



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFICACIA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus* EN LA INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE *Candida albicans* SOBRE SUPERFICIES DE POLIMETILMETACRILATO.

**TRABAJO TERMINAL ESCRITO DEL PROGRAMA DE
TITULACIÓN POR ALTO PROMEDIO**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

SONIA YUNUEM LÓPEZ CASTILLO

TUTOR: Mtro. MIKADO ALEJANDRO NIDOME CAMPOS

ASESOR: Dr. ENRIQUE ROMO ARÉVALO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Mikado Alejandro Nidome Campos, por todo el aprendizaje obtenido en los años que coincidimos durante la carrera. Gracias por despertar mi interés en la investigación y por confiar en mí hasta el final.

Al Dr. Enrique Romo Arévalo, por el tiempo dedicado a mi enseñanza a pesar de los obstáculos. Gracias por la comprensión y lo mucho que me enseñó en tan poco tiempo y sobre todo, por ofrecerme la oportunidad de trabajar a su lado.

Al Laboratorio de Biología Periodontal de la Facultad de Odontología por proveer del material e instrumental necesario para trabajar en este proyecto.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT.
Número de proyecto: **IN206420**.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, quien me ha formado como estudiante y como persona. Gracias por brindarme lo necesario para ser quien soy hoy en día.

DEDICATORIAS

A mi madre, por el apoyo incondicional proporcionado a lo largo de mi vida, pero sobre todo en esta etapa tan nueva y difícil. Gracias por creer siempre en mí y tomar mi mano para llevarme siempre hacia adelante. Este es solo el comienzo de un camino largo que recorrer y me encantaría que me vieras hacerlo.

A mis hermanos: Carlos, Jacqueline, Iván e Ivonne. Gracias por siempre cuidar de mí, por confiar en mis decisiones y por todo el apoyo psicológico y económico que me proporcionaron durante toda mi vida, pero sobre todo en esta etapa; no habría podido hacerlo sin ustedes.

A Leonardo, por todo el cariño y apoyo que me brindo durante el desarrollo de este proyecto y el que me sigue brindando en todos los proyectos que llegan a mi mente. Gracias por motivarme, cuidarme y escucharme, gracias por tolerar mis cambios de humor y sobrellevar mi estrés, pero sobre todo gracias por permanecer junto a mí.

A mis amigos Ángel y Erica. Gracias por enseñarme mis capacidades, por impulsarme a ser mejor cada día, por ser ese grupo de apoyo que todos en algún momento necesitamos, por estudiar a mi lado, pero sobre todo por las risas, el conocimiento y las anécdotas compartidas durante estos años; sin ustedes no lo habría logrado.

Y dedico especialmente este trabajo a mi padre. Gracias por enseñarme todo lo bonito que puedo ser hoy en día y por enseñarme a nunca rendirme, aunque la vida se ponga difícil. Aunque ya no estés aquí y no podrás leer esto, sé que estarías orgulloso de mí estés en donde estés. Te mando un abrazo.

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
RESINAS ACRÍLICAS.....	6
Clasificación.....	7
CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES.....	7
Composición.....	7
Reacción química.....	7
Estabilidad dimensional.....	8
Propiedades mecánicas.....	8
Propiedades biológicas.....	8
Propiedades térmicas.....	9
Propiedades fisicoquímicas.....	9
Estética.....	10
Densidad.....	10
Porosidad y superficie.....	10
MICROBIOTA ORAL.....	12
<i>Candida</i>	14
Características del hongo.....	14
Ecología.....	15
Factores específicos que afectan la distribución de <i>Candida</i> en la cavidad oral.....	17
ESTOMATITIS PROTÉSICA.....	20
Clasificación.....	20
Características clínicas.....	21
Etiopatogenia.....	21
DESINFECCIÓN.....	24
Método mecánico.....	25
Método químico.....	25
Agentes químicos de limpieza para prótesis dentales.....	26
ACEITES ESENCIALES.....	28
<i>Eucalyptus globulus</i> L (Eucalipto).....	30
Características botánicas.....	30
Composición química.....	30
Aceite esencial de eucalipto.....	31
Propiedades terapéuticas.....	31
Propiedades antimicrobianas.....	31

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	32
JUSTIFICACIÓN	32
HIPÓTESIS.....	32
OBJETIVOS.....	33
METODOLOGÍA.....	34
RESULTADOS	37
DISCUSIÓN.....	65
CONCLUSIONES.....	67
REFERENCIAS	68
ANEXOS.....	73

RESUMEN

La finalidad de este trabajo es aportar información acerca del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* como profiláctico sobre muestras de polimetilmetacrilato (PMMA) el cual es utilizado como material de bases para prótesis removibles en odontología. Además, se determinó su eficacia al ser usado al 1% al compararlo contra un antiséptico a base de cloro (Microdacyn, Sanfer) y un profiláctico para dentaduras de uso diario (Corega tabs, GSK).

Para cumplir con los objetivos planteados; se obtuvo el aceite esencial de *E. globulus* por medio de la hidrodestilación a partir de hojas de eucalipto, mientras que para realizar los ensayos microbiológicos se empleó la cepa de *C. albicans* ATCC 40028. El microorganismo se sembró por estría triple en placas de agar dextrosa Sabouraud y posteriormente se colocaron muestras circulares de PMMA termo polimerizable, (previamente incubadas en las soluciones de estudio).

Las pruebas de inhibición de crecimiento fueron analizadas mediante la formación de halos de inhibición y la obtención de promedios por grupo para su posterior análisis por la prueba estadística ANOVA.

Nuestros resultados comprueban que las muestras de PMMA incubadas en el aceite esencial de eucalipto tienen un efecto inhibitorio en el crecimiento de *C. albicans* mayor que en los grupos incubados en las soluciones de estudio.

Podemos concluir que el aceite esencial de eucalipto es una alternativa prometedora para el control de microorganismos asociados al desarrollo de la estomatitis protésica ya que tiene la capacidad de prevenir el crecimiento de *Candida albicans* en pacientes portadores de prótesis con base de PMMA.

INTRODUCCIÓN

El sistema estomatognático es la unidad funcional del organismo que se encarga de la masticación, el habla y la deglución. Sus componentes también desempeñan un importante papel en el sentido del gusto y la respiración. Dicho sistema está conformado por huesos, articulaciones, ligamentos, músculos y dientes. Sin embargo, existen diversas enfermedades bucales que si evolucionan pueden ocasionar la pérdida dental provocando problemas funcionales, estéticos y psicológicos. (1)

En la actualidad la pérdida dental es un problema de salud pública en todo el mundo. Existen múltiples causas y factores que pueden originar y/o producir este problema, entre las que destacan la caries dental y la enfermedad periodontal. Además, existen otras afecciones que pueden ser motivo de la pérdida dental, tales como desgastes, traumatismos, dientes con tratamientos inconclusos, fracturas dentales, etc. Las consecuencias son de gran importancia para el sistema estomatognático, ya que los dientes, junto con el maxilar y la mandíbula, son el sostén de los tejidos blandos de la cara; su ausencia origina alteraciones en la expresión y la fisonomía dando un aspecto de senectud, lo que afecta la armonía, belleza y autoestima de la persona. Los dientes también colaboran en la articulación de las palabras, por lo tanto, al estar estos ausentes, se producen alteraciones de los sonidos. (1)

Cuando se pierde un diente, toda la cavidad oral se verá afectada directa o indirectamente. La pérdida de uno o más dientes en un segmento de la boca puede causar migración de los dientes vecinos, en la que los dientes adyacentes se inclinan hacia el espacio vacío donde ocurrió la pérdida. De modo semejante, la pérdida de un diente o dientes puede provocar el cambio en los dientes antagonistas cuando estos migran hacia el espacio abierto (sobrerupción). A medida que los dientes migran, crean discrepancias en cuanto a la altura y el contorno del tejido gingival que predisponen a los dientes adyacentes al

avance de la enfermedad periodontal y/o caries dental debido a la acumulación de alimentos, formación de biopelículas y a la dificultad para realizar la higiene en esta área.

(1)

Cuando los dientes son extraídos, el hueso que los soporta denominado hueso alveolar pasa por un proceso de resorción y es una consecuencia natural de la falta de estimulación al hueso por las fuerzas ejercidas sobre los dientes; el hueso se ve afectado y eventualmente pierde dimensión vertical y horizontal. (1)

Un individuo con una oclusión normal presenta un esquema masticatorio regulado y coordinado, con ritmo, amplitud de movimiento y una forma de trituración determinada. Este esquema oclusal tiene un grado de tolerancia y ante ciertas variaciones, encuentra un equilibrio neuromuscular, pero si las variaciones son de medias a extremas, como sucede cuando existe pérdida dentaria, se rompe el equilibrio y aparecen movimientos masticatorios parafuncionales lesivos para la articulación temporomandibular (ATM) y para todo el sistema, provocando episodios de disfunción muy dolorosos. Por último, las alteraciones psicológicas son especialmente importantes cuando la pérdida es ocasionada en el sector anterior y lleva consigo una deformación de rasgos faciales, lo que provoca un hundimiento del labio. (1)

Por tales motivos, la odontología rehabilitadora se especializa en realizar tratamientos en pacientes con alteraciones de cualquier nivel de complejidad devolviendo la función, estética y la armonía otorgándole al paciente comodidad y confianza para relacionarse libremente en su vida. (1)

Las prótesis dentales son los aparatos más utilizados en odontología para la rehabilitación oral de pacientes parcial o totalmente edéntulos. La *American Cancer Society* define como prótesis a un sustituto artificial de una parte del cuerpo faltante, por lo tanto, podemos definir como prótesis dental a un elemento artificial destinado a restaurar la anatomía de uno o varios dientes, restaurando también la relación entre el maxilar y la mandíbula, a la vez que

devuelve la dimensión vertical y repone tanto la dentición natural como las estructuras periodontales. (2)

Las prótesis dentales fueron utilizadas desde el año 754 a.C. por los etruscos quienes empleaban bandas de oro soldadas entre sí por púnticos hechos de diferentes dientes de humanos y animales. En el año 65 a.C. comienzan a darse los primeros usos del marfil y la madera para la creación de dientes y coronas. De 1600 a 1840 en Francia, Alemania e Italia se utilizaban dientes de marfil y hueso tallados los cuales estaban sujetos a los dientes vecinos con alambres de oro y plata. En diferentes países asiáticos, la técnica fue mejorando. En China y Japón comenzaron a utilizarse coronas hechas con espigas. En 1789 se empieza a utilizar la porcelana para la fabricación de dientes, y en 1778 Nicholas Dubois dentista francés, presentó por primera vez una dentadura completa de porcelana cocida. Pierre Fauchard describió cómo se deben hacer los puentes y las dentaduras completas; propuso usar dientes humanos, marfil, toro o elefante. El siguiente paso fueron los dientes aislados de porcelana sujetos mediante un clavo con bases elaboradas en oro y plata. Debido al elevado costo de la utilización de estos, se dieron otros intentos con metales más económicos. A finales del siglo XIX aparece el uso de caucho vulcanizado y tratado como nuevo material para realizar prótesis. Esta evolución tanto en la técnica como en el uso de nuevos productos generó una revolución dentro del propio sector. En 1935 se comienza a utilizar la resina acrílica polimerizada como base para los dientes artificiales. Y a partir de ahí se estudian día a día nuevas formas de mejorar el aspecto con nuevas técnicas. (3)

En la actualidad, dichas prótesis son confeccionadas con resina acrílica cuyo componente es el polimetilmetacrilato (PMMA) el cual es un medio favorable para la colonización y proliferación de diversos microorganismos presentes en la cavidad oral, esto debido a su habilidad de adherirse a este componente. (4)

A lo largo de la historia, en la fabricación de bases para dentaduras se han empleado diversos materiales, entre ellos: madera, hueso, marfil, metales y numerosos polímeros (polimetilmetacrilato, poliestileno, poliamida, resina epóxica, policarbonato y vulcanita). De todos los materiales empleados, el que mostró mejores propiedades fue el polimetilmetacrilato, y como resultado, este último ha dominado el terreno de las bases en las dentaduras durante los últimos tiempos. (5)

Los polímeros que se emplean en la Odontología como bases de prótesis pueden ser rígidos o bien blandos y resilientes, pero en cualquier caso deben de cumplir una serie de requisitos:

1. Ser lo suficientemente translúcidos como para reemplazar estéticamente los tejidos bucales.
2. No experimentar cambios de color después de su procesado, tanto en medio externo como en medio intrabucal.
3. Poseer una buena estabilidad dimensional.
4. Tener resistencia mecánica y a la abrasión adecuada para su uso.
5. Ser impermeable a los fluidos orales, de forma que sea higiénica, sin gusto ni olor desagradable.
6. Poseer una superficie que pueda higienizarse con facilidad.
7. Debe ser biocompatible
8. No debe presentar corrosión, ablandamiento ni solubilidad ante los fluidos bucales u otras sustancias que se puedan encontrar ocasionalmente en la boca.
9. Tener poco peso específico y conductividad térmica relativamente alta.
10. Se fáciles de reparar en caso de fractura.
11. Tener un procesado y manipulación no complicada en cuanto a técnica o equipo.

Si se consideran estos requisitos, el material utilizado por excelencia en bases protésicas es el polimetilmetacrilato (PMMA). (6)

RESINAS ACRÍLICAS

Las resinas acrílicas son derivados del etileno y contienen un grupo vinilo (-C=C-) en su fórmula estructural: $H_2C=CHR$. Existen al menos dos tipos de resinas acrílicas importantes en la odontología. Una serie deriva del ácido acrílico $CH_2=CHCOOH$, y la otra del ácido metacrílico, $CH_2=C(CH_3)COOH$. Los polímeros obtenidos a partir del ácido acrílico o metacrílico son duros y transparentes, su polaridad, relacionada con el grupo carboxilo, hace que absorban agua. El agua tiende a separar las cadenas, ablandándolas y haciendo que pierdan resistencia. (6)

A partir del metacrilato de metilo por una reacción de polimerización se obtiene el PMMA el cual ya mencionamos, es el material básico que constituye la base de la prótesis. (7)

Los mecanismos de polimerización se pueden encuadrar en dos grandes grupos: polimerización por adición y polimerización por condensación. Se habla de polimerización por adición cuando los monómeros se unen entre sí, sin producir ningún producto intermedio. Sin embargo, mediante el mecanismo de condensación, la unión de los monómeros se realiza mediante una reacción química en la que se desprende algún producto secundario en forma de molécula pequeña como agua, algún alcohol, etc. (7)

La polimerización del PMMA es por adición, basada en la producción de radicales libres a partir de la apertura de dobles enlaces. (6)

Originalmente la resina acrílica es clara e incolora, pero puede teñirse con facilidad dando una amplia variedad de tonalidades convirtiéndola en idónea para darle los colores y tonos de las estructuras de la cavidad oral, tanto dientes como encía. (8)

Están reguladas por la norma 12 de la Asociación Dental Americana (ADA). Los requisitos que se exigen en estas normas son cumplir con valores de propiedades de superficie (color, translucidez y facilidad de pulido), de cuerpo (porosidad, sorción acuosa y solubilidad), y mecánicos (resistencia flexural y capacidad de unirse a otras resinas). (8)

Clasificación

- Tipo I. Auto o quimiopolimerizable
- Tipo II. Termopolimerizable o termoprosesables

CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES

Composición

Existen resinas acrílicas quimiopolimerizables como termopolimerizables y los componentes de esto puede variar respecto a su activador de polimerización. (8)

<i>Quimiopolimerizables</i>	<i>Función</i>	<i>Termopolimerizable</i>
Metilmetacrilato monómero (líquido)	Factor de polimerización	Metilmetacrilato monómero (líquido)
Hidroquinona (líquido)	Inhibidor de la polimerización en almacén	Hidroquinona (líquido)
Etilenglicol dimetacrilato (líquido o polvo)	Agente de cadenas cruzadas	Etilenglicol dimetacrilato (líquido o polvo)
Amida terciaria (polvo)	Activador	Calor
Polimetilmetacrilato (polvo)	Aumenta peso molecular provocando consistencia	Polimetilmetacrilato (polvo)
Peróxido de benzoilo (polvo)	Iniciador	Peróxido de benzoilo (polvo)

Tabla 1. Comparación entre los componentes de las resinas acrílicas quimiopolimerizables y termopolimerizables.

Reacción química

Se lleva a cabo un fenómeno de polimerización que se da sobre la base de la unión de varios monómeros. (8)

Estabilidad dimensional

El PMMA al polimerizar experimenta una contracción lineal del 6% a un 7%. En la práctica odontológica, debido a que el molde rígido evita su deformación, se produce una contracción de sólo un 0,2% a un 0,5%, la cual es despreciable para el correcto ajuste de la prótesis. (9)

Propiedades mecánicas

Mecánicamente, el PMMA es un material frágil y relativamente rígido. Como valores medios, tiene una resistencia de tracción de 55 mega pascales (Mpa) y de compresión de 76 Mpa. Tiene una escasa deficiencia al impacto, lo que facilita su fractura si se deja caer sobre una superficie dura. La resistencia a la abrasión es moderada. (9)

Propiedades biológicas

El PMMA es generalmente bien toleradas por los portadores de prótesis, así que son biocompatibles, aunque existe un porcentaje pequeño de la población que presenta reacciones alérgicas o de sensibilidad a los monómeros acrílicos; esto se debe a la presencia de monómero residual por insuficiencia en la polimerización. (10) En este caso es primordial respetar la proporcionalidad, así como los tiempos y la temperatura de polimerización. (8)

La contaminación de las prótesis con microorganismos habituales en la microbiota oral constituye un problema relacionado con la falta de mantenimiento higiénico de los portadores de prótesis, y también con las condiciones de acabado y pulido de las prótesis o de pérdida de esas características superficiales durante su uso. (10)

Propiedades térmicas

Los polímeros acrílicos no se ablandan por debajo de los 75°C, lo cual hace prácticamente imposible que la temperatura de los fluidos orales pueda afectarlos. Estos materiales poseen una baja conductividad térmica, lo cual es inconveniente en el sentido de que la mucosa subyacente queda aislada de los cambios térmicos que la ingesta produce en la boca. (9)

Aunque su coeficiente de expansión dimensional se encuentra elevado, es difícil que los cambios transitorios de la temperatura bucal durante la ingesta de alimentos líquidos o sólidos puedan afectar a la estabilidad dimensional, debido a la baja conductividad térmica y al gran volumen de la estructura. (9)

Propiedades fisicoquímicas

Generalmente el producto es presentado en forma de un polvo o polímero prepolimerizado y un líquido o monómero. Cuando se mezclan, generalmente en proporción de 3 a 1 en volumen, y 1 a 1 en peso. (8)(9)

Durante su reacción química se presentan varias etapas que serán descritas a continuación:

- **Arenosa:** El líquido entra en contacto con el polvo.
- **Filamentosa o pegajosa:** Comienza a disolverse el polvo dentro del líquido y se inicia la polimerización.
- **Plástica:** El proceso de polimerización continúa y se forman cadenas de longitudes tales que la masa resultante no se pega en los dedos, ni en la espátula, y es en esta etapa donde debe colocarse y empacarse en la zona que se va a reproducir. En esta etapa las resinas quimiopolimerizables se da en 3 o 4 minutos, mientras que en las resinas termopolimerizables se prolonga entre 10 y 40 minutos.

- **Elástica:** Se da la evaporación del monómero remanente o que no reaccionó, y el material adquiere la consistencia elástica; en esta etapa no es adecuado usarlo para ningún proceso de fabricación de aparatos odontológicos, por lo que debe darse como parte de la secuencia del proceso de la polimerización antes de llegar a la siguiente etapa, que es la solidificación; en este momento se presenta una reacción exotérmica.
- **Rígida:** La resina endurece hasta concentraciones de polimerización que no permiten deformarla fácilmente.

Estética

Las propiedades estéticas de los polímeros acrílicos para bases de prótesis son muy buenas. El PMMA es transparente, lo cual facilita la obtención de un color compatible con las estructuras orales mediante la incorporación de pigmentos rosados, siendo estable esta coloración. (9)

Densidad

Es importante que los acrílicos para bases de prótesis sean poco densos, para que las prótesis no pesen demasiado. La densidad de los polímeros de acrílico se sitúa en 1,18 gr/cm³. (9)

Porosidad y superficie

Diferentes errores en el procesado y manipulación de la masa del polímero de las bases de prótesis (vaporización del monómero por exceso de temperatura, falta de homogeneidad en el momento de la polimerización, presión inadecuada), dan lugar a la aparición de poros.

Las consecuencias son: disminución de la resistencia por acúmulo de tensiones y dificultad en la limpieza, en caso de que los poros se localicen en la superficie. (9)(11)

La superficie de la prótesis es susceptible de ser colonizada por multitud de microorganismos que pueden dar origen a patología de la mucosa que soporta la prótesis (estomatitis protésica). Los mecanismos de fijación de la biopelícula a la superficie son los siguientes:

a. Formación de una película orgánica.

La superficie de la prótesis presenta a las pocas horas de su inserción en boca una película orgánica adquirida constituida por proteínas presentes en la saliva. Estas proteínas actuarían como mediadores en la fijación de la biopelícula a la superficie de la prótesis. (9)(11)

b. Fijación directa de los organismos a la superficie.

El mecanismo de fijación de los microorganismos a la superficie en una primera fase es inespecífico y reversible. Se explica por medio de energía de superficie entre los microorganismos y la superficie de la prótesis, interviniendo fenómenos electrostáticos y de hidrofobicidad; en una segunda fase, el proceso de la adhesión está mediado por interacciones entre adhesinas y receptores específicos. (9)(11)

c. Penetración o anclaje mecánico en los defectos de la superficie.

Este último punto es particularmente importante en el caso de las prótesis confeccionadas con resinas acrílicas, en las que los defectos de la superficie pueden favorecer la formación inicial de biopelícula y, además, evitar su remoción. (9)(11)

La mayoría de los pacientes portadores de prótesis totales o parciales removibles desconoce la manera adecuada de mantener y cuidar su prótesis. Es necesaria su limpieza

y desinfección diaria para evitar la acumulación de biopelícula, cálculo dental y pigmentaciones. (12)

La biopelícula de las prótesis es definida como una densa capa microbiana formada por microorganismos y sus productos metabólicos. (13) Estos depósitos de bacterias pueden constituir problemas de halitosis además de contribuir a irritaciones e infecciones la mucosa adyacente.²⁸ Estos microorganismos presentes son parte de la misma microbiota oral, el desequilibrio de ésta puede traer consigo enfermedad. (12)

MICROBIOTA ORAL

La microbiota se define como un conjunto de microorganismos que colonizan permanentemente a la mayoría de los individuos sanos de la población, y que ejercen sobre estos un efecto beneficioso al encargarse de impedir la colonización por otros microorganismos no adaptados a ese hábitat (fenómenos de competencia interespecie) o activar el sistema inmune. (14)

La microbiota de la cavidad oral es muy compleja, aislándose más de 700 especies que la habitan o transitan en ella. Algunas de ellas son causantes de patologías de alta incidencia, como la caries o la enfermedad periodontal. Esta microbiota es además cambiante dentro del mismo ecosistema oral, sustituyéndose unos microorganismos por otros, debido a cambios de hábitat (sucesión alogénica) o en las condiciones ambientales (sucesión autogénica). (14)

La cavidad oral puede ser considerada como un gran ecosistema formado por una amplia población bacteriana en el conjunto de ecosistemas primarios que componen la cavidad (superficies dentales, lengua, surco gingival). La mayoría de las bacterias residentes en la cavidad oral son compatibles con la salud del huésped. Sin embargo, bajo determinadas condiciones y comportamientos del huésped y debido a los mecanismos de virulencia de

los microorganismos, el equilibrio establecido entre la microbiota oral y los tejidos se rompe, pasando a un estado de disbiosis. (14)

Podemos mencionar seis ecosistemas diferentes en la cavidad oral. (14)

1. **Saliva:** En esta predominan cocos Gram positivos anaerobios facultativos (45%), cocos Gram negativos (15%) y bacilos Gram positivos (15%).
2. **Mucosa:** Predominan los cocos Gram positivos anaerobios facultativos (90%), como el *Streptococcus viridans*.
3. **Surco gingival:** Cerca del 50% de los microorganismos son cocos Gram positivos anaerobios facultativos *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* y *Streptococcus gordonii*. En el surco no hay saliva, debido a que existe una presión negativa proveniente de las encías que impide su paso.
4. **Dorso de la lengua:** Abundan microorganismos anaerobios facultativos (*Streptococcus salivarius*), cocos Gram negativos estrictos y bacilos Gram positivos anaerobios facultativos.
5. **Superficies dentales:** Las especies más relevantes son las que producen caries dental, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus viridans*. Se ha demostrado la capacidad de los microorganismos patógenos de la cavidad oral de penetrar en los tubos dentinarios.
6. **Materiales artificiales:** No se consideran como ecosistemas primarios, aunque si cuentan con una frecuente colonización por parte de los microorganismos que hace que sea considerado como un ecosistema más a tener en cuenta.

Candida

El género *Candida* comprende más de 150 especies de levaduras las cuales corresponden a hongos con un modo de desarrollo predominante unicelular. Solamente una docena de las especies pertenecientes al género de *Candida* poseen la capacidad de adaptarse a una temperatura de 37°C y pueden ser ocasionalmente patógenas para el hombre, estas son entre otras: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* (*pseudotropicalis*), *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. parakrusei*, *C. zeylanoides*, *C. stellatoidea* y *C. brumptii*. (15)

Características del hongo

Candida albicans suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras, con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí. (15)

La apariencia microscópica de todas las especies de *Candida* es similar, pero en algunas ocasiones la forma de las blastosporas puede variar de ovoide a elongada o esférica. Microscópicamente, *C. albicans* presenta dimorfismo, el cual es una transformación de la forma ovoide de las blastosporas (levaduras) gemantes a hifas. Por otra parte, se describe que el material blanco que crece en los medios de cultivo consiste desde el punto de vista microscópico, en pseudomicelio actualmente llamados filamentos. Se presenta bajo condiciones de cultivo semianaeróbico o facultativo y está formado por células elongadas que se mantienen unidas entre sí como una cadena y blastoconidias o blastosporas que están agrupadas en montones a lo largo del pseudomicelio, en los sitios en que los extremos finales de las células pseudomiceliales se empalman con otras. (15)

La composición química de *C. albicans* está representada por 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacáridos, mientras que la proporción de lípidos es variable. La fracción lipídica

va a depender de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y del origen de la fuente de carbono. Su pared celular está compuesta principalmente por los polisacáridos Manán, Glucán y Quitina. Aunque la síntesis de los componentes de la pared celular está dinámicamente influenciada por las condiciones de crecimiento y por los estadios metabólicos, en la literatura existen bastantes datos acerca de la composición química de dicha pared. El polisacárido manán representa aproximadamente entre 15,2% y 22,9% del peso seco y poco más de 40% de los polisacáridos de la pared celular del hongo. El D-Glucán β -1-3 y el D-Glucán β -1-6 constituyen entre 47% y 60% del peso seco de la pared celular. Otros componentes han sido reportados, tales como proteínas en cantidades que oscilan entre 6% y 25%, lípidos entre 1% y 7% y Quitina entre 0,6% y 9% del peso de la pared celular. Las proporciones de los componentes que constituyen la pared celular de las levaduras y de los tubos germinales es relativamente similar, aunque la cantidad de Glucán Alkali-soluble y Alkali-insoluble y de Quitina de *C. albicans* varía de acuerdo con la forma de crecimiento. (15)

Ecología

Los microorganismos del género *Candida* son oportunistas que se encuentran como comensales en cavidad bucal, intestino, vagina, secreción bronquial y piel del hombre y de ciertos animales. En la cavidad bucal la colonización es significativamente distinta de sitio a sitio. En la cavidad bucal de sujetos portadores de especies de *Candida*, *C. albicans* comprende entre 60% y 70% de los aislamientos, *C. tropicalis* comprende 7%, en tanto que *C. kruzei* y *C. guilliermondii* son aislados con mucha menor frecuencia. (15)

Una etapa temprana y esencial en el desarrollo de la candidiasis oral es la colonización por parte de *C. albicans*, este proceso involucra la adquisición, adherencia y mantenimiento de una población estable de levaduras. La cavidad oral posee muchos nichos para la colonización por parte de esta especie, incluyendo entre otras células epiteliales, prótesis

dental y células bacterianas de la flora bucal residente. No obstante, la capacidad de infección por *Candida* disminuye porque existe un equilibrio biológico con la flora comensal bacteriana. Las otras especies de *Candida* se encuentran en la piel, el tubo digestivo y en la naturaleza. *C. albicans* jamás está presente de manera prolongada en la piel sana, excepto en la región perianal. (15)

La presencia de *C. albicans* como comensal en las membranas mucosas de sujetos asintomáticos es común, por lo que, en sujetos sanos, existe un balance entre los mecanismos de defensa del hospedero y el potencial invasivo por parte de las levaduras. Sin embargo, cuando el sistema de defensa del hospedero se daña, tal y como ocurre en sujetos inmunosuprimidos o médicamente comprometidos, la infección por *C. albicans*, así como por otras especies de *Candida* puede derivar en el establecimiento de una candidiasis, la cual se puede manifestar bien sea de manera superficial, que involucra la mucosa bucal, o diseminada, la cual constituye una forma invasiva más seria. (15)

Diversas observaciones clínicas indican que los cambios en el hospedero son usualmente los responsables del desequilibrio ecológico. Estos cambios incluyen además de la disminución de los mecanismos de defensa del hospedero, reducción del flujo salival, disminución de las inmunoglobulinas, trauma local con pérdida de la integridad tisular, debilidad general, estados de malnutrición, cuando esta ocurre en sujetos con dietas ricas en carbohidratos, deficiencia de hierro, ácido fólico o vitamina B12, desórdenes endocrinos como hipotiroidismo, enfermedad de Addison (Insuficiencia adrenocortical) y diabetes mellitus, infección por VIH, alteraciones de la sangre tales como leucemia aguda y agranulocitosis, terapia antibiótica prolongada, quimioterapia, radioterapia, y xerostomía.

C. albicans se puede encontrar en condición facultativamente patógena, desde un estado saprofito simple, pasando por el comensalismo, hasta la situación de patógeno. En el ser humano se encuentra como comensal en el tracto respiratorio e intestinal, en la vagina y

boca, sobre la piel, donde reside con mayor frecuencia entre los pliegues naturales que son sitios relativamente calientes y de mayor humedad. (15)

Factores específicos que afectan la distribución de *Candida* en la cavidad oral

➤ Saliva:

Se ha demostrado que la saliva reduce la capacidad por parte de *C. albicans* de adherirse, mientras que el suero, el cual puede entrar en la cavidad bucal como resultado de un trauma en la mucosa, incrementa la adhesión. En otro estudio se sugirió que las mucinas salivales eran las que actuaban como receptores de las manoproteínas de superficie de *C. albicans*. Esto fue confirmado posteriormente al comprobarse que *C. albicans* adsorbía selectivamente las mucinas salivales, lo cual aumentaba la capacidad por parte de las levaduras de adherirse sobre la superficie de acrílico de las prótesis.

Se ha reportado que, en presencia de pH salival bajo y de altas tensiones de O₂ se altera el medio ambiente bucal, trayendo como resultado una reducción en el número de microorganismos de los Géneros *Veillonella*, *Neisseria* y *Micrococcus*, así como un incremento en el número de *S. mutans* y de especies pertenecientes a los Géneros *Candida* y *Lactobacillus*. (15)

➤ pH:

Se ha sugerido que el medio ambiente ácido favorece la colonización de la cavidad bucal por parte de especies de *Candida*. También se han observado valores bajos de pH en muestras de biopelículas obtenidas de prótesis removibles superiores de pacientes que mantenían dietas ricas en glucosa y sacarosa. (15)

➤ **Adhesión**

Las interacciones entre *C. albicans* y el hospedero son complejas. Se ha sugerido que en los mecanismos de adhesión están involucradas interacciones entre los ligandos de *Candida* y los receptores de las células hospederas. Por otra parte, se ha señalado que las blastosporas de *Candida* se adhieren mejor a las células de la mucosa bucal y al material de las prótesis, cuando se hallan en la fase estacionaria que cuando están en la fase exponencial de crecimiento. (15)

➤ **Hidrofobicidad de la superficie celular:**

Se ha demostrado que la hidrofobicidad de la superficie celular está relacionada con la adhesión de blastosporas de *Candida* a las células epiteliales humanas y a los materiales plásticos. La adhesión de las especies de *Candida* a las superficies plásticas es mediada por fuerzas de atracción de London-van der Waals (fuerzas hidrofóbicas y fuerzas electrostáticas). Asimismo, la habilidad de las especies de *Candida* para adherirse a las superficies de las prótesis, puede conferirles a estos microorganismos un acceso directo al hospedero humano. (15)

➤ **Bacterias de la cavidad bucal:**

Las bacterias pueden contribuir a la colonización y proliferación de especies de *Candida* en la cavidad bucal. Un estudio realizado puso en evidencia que la coagregación de *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis* y *Streptococcus anginosus* con *C. albicans* se incrementa en ausencia de glucosa. También se demostró que, al someter a las blastosporas de *Candida* al calor o a la presencia de proteasas, se elimina la coagregación con *S. sanguis* y con *S. gordonii*. (15)

En un estudio de data muy reciente, se ha comprobado que la adhesión de *C. albicans* a algunas especies de *Streptococcus* de la cavidad bucal, particularmente *S. gordonii* y *S. sanguis*, es promovida por la adsorción selectiva de las proteínas salivales ricas en prolina sobre la superficie celular de los cocos. Asimismo, se ha afirmado que, el reconocimiento selectivo de proteínas salivales adheridas a los cocos por parte de *C. albicans*, podría constituir un mecanismo para la colonización de esta especie en la cavidad bucal. (15)

➤ **Enzimas:**

Estudios realizados revelaron que la Fosfolipasa A y la lisofosfolipasa producidas por cepas de *C. albicans* firmemente adheridas a las células epiteliales bucales, eran las fosfolipasas con mayor actividad enzimática. Se ha sugerido que las hifas producidas por *C. albicans* pueden tener fosfolipasas, las cuales permiten su entrada a las células epiteliales del hospedero. También se ha reportado que las fosfolipasas extracelulares y las proteasas ácidas pueden activarse a pH bajos. Se ha demostrado que, las proteinasas juegan un papel importante en la adhesión y en la invasión de *Candida* al epitelio bucal. Por otra parte, se ha podido determinar que posterior a la ingestión de blastosporas de *Candida* por parte de los macrófagos, el hongo sintetiza rápidamente proteinasas, seguido de una actividad proteolítica y de la formación de tubos germinales por parte de las blastosporas fagocitadas que conllevan a la destrucción de los macrófagos. (15)

Cuando alguno de los factores mencionados está presente en un huésped que es portador de una prótesis dental, puede dar lugar a una estomatitis protésica. Desde el año 1936 se relaciona a la estomatitis protésica con la infección por *C. albicans* y esta asociación se ha confirmado posteriormente en numerosos trabajos.

ESTOMATITIS PROTÉSICA

La estomatitis protésica se define como un proceso inflamatorio de la mucosa oral relacionado con una prótesis removible y cuyos parámetros fundamentales son el eritema y la inflamación de la mucosa. La biopelícula comienza a colonizarse por *C. albicans* debido a que el PMMA presenta una superficie rugosa y porosa que actúa como un reservorio que favorece la adhesión de microorganismos; además de esto otros factores que favorecen la infección por *C. albicans* están: la cantidad y la calidad de saliva, el pH salival, la dieta del paciente, la temperatura, los tratamientos con antibióticos o corticoesteroides, cualquier tipo de inmunosupresión y la presencia de la misma prótesis. La estomatitis protésica está encuadrada dentro de las formas crónicas (candidiasis crónica atrófica) de la candidiasis oral. Otros autores la sitúan dentro de las lesiones asociadas a *Candida* junto con la queilitis angular y la glositis romboidea media. (12)

Clasificación

Desde el punto de vista clínico-patológico, la clasificación más clásica es la de Newton y Ostlund, según la cual podemos distinguir tres tipos de estomatitis protésica:

- **Tipo I, con focos hiperémicos.**

Aparece una inflamación de carácter focal de pequeña intensidad con un punteado rojizo, estaría producido por la oclusión de los conductos excretores de las glándulas salivales menores. La inflamación tiene un carácter local y está limitada a un área de la mucosa palatina en relación con la prótesis. Es el cuadro más banal y está estrechamente relacionado con el trauma protésico. (15)(16)

- **Tipo II, con hiperemia difusa**

Muestra una inflamación difusa con un enrojecimiento general en toda el área cubierta por la prótesis. Este tipo ha sido asociado a diferentes 50 factores etiopatogénicos, siendo los más importantes el trauma protésico y la infección por *C. albicans*. (15)(16)

- **Tipo III, con inflamación granular**

Se caracteriza por presentar una intensa inflamación con hiperemia de la mucosa y un aspecto nodular en el área cubierta por la prótesis. La granulación es más frecuente en la parte anterior y central del paladar. En este caso el factor etiopatogénico que aparece involucrado es la *C. albicans*, aunque siempre en relación con el trauma protésico acompañante. (15)(16)

Características clínicas.

Es mucho más frecuente en la mucosa palatina que en la mandibular, y empieza en forma de un punteado rojo diseminado, que progresivamente se torna más eritematoso y congestivo, para terminar con inflamación e incluso erosiones en la mucosa; la sintomatología suele ser escasa, en ocasiones los pacientes describen únicamente halitosis, gusto desagradable y sequedad de boca; y sólo al ulcerarse puede ocasionar dolor y sobre todo ardor. (16)

Etiopatogenia

La mayoría de los trabajos realizados coinciden en señalar el origen multifactorial de la estomatitis protésica, sin embargo, la presencia de biopelícula en la superficie de las dentaduras es el factor etiológico más importante. (16)

❖ Infección por *Candida*

Desde 1936 se ha relacionado a la estomatitis protésica con *Candida*, ya que para Cahn este agente patógeno era el principal responsable del proceso. A partir de ese momento se han realizado innumerables estudios en los que se ha demostrado esta relación según la cual, en los pacientes con estomatitis protésica existe un aumento significativo de *Candida* en relación con las personas con dentición natural e incluso con portadores de prótesis sin la enfermedad. De las diferentes especies de *Candida* encontradas en pacientes con estomatitis protésica son la *C. albicans*, aislada aproximadamente en un 35 % de los casos, y la *C. tropicalis* las más patógenas. No obstante, los hongos no son los únicos implicados, ya que existe un complejo grupo de microorganismos orales comensales y oportunistas capaces de provocar una disminución de la resistencia bucal frente a *Candida*, así, se ha demostrado un considerable aumento del porcentaje de *Streptococcus mutans* tras la colocación de una prótesis removible. A pesar de que existen divergencias referidas a la relación entre la estomatitis protésica y la cantidad de *Candida*, (número de levaduras por mm²), la mayoría de los autores creen en la existencia de una relación directa entre el número de hongos y su patogenia en la enfermedad. Se han descubierto hasta 18 cepas de 55 *Candida albicans* en la estomatitis protésica, siendo el serotipo A el principalmente involucrado. La mayoría los trabajos consultados permiten afirmar que *Candida* es un factor etiológico de primer orden en la estomatitis protésica sobre todo de los tipos II y III, pero no en el tipo I, aunque algunos estudios discutan su importancia. (16)

Otros de los factores importantes que pueden ocasionar estomatitis protésica son:

❖ Falta de limpieza de las prótesis

El insuficiente cuidado de la prótesis parece ser un factor predisponente para la candidiasis en portadores de prótesis. La biopelícula de la prótesis está compuesta por una capa de bacterias que se encuentra cubierta por una película variable de glicoproteínas salivales. El acúmulo biopelícula en la superficie de la base de la prótesis se encuentra en contacto con el epitelio oral, solo separada por una película salival y constituye un foco de infección donde especies microbianas actúan iniciando, agravando o manteniendo la enfermedad. (16)

La estomatitis protésica en los pacientes con grandes depósitos de biopelícula es continua, se encuentra en unión directa con el acrílico y contiene células de *Candida* dispersas entre las bacterias, restos celulares con células epiteliales del estrato intermedio y parabasal y leucocitos polimorfonucleares. En los pacientes sin depósitos macroscópicos hay una película heterogénea y un gran número de blastosporas. La correcta remoción del biopelícula combinada con el hecho de que los pacientes lleven sus prótesis únicamente durante el día, constituye un factor importante para el tratamiento con éxito de la estomatitis protésica. (10)

Una adecuada higiene de la prótesis es un factor importante para el mantenimiento de la salud de los tejidos orales, así como el de la salud en general. (17)

❖ Trauma protésico

El factor predisponente directo de la estomatitis protésica es la presencia de una prótesis removible, parcial o total, en la cavidad oral. La enfermedad se produce con mayor frecuencia en pacientes cuya prótesis está desajustada y carece de oclusión correcta. El trauma puede provocar una inflamación simple que normalmente no está colonizada por *Candida*, esta lesión correspondería al tipo I de la clasificación de Newton y Ostlund. (18)

Cuando una prótesis está desajustada, produce una alteración en el tejido que la soporta con disminución de la queratinización y de las fibras de colágeno de la submucosa, lo que se traduce en una disminución de las defensas hísticas locales, que aprovecha *Candida* para instalarse como patógeno sobreañadido a la lesión ya existente. Por ello, la estomatitis protésica es menos frecuente en pacientes con buenos rebordes alveolares donde el grado y frecuencia de trauma protésico es menor que en los que poseen bajos y estrechos rebordes. La estomatitis protésica está asociada al uso continuo de la prótesis debido a un aumento del trauma de la mucosa, junto a un mayor tiempo de exposición a la biopelícula y la posible alteración de su composición ya que el hecho de llevar la prótesis durante el día y la noche de forma continua está asociado a un incremento en la cantidad de *Candida* en la superficie palatina de las prótesis comparada con aquellas que se usan intermitentemente. Sin embargo, existen estudios que no encuentran diferencias significativas en la frecuencia de llevar la prótesis por la noche entre los portadores de prótesis con y sin candidiasis. (18)

DESINFECCIÓN

Se define como desinfectante a un agente químico que destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa o no esporulada. Los desinfectantes se aplican sobre objetos y/ o materiales inanimados, como instrumentos y superficies, con el fin de tratar y prevenir una infección. Dichos desinfectantes no tienen una actividad específica para algún grupo microbiano en particular, pero su aplicación espera reducir el número de microorganismos presentes en el ambiente a niveles inofensivos. (19) Una misma sustancia es capaz de afectar diferentes grupos de microorganismos y blancos celulares de forma simultánea. (20) Los métodos más utilizados para la limpieza y

desinfección de las prótesis dentales se dividen en dos grandes grupos: mecánicos y químicos.

Método mecánico

Es el más utilizado para la remoción de biopelícula acumulada en las dentaduras, se utilizan cepillos con jabones o dentífricos, sin embargo, existe gran cantidad de evidencia que nos señala que este método *per se* no es suficiente para la eliminación de los microorganismos de las bases de las prótesis, por lo que se recomienda combinarlo con el uso de desinfectantes. Otra desventaja que este método presenta es que si no se lleva a cabo la limpieza de la prótesis con una técnica correcta y se hace de una manera exagerada puede causar daños a la misma teniendo efectos como manchas persistentes y distorsión de los retenedores afectando su capacidad. De igual manera, son ineficaces en pacientes con limitación motora, ya que la remoción efectiva de la biopelícula requiere de cierto grado de destreza manual. (12)

Método químico

El método químico es el segundo método más popular para la desinfección de prótesis dentales, es superior al mecánico en cuanto al control de biopelícula y prevención de la estomatitis protésica asociada a *C. albicans*. (12)

Los métodos químicos se clasifican según su composición y mecanismo en: hipocloritos, peróxidos, enzimas, ácidos, medicamentos y enjuagues bucales para las dentaduras. (12)

La efectividad de estos agentes depende de su concentración, el tiempo de exposición y el pH. Por otra parte, Bell describe tres factores que afecta el tiempo requerido para la desinfección de una prótesis: concentración del material bacteriano, concentración del desinfectante y tipo de material expuesto del desinfectante. (12)

Agentes químicos de limpieza para prótesis dentales.

Hipoclorito alcalino

El hipoclorito de sodio es una de las sustancias químicas más utilizadas para la desinfección y es muy útil para remover manchas de las prótesis además de disolver algunos componentes salivales y otras sustancias orgánicas. Es un agente efectivo contra microorganismos patógenos como: Gram positivos, Gram negativos, hongos, esporas y virus siendo así bactericida y fungicida. (12)

Actúa de manera directa sobre la matriz orgánica de la biopelícula y causa la destrucción de la estructura del polímero del acrílico. El hipoclorito NO disuelve el cálculo dental, pero si inhibe la formación de este sobre las prótesis dentales. (12)

Desventajas

Corroen el metal con el que están elaborados los ganchos de las prótesis parciales removibles, restringiendo su uso a prótesis sin componentes metálicos, además blanquea el PMMA y su efectividad se ve disminuida cuando aumenta las concentraciones del material inorgánico. (12)

Si no es retirado de manera adecuada de la prótesis podría provocar una reacción alérgica que varían desde una sensación de ardor hasta un dolor intenso, provocando inflamación de la zona que estuvo en contacto con el tejido blando. (12)

Ácidos

Entre los ácidos diluidos encontramos el ácido clorhídrico al 3-5% con o sin ácido fosfórico y el ácido acético al 5% (vinagre blanco casero). Estas soluciones presentan una eficacia proporcional al grado de disociación del ácido. Son muy efectivos para eliminar manchas difíciles que resisten a los limpiadores tipo peróxidos. (12)

Desventajas

Tiene una alta capacidad de ocasionar corrosión a las estructuras metálicas que se encuentren presentes. (12)

Peróxidos alcalinos.

Son los más utilizados para la limpieza de las prótesis dentales, incluyen polvos y tabletas.

La inmersión de dentaduras dentales en peróxidos alcalinos es un método de higiene sencillo. Cuando estos peróxidos se disuelven en agua, se convierten en peróxidos de hidrógeno alcalinos, que se descomponen y liberan pequeñas burbujas de oxígeno causando una acción efervescente que tiene como efecto la limpieza mecánica de despegar la biopelícula de la superficie de la dentadura. Esta acción mecánica se produce solo durante un periodo de 10 a 15 minutos. (12)

Desventaja

Haggard afirma que no existen inconvenientes para la utilización de estos productos, solo se debe tener una extrema precaución de que no sean ingeridos por confusión con tabletas de antiácido. Shay, menciona que estos productos pueden ser incompatibles con materiales de rebase blando ya sea temporal o permanente. (12)

Desinfectantes

Los antisépticos orales, actualmente se consideran un complemento imprescindible en el tratamiento de la gingivitis y el control de biopelícula. (12)

Se ha reportado que sumergir las prótesis por unos minutos diariamente en una solución diluida de gluconato de clorhexidina o salicilato, produce una reducción de la sensación de ardor de la mucosa en pacientes con estomatitis protésica. Sin embargo, puede haber recurrencia una vez suspendido el tratamiento. (12)

- **Gluconato de clorhexidina**

La clorhexidina es un potente antiséptico del grupo de las biguanidas que actúa eficaz y rápidamente como bactericidas sobre microorganismos Gram positivos y Gram, negativos, pero poco eficaz sobre bacterias ácido resistentes, hongos o virus.

La clorhexidina desestabiliza y penetra las membranas de las células bacterianas precipitando el citoplasma e interfiriendo con la función de la membrana, inhibiendo la utilización del oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y la muerte celular. En las bacterias Gram negativas, la clorhexidina afecta a la membrana exterior permitiendo la liberación de enzimas periplasmáticas. (21)

ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales, resinas, extractos y especias son conocidos y utilizados desde la antigüedad en gran número de aplicaciones: perfumes, ambientadores, cosméticos, medicinas. El término “aceite esencial” fue utilizado por primera vez en el siglo XVI por Paracelso quien utilizó estos aceites esenciales como medicamentos y los consideró como la quinta esencia o un elemento inmaterial presente de todo ser. (22)

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias obtenidas de plantas, que presentan como características principales su compleja composición química y su carácter fuertemente aromático. Para la obtención de estos, se utilizan diferentes métodos, dos de los principales son la destilación por medio de arrastre de vapor y la extracción con solventes orgánicos. (22)

Se conoce que los aceites esenciales y sus componentes principales poseen un amplio espectro de actividad microbiana. Esto ha permitido que los aceites esenciales se presenten como buenos candidatos debido a compuestos presentes tales como terpenos y

terpenoides (1,8 cineol, carvacrol) y compuestos aromáticos (cinamaldehído y eugenol) que poseen actividad antimicrobiana ante una amplia gama de patógenos y con diversos espectros de actividad. Se reportó que el carvacrol aumenta la fluidez de la membrana y causa fuga de iones de potasio y protones, lo que resulta de un colapso potencial de membrana y la inhibición de la síntesis del ATP. (22)

La composición de los aceites esenciales varía de acuerdo con las diferentes partes de la planta de las cuales se extrae, y puesto que sus compuestos volátiles son los que presentan el efecto antimicrobiano, la determinación de su composición es importante. La actividad bactericida y antifúngica de estos aceites está relacionada con los fenoles y monoterpenos que poseen, debido a que son capaces de tener interacción directa con el citoplasma del patógeno. Su carácter hidrófobo se debe a que tienen la capacidad de alterar y penetrar en la estructura lipídica de la pared celular lo que lleva a la desnaturalización de las proteínas y a la destrucción de la membrana celular haciéndolas más permeables, lo que conduce a rupturas o fugas citoplasmáticas, lisis celular y eventualmente la muerte del microorganismo. Los efectos antimicrobianos de los aceites esenciales están relacionados con su composición y efectos citotóxicos, que causan daño a la membrana celular. (22)

Dado que el efecto antimicrobiano de cada aceite esencial es diferente su actividad antimicrobiana pueden ser evaluada como la concentración inhibidora mínima (CIM), la cual se define como la concentración mínima requerida del aceite esencial que tenga la capacidad de frenar el crecimiento del microorganismo (propiedades bacteriostáticas o fungistáticas) o concentración mínima letal que asegure la reducción de un 99.9% de la población del microorganismo (propiedades bactericidas y fungicidas). (22)

Eucalyptus globulus L (Eucalipto)

Nombre científico: *Eucalyptus. globulus L* (Eucalipto)

Familia: Mirtáceas

Características botánicas

El eucalipto es un árbol de origen australiano, lo podemos encontrar distribuido en varias regiones del mundo, es de gran utilidad para eliminar las zonas pantanosas ya que sus potentes raíces tienen la capacidad de absorber la humedad manteniendo el suelo firme y de esta manera eliminar: plagas, insectos, principalmente mosquitos, y de las enfermedades que lo transmiten. Su existencia es de gran ayuda para el control del paludismo en muchas zonas de Asia, América del Sur y actualmente se elabora el aceite esencial de eucalipto con fines terapéuticos como antiviral y expectorante. (23)

Sus hojas son ovaladas, de un color verde-azulado oscuro cuando son adultas: el aceite esencial obtenido de sus hojas tienen un olor agradable y puede actuar como un efectivo desinfectante natural. (23)

Composición química

La composición química que presenta el aceite esencial de la planta en estudio es muy diversa teniendo como componente principal el cineol o eucaliptol, el mismo que le da la acción bactericida, encontramos también: terpineol, carburos terpénicos, alcoholes alifáticos, aldehídos y cetonas. (23)

Posee una moderada cantidad de componentes detoxificantes que facilitan la eliminación de sustancias tóxicas dentro del organismo como el denominado Tanino, al igual que pigmentos, un heterósido fenólico complejo, resina y un principio amargo. (23)

Aceite esencial de eucalipto

En la práctica odontológica, el aceite esencial o extracto de eucalipto se incorpora en productos que se utilizan como soluciones. No debe administrarse por vía oral o aplicar a la piel tópicamente sin antes disolverlo para disminuir la toxicidad, ya que puede producir dolor e inflamación de las membranas mucosas. (23)

Propiedades terapéuticas

Algunos autores demuestran en sus investigaciones que el *Eucalyptus globulus* L (Eucalipto) tiene acción antibacteriana elimina bacterias patógenas que entran en contacto directo con el medicamento; antiviral ya que descongestiona las vías respiratorias eliminando la producción de moco existente en los pulmones; analgésico porque suprime el dolor y también tiene gran importancia en el campo síquico, ya que actúa como estimulante de relajación por su delicado aroma. (23)

Propiedades antimicrobianas

Se ha comprobado que el aceite esencial de eucalipto elimina a las bacterias, actúa como fungicida, tiene acción antimicrobiana experimentada en estudios *in vitro*, eficaz contra la tuberculosis o el virus causante de la rabia, además impide el crecimiento de los gérmenes o los elimina de manera precoz.

El principal componente que le confiere las propiedades antisépticas y bacteriostáticas es el cineol, también llamado eucaliptol por su abundante producción. (23)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La estomatitis protésica es la infección micótica con mayor prevalencia en pacientes con prótesis bucales removibles. La prevención de esta depende en gran medida del correcto mantenimiento y desinfección por parte del paciente. La alta prevalencia de esta infección asociada a prótesis removibles indica que los métodos de desinfección comerciales no son eficientes, accesibles o difíciles de emplear por parte del paciente.

JUSTIFICACIÓN

Los estudios recientes relacionados al uso de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* como agente desinfectante ha demostrado tener una gran eficacia para combatir diversos microorganismos relacionados a enfermedades bucales como la *Candida sp.* En la actualidad se buscan alternativas, ecológicas, económicas y eficientes para la limpieza y desinfección de prótesis bucales que a su vez mantengan la integridad estructural de la misma sin generar daños a corto, mediano y largo plazo, como el aceite esencial de *Eucalyptus globulus*.

HIPÓTESIS

El tratamiento de superficies de PMMA de uso dental con aceite esencial de *Eucalyptus globulus* evitará el crecimiento de *Candida albicans* en cultivos sólidos y tendrá un mejor efecto de inhibición de su desarrollo en comparación con agentes empleados en la desinfección de PMMA dental.

OBJETIVOS

General:

- Realizar pruebas de inhibición de crecimiento de *Candida albicans* sobre superficies de acrílico dental empleando aceite esencial de *Eucalyptus globulus* como agente inhibitorio de crecimiento celular.

Específicos:

1. Extraer aceite esencial de eucalipto mediante hidrodestilación.
2. Obtención y crecimiento de la cepa de *C. albicans*.
3. Elaboración de muestras de PMMA termo polimerizable para pruebas de inhibición de crecimiento de *C. albicans*.
4. Realizar pruebas de inhibición de crecimiento de *C. albicans* sobre las muestras de PMMA incubadas previamente con diferentes desinfectantes comerciales y el aceite esencial de eucalipto al 1%.
5. Realizar el análisis de resultados mediante la medición de los halos de inhibición y comparativos estadísticos.

METODOLOGÍA

1.- Obtención del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*

Para la obtención del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* se utilizó la hidrodestilación. El procedimiento consistió en colocar 500gr de biomasa (hojas de *Eucalyptus globulus*) en un matraz Kitasato con 250 ml de agua desionizada, para posteriormente llevar a ebullición donde el vapor resultante entrará a un tubo condensador que al enfriarlo dará como resultado dos fracciones líquidas: hidrolato y aceite esencial.

2.- Preparación del medio de cultivo

Para la preparación del medio de cultivo, se agregaron 150 mL de agua desionizada en un matraz de Erlenmeyer para posteriormente agregar 4.5 g de caldo dextrosa Sabouraud (Difco, USA) y 1.5 g de agar bacteriológico (BD Bioxon, México) para conseguir una concentración al 1%. El medio de cultivo fue esterilizado por autoclave y se prepararon placas de cultivo en una campana de flujo laminar (Air Science).

3.- Cepa de *Candida albicans*

Se utilizó la cepa ATCC 40028 de *Candida albicans* la cual fue obtenida del Laboratorio de Biología Periodontal de la Facultad de Odontología de la UNAM, esta fue sembrada en 10 placas de agar dextrosa Sabouraud (Difco, USA) para poder llevar a cabo las pruebas de inhibición de crecimiento de *C. albicans* sobre acrílico dental.

4.- Elaboración de muestras de PMMA para pruebas de crecimiento de *Candida albicans*

Para el estudio inhibición del crecimiento de *Candida albicans* sobre superficies de PMMA en presencia de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y agentes desinfectantes

comerciales, se elaboraron 33 placas circulares de 10mm de diámetro por 2mm de grosor de acrílico termo curable de la marca NicTone® tono R2V.

5.- Pruebas de inhibición de crecimiento de *C. albicans* sobre placas de PMMA

La eficacia de *Eucalyptus globulus* como inhibidor del crecimiento de *Candida albicans* se midió comparando su efecto contra dos agentes comerciales de desinfección de prótesis removibles bucales, Corega® Tabs (Bicarbonato de sodio 38,25% p/p; Ácido cítrico anhidro 20,00% p/p; Carato de potasio 12,00% p/p (Monopersulfato de Potasio); Carbonato de sodio anhidro; Percarbonato de sodio 8,00% p/p; Tetraacetilendiamina; Benzoato de sodio; Polietilenglicol 8000; Lauril sulfato de sodio) y Microdacyn® Bucofaríngeo (Hipoclorito de sodio 0.2mg, Ácido hipocloroso 0.8mg, Cloro libre 1mg, Agua de superoxidación, c.b.p 100ml).

Las superficies de los discos de PMMA de los grupos experimentales se incubaron durante 5 minutos con el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* a una concentración del 1% (Grupo 1), con Corega® Tabs (Grupo 2) y con Microdacyn® (Grupo 3), (Tabla 2) mientras fueron homogeneizadas para asegurarse que las superficies queden totalmente impregnadas de las soluciones.

Una vez incubados los discos con el aceite esencial y las soluciones de estudio, estos se colocaron por triplicado sobre una placa de agar dextrosa Sabouraud (Difco, USA) previamente sembrada con 47 µl de la cepa 20028 de *C. albicans* en estría masiva y cultivadas a 37°C por 48 horas.

El resultado esperado en este procedimiento fue la formación de halos de inhibición de crecimiento de *Candida albicans*, los cuales serán monitoreados, medidos y fotografiados a las 24 y 48 horas respectivamente.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Acrílico termocurable NicTone® + <i>Candida albicans</i> + 1% de Aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i>	Acrílico termocurable NicTone® + <i>Candida albicans</i> + 1ml de Microdacyn® Bucofaríngeo	Acrílico termocurable NicTone® + <i>Candida albicans</i> + 1 tableta de Corega® Tabs

Tabla 2. Grupos de estudio

6.- Análisis de resultados

Las pruebas de inhibición de crecimiento fueron analizadas mediante la medición de la formación de halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* a partir de las placas circulares de PMMA. De existir formación de halos de inhibición para cada grupo, estos serán medidos por placa, promediados y analizados por la prueba estadística ANOVA, esperando que los grupos en los que se empleó el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* tenga un mejor desempeño ante los desinfectantes comerciales.

RESULTADOS

1.- Obtención del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*

Se obtuvo un rendimiento de 1.5 ml de aceite esencial de eucalipto.

2.- Preparación del medio de cultivo

Se obtuvo una mezcla homogeneizada de agar dextrosa Sabouraud (Difco, USA) (Imagen 1) que fue distribuido en 10 placas Petri para su gelificación (Imagen 2).

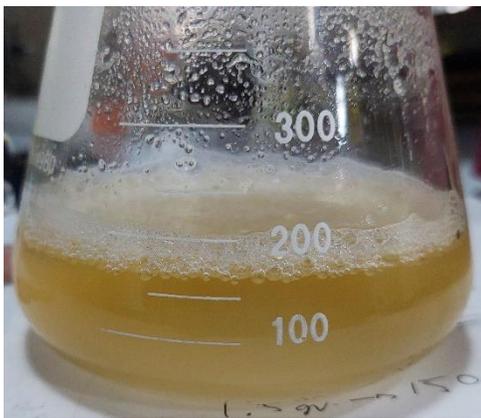


Imagen 1. Mezcla homogeneizada de agar dextrosa Sabouraud.



Imagen 2. Medios de cultivo gelificados de agar dextrosa Sabouraud

3.- Cepa de *Candida albicans*

Fueron sembrados 47 μ l de una suspensión estandarizada de *Candida albicans* a una densidad óptica de 1 a 600nm, los cuales fueron tomados con una micropipeta para ser colocado en gota en la esquina superior de cada una de las placas de agar dextrosa Sabouraud, posteriormente se sembró con la técnica de estría masiva, y se incubó a 37°C ya con las muestras de acrílico procesadas y colocadas.

4.- Elaboración de muestras de acrílico para pruebas de crecimiento de *Candida albicans*

Se preparó el PMMA termopolimerizable en una proporción de acuerdo a las instrucciones del fabricante (NicTone® R2V) donde fueron agregadas dos partes de polímero termopolimerizable y una parte de monómero termopolimerizable (si es que la preparación es por peso) o tres partes de polímero y una parte de monómero (si es que la preparación es por volumen). La preparación de la mezcla se realizó en un recipiente de vidrio en el cual fue colocado el polímero y después se colocó monómero, se mezcla en forma de cruz continuamente durante 30 segundos aproximadamente, esto con la finalidad de que todas las partículas del polímero se incorporen de manera adecuada con el monómero. Una vez homogeneizada la mezcla, se tapa el recipiente para evitar la inclusión de aire hasta que la mezcla se encuentre en la etapa plástica (la mezcla no debe adherirse a la espátula o a las paredes del recipiente). Mientras la mezcla entraba en etapa plástica, se preparó una loseta de vidrio con una ligera capa de vaselina para evitar que el acrílico se pegara en ella y se colocaron monedas de 2mm de grosor en cada una de las esquinas de la loseta. Una vez teniendo la mezcla lista, es recolectada para moldearla en forma esférica y colocada en medio de la loseta, después se colocó una segunda loseta encima y se presionó hasta cubrir la totalidad de la superficie de la loseta, esto con la finalidad de obtener una placa de PMMA con un grosor de 2 mm. Posteriormente, la placa se colocó en un recipiente con agua en punto de ebullición para que así finalice su proceso de polimerización.

Una vez obtenida la placa de PMMA con un grosor de 2 mm (imagen 3), se utilizó una trefina de 10 mm (imagen 4) para cortar el disco de PMMA inicial (imagen 5) y así obtener discos de 10 mm de diámetro por 2 mm de grosor. Finalmente, los discos obtenidos fueron colocados en frascos de vidrio con agua para ser esterilizados (imagen 6).

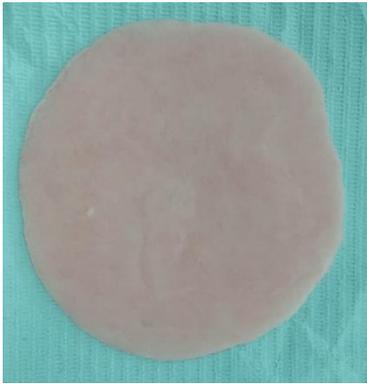


Imagen 3. Disco de PMMA inicial para cortes



Imagen 4. Trefina con diámetro de 10mm

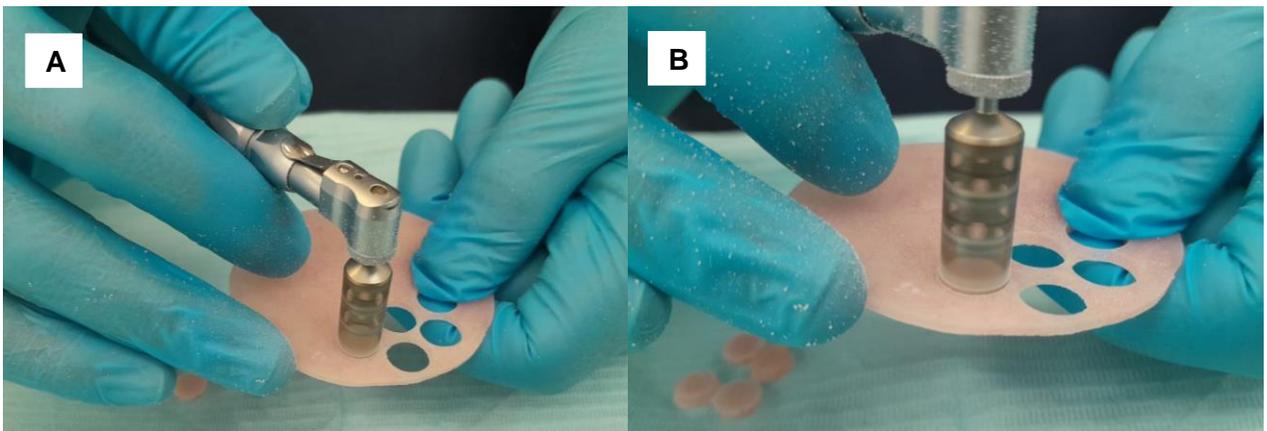


Imagen 5. A y B. Proceso de elaboración de las muestras



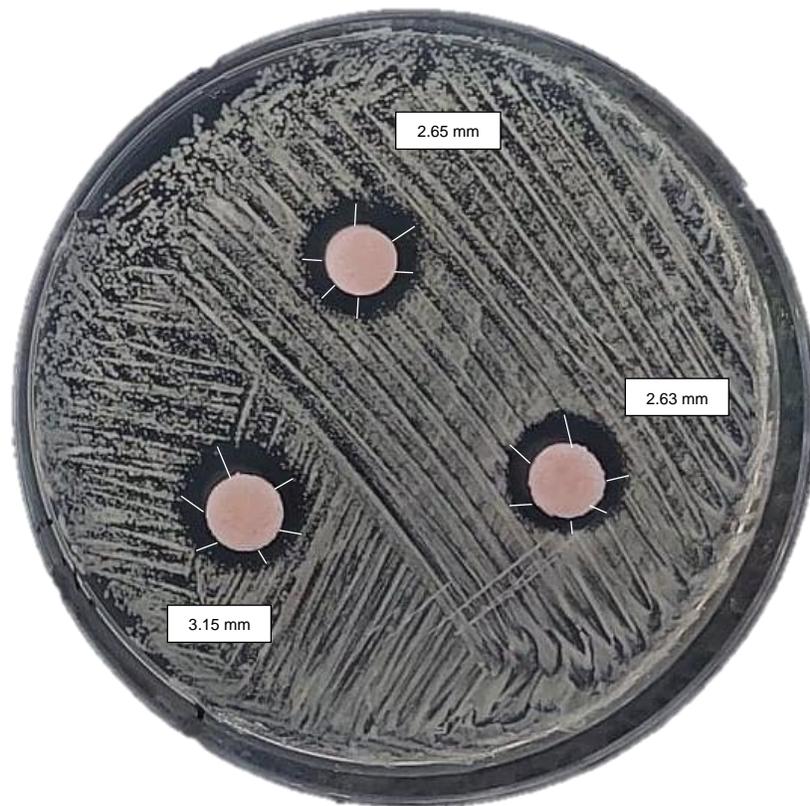
Imagen 5. Discos de PMMA esterilizados en frascos de vidrio

5.- Pruebas de inhibición de crecimiento de *C. albicans* sobre placas de PMMA

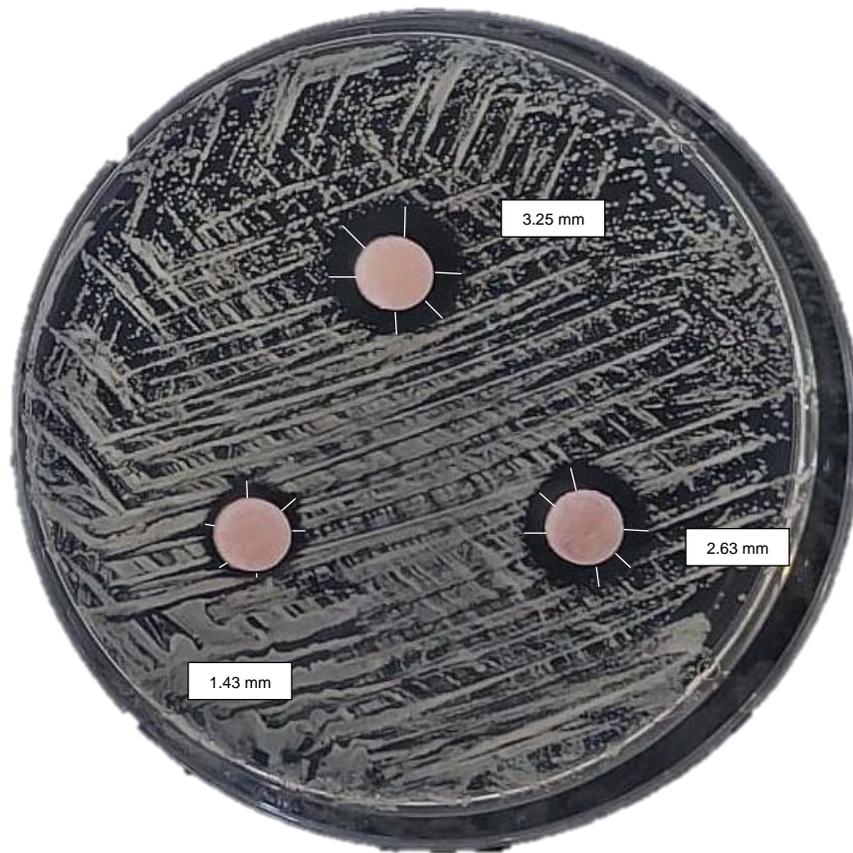
Una vez esterilizados los discos, estos fueron sometidos a incubarse durante 5 minutos en cada uno de los desinfectantes comerciales elegidos, así como en el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 1% (495 μ l de agua con 5 μ l de aceite esencial), ya que los tiempos máximos de empleo de cada material es de 5 minutos, así las condiciones serían favorables para todos las soluciones. Una vez incubados por 5 minutos en cada una de las soluciones de estudio, fueron colocados inmediatamente en las placas sembradas con anterioridad y se dejó incubando a 37°C para ser fotografiados a las 24 y 48 horas posteriores.

Efecto antimicótico del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* a las 24 horas.

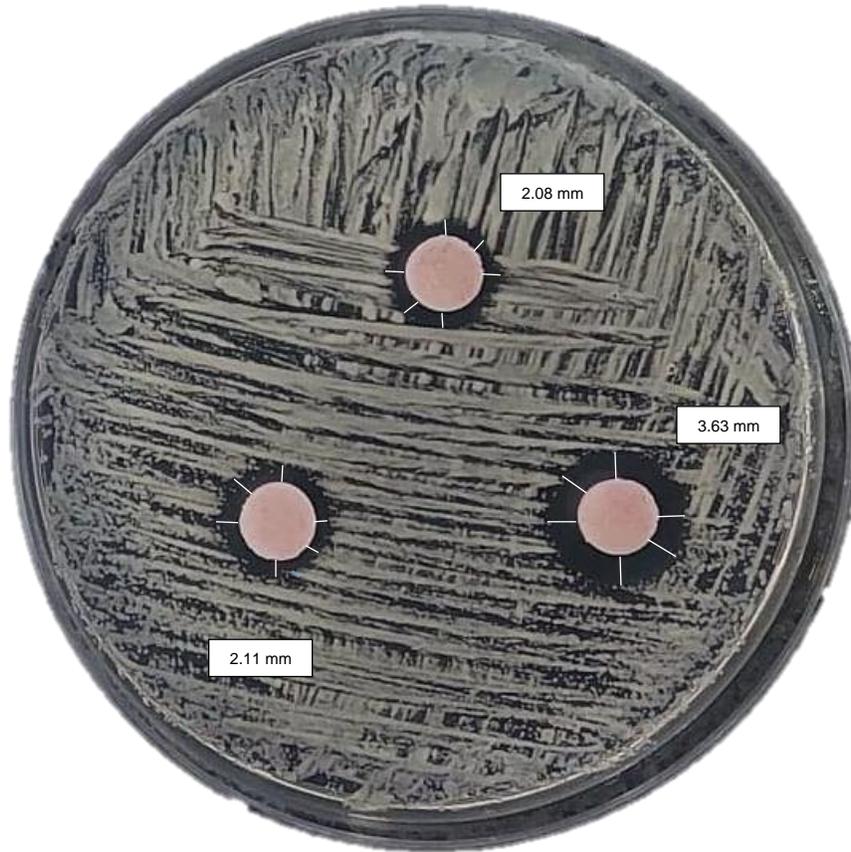
Al utilizar aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 1% sobre las muestras de PMMA y ser incubado con la cepa de *Candida albicans* durante 24 horas, se observa que se presenta una inhibición de crecimiento de las colonias de *C. albicans*. Los resultados de formación de halo de inhibición del crecimiento de *C. albicans* sobre superficies de acrílico empleando *E. globulus* al 1% fueron los siguientes:



Prueba 1. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 1% a las 24 horas



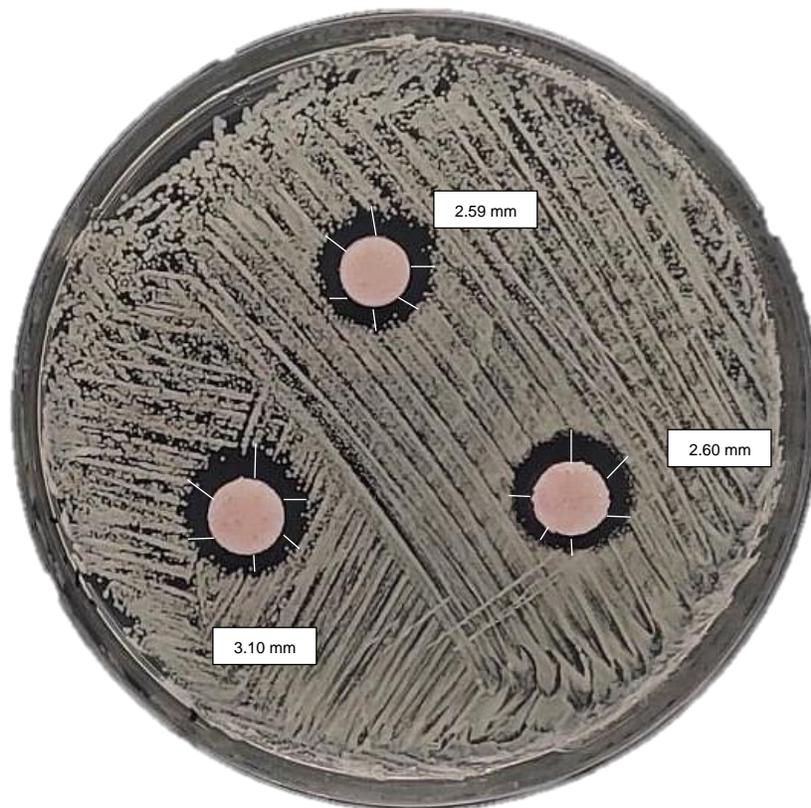
Prueba 2. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 1% a las 24 horas



Prueba 3. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 1% a las 24 horas

Efecto antimicótico del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* a las 48 horas

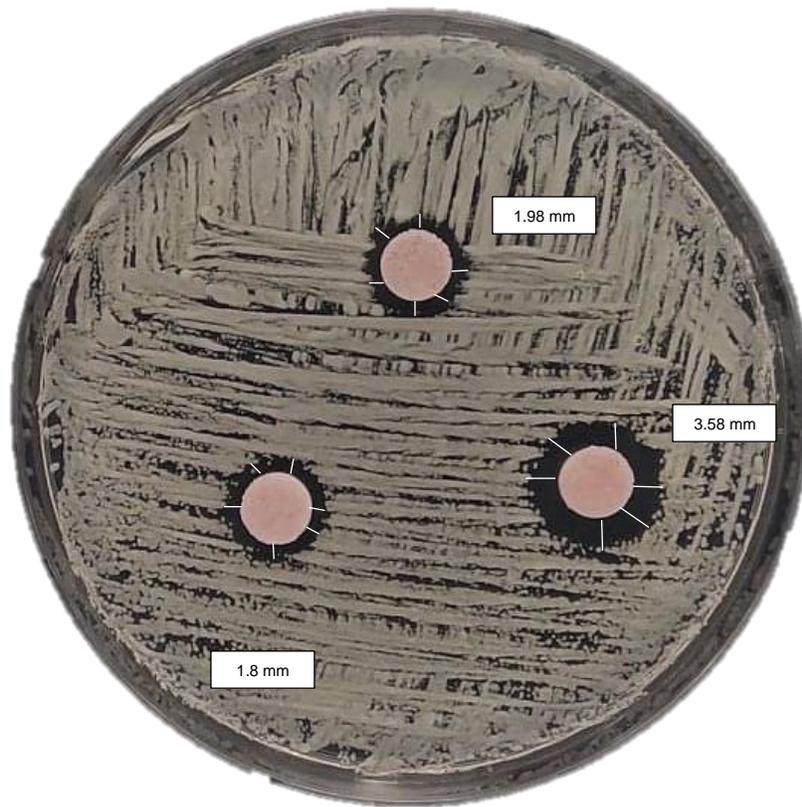
Al utilizar aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 1% sobre las muestras de PMMA y ser incubado con la cepa de *Candida albicans* durante 48 horas, se observa que se presenta una inhibición de crecimiento de las colonias de *C. albicans* y que este tiene un aumento. Los resultados de formación de halo de inhibición del crecimiento de *C. albicans* sobre superficies de PMMA empleando *E. globulus* al 1% fueron los siguientes:



Prueba 1. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 1% a las 48 horas



Prueba 2. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 1% a las 48 horas



Prueba 3. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 1% a las 48 horas

Efecto antimicótico del Microdacyn a las 24 horas

Al utilizar Microdacyn sobre las muestras de PMMA y ser incubado con la cepa de *Candida albicans* durante 24 horas, se observa que se presenta una inhibición de crecimiento de las colonias de *C. albicans* nula. Los resultados de formación de halo de inhibición del crecimiento de *C. albicans* sobre superficies de PMMA empleando Microdacyn fueron los siguientes:



Prueba 1. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de Microdacyn.a las 24 horas.



Prueba 2. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de Microdacyn.a las 24 horas.



Prueba 3. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de Microdacyn.a las 24 horas.

Efecto antimicótico del Microdacyn a las 48 horas

Al utilizar Microdacyn sobre las muestras de PMMA y ser incubado con la cepa de *Candida albicans* durante 48 horas, se observa que no hay un cambio significativo sobre la inhibición de crecimiento de las colonias de *C. albicans*. Los resultados de formación de halo de inhibición del crecimiento de *C. albicans* sobre superficies de acrílico empleando Microdacyn fue nula y se observa de la siguiente manera:



Prueba 1. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de Microdacyn.a las 48 horas.



Prueba 2. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de Microdacyn.a las 48 horas.



Prueba 3. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de *Microdacyn.a* a las 48 horas.

Efecto antimicótico de Corega Tabs a las 24 horas

Al utilizar Corega Tabs sobre las muestras de PMMA y ser incubado con la cepa de *Candida albicans* durante 24 horas, se observa que la inhibición de crecimiento de las colonias de *C. albicans* fue mínima. Los resultados de formación de halo de inhibición del crecimiento de *C. albicans* sobre superficies de PMMA empleando Corega Tabs se observa de la siguiente manera:



Prueba 1. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados con Corega Tabs a las 24 horas.



Prueba 2. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados con Corega Tabs a las 24 horas.



Prueba 3. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados con Corega Tabs a las 24 horas.

Efecto antimicótico de Corega Tabs a las 48 horas

Al utilizar Corega Tabs sobre las muestras de PMMA y ser incubado con la cepa de *Candida albicans* durante 48 horas, se observa que no hay un cambio significativo sobre la inhibición de crecimiento de las colonias de *C. albicans*. Los resultados de formación de halo de inhibición del crecimiento de *C. albicans* sobre superficies de acrílico empleando Corega Tabs fue mínima y se observa de la siguiente manera:



Prueba 1. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de Corega Tabs a las 48 horas.



Prueba 2. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de Corega Tabs a las 48 horas.



Prueba 3. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de Corega Tabs a las 48 horas.

Efecto antimicótico de Fluconazol a las 24 y 48 horas

(única prueba)

Al utilizar el antimicótico Fluconazol sobre las muestras de PMMA, se observa que se presenta una nula inhibición de crecimiento de las colonias de *C. albicans* ya que no se muestra halo de inhibición a las 24 horas (Prueba 1) ni a las 48 horas posteriores. (Prueba 1.5).



Prueba 1. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de Fluconazol a las 24 horas.



Prueba 1.5. Prueba de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* con discos de PMMA incubados de Fluconazol a las 48 horas.

6.- ANÁLISIS DE RESULTADOS

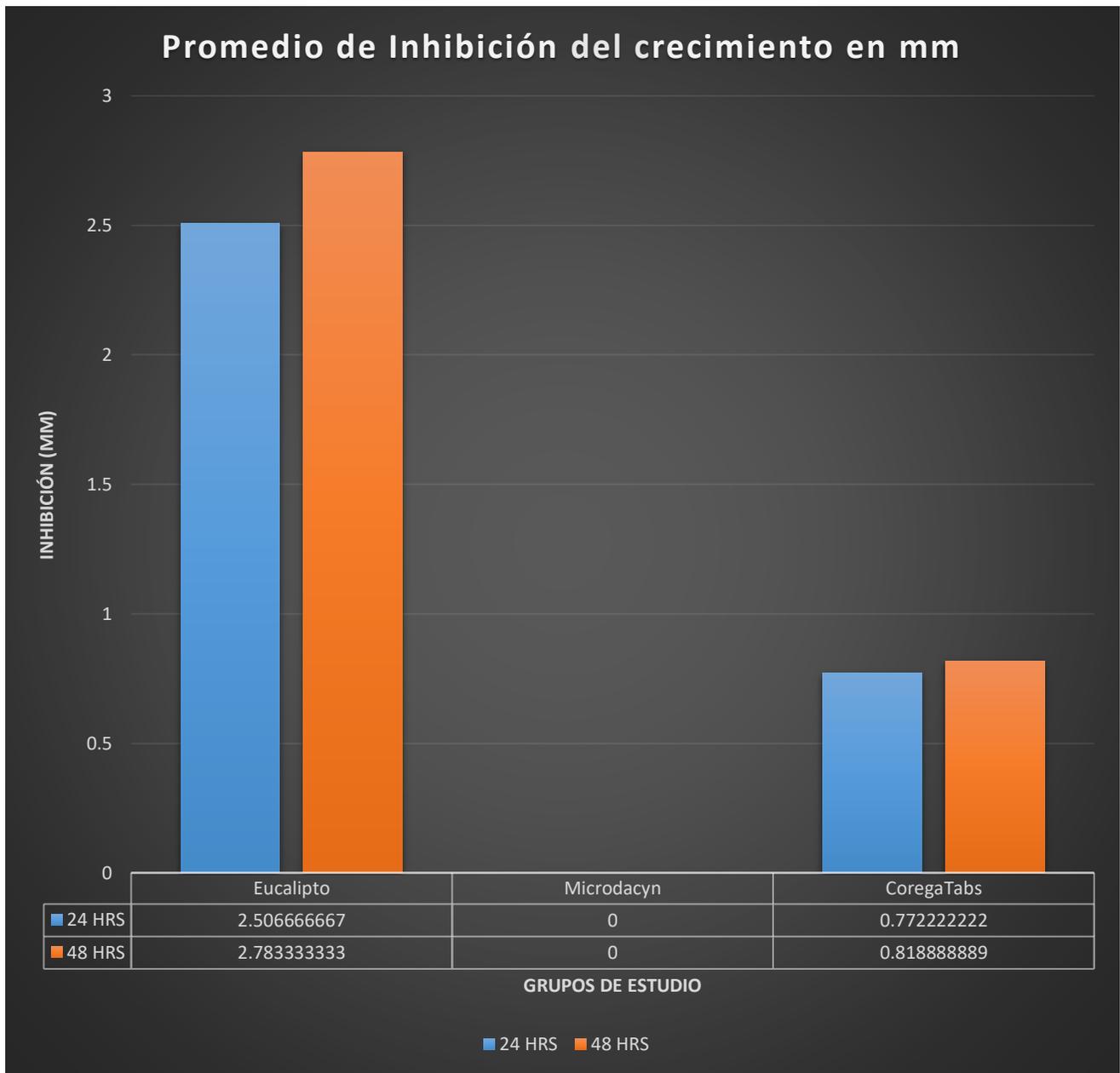
Derivado de los experimentos de inhibición de crecimiento de *C. albicans* sobre superficies de PMMA, se tomaron medidas de los halos de inhibición generados en los diversos grupos de estudio. (Tabla 3)

	Eucalipto 24 HR	Eucalipto 48 HR	Microdacyn 24 HR	Microdacyn 48 HR	Corega Tabs 24 HR	Corega Tabs 48 HR
Prueba 1	2.65 mm	2.59 mm	0 mm	0 mm	0.83 mm	0.8 mm
	2.63 mm	2.60 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
	3.15 mm	3.10 mm	0 mm	0 mm	0.43 mm	0.4 mm
Prueba 2	3.25 mm	3.16 mm	0 mm	0 mm	0.91 mm	1.16 mm
	2.63 mm	2.59 mm	0 mm	0 mm	0.8 mm	0.73 mm
	1.43 mm	1.40 mm	0 mm	0 mm	0.96 mm	0.86 mm
Prueba 3	2.08 mm	1.98 mm	0 mm	0 mm	1.03 mm	1.05 mm
	3.63 mm	3.58 mm	0 mm	0 mm	1.06 mm	1.11 mm
	2.11 mm	1.80 mm	0 mm	0 mm	0.93 mm	1.26 mm

Tabla 3. Milímetros de inhibición de los agentes empleados para la inhibición del crecimiento de *C. albicans* sobre superficies de polimetilmetacrilato.

Para el análisis gráfico, los datos de cada grupo fueron promediados y graficados (Gráfica 1), para observar las diferencias que existían entre la formación de los halos de inhibición expresado en mm obtenidos en la fase experimental. Se puede observar que el efecto del aceite esencial de *E. globulus* incubado a 24 horas tiene una acción tres veces mayor (2.5 mm) en comparación con el grupo donde se empleó Corega Tabs (0.77 mm) y Microdacyn (0.0 mm) como agente de inhibición del crecimiento de *C. albicans*.

El efecto del aceite esencial de *E. globulus* incubado a 48 horas tiene un efecto mayor (2.78 mm) de inhibición al compararlo con el efecto de Corega Tabs (0.81 mm) y de Mycrodacyn (0.0 mm), donde podemos observar que el efecto inhibitorio del crecimiento se mantiene y tiene un ligero aumento con el paso de las horas de incubación.



Gráfica 1. Comparación de promedios de inhibición en milímetros del crecimiento de *C. albicans* a las 24 y 48 horas.

Los datos obtenidos de la medición de los halos de inhibición (Tabla 3) fueron analizados empleando el software STATA 12 (StataCorp. 2011. *Stata Statistical Software: Release 12*. College Station, TX: StataCorp LP.) mediante un análisis estadístico con la prueba ANOVA de una vía con una confianza del 95% con el cumplimiento de supuesto de normalidad.

Los resultados del análisis de comparación de grupos a las 24 horas de incubación (Tabla 4) indican una F calculada de 80.3, mientras que la F de tabla (Anexo 1) corresponde a 3.403.

Siguiendo la siguiente regla de decisión: Si F calculada es mayor que F de tablas se rechaza la hipótesis nula (H0) la cual establece igualdad en la media de todos los grupos; el resultado obtenido fue: 80.3 (F calculada) \geq 3.403 (F tablas) ^{**} se rechaza la H0, la cual indica la homogeneidad de grupos, teniendo así la existencia de una diferencia significativa entre los grupos de estudio analizados.

En ambas pruebas estadísticas se obtuvo una $p \leq 0.05$, lo que indica la significancia de estas.

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	29.6640083	2	14.8320042	80.22	0.0000
Within groups	4.43715604	24	.184881502		
Total	34.1011643	26	1.31158324		
Bartlett's test for equal variances: chi2(1) = 3.0046 Prob>chi2 = 0.083					
note: Bartlett's test performed on cells with positive variance: 1 multiple-observation cells not used					

Tabla 4. Análisis estadístico ANOVA de una vía de las medidas de halo de inhibición.

Tiempo de incubación de 24 horas.

El análisis de resultados que compararon a los grupos con 48 horas de incubación (Tabla 5) indican una F calculada de 60.63, mientras que la F de tabla (Anexo 1) corresponde a 3.403. Siguiendo la siguiente regla de decisión: Si F calculada es mayor que F de tablas se rechaza la hipótesis nula (H0) la cual establece igualdad en la media de todos los grupos; el resultado obtenido fue: $60.63 (F \text{ calculada}) \geq 3.403 (F \text{ tablas})^{**}$ se rechaza la H0, la cual indica la homogeneidad de grupos, teniendo así la existencia de una diferencia significativa entre los grupos de estudio analizados.

Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	36.8296969	2	18.4148485	60.63	0.0000
Within groups	7.28888877	24	.303703699		
Total	44.1185857	26	1.69686868		
Bartlett's test for equal variances: chi2(1) = 3.9987 Prob>chi2 = 0.046					
note: Bartlett's test performed on cells with positive variance: 1 multiple-observation cells not used					

Tabla 5. Análisis estadístico ANOVA de una vía de las medidas de halo de inhibición.

Tiempo de incubación de 48 horas.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se demostró la eficacia del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* como agente antimicótico aplicado sobre el PMMA. En investigaciones realizadas por Baptista (24) demuestra que los aceites esenciales de *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus tereticornis*, *Eucalyptus citriodora* y *Eucalyptus odorata*, tienen actividad antimicrobiana relevante contra bacterias y hongos, incluyendo dermatofitos y *Candida albicans*. Un estudio realizado por Montero (25) comprobó la efectividad del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* contra microorganismos bacterianos como lo son *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* sin embargo la concentración utilizada para la inhibición de crecimiento fue del 30 al 90%, mientras que en nuestro trabajo se utilizó la concentración del 1% Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) aplicado durante 5 minutos sobre las muestras de PMMA para inhibir el crecimiento de *Candida albicans*. Este dato es relevante ya que se tienen resultados inhibitorios del crecimiento *Candida albicans* con una porcentaje mínimo de aceite, esto tiene como ventajas la disminución de costos en la desinfección de superficies acrílicas protésicas, además, la disminución en la concentración de un agente enfocada en la inhibición del crecimiento de un agente biológico permite que este no tenga interacciones prolongadas o adversas con los materiales protésicos, generando algún cambio estructural o con el hospedero, provocando reacciones alérgicas.

La acción fungicida del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* se debe a los compuestos terpenoides fenólicos, principalmente el carvacrol y timol. (26) El mecanismo de acción primario del timol implica la interrupción de la producción de ATP, la disrupción de la pared celular y la membrana citoplasmática asociada la interacción con proteínas de membrana y se incluyen algunos objetivos intracelulares como la desintegración de la membrana mitocondrial. El timol (o 2-isopropil-5-metilfenol) es isomérico con carvacrol presente en el

aceite de eucalipto y otras plantas. (27)(28) La acción del carvacrol también se orienta a la descomposición a través del daño de la membrana, la fuga del contenido citoplasmático y el agotamiento del ergosterol. El carvacrol inhibe la biosíntesis de ergosterol y la alteración de la integridad de la membrana celular y el aumento de la permeabilidad de la membrana que conduce a la fuga de iones de potasio y otros componentes citoplasmáticos. (29) La importancia del efecto del aceite sobre las células fúngicas, puede darnos cierta orientación sobre la toxicidad selectiva que tiene este agente. Sin embargo, se deben realizar más pruebas que permitan confirmar esta hipótesis y poder indagar más sobre la molécula específica a la cual se le puede atribuir la capacidad inhibitoria del crecimiento celular.

El uso de aceites esenciales como una alternativa de agente inhibidor del crecimiento de *C. albicans* es una nueva propuesta que ayuda a sustentar los procesos de química verde (30), reduciendo la generación de sustancias peligrosas para el medio ambiente, un proceso que se contrapone a la producción de agentes comerciales para limpieza y desinfección de prótesis dentales en la actualidad, las cuales emplean procesos químicos de síntesis clásicos que generan una cantidad de desechos y contaminantes nocivos para el planeta.

El uso de desinfectantes comerciales como los descritos en el presente trabajo tienen múltiples defectos en su campo aplicable, a tiempos cortos de trabajo presentan baja o nula actividad inhibitoria del crecimiento de *C. albicans*. En el campo de la relación costo beneficio de los resultados que pueden obtenerse, los agentes comerciales presentan costos elevados para los resultados que se obtienen con su uso, sin embargo, el aceite esencial de *E. globulus* puede convertirse en una opción viable de agente desinfectante para personas portadoras de prótesis bucales que pertenezcan a estratos socioeconómicos bajos, esto debido a la baja cantidad del compuesto que debe emplearse para tener una actividad inhibitoria de crecimiento de *C. albicans* y su costo de producción.

CONCLUSIONES

El uso del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* como profiláctico a emplear sobre superficies confeccionadas con PMMA demostró ser eficaz contra *Candida albicans* mientras que los desinfectantes comerciales que son sugeridos no actúan de manera eficaz contra dicho microorganismo.

El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* tiene un costo accesible para pacientes con bajos recursos, ya que el proceso para su obtención es sencillo. Es importante mencionar que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del 1% de concentración lo cual da una ventaja enorme al solo utilizar una mínima cantidad de aceite esencial para obtener la eficacia necesaria haciendo rendir el producto.

La preparación de dicho profiláctico es sencilla y no necesita de un tiempo de exposición prolongado para obtener una inhibición de crecimiento efectiva, sin embargo, se sugiere que entre mayor tiempo de exposición haya con el aceite, la inhibición de crecimiento de *C. albicans* será mayor.

REFERENCIAS

1. Peralta Mas FB. Necesidad y situación de prótesis dentales en adulto que acuden a la clínica dental docente de la UPCH de julio a septiembre en el año 2015 (tesis en línea). Lima: Universidad Peruana Cayetano Herrera. Facultad de Estomatología, 2017. Disponible en: http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/844/Necesidad_PeraltaMas_Fatim
2. American Cancer Society. Definición de prótesis. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/tratamiento/tratamientos-y-efectos-secundarios/efectos-secundarios-fisicos/protesis.html> (Revisado: Septiembre 09, 2022).
3. Guarat Casamayor, Mayra. Protesis dental. Apuntes sobre su historia. Artículo histórico. Hospital general docente "Dr. Agostinho Neto". Guantanamo. Cuba.
4. Cervantes F, Garcia de Souza, Paradella T, et al. Effect of sodium bicarbonate on Candida albicans adherence to thermally activated acrylic resin. Braz Oral Res. 2009 Oct-Dec;23(4):381-5
5. Solórzano Lemus Fernando, Venegas Lancón Rogelio Danovan, Moreno Maldonado Víctor, López Morales Salvador. Determinación de monómero residual de metacrilato de metilo en 3 diferentes marcas comerciales para base de dentaduras por cromatografía de gases. Rev. Odont. Mex 2010. 14(2): 91-98.
6. Anusavice K. Philips. Ciencia de los Materiales Dentales Madrid: Elsevier; 2004.
7. Craig R.G. Materiales de Odontología Restauradora. Capítulo 6: Polimeros y polimerización. 1ª Ed. Mexico: Editorial Harcourt Brace; 1998. P. 127-35

8. Barceló Santana, Federico Humberto. Materiales dentales. Conocimientos básicos aplicados. Tercera edición, México. Trillas 2008.
9. Vega del Barrio J.M^a. Materiales en Odontología. Fundamentos biológicos, clínicos, biofísicos y físico-químicos. 1^a Ed Barcelona: Editorial Avances; 1996. P 222-232 y 279-289.
10. Macchi. Materiales dentales. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana.
11. Serrano C. Estudio in vitro de la adherencia de *Candida albicans* a las resinas acrílicas. Tesis. Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid. 2002
12. Ucar Barroeta, Adriana, Rojas de Méndez, Gladys, & Ballester Lelis, Antonio. (2007). Acción de agentes químicos en la eliminación de *Candida albicans* sobre Prótesis Dentales. *Acta Odontológica Venezolana*, 45(2), 172-177.
13. Costa P, Machado I, Peracini A et al. The effectiveness of chemical denture cleansers and ultrasonic device in biofilm removal from complete dentures. *J Appl Oral Sci*. 2011;19(6):668-73.
14. Rubio D. Estudio de la capacidad de inhibición del crecimiento bacteriano de los adhesivos autograbantes frente a gérmenes de la cavidad oral. Tesis. Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid. 2013.
15. Pardi, German. Cardozo, Elba. Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. *Acta odontol. Venezolana*. 2002 Ene 40(1):9-17.
16. Lazarde, Janet. Estomatitis Subprotésica. *Acta odontol. venez [online]*. 2001, vol.39, n.3 [citado 10 junio 2022], pp.9-17. Disponible en: <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652001000300003&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0001-6365.

17. Rojas, R. Eficacia antibacteriana in vitro del extracto de hoja de coca en comparación con clorhexidina frente a Staphylococcus y Streptococcus. Tesis. Facultad de Odontología de la Universidad de Huánuco. 2011
18. Gleiznys A, Zdanavičienė E, Žilinskas J, Dds –, prof Eglė Zdanavičienė assoc, DDS Juozas Žilinskas –. Candida albicans importance to denture wearers. A literature review. Stomatol Balt Dent Maxillofac J Rev Stomatol Balt Dent Maxillofac J [Internet]. 2015 [cited 2018 Mar 11];17(17):54–66. Available from: <http://sbdmj.lsmuni.lt/152/152-04.pdf>
19. Bosoquet, G. L. Antisépticos y desinfectantes. (2003, 1 marzo). Offarm. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-antisepticos-desinfectantes-13044452>
20. Cerf O, Carpentier B, Sanders P. Tests for determining in-use concentrations of antibiotics and disinfectants are based on entirely different concepts: “Resistance” has different meanings. Int J Food Microbiol 2010; 136: 247-54
21. Machado I, Cruz P, Silva-Lovato C et al. Effect of Chlorhexidine on Denture Biopelícula Accumulation. Journal of Prosthodontics 2012;21: 2–6
22. Jurado, F. Palou, E & López. Vapores de Aceites Esenciales: Alternativa de Antimicrobianos Naturales. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 2012. 6 (1), 29 – 39.
23. Ibarra Chérrez, S. “Estudio in vitro del efecto antimicrobiano del aceite esencial de Eucalyptus globulus L (EUCALIPTO) en comparación al hipoclorito de sodio al 2,5% y gluconato de clorhexidina al 2% sobre cepas de Enterococcus faecalis”. (Tesis para obtener el título de Cirujano Dentista) Universidad Central del Ecuador. Facultad de Odontología. Unidad de Investigación, Titulación.
24. Baptista, E. B., Zimmermann-Franco, D. C., Lataliza, A. A. B., & Raposo, N. R. B. (2015). Chemical composition and antifungal activity of essential oil from

Eucalyptus smithii against dermatophytes. Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 48(6), 746–752. doi:10.1590/0037-8682-0188-2015

25. Montero-Recalde, M. et al. Eficacia antimicrobiana del Aceite Esencial de eucalipto (Eucalyptus spp) sobre cepas de Escherichia coli y Staphylococcus aureus subsp. aureus, Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Available at: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172019000200042 (Accessed: November 4, 2022).
26. Basak S, Guha P. A review on antifungal activity and mode of action of essential oils and their delivery as nano-sized oil droplets in food system. J Food Sci Technol [Internet]. 2018 Dec; 55(12): 4701-4710. ISSN 0975-8402. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1007/s13197-018-3394-5>
27. Chouhan S, Sharma K, Guleria S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils- Present Status and Future Perspectives. Medicines (Basel) [Internet]. 2017 Aug; 4(3): pii E58. ISSN 2305-6320. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5622393/pdf/medicines-04-00058.pdf>
28. Swamy MK, Akhtar MS, Sinniah UR. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. eCAM [Internet]. 2016; 2016(1): e3012462. ISSN 1741-4288. Disponible en: <http://downloads.hindawi.com/journals/ecam/2016/3012462.pdf>
29. Mohammedi Z. Carvacrol: An Update of Biological Activities and Mechanism of Action. Open Access Journal of Chemistry [Internet]. 2017; 1(1): 53-62. ISSN 2637-5834. Disponible en:

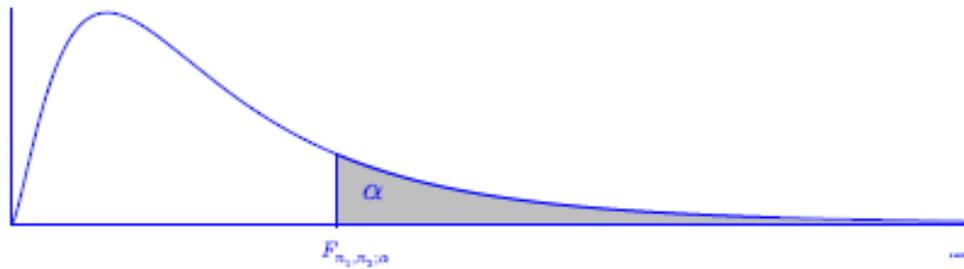
<https://pdfs.semanticscholar.org/9a61/b2f806587164355fc6c224a2fd5791d36189.pdf>.

30. Sharma, p. An overview on green chemistry. World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences 2020. 8(5):202-208. DOI: 10.20959/wjpps20195-13602

ANEXOS

DISTRIBUCIÓN F

$\alpha = 0.05$



Ejemplo: para $n_1 = 5$, $n_2 = 10$ y $\alpha = 0.05$, $F_{5,10;0.05} = 3.326$, significa que $P(F_{5,10} > 3.326) = 0.05$.

n_2	n_1															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	16	18	20	24
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	246.5	247.3	248.0	249.1
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.43	19.44	19.45	19.45
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.786	8.745	8.703	8.692	8.675	8.660	8.639
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.912	5.858	5.844	5.821	5.803	5.774
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.678	4.619	4.604	4.579	4.558	4.527
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.000	3.938	3.922	3.896	3.874	3.841
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.575	3.511	3.494	3.467	3.445	3.410
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.687	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.284	3.218	3.202	3.173	3.150	3.115
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.073	3.006	2.989	2.960	2.936	2.900
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.913	2.845	2.828	2.798	2.774	2.737
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.788	2.719	2.701	2.671	2.646	2.609
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.687	2.617	2.599	2.568	2.544	2.505
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.604	2.533	2.515	2.484	2.459	2.420
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.534	2.463	2.445	2.413	2.388	2.349
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.475	2.403	2.385	2.353	2.328	2.288
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.425	2.352	2.333	2.302	2.276	2.235
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.381	2.308	2.289	2.257	2.230	2.190
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.342	2.269	2.250	2.217	2.191	2.150
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.308	2.234	2.215	2.182	2.155	2.114
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.278	2.203	2.184	2.151	2.124	2.082
21	4.325	3.467	3.072	2.840	2.685	2.573	2.488	2.420	2.366	2.321	2.250	2.176	2.156	2.123	2.096	2.054
22	4.301	3.443	3.049	2.817	2.661	2.549	2.464	2.397	2.342	2.297	2.226	2.151	2.131	2.098	2.071	2.028
23	4.279	3.422	3.028	2.796	2.640	2.528	2.442	2.375	2.320	2.275	2.204	2.128	2.109	2.075	2.048	2.005
24	4.260	3.403	3.009	2.776	2.621	2.508	2.423	2.355	2.300	2.255	2.183	2.108	2.088	2.054	2.027	1.984
25	4.242	3.385	2.991	2.759	2.603	2.490	2.405	2.337	2.282	2.236	2.165	2.089	2.069	2.035	2.007	1.964
26	4.225	3.369	2.975	2.743	2.587	2.474	2.388	2.321	2.265	2.220	2.148	2.072	2.052	2.018	1.990	1.946
27	4.210	3.354	2.960	2.728	2.572	2.459	2.373	2.305	2.250	2.204	2.132	2.056	2.036	2.002	1.974	1.930
28	4.196	3.340	2.947	2.714	2.558	2.445	2.359	2.291	2.236	2.190	2.118	2.041	2.021	1.987	1.959	1.915
29	4.183	3.328	2.934	2.701	2.545	2.432	2.346	2.278	2.223	2.177	2.104	2.027	2.007	1.973	1.945	1.901
30	4.171	3.316	2.922	2.690	2.534	2.421	2.334	2.266	2.211	2.165	2.092	2.015	1.995	1.960	1.932	1.887
35	4.121	3.267	2.874	2.641	2.485	2.372	2.285	2.217	2.161	2.114	2.041	1.963	1.942	1.907	1.878	1.833
40	4.085	3.232	2.839	2.606	2.449	2.336	2.249	2.180	2.124	2.077	2.003	1.924	1.904	1.868	1.839	1.793
45	4.057	3.204	2.812	2.579	2.422	2.308	2.221	2.152	2.096	2.049	1.974	1.895	1.874	1.838	1.808	1.762
50	4.034	3.183	2.790	2.557	2.400	2.286	2.199	2.130	2.073	2.026	1.951	1.871	1.850	1.814	1.784	1.737
60	4.001	3.150	2.758	2.525	2.368	2.254	2.167	2.097	2.040	1.993	1.917	1.836	1.815	1.778	1.748	1.700
70	3.978	3.128	2.736	2.503	2.346	2.231	2.143	2.074	2.017	1.969	1.893	1.812	1.790	1.753	1.722	1.674
80	3.960	3.111	2.719	2.486	2.329	2.214	2.126	2.056	1.999	1.951	1.875	1.793	1.772	1.734	1.703	1.654
100	3.936	3.087	2.696	2.463	2.305	2.191	2.103	2.032	1.975	1.927	1.850	1.768	1.746	1.708	1.676	1.627
125	3.917	3.069	2.677	2.444	2.287	2.172	2.084	2.013	1.956	1.907	1.830	1.747	1.725	1.687	1.655	1.605
150	3.904	3.056	2.665	2.432	2.274	2.160	2.071	2.001	1.943	1.894	1.817	1.734	1.711	1.673	1.641	1.590
175	3.895	3.048	2.656	2.423	2.266	2.151	2.062	1.992	1.934	1.885	1.808	1.724	1.702	1.663	1.631	1.580
200	3.888	3.041	2.650	2.417	2.259	2.144	2.056	1.985	1.927	1.878	1.801	1.717	1.694	1.656	1.623	1.572
300	3.873	3.026	2.635	2.402	2.244	2.129	2.040	1.969	1.911	1.862	1.785	1.700	1.677	1.638	1.606	1.554
400	3.865	3.018	2.627	2.394	2.237	2.121	2.032	1.962	1.903	1.854	1.776	1.691	1.669	1.630	1.597	1.545
500	3.860	3.014	2.623	2.390	2.232	2.117	2.028	1.957	1.899	1.850	1.772	1.686	1.664	1.625	1.592	1.539
750	3.854	3.008	2.617	2.384	2.226	2.111	2.022	1.951	1.892	1.843	1.765	1.680	1.657	1.618	1.585	1.532
1000	3.851	3.005	2.614	2.381	2.223	2.108	2.019	1.948	1.889	1.840	1.762	1.676	1.654	1.614	1.581	1.528