biol. 2009;54(6):588–94.
- 32. Ayuso R, Torrent J, López J. Estomatitis protésica: puesta al día Denture stomatitis: update. RCOE. 2004;9(6):657–62.
- 33. Flores A. Tratamiento de estomatitis protésica. Rev Actual Clínica. 2012;24:1186–8.
- 34. Diomedi A, Chacón E, Delpiano L, Hervé B, Jemenao I, Medel M, et al. Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Rev Chil infectología. 2017;34(2):156–74.
- 35. Sattar S. Limpieza, desinfección y esterilización [Internet]. 2014 [cited 2019 Sep 2]. Available from: https://www.theific.org/wp-content/uploads/2014/08/Spanish_ch12_PRESS.pdf
- 36. Sánchez F, Furuya A, Padilla S, Gómez A, Gómez L. Comparación de la acción bactericida de hipoclorito de sodio y Microcyn 60. Rev Odontol Mex. 2009;13(1):9–16.
- 37. Heredia J, Rodriguez S. Uso de la Clorhexidina en Endodoncia. Intramed. 2008;93(3):245–8.
- 38. Balandrano F. Soluciones Para Irrigación En Endodoncia: Hipoclorito de Sodio Y Gluconato de Clorhexidina. Rev Científica Odontológica. 2007;3(1):11–4.
- 39. Gamazo C, López I, Díaz R. Manual práctico de microbiología. 3rd ed. Barcelona: Masson; 2005.
- 40. Negroni M. Microbiología Estomatológica fundamentos y guia práctica. 2nd ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009. 636 p.
- 41. Soria F. Sabouraud agar with chloramphenicol y cicloheximide [Internet]. Difco. 2009 [cited 2019 Dec 17]. Available from: http://f-soria.es/Inform_soria/Difco Fichas tecnicas/PLACAS DIFCO Y CROMOGENICAS BD/FT SABOURAUD AGAR W CHLOR Y CICLOH.pdf
- 42. Britania. Sabouraud Glucosado Caldo [Internet]. Britania. 2001 [cited 2019 Dec 17]. p. 1–2. Available from: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2971216486e.pdf
- 43. Britania Lab. Tripteina Soya Caldo [Internet]. Productos. 2015 [cited 2019 Dec 17]. p. 1. Available from: http://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a297c2b7a49c.pdf
- 44. Jafari A, Falah A, Kamran MH, Fallahzadeh H, Akaberi F. Evaluation of In Vitro Effectiveness of Seven Disinfectants over Controlling Candida on Complete Dentures. Iran Red Crescent Med J. 2012;14(1):117–8.
- 45. Valentini F, Maske T, Cenci M, Boscato N, Pereirai T. Chemical hygiene protocols for complete dentures: A crossover randomized clinical trial. J Prosthet Dent [Internet]. 2018;1–7. Available from: https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2017.12.022

12.ANEXOS

Anexo 1

> Lectura de los resultados

Control positivo

Figura Nro. 23: Crecimiento de Cándida albicans en el control positivo



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

Control negativo

Figura Nro. 24: Ausencia de crecimiento de Cándida albicans en el control negativo



Figura Nro. 25: Crecimiento en clorhexidina al 0.12% por 30s, 1 y 2 minutos

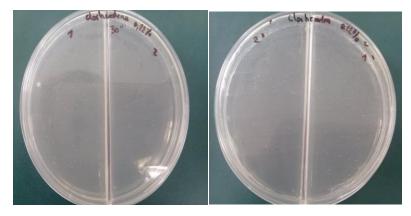


Figura Nro. 26: Crecimiento en hipoclorito de sodio al 0.5 % por 30s, 1 y 2 minutos

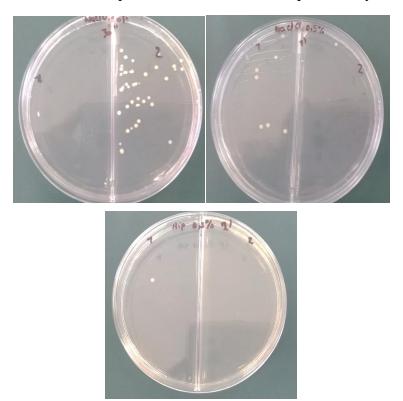


Figura Nro. 27: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 0.5% por 5 minutos



Figura Nro. 28: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 0.5% por 10 minutos



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

Figura Nro. 29: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 0.5% por 30 minutos

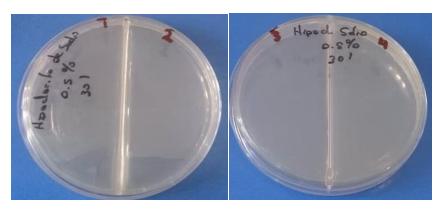
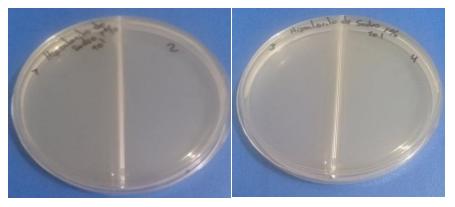


Figura Nro. 30: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 1% por 5 minutos



Figura Nro. 31: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 1% por 10 minutos



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

Figura Nro. 32: Ausencia de crecimiento en hipoclorito de sodio al 1% por 30 minutos

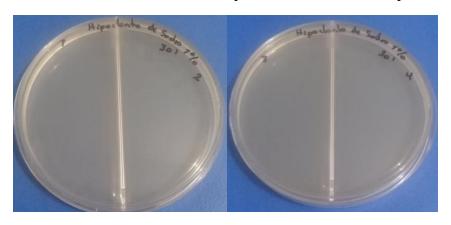


Figura Nro. 33: Crecimiento de Cándida albicans en clorhexidina al 0.12% por 5 minutos



Figura Nro. 34: Ausencia de crecimiento en clorhexidina al 0.12% por 10 minutos



Fuente: Gladys Palomino **Autor:** Gladys Palomino

Figura Nro. 35: Ausencia de crecimiento en clorhexidina al 0.12% por 30 minutos

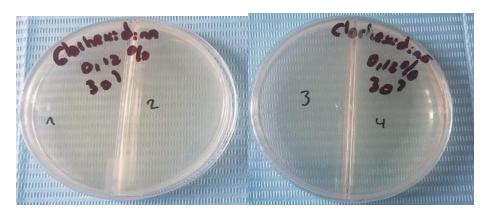


Figura Nro. 36: Ausencia de crecimiento en clorhexidina al 2% por 5 minutos

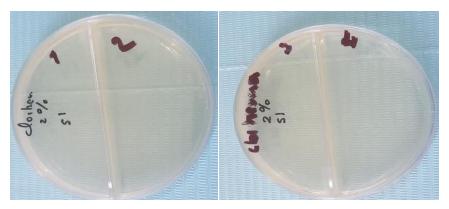
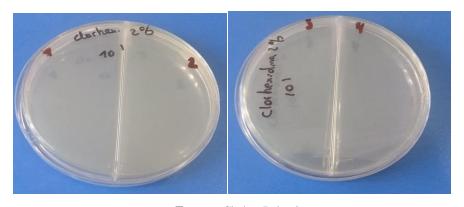
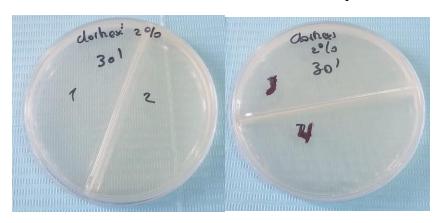


Figura Nro. 37: Ausencia de crecimiento en clorhexidina al 2% por 10 minutos



Fuente: Gladys Palomino Autor: Gladys Palomino

Figura Nro. 38: Ausencia de crecimiento en clorhexidina al 2% por 30 minutos



Anexo 2



FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

TEMA: "EFECTO IN VITRO DE HIPOCLORITO DE SODIO Y CLORHEXIDINA SOBRE CÁNDIDA ALBICANS EN RESINA ACRÍLICA DE TERMOCURADO".

Evaluación de crecimiento fúngico				
Control positivo	SI	NO		
Crecimiento fúngico				
TIEC.				

Control negativo	SI NO	
Crecimiento fúngico		
UFC:		
AGENTE DESINFECT	CANTE	
NaClO 0.5%	Crecimiento fúngico:	UFC
30 segundos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
	,	
NaClO 0.5%	Crecimiento fúngico:	UFC
1 minuto	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
NaClO 0.5%	Crecimiento fúngico:	UFC
2 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
NaClO 0.5%	Crecimiento fúngico:	UFC
5 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
M3		
M4		
NaClO 0.5%	Crecimiento fúngico:	UFC
10 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		

M3	
M4	

NaClO 0.5%	Crecimiento fúngico:	UFC
30 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
M3		
M4		

NaClO 1%	Crecimiento fúngico:	UFC
5 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
M3		
M4		

NaClO 1%	Crecimiento fúngico:	UFC
10 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
M3		
M4		

NaClO 1%	Crecimiento fúngico:	UFC
30 minutos	con/sin crecimiento	
M1		

M2	
M3	
M4	

Clorhexidina al 0,12%	Crecimiento fúngico:	UFC
30 segundos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		

Clorhexidina al 0,12%	Crecimiento fúngico:	UFC
1 minuto	con/sin crecimiento	
M1		

Clorhexidina al 0,12%	Crecimiento fúngico:	UFC
2 minutos	con/sin crecimiento	
M1		

Clorhexidina al 0,12%	Crecimiento fúngico:	UFC
5 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
M3		

M4		
Clorhexidina al 0,12%	Crecimiento fúngico:	UFC
10 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
M3		
M4		
Clorhexidina al 0,12%	Crecimiento fúngico:	UFC
30 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
M3		
M4		
Clorhexidina al 2%	Crecimiento fúngico:	UFC
5 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
M3		
M4		
		I
Clorhexidina al 2%	Crecimiento fúngico:	UFC
10 minutos	con/sin crecimiento	orc .
M1	Comsul Ciccumento	
M2		
M3		
M4		

Clorhexidina al 2%	Crecimiento fúngico:	UFC
30 minutos	con/sin crecimiento	
M1		
M2		
M3		
M4		