



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

EFFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE SEMILLAS DE CITRUS PARADISI (KILOL) Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%, SOBRE CANDIDA ALBICANS. UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS. AREQUIPA - 2016.

Tesis presentada por el Bachiller:  
ANA BELEN RODRÍGUEZ MÁLAGA  
para optar el Título Profesional de  
Cirujano Dentista

AREQUIPA – PERÚ  
2016

## DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios que fue el que permitió culminar con éxito esta hermosa etapa de mi vida quien supo guiar mis pasos, y llevarme por un buen camino, darme las fuerzas para seguir adelante y no dejarme caer en el intento de lograr uno de mis sueños.

A mis padres porque ellos estuvieron siempre a mi lado brindándome su apoyo incondicional y consejos para ser de mí una mejor persona.

A mi familia por el apoyo que me dio en mi carrera profesional y cada uno de sus consejos.

Esta tesis se la dedico a mi Camilita por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más y así poder luchar por nuestros sueños

Dedico esta tesis a mi hermana por estar siempre a mi lado apoyándome y ser una gran amiga.

## AGRADECIMIENTOS:

*A mi asesora Dr. Brenda Beltrán; por brindarme su apoyo constante y su desinteresada ayuda para la realización de este trabajo.*

*Al Dr. Xavier Sacca; por su apoyo permanente, por su orientación y conocimientos impartidos para la realización del presente trabajo.*

*A la Dra. María Luz Nieto Muriel; por brindarme su apoyo, conocimientos y orientación constante para la realización de este trabajo.*

*Un agradecimiento especial a la Universidad Alas Peruanas por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas para poder estudiar esta hermosa carrera, a mis docentes que brindaron sus conocimientos y apoyo para seguir adelante día a día lograr mis metas*

*Al Dr. Alberto Figueroa; por brindarme su apoyo, conocimientos y orientación en la realización del presente trabajo.*

*Al Dr. Fernando Fernandez; por su apoyo constante en el manejo del laboratorio y orientación constante.*

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	3
1. TITULO.....	4
2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA .....	4
3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	5
4. ÁREA DEL CONOCIMIENTO.....	5
5. OBJETIVOS .....	5
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO.....	6
1. MARCO TEORICO .....	7
1.1 CITRUS PARADISI (KILOL) .....	7
1.1.1 Generalidades y Distribución geográfica .....	7
1.1.2 Clasificación Taxonómica .....	7
1.1.3 Descripción Botánica.....	8
1.1.4 Variedades.....	9
1.1.4.1 Toronjos Comunes .....	9
1.1.4.2 Toronjos Pigmentados.....	10
1.1.5 Composición Química.....	11
1.1.6 Descripción del extracto Kilol.....	12
1.1.7 Usos Generales del Kilol.....	13
1.1.8 Usos en Medicina Alternativa .....	14
1.1.9 Usos en Odontología.....	14
1.1.10 Contraindicaciones .....	15
1.1.11 Efectos Adversos.....	17
1.2 GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0.12%.....	17
1.2.1 Concepto .....	17
1.2.2 Estructura Química .....	18
1.2.3 Espectro de Acción.....	18
1.2.4 Mecanismos de Acción.....	19
1.2.5 Espectro Antifúngico.....	20

1.2.6	Propiedades Biológicas .....	21
1.2.7	Toxicidad y efectos colaterales.....	21
1.2.8	Farmacocinética .....	22
1.2.9	Indicaciones.....	23
1.3	Características de los hongos .....	23
1.4	Candida Albicans.....	25
1.4.1	Genero.....	25
1.4.2	Microorganismos del genero Candida .....	25
1.4.3	Etiología y Patogenia de la Candidiasis Oral .....	26
1.4.4	Epidemiología de la Candidiasis Oral .....	30
1.4.5	Presentación Clínica de la Candidiasis Oral .....	31
1.4.6	Candidiasis Pseudomembranosa Aguda O Muguet .....	31
1.4.7	Candidiasis Eritematosa Aguda.....	31
1.4.8	Candidiasis Hiperplásica.....	32
1.4.9	Queilitis Angular.....	32
1.4.10	Estomatitis Protésica .....	32
1.4.11	Diagnostico Microbiológico de Candidiasis Oral .....	33
1.4.12	Factores Predisponentes.....	35
Higiene Oral deficiente.....	35	
Factores dependientes del Huésped .....	35	
Factores dependientes de la prótesis .....	36	
1.4.13	Factores Especificas que afectan la distribución de candida albicans en la cavidad oral.....	37
Saliva .....	37	
Ph .....	37	
Adherencia.....	38	
Hidrofobicidad de la superficie celular .....	38	
1.4.14	Tratamiento de la Candidiasis Oral.....	39
1.5	Prueba de sensibilidad o susceptibilidad a los Antifúngicos .....	41
1.5.1	Halo de inhibición.....	41
2.	ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	42
3.	HIPÓTESIS .....	45

CAPITULO III: METODOLOGÍA.....	46
1. ÁMBITO DE ESTUDIO.....	47
2. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	47
3. UNIDADES DE ESTUDIO.....	47
4. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	48
5. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	49
6. PRODUCCIÓN Y REGISTRO DE DATOS.....	53
7. TÉCNICAS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	53
8. RECURSOS.....	54
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	57
2. DISCUSIÓN.....	75
3. CONCLUSIONES.....	76
4. RECOMENDACIONES.....	77
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
6. ANEXOS.....	81
ANEXO N° 1 MATRIZ DE DATOS.....	82
ANEXO N° 2 DOCUMENTACION SUSTENTATORIA.....	83
ANEXO N° 3 CEPA DE CANDIDA ALBICANS.....	86
ANEXO N° 4 SECUENCIA FOTOGRAFICA.....	86

## RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo conocer si existe efecto antifúngico in vitro del extracto acuoso de semillas de citrus paradisi (kilol) sobre la Candida Albicans y luego compararlo con un producto comercial como es el gluconato de clorhexidina al 0.12%.

La muestra de estudio estuvo constituida por cepas de Candida Albicans estandarizadas (ATCC 10231). Para fines investigativos se estableció una muestra representativa cuyo tamaño fue de 5 unidades de estudio por cada grupo conformado, siendo el grupo 1 de kilol a una concentración del 25%, el grupo 2 a una concentración del 50%, el grupo 3 con una concentración del 75% ; el grupo 4 a una concentración del 100%; y el grupo 5 con gluconato de clorhexidina al 0.12%.

La investigación correspondió al tipo experimental y con un diseño longitudinal, laboratorial, prospectiva y comparativa. La técnica que se utilizó fue la observación y el instrumento utilizado fue una Ficha de Observación Laboratorial elaborada para tal fin.

Los resultados han demostrado que, comparando el gluconato de clorhexidina 0.12% con las diferentes concentraciones de Kilol, a partir de un 25% este es más efectivo que la clorhexidina como antifúngico frente a la Candida Albicans. Así mismo, mientras mayor sea la concentración del Kilol, su efecto aumenta significativamente.

### **Palabras Clave:**

Citrus Paradise (Kilol). Extracto Acuoso. Efecto antifúngico. Gluconato de Clorhexidina. Candida Albicans.

## **ABSTRACT**

The present investigation was to identify whether there is in vitro antifungal effect of aqueous extract of seeds of citrus paradisi (Kilol) on Candida Albicans and then compared with a commercial product such as chlorhexidine gluconate 0.12%.

The study population consisted of Candida albicans strains standardized (ATCC 10231). For research purposes a representative sample was established whose size was 5 units of study for each group formed, with the Group 1 Kilol at a concentration of 25%, group 2 at a concentration of 50%, group 3 with a concentration 75%; group 4 at a concentration of 100%; and 5 group with chlorhexidine gluconate 0.12%.

The investigation was done by experimental and a longitudinal, laboratory, prospective and comparative design. The technique used was the observation and the instrument used was a Laboratorial Observation Form developed for this purpose.

The results showed that, comparing the 0.12% chlorhexidine gluconate with different concentrations Kilol, from 25% this is more effective than chlorhexidine as an antifungal against Candida albicans. Also, the higher the concentration of Kilol, its effect increases significantly.

Keywords:

Citrus Paradise (Kilol). Watery extract. antifungal effect. Chlorhexidine Gluconate. Candida Albicans.



# **CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN**

## **1. TÍTULO:**

Efecto antifúngico in vitro del extracto acuoso de semillas de citrus paradisi (kilol) y gluconato de clorhexidina al 0.12%, sobre candida albicans. Universidad Alas Peruanas. Arequipa.2016.

## **2. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA:**

La cavidad oral es un medio ecológico, perfecto para el crecimiento y desarrollo de bacterias que forman la flora microbiana bucal y que en equilibrio es llamado saprofítico, si este equilibrio se rompe se produce situaciones patológicas por el crecimiento microbiano de algunas especies, prótesis parcial removible y prótesis completas, caries, mala higiene, entre otros provocan un desequilibrio, proliferando los hongos, en particular la Candida Albicans.

Por esta razón, en odontología se usa la clorhexidina que es usada para pacientes con gingivitis o periodontitis, para combatir a gram + y gram -y algunos hongos, gracias al avance de la tecnología odontológica podemos encontrar en el mercado otro producto a base del extracto de la toronja conocido como el KILOL, otra opción para la desinfección de sus placas; sustancia natural comercial; además, este producto es usado para la desinfección de alimentos, y de acuerdo a un trabajo de investigación en odontología se ha usado para combatir el Estreptococos Mutans, el cual resultó ser beneficioso, por las propiedades que presenta este producto de ser antibacteriano y antifúngico.

Considerando que existe en la población pacientes portadores de prótesis completas o parciales que no tienen el debido cuidado de realizar una buena higiene de sus placas, y no aplicar una buena técnica de limpieza en su cavidad oral donde el hongo puede acrecentar en estructuras blandas de la cavidad oral.

Por tanto el trabajo se hace relevante porque no existe antecedente al respecto, y se podrá brindar un mayor conocimiento a la población odontológica, la cual podrá ofrecer una alternativa más de tratamiento y así dar al paciente una mejor calidad de vida.

### **3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:**

¿Existirá efecto antifúngico in vitro del extracto acuoso de semillas de citrus paradisi (kilol) y gluconato de clorhexidina al 0.12%, en la Candida Albicans, Universidad Alas Peruanas, Arequipa. 2016?

### **4. AREA DEL CONOCIMIENTO:**

- A. ÁREA: Ciencias de la Salud.
- B. CAMPO: Odontología.
- C. ESPECIALIDAD: Microbiología Bucal.
- D. LÍNEA: Efecto antifúngico del Kilol.
- E. TÓPICO: Candida albicans.

### **5. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN:**

- Establecer el efecto antifúngico del gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre la Candida Albicans in vitro a las 24, 48, 72 horas.
- Establecer la actividad antifúngica del extracto acuoso de semillas de citrus paradisi (kilol) en concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100%, sobre la Candida Albicans in vitro a las 24, 48, 72 horas.
- Comparar cuál de las dos soluciones, gluconato de clorhexidina al 0.12% o extracto acuoso de semillas de citrus paradisi (kilol), tiene mayor efecto antifúngico sobre la Candida Albicans.

# **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

## 1. MARCO REFERENCIAL TEÓRICO – CONCEPTUAL:

### 1.1 CITRUS PARADISI (KILOL):

#### 1.1.1 Generalidades y distribución geográfica:

Los toronjos o pomelo tiene como nombre científico Citrus Paradisi que pertenece a la familia de las Rutáceas, son aparentemente originarios de las zonas del Caribe en un ambiente tropical y templado. No se conoce con exactitud el origen del pomelo, aunque estudios recientes parecen indicar que se trata de un híbrido natural (cruzamiento natural) de naranja dulce y pomelo, en 1830 se le dio el nombre botánico Citrus Paradisi. (6)

Estos cítricos se consideran como plantas tropicales y subtropicales. En el Perú este cítrico se cultiva principalmente en Huaral; Huaura y Piura, siendo consumida casi exclusivamente en Lima y está en tercer lugar en importancia después de la naranja y el limón. (6)

La producción de pomelo a nivel mundial supera las 3.8 millones de toneladas; siendo Estados Unidos el productor líder con más de 2.3 millones de toneladas y el 45% destinado al consumo en fresco.

Le siguen en importancia países como Argentina, Cuba, Chile, Israel, México, Swazilandia, Mozambique y Sudáfrica. (6)

#### 1.1.2 Clasificación Taxonómica:

Reino	:	Vegetal
Orden	:	Geraniales
Sub-orden	:	Geraniineae
División	:	Embryophyta
Clase	:	Dicotyledoneae

Sub clase	:	Archichalmydeae
Familia	:	Rutaceae
Sub-familia	:	Autantiodeae
Tribu	:	Citreae
Género	:	Citrus
Especie	:	Citrus Paradisi
Nombre Científico	:	Citrus Paradisi
Macf		
Nombre Común	:	Toronja
Español	:	Toronja
Inglés	:	Grapefruit
Alemán	:	Pampelmuse
Portugués	:	Pomelo
Francés	:	Pamplemousse

### 1.1.3 Descripción Botánica:

Árbol perennifolio de 5 a 6 metros de altura, con la copa redondeada, el ramaje poco denso y el fuste ancho, alcanzando varios pies de diámetro; las ramas jóvenes presentan espinas cortas y flexibles. (19)

Las hojas son simples, alternas, ovadas, finamente dentadas, de entre 7 y 15cm de largo, de superficie coriácea y color verde oscuro por el haz, ubicadas al cabo de peciolo cortos y alados. Las espinas son grandes hasta 5cm en los arboles de semilla, las flores son grandes hasta 7cm solitarias o por racimos de hasta 10, produce flores hermafroditas, fragantes, tetrámeras, blancas o purpúreas, formando racimos pequeños terminales o solitarios. (19)

El fruto es un hesperidio globoso, de tamaño mediano a grande de 13 a 15 cm de diámetro. Está recubierto de una cascara gruesa carnosa, despegada del endocarpo, de color amarillo o rosáceo, con glándulas oleosas pequeñas y muy aromáticas, rugosa. Tienen 11 a 14 carpelos, firmes, muy jugosos, dulces o ácidos que

también tienen un sabor amargo debido a la presencia de una sustancia llamada naringina. La pulpa del pomelo está dividida en diez o doce gajos de aspecto esponjoso y repletos del zumo su color varía al igual que la corteza, el color va del amarillento pálido al rojo muy intenso. Las semillas son escasas, de hasta 1.25cm de largo, normalmente poliembriónicas, lisas, elípticas o apiladas, blancas por dentro. (19)

#### 1.1.4 Variedades:

Las distintas variedades de pomelo se clasifican según la tonalidad de la pulpa. Las variedades blancas o comunes, son las que tienen la pulpa de color amarillo y a pesar de ser las más cultivadas cada vez más se ven desplazadas por las variedades pigmentadas.

Estas últimas dan pomelos con la pulpa de tono rosa y rojizo y deben su color al pigmento licopeno y este se genera cuando las temperaturas son elevadas. La popularidad y consumo se ha incrementado en las dos últimas décadas en muchos países. (19) Hodgon 1967 clasifica a los toronjos cultivados en dos grupos naturales:

##### 1.1.4.1 Toronjos comunes:

Algunos cultivares de este grupo son: Duncan; Marsh, Walters, Windsor.

Los principales cultivares son: Duncan y Marsh. Los frutos del toronjo Duncan son de tamaño grande, ovalados a globosos. El pericardio es mediado a grueso, de superficie pareja y suave, con surcos basales cortos, pero con abundantes semillas. La época de maduración es intermedia a precoz. (29)

Los frutos de toronjo Marsh, son de tamaño mediano, oblatos a globosos. El pericardio es mediano a delgado pero resistente, de superficie pareja y suave. El endocarpio es tierno y jugoso, con pocas o ninguna semillas. El sabor es bueno, pero aparentemente no tan buena como el sabor de Duncan.

La época de maduración es tardía. (19)

Valor Nutricional del Pomelo en 100g de sustancia comestible.	
Agua (g)	88.4
Proteínas (g)	0.6
Lípidos (g)	0.1
Carbohidratos (g)	9.8
Calorías (kcal)	39
Vitamina A (U.I.)	80
Vitamina B1(mg)	0.04
Vitamina B2 (mg)	0.02
Vitamina B6 (mg)	0.02
Acido nicotínico (mg)	0.2
Acido pantoténico (mg)	0.25
Vitamina C (mg)	40
Acido Malico (mg)	80
Acido cítrico (mg)	1460
Sodio (mg)	2
Potasio(mg)	198
Calcio (mg)	17
Magnesio (mg)	10



Manganeso (mg)	0.01
Hierro (mg)	0.3
Cobre (mg)	0.02
Fosforo (mg)	16
Azufre (mg)	5
Cloro (mg)	3

#### 1.1.4.2 Toronjos pigmentados:

Los cultivares de este grupo tienen una coloración rosada o rojiza, debido a la presencia de pigmentos de la serie del licopeno. Algunos ejemplares son: Ruby o Redblush y Thompson.

Ambos cultivares tienen pocas semillas y época de maduración intermedia. El cultivar Thompson, podría ser una mutación del toronjo Marsh. A su vez el toronjo Ruby, parece haberse originado como una mutación de Thompson. (19)

#### 1.1.5 Composición Química:

La toronja es una fuente importante en vitamina C, carbohidratos, beta – caroteno y bioflavonoides, aceites esenciales y además, contiene pequeñas cantidades de las vitaminas B1, B2, B3, B5, B6 y vitamina E. Así como la pectina, estudios científicos han demostrado que impide la multiplicación de las células cancerosas, la que muestra efectos anticolesterol y protege la pared de las arterias, gracias a su acción antioxidante e inhibidora de la formación de trombos o placas ateroscleróticas. (26)

Los flavonoides forman parte de los llamados elementos fitoquímicos, estando ampliamente repartidos entre los vegetales. Químicamente son glucósidos.

El flavonoide más importante del pomelo es la naringina (que transforma en el organismo naringenina), de propiedades fluidificantes de sangre, antioxidantes y anticancerígenas

Los limonoides son terpenoides que constituyen la esencia de los cítricos. El pomelo es especialmente rico en uno de ellos, el limoneno, al que debe su sabor amargo, y que también presenta propiedades anticancerígenas.

Los carotenoides, presentes fundamentalmente en los pomelos de pulpa roja, potencian acción antioxidante. (26)

#### 1.1.6 Descripción del extracto del Kilol:

- También se les conoce con los nombres de “Extracto de Toronjas”, “Extracto de Semillas Críticas”, “Bioflavonoide en forma concentrada”, a la misma vez que “Extracto de las Semillas de Toronjas – Grapefruit Sees Extract”.
- En un compuesto orgánico obtenido por extracción de semilla de toronja, funciona como bactericida y fungicida de amplio espectro (gram + y gram -), principalmente en las industrias de procesamiento de alimentos, industria farmacéutica, cosméticos y de cuidado personal
- Este extracto es eficaz para combatir 800 tipos de bacterias y virus así como un centenar de hongos además de gran número de parásitos unicelulares. Sin efectos secundarios ya que para ser toxico se necesitó ingerir 4,000 veces de la dosis terapéutica.
- La clave de su exitosa actividad antimicrobiana parece estar en que los principios activos del extracto de semillas de pomelo, que por cierto se obtiene mediante un complejo proceso de prensado en frío, logran desorganizar la

membrana citoplasmática de los microorganismos patógenos y les impide desarrollarse y proliferar. (15)

- Antidepresivo
- Estimulante de la Circulación Sanguínea
- Producto Natural, cuyo componente activo es el extracto de semillas de toronja
- Aumenta Notablemente las defesas del sistema inmunitario
- Posee acción bactericida y fungicida de amplio espectro
- Posee efecto antioxidante
- Es biodegradable, no se acumula en los tejidos y no deja residuos
- Hipoalergénico
- No confiere olor, color, ni sabor a los alimentos, en las concentraciones recomendadas.
- No altera el valor nutricional de los alimentos (16)

#### 1.1.7 Usos generales del Kilol:

- Antibiótico de amplio espectro, aún más eficaz que el alcohol en las desinfecciones médicas y sin efectos secundarios.
- Potente germicida, eliminando o previniendo los efectos de la mayor parte de los hongos, líquenes, parásitos y bacterias nocivas, que causan los seres vivos.
- En la agricultura tiene un uso convencional.
- En la industria láctea, quesera, sirve para la desinfección de equipos y maquinarias, control de hongos en la superficie de quesos.
- En la agroindustria sirve para la desinfección de equipos, sanitizados de frutas y hortalizas, previene la oxidación en frutas y verduras. (16)

#### 1.1.8 Usos en medicina alternativa

- Kilol indicado para infecciones respiratorias, por ser un antivírico potente, combate eficazmente los virus causantes.
- El extracto contiene narangina, pinene, limonene, linalol y citrale, a estas sustancias se les conoce una importante actividad antidepresiva, estimulante y activadora de la circulación e incluso del tálamo, una zona del encéfalo situado en la base del cráneo que procesa y clasifica toda la información sensitiva. Por eso los investigadores otorgan a este extracto la capacidad de estimular las sensaciones positivas y de influir en el estado de ánimo aumentando la sensación de bienestar y alegría.
- Los componentes que presenta también ayuda a alcalinizar la sangre, sus autores refieren que al alcalinizar los fluidos del cuerpo, elevan el PH, el cual es uno de los beneficios más importantes en la regeneración de la salud, ya que los microorganismos no pueden sobrevivir en un ambiente alcalino. (27)

#### 1.1.9 Usos en Odontología:

- En el ámbito odontológico se ha visto que reduce significativamente in vitro las cantidades de unidades formadoras de colonias (UFC) de Candida Albicans.
- Boca:  
Potente antiséptico como enjuague contra aftas, estomatitis ulcerosa, invasión de hongos, mal aliento, herpes, gingivitis, etc.
- Gingivitis:  
La inflamación de las encías es frecuentemente causada por la acción de las bacterias, pero los hongos y virus pueden estar involucrados, en ocasiones también se producen por un déficit nutricional (vitamina A y C)

- Dientes:

Mediante el uso como enjuague, cepillado, se obtienen resultados contra la placa bacteriana, las caries, el dolor de muelas, y es útil como complemento en los casos de las extracciones, también es útil para la limpieza del propio cepillo. (15)

#### 1.1.10 Contraindicaciones:

La toronja parece ser bien tolerada y es probablemente segura cuando se usa en las cantidades comúnmente presentes en los alimentos, siempre que las personas no estén llevando una terapia concurrente con otros medicamentos. La toronja está clasificada dentro de la lista GRAS (generalmente reconocida como segura) de Estados Unidos. Raramente se han reportado efectos adversos con relación al jugo de toronja en las pruebas clínicas y están limitados a efectos que ocurren en combinación con otros tratamientos con medicamentos. Los efectos en drogas farmacocinéticas pueden ser intencionales o no, dependiendo de las circunstancias y opiniones individuales. Se ha observado variación en la biodisponibilidad del jugo de toronja y los medicamentos entre individuos. La severidad de la interacción puede depender de qué tanto y qué tan a menudo se consume el jugo de toronja, el momento que se ingiere el jugo de toronja, la marca específica y la dosis del medicamento.(27)

La presión arterial puede disminuir cuando se toma jugo de toronja con nifedipina y terazosina.

Los expertos reportan que la aplicación tópica del extracto de semillas de toronja puede causar irritación de la piel.

Altas dosis pueden causar pseudohiperaldosteronismo (síndrome de Liddle), aumentos en la eliminación del potasio,

exceso de mineralocorticoides, elevación disminuida de hematocritos, desarrollo de cálculos renales o incrementos en la pérdida del esmalte y superficie dentales.(27)

Debe utilizarse con precaución en pacientes que toman sustratos tales como anticoagulantes/antiplaquetarios, antiarrítmicos, anticonvulsivos, antidepresivos, antihistamínicos, antihipertensivos, benzodiazepinas, bloqueadores del canal del calcio, cafeína, corticosteroides, medicamentos contra la disfunción eréctil, estrógenos, inmunomoduladores, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, antibióticos macrolidas e inhibidores de proteasas.(15)

Debe utilizarse con precaución en pacientes que beben vino tinto, ya que la combinación de vino tinto y jugo de toronja parece ocasionar un efecto inhibitorio acumulativo en la forma como el hígado metaboliza ciertos agentes, lo que en teoría puede incrementar el riesgo de interacciones con otras drogas.

Debe utilizarse con precaución en pacientes que beben agua tónica o que fuman.(27)

Debe utilizarse con precaución en pacientes con cirrosis hepática que tienen riesgo de cálculos renales o que han sido sometidos a cirugía de bypass gástrico.(15)

Contiene la furanocumarinas, que elimina una enzima en el organismo encargado de descomponer el medicamento. Esto provoca que se escape por el sistema digestivo una cantidad mucho mas alta fue la que el organismo puede manejar.(15)

1 vaso de jugo de pomelo, tiene 3 veces más alto que una medicina para la hipertensión como el felodipino que lo que se toma con un vaso de agua(15)

### 1.1.11 Efectos Adversos:

- Hemorragias Estomacales.
- Alteración del ritmo cardiaco, daño renal y muerte súbita.
- Supresión de la médula ósea en personas inmunosuprimidas.
- 1 tableta con un vaso de jugo de pomelo, puede convertirse como si hubiera tomado 5 tabletas con un vaso de agua.(15)

## 1.2 GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%:

Agente antimicrobiano introducido en 1945, utilizado como solución irrigante desde 1971, aprobado en los Estados Unidos por la Food and Drug Administration y aprobada por la American Dental Association Council of Dental Therapéuticas. (8)

### 1.2.1 Concepto:

La clorhexidina es una molécula que actúa inhibiendo el crecimiento de microorganismos en la piel, este fármaco se une a la pared del microorganismo y aumenta la permeabilidad de la pared, favoreciendo la entrada de agua en el interior del microorganismo. Puede actuar deteniendo el crecimiento de los microorganismos (acción bacteriostática) o destruyéndolos (acción bactericida) según la concentración a la que se utilice. Es eficaz frente a bacterias gram positivas y gram negativas, su acción es rápida, y prolongada, lo que favorece el mantenimiento de su actividad antibacteriana, de hecho el 25% de la dosis persiste en forma activa en la piel o mucosa al cabo de 30 horas, su actividad aumenta cuando se mezcla con alcohol y disminuye algo en presencia de proteínas, sangre, materia orgánica. (8)

El balance hidrofílico / lipofílico es el factor que influye en la actividad bacteriana, es una serie de bisguanidas. (8)

### 1.2.2 Estructura Química:

El gluconato de clorhexidina es un agente antimicrobiano de amplio espectro, baja toxicidad y gran afinidad de adhesión a la piel y mucosas. Pertenece al grupo de las bisbiguanidas de naturaleza catiónica, por lo que tiene afinidad por la pared celular de los microorganismos, tiene actividad frente a microorganismos gram positivos y gram negativos, hongos, dermatofitos, su molécula es simétrica compuesta de dos anillos clorofenólicos y dos grupos de biguanidas conectados por un puente central de hexametileno con dos cargas positivas en cada extremo del puente. Es una base fuerte, su naturaleza dicatiónica le confiere eficacia y seguridad. (34)

Es bactericida a concentración alta y bacteriostática a bajas concentraciones. No produce cambios en las resistencias bacterianas ni sobrecrecimiento de microorganismos oportunistas. Previene la formación de placa, rompiendo la placa existente e inhibiendo la gingivitis, debido a la concentración catiónica, su actividad se ve reducida en presencia de agentes anionicos como lo son los detergentes dentríficos, debiendo esperar 30 minutos para realizar el enjuague tras el cepillo dental, lo cual dificulta su correcto uso. La clorhexidina tiene una gran sustantividad, el 30% de la clorhexidina se retiene en boca, unida a proteínas salivales y es liberada lentamente durante 8 -12 horas en forma activa. (34)

### 1.2.3 Espectro de Acción:

Químicamente como digluconato de clorhexidina, es un agente antimicrobiano capaz de matar o inhibir la proliferación de bacterias orales. Shoeder fue el primero en reportar la eficacia intraoral del Gluconato de Clorhexidina siendo documentado como un agente entre los antisépticos orales. (34)



Es activa contra bacterias gram positivas y gram negativas, bacterias aeróbicas, anaeróbicas facultativas, hongos, levaduras.

A ph entre 5 y 8 es un bactericida muy rápido y eficaz frente a las bacterias gram positivas y gram negativas.(34)

Por sus propiedades catiónicas, la clorhexidina también se une electrostáticamente a la hidroxiapatita de los dientes, esto significa que los depósitos de clorhexidina se unen a la dentina y posteriormente el fármaco es liberado lentamente, manteniendo de esta forma el fármaco activo durante un tiempo, esto ocurre durante 24 horas después de su absorción hasta seis meses evitándose la colonización bacteriana en ese tiempo. (34)

Posee excelentes propiedades bacteriostáticas y bactericidas, dependiendo del grado de concentración que se use. A bajas concentraciones, se altera el intercambio de iones en proporciones mayores, alterando el metabolismo celular, a lo cual se atribuye el poder bacteriostático. (34)

En altas concentraciones posee acción bactericida, provocando la precipitación de las proteínas citoplasmáticas, al penetrar a la pared celular resultando la muerte de la célula. (34)

#### 1.2.4 Mecanismo de Acción:

Su mecanismo de acción está relacionado con la reducción de la formación de película salival, alteración de la absorción de bacteria a los dientes y alteración de la pared celular bacteriana que conduce a la lisis. (31)

La clorhexidina inhibe la formación de la placa por los siguientes mecanismos:

- Por adhesión a los grupos aniónicos sobre las glicoproteínas salivales, reduciendo así, la formación de la película salival adquirida y la colonización de la placa dental.(31)

- Por adhesión a las bacterias salivales interfiriendo con su absorción a los tejidos dentales.(31)

Aunque la clorhexidina tenga gran afinidad por la hidroxiapatita se ha demostrado que la mucosa oral es su principal reservorio y es importante el aporte inicial del agente, para su liberación lenta. Se ha verificado que una reducción de Ph causa disminución retenida en el medio oral, pero se admite que su unión con las proteínas es de naturaleza ionica.(31)

Se absorbe rápidamente por difusión pasiva a través de las membranas, tanto de las bacterias como de las levaduras. El efecto bactericida de la clorhexidina empieza con su unión a la pared celular de las bacterias (cargadas negativamente), por tratarse de una molécula catiónica a pH fisiológico. A bajas concentraciones esa unión causa una alteración del equilibrio osmótico de la bacteria que provoca un efecto bacteriostático. Sin embargo, a altas concentraciones su acción bactericida se debe a la precipitación de proteínas y ácidos nucleicos. Tiene una duración de acción prolongada de 6 horas, a causa de su afinidad por adherirse a la piel y a las membranas mucosas (31)

#### 1.2.5 Espectro Antifúngico:

Es efectiva frente a organismos Gram positivos y gram negativos, hongos, anaerobios facultativos y aerobios. Es más activo frente a *Staphylococcus aureus* sensible a metilina que frente a SARM (*Staphylococcus aureus* resistente a metilina). También tiene actividad sobre los anaerobios facultativos y algunos hongos como *Candida albicans* y dermatofitos. No es esporicida a temperatura ambiente, aunque inhibe el crecimiento de las esporas y es capaz de matarlas a altas temperaturas. No actúa sobre los virus sin cubierta (como Rotavirus, Adenovirus y Poliovirus), sin embargo inactiva a los

que presentan cubierta lipídica, entre ellos el HIV, los Herpes virus y los Influenza virus. Es bacteriostático sobre las Micobacterias pero se observan grandes resistencias. Alcanza su máxima eficacia a un pH neutro o ligeramente ácido. Para aumentar su eficacia se emplean combinaciones de clorhexidina con cetrimida o soluciones alcohólicas. (30)

#### 1.2.6 Propiedades Biológicas:

La naturaleza catiónica de la clorhexidina minimiza su absorción a través de la piel y las mucosas, incluidas las vías gastrointestinales, por lo tanto no se ha descrito toxicidad sistemática. (30)

Su potencial de acción es igual al de la sanguinarina, se clasifica como un agente con una potencia de acción alta, comparable con los antibióticos y superior a los fluoruros, el timol y el cetilpiridino. A diferentes concentraciones su efecto anti placa es similar. Es el preparado que ha demostrado tener una mejor sustentividad (mayor tiempo de contacto con el sustrato en un medio dado), por ellos se le ha clasificado como agente de segunda generación (alta sustentividad). El 30% del agente se retiene en la cavidad oral después de enjuagarse de allí se libera gradualmente hacia los tejidos orales, la absorción del fármaco en el tracto gastrointestinal, desapareciendo completamente del plasma, si es ingerido al cabo de 12 horas. La clorhexidina es un agente de peso molecular relativamente alto y se absorbe escasamente, por lo tanto su toxicidad es baja, la excreción de la clorhexidina se realiza fundamentalmente por las heces 90% y por la orina 1%. (30)

#### 1.2.7 Toxicidad y efectos colaterales:

Los agentes que tienen un peso molecular relativamente grande, con gran carga eléctrica, como clorhexidina, Sanguinarina y

Cetilpiridinium se absorben deficientemente y exhiben muy baja toxicidad. Por el contrario, los compuestos de bajo peso molecular como el fluoruro de sodio se absorben rápidamente y por lo tanto son delicados de utilizar. (3)

El uso de la clorhexidina con lleva a efectos secundarios locales reversibles, manchas pardas en dientes, lengua y las restauraciones de silicatos y resinas, así como una alteración ligera de percepción gustativa. La clorhexidina posee actividad toxica sistemática muy baja en los seres humanos, no produce resistencia reconocible de microorganismos bucales y no genera alteraciones teratógenos.(3)

Las soluciones acuosas poseen un fuerte sabor amargo que interfiere con la percepción de los sabores. Tratamientos con clorhexidina reducen la intensidad en la percepción de la sacarosa y soluciones de ácido cítrico (3)

#### 1.2.8 Farmacocinética:

- El potencial de toxicidad debe ser bajo, los componentes tóxicos son las soluciones de fluoruros y los menos tóxicos son los antibióticos, la clorhexidina es comparada con los antibióticos en cuanto al potencial de toxicidad. (3)
- Dentro de la potencia de acción se clasifican en agente con una potencia elevada comparable a los antibióticos(en este grupo se encuentra la clorhexidina y agentes con baja potencia como los fluoruros). (3)
- La permeabilidad es una característica importante en estos agentes, los de peso molecular relativamente alto como la clorhexidina no son permeables y se absorben mal en el tracto gastrointestinal, siendo su toxicidad baja. (3)
- La sustantividad es otra cualidad que mide el tiempo de contacto entre una sustancia y un sustrato en un medio dado. Al tratar infecciones dentales la sustantividad de un agente es muy importante, puesto que este necesita de un cierto tiempo

de contacto con el microorganismo para inhibirlo o eliminarlo. La clorhexidina es el preparado que ha demostrado una mejor sustentividad. (3)

- La característica de la sustentividad ha hecho que se clasifiquen los agentes como:
  - ✓ Primera Generación (baja sustentividad), estos son algunos antibióticos, agentes oxidantes y fluoruros.
  - ✓ Segunda Generación (alta sustentividad) son las bisguaninas.
  - ✓ Tercera Generación, se describen como los que interfieren en la adhesión bacteriana y que hoy están en investigación.(3)

#### 1.2.9 Indicaciones:

- Actividad anti placa.
- Gingivitis.
- Periodontitis.
- Cirugía Periodontal
- En pacientes con alta actividad de caries.
- Irrigación de conductos.
- Estomatitis en pacientes con prótesis totales. (3)

#### 1.3 Características Generales de los Hongos:

Los hongos son organismos que presentan diferencias estructurales y morfológicas con las bacterias y con las células animales y vegetales. La micología es la ciencia que se encarga de su estudio, en tanto que la micología médica describe los hongos patógenos para el ser humano como productores de micosis. Se considera que cuatro de cada mil pacientes que acuden a la consulta dental general presentan síntomas de infección Candidiásica. Además una gran parte de las Candidiasis orales son asintomáticas y es muy probable que la

prevalencia de este proceso sea mucho mayor. Son frecuentes en lactantes y ancianos y personas con factores pre disponentes generales o locales.(29)

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es uno de los factores y en personas con Sida se observan cuadros diferentes de candidiasis mucocúrneas que pueden ser indicadores de la evolución de esta infección vírica. Otras micosis (histoplasmosis, blastomicosis, criptococosis, aspergilosis, etc) afectan con menor frecuencia a la cavidad bucal. (29)

Tabla 48.1. Factores predisponentes de la candidiasis oral y posibles mecanismos de virulencia en Candida

Factores predisponentes	Factores de virulencia	
	Mecanismos	Moléculas
Alteraciones endocrinas: diabetes mellitus, hiposuprarrenalismo, hipoparatiroidismo	Especies de Candida y cepas involucradas	Hidrolasas extracelulares: proteasas y fosfolipasas
Inmunodeficiencias primarias	Adherencia/Pared celular	Toxinas asesinas
Alteraciones leucocitarias: neutropenia/leucopenia, agranulocitosis, carencia de mieloperoxidasa...	Diformismo / Formación de hifas	Nitrosaminas
Inmunodeficiencias adquiridas (SIDA)	Variabilidad del fenotipo	Metabolitos ácidos
Estados nutricionales carenciales o alterados: malnutrición, malabsorción, carencia de hierro y folatos, dietas ricas en hidratos de carbono...	Persorción	
Neoplasias: leucemia, linfoma, timoma...	Interferencia en la fagocitosis, complemento y respuesta inmunitaria	
Fármacos: antibióticos de amplio espectro, corticosteroides (en aerosol), inmunodepresores, citostáticos y antimetabolitos		Sinergia con bacterias y otros microorganismos orales
Alteraciones locales en la cavidad oral: irritantes crónicos locales, prótesis mal ajustada, higiene oral inadecuada, xerostomía, displasia epitelial, tabaquismo, radioterapia de cabeza y cuello...		

## 1.4 CANDIDA ALBICANS:

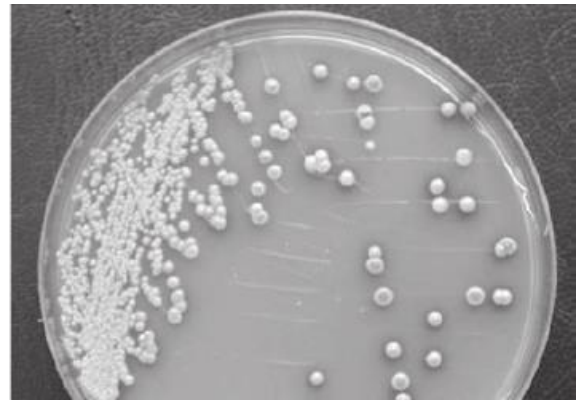
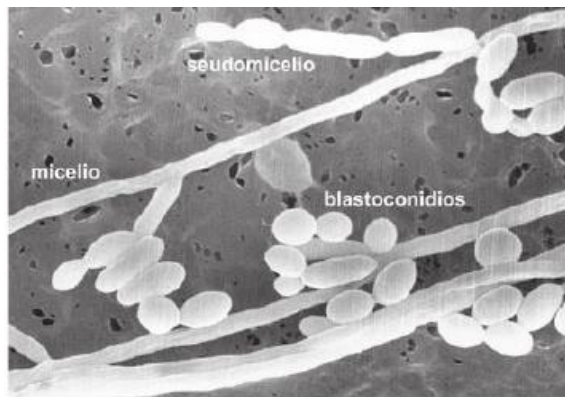
### 1.4.1 Género:

El Género *Candida* comprende más de 150 especies de levaduras pero *Candida Albicans* es el agente implicado más frecuente en la candidiasis oral, cuya principal característica es la ausencia de forma sexual, con excepción de algunas especies micóticas. Los agentes patógenos son levaduras (el estado anamorfo) del género *Candida Albicans* pertenecientes al Phylum Ascomycotina. La *Candida Albicans* se identifica como levaduras mitospóricas alargadas o ligeramente redonda de 2 -6 x 3 – 9 µm que se reproducen por la geminación (blastoconidios). A excepción de *C.glabrata*, el resto de la especies asociadas a candidosis pueden formar pseudomicelios: *C albicans* y *C. dubliniensis* además son formadoras de hifas. Son clasificadas como levaduras, las cuales corresponden a hongos con un modo de desarrollo predominantemente unicelular. Solamente una docena de las especies pertenecientes al Género *Candida* poseen la facultad 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. guilliermondi*, *C. parakrusei*, *C. zeylanoides*, *C. stellatoidea* y *C. brumptii*3. (20)

### 1.4.2 Microorganismos del género *Candida*:

La mayoría de los hongos del género *Candida* pueden observarse con el microscopio bien como blastoconidios o levaduras (células esféricas u ovoideas) o bien como pseudomicelios (levaduras alargadas que se parecen a tubos. *Candida Albicans* también origina hifas tabicadas y ramificadas (micelio) o formas esféricas de pared gruesa (clamidoconidios) mientras que otras especies como *C. glabrata* nunca forman micelio o pseudomicelio. Cuando crecen en agar glucosado de Sabouraud originan colonias cremosas

lisas o rugosas después de una incubación durante 24 a 48 horas a 24-37°C, que presentan un olor a levadura de pan o cerveza. También puede mostrar este aspecto las colonias en medios microbiológicos como agar sangre, agar chocolate o similares. (20)



#### 1.4.3 Etiología y Patogenia de la Candidiasis Oral:

La *Candida* vive en equilibrio con otros miembros de la microbiota oral, su transformación en patógeno depende tanto de la alteración de los mecanismos defensivos de la persona colonizada como del complejo potencial de factores de virulencia del hongo. La protección adecuada del ser humano frente a *Candida* depende de mecanismo inespecíficos humorales y celulares. Las defensas primarias son barrera física epitelial; un péptido antimicrobiano lingual (defensiva de amplio espectro); Inmunoglobulina secretora; diferentes factores salivales (lisozim, histalinas o lactoferrina) y el flujo de arrastre de saliva. La alteración más trivial parece suficiente para permitir que *C. Albicans* produzca una infección localizada y limitada a la mucosa oral, pero que puede extenderse en casos graves a la faringe y esófago e incluso producir una infección diseminada. Entre los factores que facilitan la infección candidiasica destacan a la cantidad y el tipo de saliva (sequedad oral logran humedad en las comisuras labiales); la dieta (ferropenia o avitaminosis); el Ph; la temperatura; la presencia de algunas bacterias o de prótesis dentales ya que el material acrílico de



las prótesis extraíbles es un producto fácilmente colonizable; el tratamiento antibiótico y los cortico esteroides y cualquier tipo de inmunodepresión primaria o adquirida. *Candida albicans* es la especie más patógena y su virulencia se debe a un conjunto de atributos relacionados bien con su habilidad para evadir los mecanismo de defensa del hospedador o de resistir al tratamiento antifúngico o bien con su capacidad de lesionar las células y los tejidos que invade. Los factores de virulencia están controlados por diferentes genes que se expresan en un número determinado y en un momento concreto y que determinan el fenotipo y la virulencia. Por lo tanto, no es sorprendente la variabilidad existente en la virulencia entre las cepas e incluso dentro de una misma cepa con relación a la localización corporal donde produzca la infección. (20)

Entre los genes conocidos asociados a la virulencia de *Candida Albicans* están el de la hexosaminidasa, varios genes de proteasas asparticas y un gen que confiere capacidad de producir tubos germinales y aumentar la adhesión. El proceso de la infección de los tejidos por *Candida Albicans* presenta varios estadios:

- a) Adhesión y Colonización
- b) Penetración, que se facilita por la transformación de levadura micelio (formación de tubos germinales) y la producción de enzimas hidrolíticas.
- c) Respuesta inflamatoria aguda (predominio de neutrófilos y presencia de inmunoglobulina G, A, M, factores de complemento, linfocitos T y Macrófagos). (20)

La adhesión de *Candida* a la superficie es un requisito esencial para la colonización permanente o la infección de lugares expuestos a corrientes constantes. En la cavidad oral, la acción mecánica de la saliva es un potente mecanismo de defensa que arrastra las levaduras en un intento de impedir la colonización. La adhesión implica la unión de los blastoconidios de *Candida* a la superficie epitelial o a los materiales protésicos. (20)

La producción de tubos germinales, que posteriormente se transforman en largas hifas, facilita aquella y permite la penetración por los espacios intercelulares, El cambio morfológico dificulta la fagocitosis y disminuye la reactividad con la Inmunoglobulina A secretora de la saliva. Entre los mecanismos de evasión de las defensas secretoras de la saliva. Entre los mecanismos de evasión de las defensas del hospedador, el cambio de fenotipo parece tener gran importancia en algunas cepas de *Candida Albicans* y se ha asociado a una mayor virulencia y a una menor sensibilidad a los antifúngicos. Las especies más patógenas son también las mayores productoras de enzimas hidrolíticas como fosfolipasa (producida por *Candida Albicans* exclusivamente), lipasa fosfomonoesterasa, hexosaminidasa y diferentes proteasas. Las proteasas ácidas o aspártico – proteasas son producidas por *Candida Albicans*, *C. Parapsilosis* y *C. Tropicalis*, y poseen un espectro amplio de acción. *Candida Albicans* responde a la topografía de superficie (tigmotropismo) y desarrolla un crecimiento de respuesta al tacto que facilita la penetración en algunos tejidos por las discontinuidades de la superficie y las roturas microscópicas. (20)

Se admite, en general, la etiología multifactorial de la estomatitis protésica, pudiéndose englobar los factores etiopatogénicos en dos grandes grupos: factores irritativos e infecciosos. Dentro de los primeros, la causa más frecuente es el trauma producido por el uso continuado de la prótesis, principalmente debido a la irritación por el desajuste o desadaptación de la misma a la mucosa. Debemos tener en cuenta que al colocar una prótesis incluso en un paciente sano, se produce una serie de cambios histológicos de tipo inflamatorio en su mucosa, inicialmente debidos a los cambios del entorno bucal así como por la irritación que la propia prótesis produce sobre la mucosa en la que asienta. Estos cambios son más significativos en pacientes con prótesis antiguas, mal adaptadas a la mucosa, por mal diseño, o con un ajuste oclusal inadecuado. Por supuesto, no debemos olvidar en este grupo de factores irritativos las reacciones alérgicas a los propios componentes de la prótesis, sobre todo al monómero residual de las resinas, aunque la

alergia como fenómeno de hipersensibilidad tipo IV (retardada) no es tan frecuente como cabría pensar. La prótesis también va a impedir el efecto de autoclisis o autolimpieza que ejerce la lengua y la saliva sobre la cavidad oral. Esto condiciona que hongos y bacterias que habitualmente conviven en la cavidad oral aumenten su número y pasen de ser saprofitos a patógenos. Entre los hongos, se encuentra hasta en un 94% de los casos la *Cándida Albicans*, sobre todo el serotipo A, aunque también pueden estar presentes otros patógenos inespecíficos. La *Cándida* inicialmente forma hifas que le sirven para adherirse y colonizar huésped y prótesis, posteriormente se transforma en levadura-micelio y produce enzimas hidrolíticas para penetrar en los tejidos, los cuales producen una respuesta inflamatoria. Más tarde, se produce la invasión vascular y diseminación a otros tejidos. (20)

El uso de la prótesis de forma continuada, da lugar a un mayor acumulo de placa bacteriana entre la base de la prótesis y la mucosa oral, debido al entorno ácido y anaeróbico que se produce al disminuir la circulación sanguínea por la presión ejercida por la prótesis. Este aumento de placa y de microorganismos provoca una mayor predisposición a la estomatitis. Otro grupo de factores de interés en el desarrollo de la estomatitis protésica, si bien con menor incidencia, son los factores sistémicos, entre los que se encuentran:

- Alteraciones nutricionales: Las carencias nutricionales, como déficit de hierro o vitaminas están ligadas a alteraciones en el recambio celular, y reparación de epitelios, por lo que se deberá tener en cuenta sobre todo en pacientes ancianos, donde se produce con frecuencia desequilibrios nutricionales.
- Dietas ricas en carbohidratos, favorecen el mecanismo de adhesión del factor patógeno de los hongos a la superficie de la mucosa oral, aumentando el riesgo de aparición de estomatitis. Esto mismo se produce en pacientes con Diabetes Mellitus, donde el alto nivel de glucosa en saliva favorecería la adhesión de los hongos. Enfermedades degenerativas o medicamentos que disminuyan la respuesta inmunológica, como Antibióticos de amplio espectro, o inmunosupresores que disminuyan la respuesta inflamatoria, como

los corticoides, favorecen la colonización por hongos de la mucosa oral y facilitan el desarrollo de la estomatitis.

- La disminución del nivel de saliva o la xerostomía, frecuente en ancianos, por la edad y por los múltiples medicamentos que toman, está relacionada con el desarrollo de estomatitis, en tanto que se pierde la capacidad antimicrobiana de la saliva, por su función de arrastre así como por su contenido en péptidos de primera línea de defensa inmunológica, como Ig A, lisozimas, histatinas o lactoferrinas . Cabe destacar también, por la amplitud de su consumo, el tabaquismo como factor coadyuvante en el desarrollo de lesiones candidiásicas asociadas a estomatitis por prótesis, aunque algunos autores no lo consideran un factor predisponente.(20)

#### 1.4.4 Epidemiología de la Candidiasis Oral

El origen de la mayoría de las candidiasis es un reservorio interno oral o digestivo (candidiasis endógenas). La cavidad oral de la cuarta parte de las personas sanas esta colonizada por levaduras. Estos microorganismos colonizan también los aparatos digestivo y genital. *Candida Albicans* representa alrededor del 80% de estas cepas, pero se detecta con poca frecuencia la piel o en el ambiente. Otras especies como *C. Parapsilosis*, *C. Guilliermondii* y *C. Tropicalis*, se aíslan en la piel humana y de animales, las plantas y el suelo. También la colonización es mayor en sujetos que acuden a consultas médicas u odontológicas (con independencia de la causa de consulta) y en pacientes hospitalizados. Igualmente sufre variaciones diarias (mayor a primeras horas la mañana y a últimas horas de la tarde). La lengua, el paladar y resto de la mucosa bucal son los lugares de mayor colonización por orden de frecuencia. Las superficies de las prótesis extraíbles en contacto con la mucosa muestran un mayor grado de colonización que aquellas partes que no contactan con esta. En algunos casos, la infección se puede adquirir de otras personas o de objetos y superficies (candidiasis exógenas). *Candida Albicans* no sobrevive durante mucho tiempo en superficies secas, pero su supervivencia es

mayor cuando hay humedad; así se ha aislado de los cepillos dentales, de personas colonizadas, de cremas de manos, cosméticos y de la ropa. (20)

#### 1.4.5 Presentaciones clínicas de la candidiasis oral:

- ✓ Agudas: Pseudomembranosa y Eritematosa
- ✓ Crónicas: Pseudomembranosa, Eritematosa e Hiperplásica
- ✓ Lesiones Asociadas: Queilitis angular, estomatitis protésica y glositis rómbica. (20)

#### 1.4.6 Candidiasis Pseudomembranosa aguda o muguet:

Es frecuente en niños y ancianos e infrecuente en personas de otras edades si no hay una enfermedad subyacente grave (infección por VIH o Leucemia). Puede observarse también en personas tratadas con cortico esteroides en aerosol por proceso asmáticos u obstructivos crónicos pulmonares. Esta infección se caracteriza por la presencia de grumos o placas blancas o blanco amarillentas (masas de hifas, levaduras, restos celulares y células epiteliales descamadas) que tienden a confluir y asientan sobre una mucosa eritematosa. (20)

#### 1.4.7 Candidiasis eritematosa aguda (Candidiasis atrófica aguda)

Es común y suele ser una complicación del tratamiento con antibacterianos de amplio espectro (tetraciclinas). Se define clínicamente como una zona rojiza sin presencia de grumos o placas. Las localizaciones más comunes son el dorso de la lengua y el paladar, dando una imagen clásica en espejo. Cuando la lengua está afectada el dorso esta depapilado, brillante y liso. El paciente se queja de dolorimiento o quemazón, tolera mal los alimentos sólidos y el consumo de líquidos fríos o calientes causa dolor, en ocasiones intenso. Esta forma de candidiasis es la más común en los pacientes infectados por VIH y también se observa en los tratados con cortico esteroides inhalados. (20)

#### 1.4.8 Candidiasis hiperplásica

Se confunde con los términos leucoplasia candidiasica y candidiasis nodular. Es una forma menos frecuente y se presenta como una lesión asintomática en placas o pequeños nódulos blancos adheridos firmemente a un área eritematosa. Está estrechamente relacionada con las leucoplasias no homogéneas a menudo colonizadas por *Candida* y con la leucoplasia vellosa de los márgenes linguales de pacientes inmunodeprimidos. La relación entre la leucoplasia y *Candida* se basa en la existencia de dos factores facilitadores comunes; el tabaco y la queratosis oral, este tipo de leucoplasia asociada a *Candida* es muy común en las zonas retro comisurales y con menos frecuencia en la lengua. (20)

#### 1.4.9 Queilitis angular

Se caracteriza por la aparición de eritema grietas o fisuras en las comisuras labiales. Intervienen diferentes factores que van desde anomalías relacionadas con el envejecimiento y la aparición de arrugas, la humedad en las comisuras labiales, los defectos protésicos, etc. En otras ocasiones se trata de una infección mixta por estafilococos y *Candida* sobre todo en personas jóvenes, en paciente con VIH la queilitis suele ser crónica. (20)

#### 1.4.10 Estomatitis Protésica:

Es la forma más común de candidiasis oral y se caracteriza por la presencia de una inflamación, enrojecimiento del área que sirve de soporte a una prótesis extraíble (preferentemente superior palatina), habitualmente asintomática. Este proceso puede llegar afectar a más del 70% de los portadores de prótesis extraíbles y es más frecuentemente en las mujeres. Su etiopatogenia es multifactorial y comprende factores protésicos, higiénicos, microbiológicos, dietéticos y sistémicos. (20)

Esta entidad describe cambios patológicos encontrados en los tejidos de soporte de la prótesis dental, los cuales se suscitan debido a una

proliferación fibroepitelial provocada por la interacción de la mucosa con la base acrílica o metálica de la prótesis. Clínicamente, esta entidad se caracteriza por la presencia de un eritema en los tejidos, sienta comúnmente encontrada en el maxilar superior y raramente en el maxilar inferior. La mucosa se encuentra eritematosa, de color rojo, brillante, eventualmente hemorrágica y puede presentarse además, con múltiples petequias localizadas en el paladar duro, puede estar acompañada en un mismo paciente con queilitis angular o de otras formas de candidiasis bucal. Sabiendo que las causas son multifactoriales, por el tiempo de las dentaduras, su uso continuo, hábitos de higiene que influyen en el inicio y progresión de la ESP. Esta patología se clasifica en 3 tipos de acuerdo a la apariencia de severidad clínica en los tejidos de soporte de la prótesis:

**TIPO I: INFLAMACIÓN SIMPLE LOCALIZADA:** Caracterizada por la presencia de petequias, inflamación de pequeñas áreas delimitadas en la superficie palatina, causada por el mal ajuste de la prótesis.

**TIPO II: INFLAMACIÓN SIMPLE GENERALIZADA:** Inflamación difusa en toda la superficie de la mucosa de soporte de la prótesis. Esta área aparece con edema, eritema y puede presentar sangramiento. Esta demarcada por los márgenes de la prótesis.

**TIPO III: INFLAMACION GRANULAR O PAPILAR HIPERPLASICA:** Caracterizada porque la mucosa palatina presenta un aspecto inflamatorio granular. Esta inflamación puede presentarse en toda la mucosa o solamente en la parte central del paladar. (20)

#### 1.4.11 Diagnóstico microbiológico de la candidiasis oral:

El diagnóstico clínico de la candidiasis oral es relativamente sencillo, pero debe ser confirmado por la observación microscópica de *Candida* en las muestras orales y por aislamiento en cultivo. La observación microscópica se puede hacer en fresco, pero una tinción rápida como la del Gram, puede facilitar la visión de las levaduras y Pseudomicelios de *Candida* que se tiñen de color violeta azul oscuro intenso. También

pueden emplearse tinciones histológicas como PAS o metenamina – plata para observar mejor la morfología fúngica en los tejidos obtenidos por biopsia. El cultivo se realiza en las placas de agar glucosado de Sabouraud con cloranfenicol o gentamicina (inhiben el crecimiento de las bacterias), que permite el crecimiento selectivo de los hongos. Hay otros medios de cultivo que facilitan la identificación presuntiva y rápida (18 a 48 horas) de la cepa según el color de las colonias (medios cromogénicos). Entre estos medios resalta CHROMagar Candida, donde *Candida Albicans* crece formando colonias lisas verdes, *Candida Tropicalis* las origina lisas azules, *C. Krusei* rugosas y rosas. Otro medio interesante es el agar Candida ID en el que *C. albicans* crece en forma de colonias lisas y azules; *C. Tropicalis* y *C. Guilliermondii* las originan rosas y el resto de las especies blancas. En el laboratorio de micología, la identificación de *C. Albicans* se efectúa habitualmente mediante la realización de la prueba de filamentación en suero (incubación del aislamiento a 37°C en suero de caballo durante 2 horas y visualización con el microscopio de la presencia de tubos germinales, característicos de *C. Albicans* observación de la morfología microscópica y producción de clamidoconidios en agar harina de maíz – Tween80 (después de una incubación a 24°C durante 3-7 días). Si el aislamiento clínico no produce tubo germinal o clamidoconidios probablemente pertenece a una especie diferente de *C. Albicans* y se realizan pruebas de fermentación y asimilación de hidratos de carbono, su diferenciación de *C. Albicans* resulta más difícil y debe realizarse sobre la base de sus características genotípicas ( por medio de hibridación de amplificación de ADN por PCR), su incapacidad de crecer a 45°C, su reactividad con antisueros específicos y sus perfiles característicos de asimilación de fuentes de carbono. (20)



## 1.4.12 Factores Predisponentes:

### 1.4.12.1 Higiene oral deficiente

La estomatitis protésica aparece más frecuentemente en portadores de prótesis con mala higiene oral. La presencia de placa bacteriana favorece la colonización por parte de *Candidas* tanto en la superficie de las prótesis como en la mucosa. Al manipular la prótesis para colocársela, los pacientes pueden infectarse las superficies dactilares por *Candida*, y crear así un círculo de reinfección sucesiva entre los dedos y la cavidad oral y viceversa. Por eso es importante insistir en las medidas de higiene personal entre las que se incluye un correcto lavado de las manos. (4)

La implantación de programas preventivos de salud oral en los pacientes de edad avanzada nos permitiría prevenir la enfermedad. Las medidas de estos programas incluyen el adiestramiento de los cuidadores y responsables de estos pacientes cuando son dependientes de terceras personas. (4)

### 1.4.12.2 Factores dependientes del huésped

La *Candida* tiene mayor capacidad de infección si el terreno le es favorable. Se sabe que los pacientes de edad avanzada presentan mejores condiciones para desarrollar la patología. Su flujo salival es reducido, con lo cual carecen de lisozimas, lactoferrina y las citoquinas salivares que inhiben y controlan el crecimiento de las *Candidas*, y normalmente no tienen las mejores condiciones higiénicas. Además, la formación de una película salival sobre todas las superficies es un método de protección para la cavidad oral. La unión de inhibidores de las proteasas al polimetilmetacrilato de las prótesis varía entre individuos, y esto explica la mayor susceptibilidad de algunos sujetos a la colonización por parte de los hongos. Los sujetos con problemas de inmunocompetencia y con enfermedades

sistémicas asociadas, tales como la diabetes tienen problemas similares. La inmunidad celular mediada por las células T helper (CD4+) activa las citoquinas salivares Th1 y Th2, que se consideran las responsables de la resistencia a la infección por *Candida*. (4)

El hecho de no quitarse la prótesis por las noches y de fumar son los dos factores que provocan mayor inflamación. (4)

#### 1.4.12.3 Factores dependientes de la prótesis

El simple hecho de portar la prótesis ya es un factor predisponente para la patología. Se crea un ambiente cerrado, más anaerobio, entre la prótesis colocada en la boca y la mucosa, con lo cual se favorece el crecimiento de las *Candidas*, pudiendo pasar las mismas de ser un hongo comensal en la mucosa a ser un parásito que infecte la mucosa. (4)

Las prótesis extraíbles generalmente están formadas en su totalidad o en buena parte por resina de polimetil metacrilato. Sobre dicho sustrato la *Candida* es capaz de generar una matriz extracelular diferente a la que generan sobre otra superficie, esta forma de crecimiento se llama biofilm. Dicho biofilm contiene menos proteínas e hidratos de carbono y más glucosa y galactosa que si la *Candida* creciese en condiciones normales. Estas diferencias explican que el biofilm presente mayor resistencia a los tratamientos antifúngicos, y productos con amfotericina B, nistatina, clorhexidina y fluconazol no han sido capaces de eliminar la *Candida* en dichas condiciones. Si además la superficie de la resina es rugosa y tiene una elevada porosidad, se favorece la acumulación de residuos y la aparición de la enfermedad. Las prótesis rebasadas con materiales blandos presentan el

mismo problema, si bien en mayor grado por la facilidad de deterioro de dichos materiales. (4)

#### 1.4.13 Factores específicos que afectan la distribución de *Candida Albicans* en la cavidad oral:

##### 1.4.13.1 Saliva:

Se ha demostrado que la saliva reduce la capacidad por parte de *C. albicans* de adherirse sobre el acrílico de las prótesis dentales, 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 nano proteínas 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.(28)

Se ha podido determinar que, la reducción de los niveles de humedad en la cavidad bucal, favorece el crecimiento de bacterias como *Staphylococcus aureus*, que es resistente a la desecación e inhibe a otros microorganismos comensales que necesitan de altos niveles de humedad.(28)

También se ha reportado que, en presencia de pH salival bajo y de altas tensiones de O<sub>2</sub> 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*. (28)

#### 1.4.13.2 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 placa dental obtenidas de prótesis removibles superiores de pacientes con E.S.P., quienes mantenían dietas ricas en glucosa y sacarosa.(28)

#### 1.4.13.3 Adherencia:

Las interacciones entre *C. albicans* y el hospedero son complejas. En este sentido, se ha sugerido que en los mecanismos de adherencia están involucradas interacciones entre los ligando 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 acrílico de las prótesis, cuando se hallan en la fase estacionaria que cuando están en la fase exponencial de crecimiento.(28)

#### 1.4.13.4 Hidrofobicidad de la superficie celular:

Se ha demostrado que la hidrofobicidad de la superficie celular está relacionada con la adherencia de blastosporas de *Candida* a las células epiteliales humanas y a los materiales plásticos.(28)

Por otra parte, se ha sugerido que los cambios que se suscitan en las proteínas de la capa externa de la pared celular de *C. albicans*, son los responsables de las variaciones hidrofóbicas a hidrofílicas en esta especie. Las células hidrofóbicas de *C. albicans* se unen difusamente y abundantemente a los tejidos del hospedero, en tanto que la unión de las células hidrofílicas se restringe a sitios específicos del hospedero. Las células hidrofílicas de *C. albicans* se unen a regiones con macrófagos,

en contraste con las células hidrofóbicas, las cuales se unen a los tejidos en aquellos lugares del hospedero libres de macrófagos, por lo que las células hidrofílicas son más fáciles de remover del organismo por fagocitosis que las células hidrofóbicas, las cuales pueden colonizar el epitelio. (28)

La adherencia 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 acrílico de las prótesis, puede conferirle a estos microorganismos un acceso directo al hospedero humano.(28)

#### 1.4.15 Tratamiento de la candidiasis oral:

Debe contemplar la solución de los factores predisponentes y la eliminación de la infección mediante el empleo de antifúngicos apropiados. La corrección de los factores sistémicos (control de la diabetes o la ferropenia) y de los locales (colocación de una prótesis removible correcta o disminución de la xerostomía) son fundamentales. La nistatina y los azoles tópicos (miconazol, clotrimazol, econazol). Son productos útiles en el tratamiento inicial de las candidiasis, mientras que el ketoconazol y los triazoles ( fluconazol e itraconazol) son más eficaces en candidiasis recidivantes o resistentes a otros tratamientos (VIH). (20)

El fracaso terapéutico puede deberse a múltiples causas:

- a) Desarrollo de resistencia al antifúngico (resistencia microbiológica adquirida)
- b) Selección de poblaciones fúngicas poco sensibles por el antifúngico empleado (resistencia microbiológica primaria o innata)
- c) Infección por un nuevo aislamiento de la misma o de distinta especie fúngica resistente al antifúngico empleado ( reinfección)
- d) Incumplimiento del tratamiento por parte del paciente.

- e) Concentraciones inadecuadas del antifúngico por interacción con otros fármacos o mal absorción
- f) Combinación de varios de estos factores. En el caso de candida albicans la presencia de resistencias es menos que en especies como C. Krusei o C. Glabrata (intrínsecamente menos sensibles al fluconazol). (20)

Se han propuesto varios mecanismos de resistencia:

- Permeabilidad reducida de la membrana celular al antifúngico (más probable para el fluconazol que para un compuesto muy lipófilo como elitraconazol.
- Desvíos posibles en la altura de síntesis del ergosterol
- Producción excesiva de enzimas dependientes del citocromo
- Mutación enzimática con disminución de la afinidad de unión del antifúngico
- Existencia de una bomba de flujo que elimina el antifúngico que entra en la célula fúngica. (20)

Consiste en enseñar al paciente las medidas higiénicas individuales y de la prótesis. Se le debe indicar dormir sin la misma, colocando la prótesis en una solución de clorhexidina a concentración entre el 0,12 y el 2%.

Los antifúngicos pueden ser agentes poliénicos (nistatina y amfotericina B), imidazoles (clotrimazol, miconazol y ketoconazol) o triazoles (fluconazol e itraconazol), aunque conocemos la resistencia del biofilm a dichos tratamientos.(20)

Indicaremos tratamiento antifúngico cuando el paciente refiera una clínica de dolor o sensación de ardor, o bien exista riesgo de infección faríngea o sistémica y se tiene que alargar cuatro semanas. Las pautas de tratamiento de los diferentes antifúngicos se presentan en:

- Ketoconazol, tópico, al 2%, (3 veces al día durante 15 días).

- Fluconazol de uso sistémico (50 mg/día durante 14 días), muy eficaz para la estomatitis que no responden a los tratamientos locales, o en pacientes inmunodeprimidos. Se puede combinar su uso con el de gluconato de clorhexidina al 2% sobre la base de la prótesis.
- Anfotericina B: Se presenta en tabletas, cremas o enjuagues. No se puede usar con acondicionadores de tejido y se recomienda, como el anterior combinado con clorhexidina. La utilización de antifúngicos en la mezcla de los acondicionadores de tejidos, puede estar indicada en aquellos pacientes con dificultad para la limpieza de su prótesis, si bien su efecto no es duradero y habría que reemplazarlo con cierta frecuencia.(20)

El tratamiento protésico, se basa en un análisis inicial del desajuste. Si existe un problema de desequilibrio oclusal de la prótesis, este será un imperativo. En resumen, los puntos clave para prevenir y tratar la estomatitis protésica se basan en:

- Educar al paciente en las medidas higiénicas adecuadas de boca y prótesis
- Retirar la prótesis para descanso nocturno de la mucosa bucal.
- Programa de revisión y mantenimiento de las prótesis cada año.
- Tratamiento médico y protésico adecuado cuando la estomatitis esté instaurada. (20)

#### 1.5 Métodos de difusión con discos (Bauer – Kirby):

Esta prueba de sensibilidad es evaluada y revisada continuamente por la NCCLS( National Comité for Clinical Laboratory ) , es el método más utilizado en microbiología, por obtener resultados exactos y precisos mediante un procedimiento sencillo.

Para informar los resultados de esta prueba, generalmente se utiliza antibiograma. Estos resultados se utilizan como métodos cuantitativos

clasificando a los microorganismos en sensible, intermedio y resistente según la sustancia a evaluar.

En esta investigación basada en la respuesta de la Candida Albicans se utilizaran los mismos criterios informando de la siguiente manera.

Sensible: Zona de inhibición superior a 15mm.

Intermedio: Zona de inhibición inferior a 15mm.

Resistente: No existe zona de inhibición. (11)

#### 1.5.1 Halo de Inhibición:

La distancia que inhibe el crecimiento del microorganismo inoculado en el medio se denomina halo de inhibición o zona de inhibición y se mide en mm y es inversamente proporcional a la CMI.

El tamaño del halo de inhibición es influenciada por diversos factores. Entre ellos tenemos:

- Medio de cultivo
- Estabilidad de la sustancia a evaluar
- Capacidad de difusión de la sustancia a evaluar
- Cantidad de microorganismo
- Periodo de incubación

Estos factores pueden afectar el resultado de la prueba, por tal motivo se debe tener cuidado al realizar el procedimiento. (11)

## **2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS:**

### **A.- ANTECEDENTES INTERNACIONALES:**

Inlago Guasgua, María Inés. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO DEL EXTRACTO DE TOMILLO (THYMUS VULGARIS) EN COMPARACION CON LA NISTATINA Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.2% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS (14) Este trabajo de investigación se realizó en la Universidad central del Ecuador - Quito donde se utilizó el extracto de



tomillo el cual presenta actividad antimicótica in vitro contra cepas bacterianas de la Candida Albicans, cuantitativamente el aceite esencial de tomillo registra los halos de mayor inhibición en los tratamientos de las concentraciones más altas puesto a prueba sobre los cultivos de hongo.

Gerrero Hurtado Juana del Carmen. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE PELARGONIUM PELTAUM (L) L HER SOBRE STREPTOCOCCUS MUTANS, STREPTOCOCCUS SANGUIS Y STREPTOCOCCUS MITIS FRENTE A CLORHEXIDINA. Este trabajo de investigación se realizó en la Universidad de Cuba donde el extracto acuoso de Pelargonium peltatum tuvo actividad antibacteriana sobre Streptococcus mutans, Streptococcus mitis y Streptococcus sanguis.

#### **B.- ANTECEDENTES NACIONALES:**

Matute Centeno, María Elena. EVALUACION IN VITRO DEL EXTRACTO DE PIPER ANGUSTIFOLIUM (MATICO) Y LA CLORHEXIDINA COMO ANTISÉPTICOS BUCALES. (21) Esta investigación se realizó en la Universidad Federico Villareal donde se obtuvo que el diámetro del halo de inhibición sobre el estreptococos mutans y lactobacilos a las 24 horas fue mayor en el extracto alcohólico de matico que la Clorhexidina al 0.12%; y el diámetro del halo de inhibición sobre el estreptococos mutans y lactobacilos a las 48 horas fue mayor el extracto alcohólico de matico que la Clorhexidina al 0.12%.

Tello Vivanco, Janina. ACCIÓN ANTIMICROBIANA DEL ANACARDIUM OCCIDENTALE SOBRE CANDIDA ALBICANS Y STAPHYLOCCUS AUREUS. ESTUDIO IN VITRO. (32) Esta investigación se realizó en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos donde el aceite de la cáscara de la nuez del Anacardium occidentale no mostró actividad antifúngica significativa en la prueba de difusión en agar contra Candida albicans ATCC 10231 ni en Candida albicans cepa clínica; El tiempo y la temperatura de almacenamiento del aceite de la cáscara de la nuez del

Anacardium occidentale no influye en su actividad antifúngica ni antimicrobiana.

### **C.- ANTECEDENTES LOCALES:**

Miranda Junco, Cesar Isidro. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE SEMILLAS DEL CITRUS PARADISI (KILOL) Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%, EN STREPTOCOCCUS MUTANS. (22) Se observa que a las 24 horas el extracto acuoso de semillas de citrus paradisi presenta un halo máximo de 37mm y un mínimo de 28mm , a las 48 horas presenta un halo máximo de 37mm y un mínimo de 27mm y a las 72 horas, presenta un halo máximo de 35mm y mínimo de 27mm. Decimos que el extracto tiene efectos positivos antibacterianos y que el efecto tiende a disminuir con el tiempo.

Apaza Villasante, Karla Wendy. DETERMINACION IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE ERYTHROXYLUM COCA SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS. (1) El extracto etanólico de la hoja de Erythroxyllum novogranatense var. truxillense tuvo una mayor actividad antibacteriana que el alcohol al 96% frente a Streptococcus mutans.

Choque Yaya, Selene Edith. EFECTO ANTIBACTERIANO Y ANTIFUNGICO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE OREGANUN VULGARE Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% ENTEROCOCCUS FAECALIS Y CANDIDA ALBICANS. (10) El aceite esencial de oreganun vulgare al 20%, 50% y 100%, demostró poseer mejor actividad antimicrobiana y antifúngica que el gluconato de clorhexidina al 0.12% al presentar diferencia significativa sobre el enterococcus faecalis y candida albicans, lo cual demuestra la mayor eficacia del aceite esencial de oreganun vulgare.

### **3. HIPÓTESIS:**

Siendo el gluconato de Clorhexidina un medicamento colutorio de primera opción, por su acción antibacteriana y antifúngica. Además el extracto acuoso del citrus paradisi kilol, posee acción bactericida y antifúngica, debido a que contiene dentro de su composición Naringina, Espiridina, Limoneno.

Es probable que el citrus paradisi Kilol, tenga igual efecto contra la candida albicans que el gluconato de clorhexidina al 0.12%

# **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

## 1. **Ámbito de estudio:**

El estudio se realizó en el laboratorio VET GEN BIOLABORATORIOS Arequipa.

El Laboratorio de VET GEN dispone del equipo necesario para realizar la fase experimental.

## 2. **Tipo y diseño de investigación:**

### **A. Tipo de Estudio:**

El presente trabajo es experimental porque se aplicó el kilol y la clorhexidina al 0.12% sobre la Candida Albicans, para establecer su efecto antifúngico.

### **B. Diseño de Investigación:**

- **De acuerdo a la temporalidad:**

**Longitudinal:** Porque queremos establecer el efecto antifúngico del Kilol y la Clorhexidina sobre la Candida Albicans a las 24, 48 y 72 horas.

- **De acuerdo al lugar donde se obtendrán los datos:**

La presente investigación es **laboratorial** porque la investigación fue procesada en un ámbito específico, que es el laboratorio.

- **De acuerdo al momento de la recolección de datos:**

La presente investigación es **prospectiva**, porque la información se obtuvo después de la ejecución del proyecto de tesis.

- **De acuerdo a la finalidad investigativa:**

La presente investigación es **Comparativa**, puesto que estableció diferencias y/o semejanzas entre el kilol y la clorhexidina como antifúngico (Candida Albicans).

### **3. UNIDAD DE ESTUDIO**

Las unidades de estudio fueron cepas de Candida Albicans estandarizadas, las cuales fueron sometidas a la acción del Kilol y el gluconato de Clorhexidina.

### **4. POBLACIÓN Y MUESTRA**

La población estuvo constituida por cepas de Candida Albicans ATCC 10231

Muestra: La presente investigación trabajó con una muestra cuyo tamaño se estableció a través de la siguiente fórmula.

$$n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{E^2}$$

Dónde:

n: Tamaño de la muestra.

$\alpha$  : Nivel de confianza del estudio : 95 %

En la escala Z; 95% = 1.96

p: Probabilidad que ocurre el fenómeno (%): 99%

q: 100 – p = 1 %

E: Error muestral 10% (in vitro)

Reemplazado:

$$n: \frac{(1.96^2) (99) (1)}{7^2}$$

$$7^2$$

$$n: 7.75 = 8$$

- Según la fórmula se necesitarán 8 unidades de estudio por cada grupo de trabajo.
  - o grupo 1: concentración de Kilol 25%
  - o grupo 2: concentración de Kilol al 50%
  - o grupo 3: concentración de Kilol al 75%
  - o grupo 4: concentración de Kilol al 100%
  - o grupo 5: gluconato de Clorhexidina al 0.12%).

## **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Cepas de Candida Albicans que se encuentren correctamente conservadas a temperaturas bajas.
- Conservación por transferencia periódica.
- Conservación por suspensión en agua destilada o en agua estéril.

## **5. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS:**

### **a) Definición Operacional de Variables:**

#### **Variables Principales:**

##### **1. Variables Estímulo:**

- Semillas del citrus Paradisi (KILOL)
- Gluconato de Clorhexidina.

## 2. Variables Respuesta:

- Efecto antifúngico

VARIABLES	INDICADORES	SUB INDICADORES	NATURALEZA	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO
Extracto acuoso de citrus paradisi (kilol)	Concentración 25% Concentración 50% Concentración 75% Concentración 100%		Cualitativa	Ordinal	Estímulo
Gluconato de Clorhexidina					Estímulo
Efecto antifúngico	Halo de Inhibición.	mm.	Cuantitativo	Razón	Respuesta

### b) Técnicas e Instrumentos de Recolección.

- **Técnicas:**

En la presente investigación, la técnica que se utilizó fue la Observación.

- **Instrumentos:**

En la presente investigación, el instrumento que se utilizó fue la Ficha de Observación Laboratorial. (ANEXO 1).



## Procedimientos para la recolección de datos:

1.- Kilol: El extracto acuoso de toronja y ácido ascórbico, de forma comercial, con las siguientes características:

- Producto Peruano
- Fabricado por: QUIMTIA S.A – Mz B Lote 1 Urb. Industrial las Praderas de Lurín Lima.
- Autorización Sanitaria: Digesa
- Profesional Responsable: Q.F.Alfredo Mendoza E./ C.Q.F.P.10275
- Composición: Cada 100ml contiene.
  - a. DF. 100 (Ácido Ascórbico 18.0%)
  - b. Extracto de semilla de Toronja 38%.....5%
  - c. Excipientes c.s.p.....100%

2.- Preparación del medio Saboraud 2% : para cultivo de *Cándida Albicans*

- Pesar 47g de medio Saboraud en un frasco Pirex
- Agregar agua destilada estéril hasta completar a 1000 ml
- Disolver por agitación
- Calentar en un mechero bunsen hasta disolver completamente
- Llevar al autoclave por 15 minutos a 121° C
- Colocar en baño maría hasta lograr una temperatura de 50° C
- Plaquear aproximadamente 20 ml en cada placa Petry descartable.
- Enfriar hasta solidificar
- Rotular y colocar en refrigeración (2° C a 7° C) hasta su uso.

### 3.- Dilución del Kilol

- 3.1. 100% - No dilución.
- 3.2. 50% - 50ml Kilol + 50ml de agua destilada estéril.
- 3.3. 75% - 75ml Kilol + 25ml de agua destilada estéril
- 3.4. 25% - 25ml kilol + 75ml de agua destilada estéril.

### 4.- Clorhexidina 0.12%

### 5.- Preparación de discos

- Cortar discos de 5 mm de papel filtro Watman #4 con un sacabocado
- Esterilizar los discos a 121° C por 20 minutos a 1.2 bar de presión
- Colocar 5ul de cada dilución en los discos estériles, y secar.

### 6.- Cultivo de la Candida Albicans:

- Romper la ampolla del tubo conteniendo la cepa liofilizada de Candida albicans
- Tomar parte de la cepa con un asa estéril y cultivar por agotamiento en la superficie del agar Saboraud.
- Incubar por 48 horas a 37° C

### 7.- Preparación de la suspensión de Candida albicans

- En un frasco pirex conteniendo 50 ml de agua destilada estéril preparar una suspensión igual al estándar MacFarlan 0.5 (Turbidez)

### 8.- Sembrado de Candida albicans a partir de la suspensión con turbidez 0.5 MacFarland

- Secar las placas con Agar saboraud, por 30 minutos en una estufa a 37°

- Humedecer un hisopo estéril con la suspensión de Candida albicans y sembrar en la superficie de 10 placas conteniendo Agar Saboaud
  - Desechar los hisopos en una solución de 10% de formaldehído
- 9.- Con una pinza estéril colocar los discos preparados con kilol en 4 diluciones y clorhexidina, en la superficie del agar saboaud, presionando ligeramente para adherir los discos a la superficie.
- 10.- Colocar las placas en forma invertida en la incubadora a 37° C por 48 horas
- 11.- Hace las lecturas de los diámetros de halos de inhibición de crecimiento con ayuda de un vernier, a las 24 48 y 72 horas de incubación.

#### **9. PRODUCCIÓN Y REGISTRO DE DATOS:**

La tabulación de los datos se llevó a cabo a través de la elaboración de una matriz de sistematización en una hoja de cálculo Excel versión 2010. Esta matriz nos permitió realizar el procesamiento de la información.

La presentación de los resultados se hizo a partir de la confección de tablas de simple y doble entrada, así mismo, se elaboraron gráficos de barras.

#### **10. TÉCNICAS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO:**

El análisis de los datos se realizó en dos etapas. En la primera de carácter descriptivo se hallaron frecuencias absolutas (N°) y frecuencias relativas (%).

En la segunda etapa, en la cual se estableció si existen o no diferencias entre los grupos de estudio, se aplicó la prueba estadística t de Student a un nivel de confianza del 95%. Cabe resaltar que la totalidad del proceso estadístico se llevó a cabo con ayuda del software EPI-INFO VERSION 6.0.

## **11. RECURSOS:**

### **A. HUMANOS:**

- **Investigador** : Bach. Ana Belén Rodríguez Málaga
- **Asesor Director** : Mg. Brenda Beltrán Garate
- **Asesor Metodológico** : Dr. Xavier Sacca Urday
- **Asesor de Redacción** : Dra. María Luz Nieto Muriel
- **Colaboradores** : Dr. Rufo Alberto Figueroa Banda  
: Dr. Fernando Fernández Fernandez.

### **B. FINANCIEROS:**

El presente trabajo de investigación fue financiado en su totalidad por la investigadora.

### **C. MATERIALES:**

#### 1. Material Biológico:

- Extracto Acuoso del citrus paradisi (Kilol)
- Gluconato de Clorhexidina
- Cepa de Candida Albicans

#### 2. Equipos de Laboratorio:

- Formaldehido al 10%
- Papel Watman Nro. 4
- Pinza estéril
- Asa

- Micropipetas de 0.0 – 10 ul
- Puntas de pipetas
- Autoclave
- Balanza analítica
- Incubadora de 37°
- Mechero Bunsen
- Refrigeradora

### 3. Medios de Cultivo:

- Agar Sabouraud Dextrosa

### 4. Material de Vidrio:

- Placas Petri
- Probeta graduada
- Tubos de ensayo.

### 5. Material de escritorio:

- Computadora e impresora
- Cámara fotográfica digital
- Utilería en general.

## **D. INSTITUCIONALES:**

Universidad Alas Peruanas – Filial Arequipa

# **CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 1.- Presentación de resultados

**TABLA N° 1**  
**COMPORTAMIENTO DE LA CLORHEXIDINA FRENTE A LA CANDIDA**  
**ALBICANS**

Clorhexidina	Halo – Medición (mm)	
	48 horas	72 horas
Media Aritmética (Promedio)	7.56	7.47
Desviación Estándar	0.39	0.40
Halo Mínimo	7.10	7.05
Halo Máximo	8.35	8.40
Total	8	8
Fuente: Matriz de datos	P = 0.649 (P ≥ 0.05) N.S.	

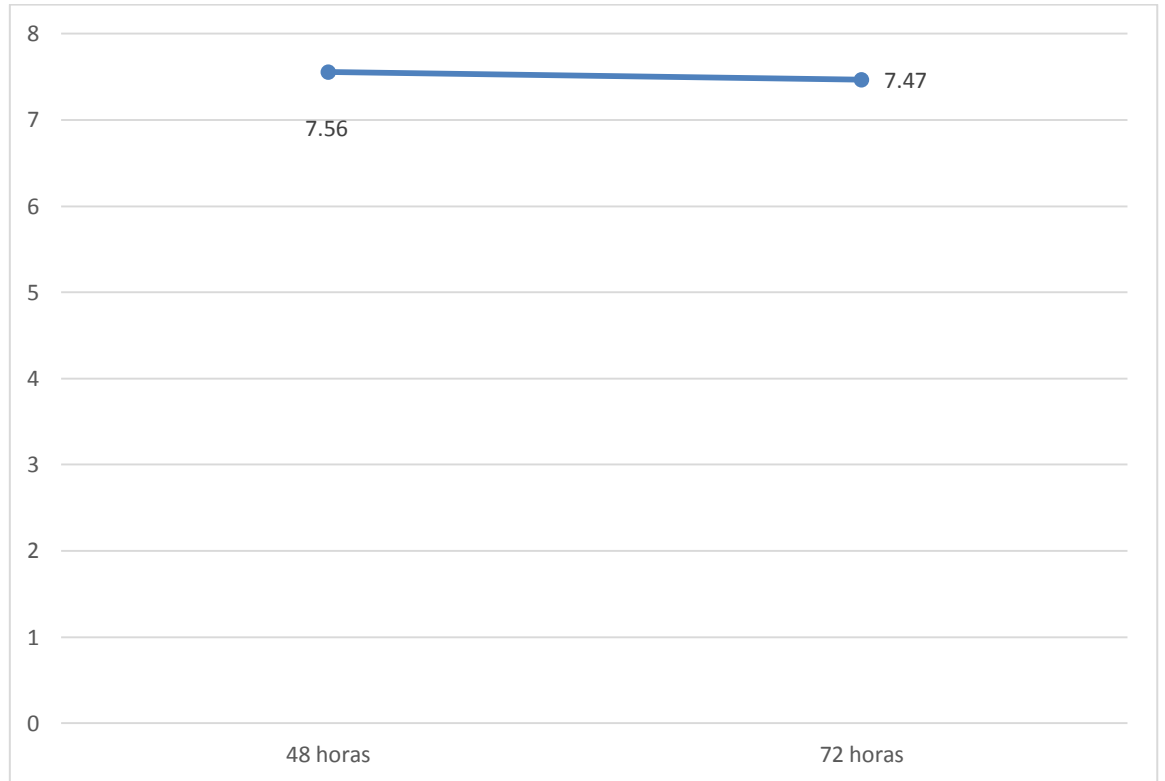
### INTERPRETACIÓN:

En la presente tabla podemos apreciar el comportamiento de la Clorhexidina al 0.12% frente a la Candida Albicans; observándose que a las 48 horas de aplicado el estímulo, se formó un halo de inhibición promedio de 7.56 mm, este valor disminuyó hasta 7.47 mm a las 72 horas.

Según la prueba estadística, las diferencias encontradas de los halos de inhibición entre las 48 y 72 horas, no son significativas, es decir, el efecto de la clorhexidina llega su máximo a las 48 horas y a partir de allí se mantiene.

## GRÁFICO N° 1

### COMPORTAMIENTO DE LA CLORHEXIDINA FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS





**TABLA N° 2**  
**COMPORTAMIENTO DEL KILOL AL 25% FRENTE A LA CANDIDA**  
**ALBICANS**

Kilol – 25%	Halo – Medición	
	48 horas	72 horas
Media Aritmética (Promedio)	8.10	8.03
Desviación Estándar	0.20	0.56
Halo Mínimo	7.65	7.15
Halo Máximo	8.25	8.75
Total	8	8
Fuente: Matriz de datos	P = 0.750 (P ≥ 0.05) N.S.	

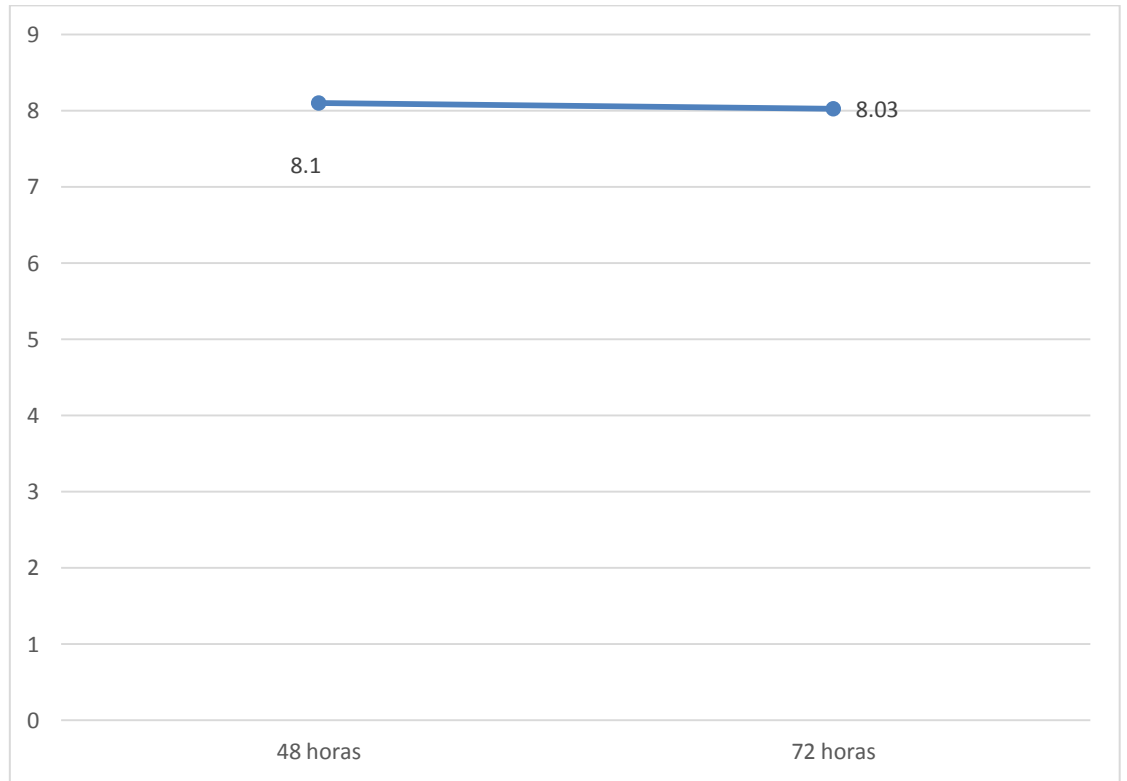
**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar el comportamiento del Kilol al 25% frente a la Candida Albicans; observándose que a las 48 horas de aplicado el estímulo, se formó un halo de inhibición promedio de 8.10 mm, este valor disminuyó hasta 8.03 mm a las 72 horas.

Según la prueba estadística, las diferencias encontradas de los halos de inhibición entre las 48 y 72 horas, no son significativas, es decir, el efecto del Kilol al 25% llega su máximo a las 48 horas y a partir de allí se mantiene.

## GRÁFICA 2

### COMPORTAMIENTO DEL KILOL AL 25% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS



**TABLA N° 3**  
**COMPORTAMIENTO DEL KILOL AL 50% FRENTE A LA CANDIDA**  
**ALBICANS**

Kilol – 50%	Halo – Medición	
	48 horas	72 horas
Media Aritmética (Promedio)	8.40	8.27
Desviación Estándar	0.38	0.61
Halo Mínimo	8.00	7.00
Halo Máximo	8.95	8.95
Total	8	8
Fuente: Matriz de datos	P = 0.618 (P ≥ 0.05) N.S.	

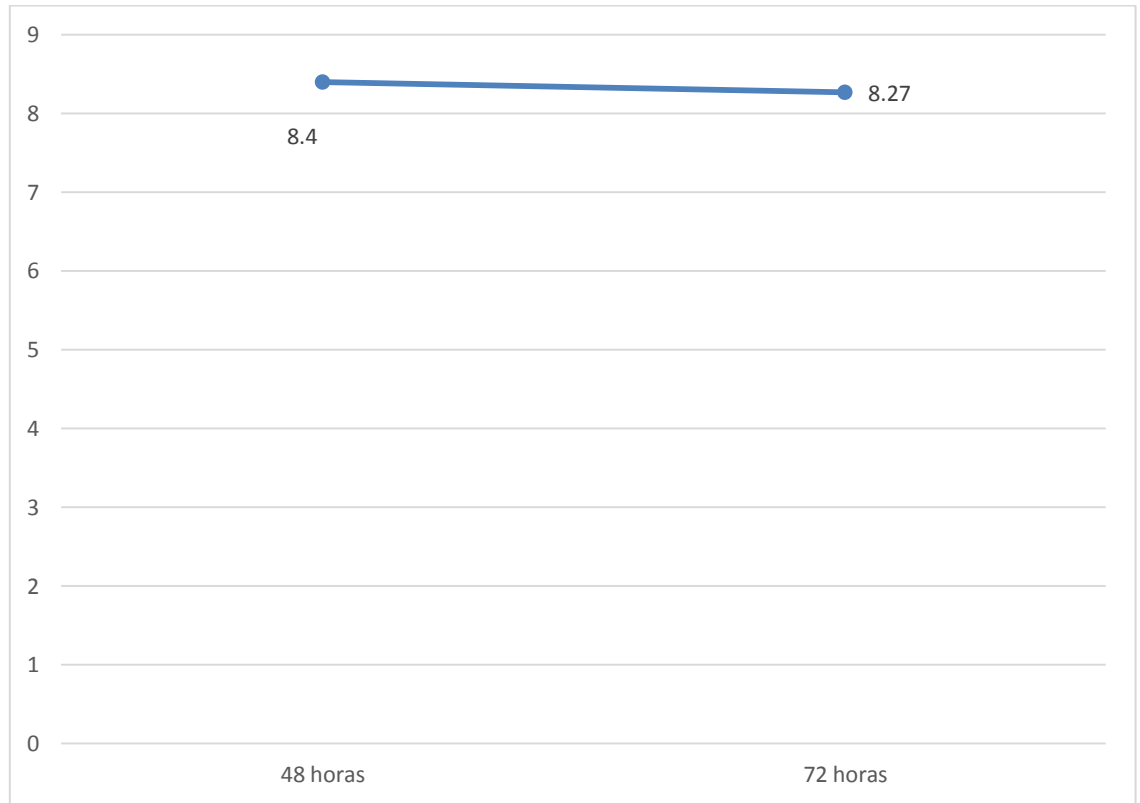
**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar el comportamiento del Kilol al 50% frente a la Candida Albicans; observándose que a las 48 horas de aplicado el estímulo, se formó un halo de inhibición promedio de 8.40 mm, este valor disminuyó hasta 8.27 mm a las 72 horas.

Según la prueba estadística, las diferencias encontradas de los halos de inhibición entre las 48 y 72 horas, no son significativas, es decir, el efecto del Kilol al 50% llega su máximo a las 48 horas y a partir de allí se mantiene.

### GRÁFICA N° 3

#### COMPORTAMIENTO DEL KILOL AL 50% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS



**TABLA N° 4**  
**COMPORTAMIENTO DEL KILOL AL 75% FRENTE A LA CANDIDA**  
**ALBICANS**

Kilol – 75%	Halo – Medición	
	48 horas	72 horas
Media Aritmética (Promedio)	9.18	8.56
Desviación Estándar	0.40	0.40
Halo Mínimo	8.65	8.00
Halo Máximo	9.90	9.15
Total	8	8
Fuente: Matriz de datos	P = 0.056 (P ≥ 0.05) N.S.	

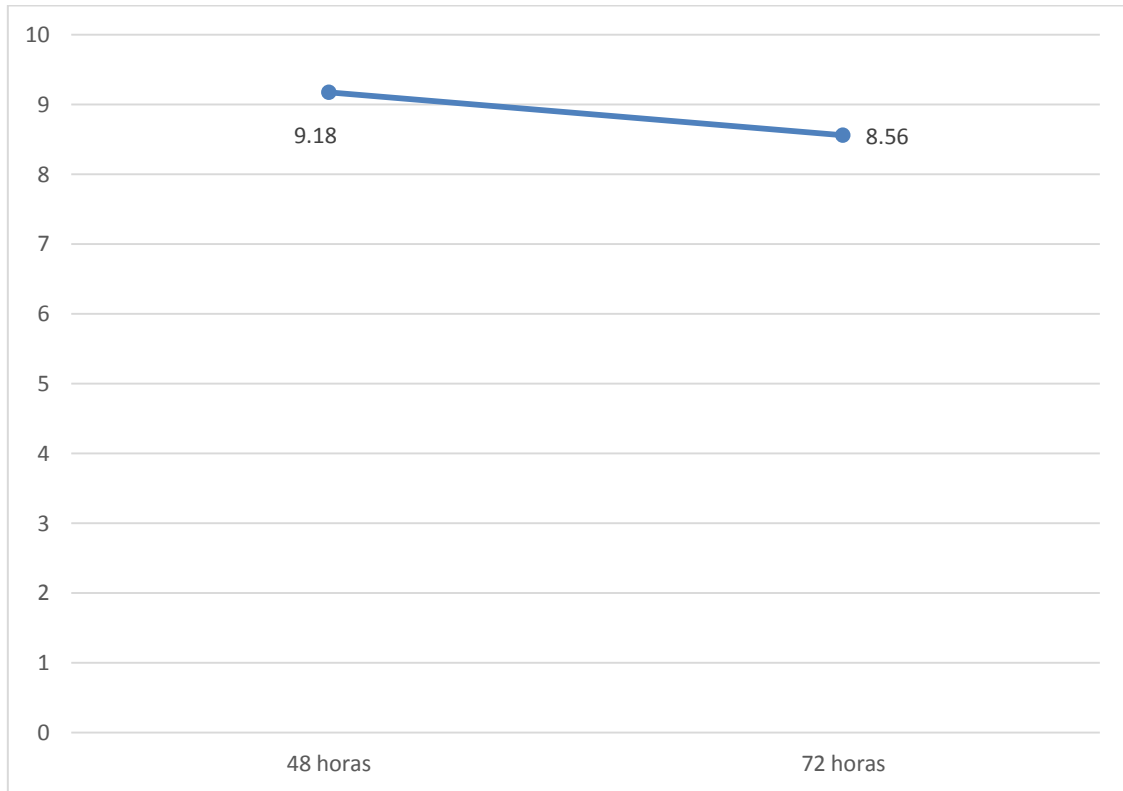
**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar el comportamiento del Kilol al 75% frente a la Candida Albicans; observándose que a las 48 horas de aplicado el estímulo, se formó un halo de inhibición promedio de 9.18 mm, este valor disminuyó hasta 8.56 mm a las 72 horas.

Según la prueba estadística, las diferencias encontradas de los halos de inhibición entre las 48 y 72 horas, no son significativas, es decir, el efecto del Kilol al 75% llega su máximo a las 48 horas y a partir de allí se mantiene.

## GRÁFICA N° 4

### COMPORTAMIENTO DEL KILOL AL 75% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS



**TABLA N° 5**  
**COMPORTAMIENTO DEL KILOL AL 100% FRENTE A LA CANDIDA**  
**ALBICANS**

Kilol – 100%	Halo – Medición	
	48 horas	72 horas
Media Aritmética (Promedio)	11.95	11.20
Desviación Estándar	0.61	0.33
Halo Mínimo	11.10	10.70
Halo Máximo	12.90	11.55
Total	8	8
Fuente: Matriz de datos	P = 0.068 (P ≥ 0.05) N.S.	

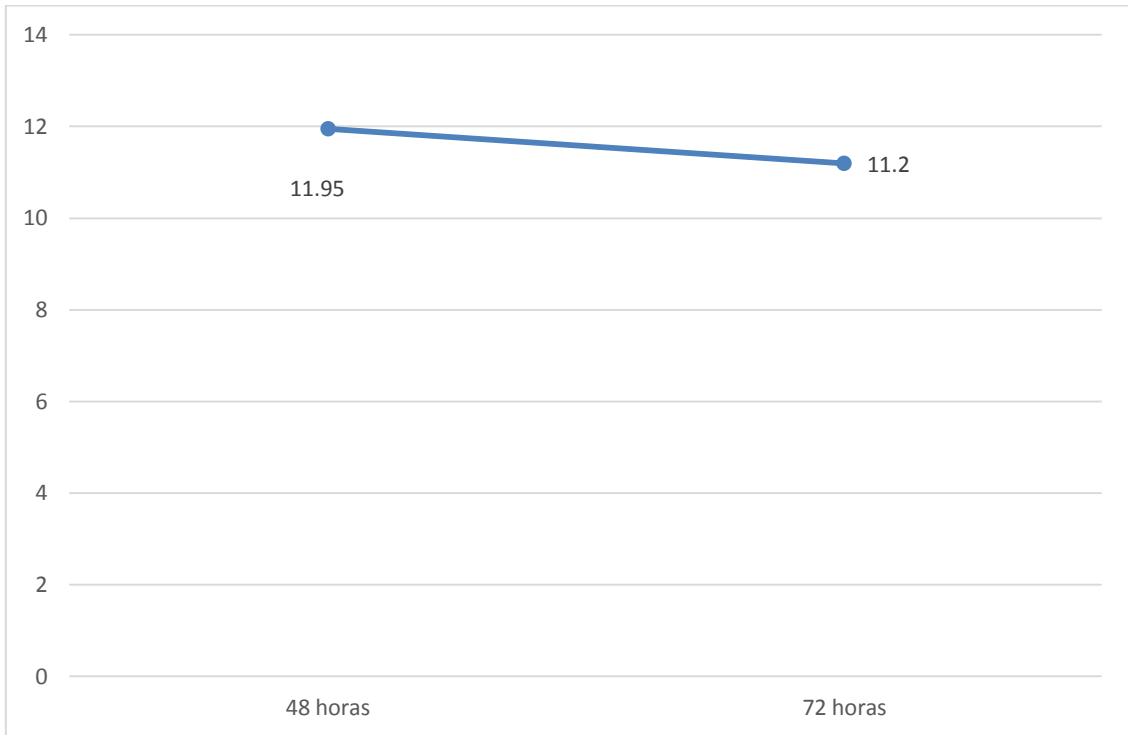
**INTERPRETACIÓN:**

En la presente tabla podemos apreciar el comportamiento del Kilol al 100% frente a la Candida Albicans; observándose que a las 48 horas de aplicado el estímulo, se formó un halo de inhibición promedio de 11.95 mm, este valor disminuyó hasta 11.20 mm a las 72 horas.

Según la prueba estadística, las diferencias encontradas de los halos de inhibición entre las 48 y 72 horas, no son significativas, es decir, el efecto del Kilol al 100% llega su máximo a las 48 horas y a partir de allí se mantiene.

## GRÁFICA N° 5

### COMPORTAMIENTO DEL KILOL AL 100% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS





**TABLA N° 6**

**COMPARACIÓN DE LA CLORHEXIDINA Y EL KILOL AL 25% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS A LAS 48 Y 72 HORAS**

Halo de Inhibición	Grupo de Estudio	
	Clorhexidina	Kilol – 25%
<b>48 horas</b>		
Media Aritmética (Promedio)	7.56	8.10
Desviación Estándar	0.39	0.20
Halo Mínimo	7.10	7.65
Halo Máximo	8.35	8.25
P	0.005 (P < 0.05) S.S.	
<b>72 horas</b>		
Media Aritmética (Promedio)	7.47	8.03
Desviación Estándar	0.40	0.56
Halo Mínimo	7.05	7.15
Halo Máximo	8.40	8.75
P	0.040 (P < 0.05) S.S.	
Total	8	8

Fuente: Matriz de datos

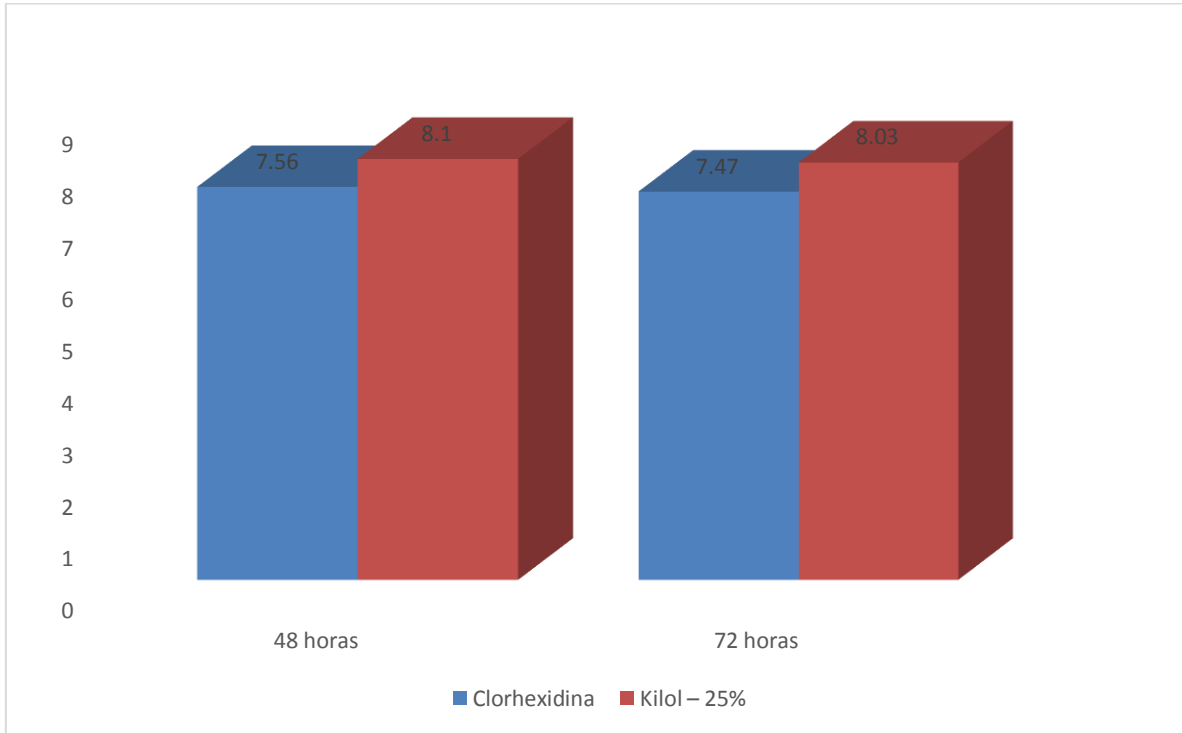
**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 48 horas de aplicados los estímulos, la clorhexidina logró un halo de inhibición promedio de 7.56 mm frente al Kilol en una concentración de 25% que obtuvo un promedio de 8.10 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Kilol fue más efectivo que la clorhexidina.

A las 72 horas apreciamos que la clorhexidina llegó a un halo de inhibición promedio de 7.47 mm, mientras que el Kilol obtuvo un valor de 8.03 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Kilol fue más efectivo que la clorhexidina.

## GRÁFICA N° 6

### COMPARACIÓN DE LA CLORHEXIDINA Y EL KILOL AL 25% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS A LAS 48 Y 72 HORAS



**TABLA N° 7**

**COMPARACIÓN DE LA CLORHEXIDINA Y EL KILOL AL 50% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS A LAS 48 Y 72 HORAS**

Halo de Inhibición	Grupo de Estudio	
	Clorhexidina	Kilol – 50%
<b>48 horas</b>		
Media Aritmética (Promedio)	7.56	8.40
Desviación Estándar	0.39	0.38
Halo Mínimo	7.10	8.00
Halo Máximo	8.35	8.95
P	0.001 (P < 0.05) S.S.	
<b>72 horas</b>		
Media Aritmética (Promedio)	7.47	8.27
Desviación Estándar	0.40	0.61
Halo Mínimo	7.05	7.00
Halo Máximo	8.40	8.95
P	0.008 (P < 0.05) S.S.	
Total	8	8

Fuente: Matriz de datos

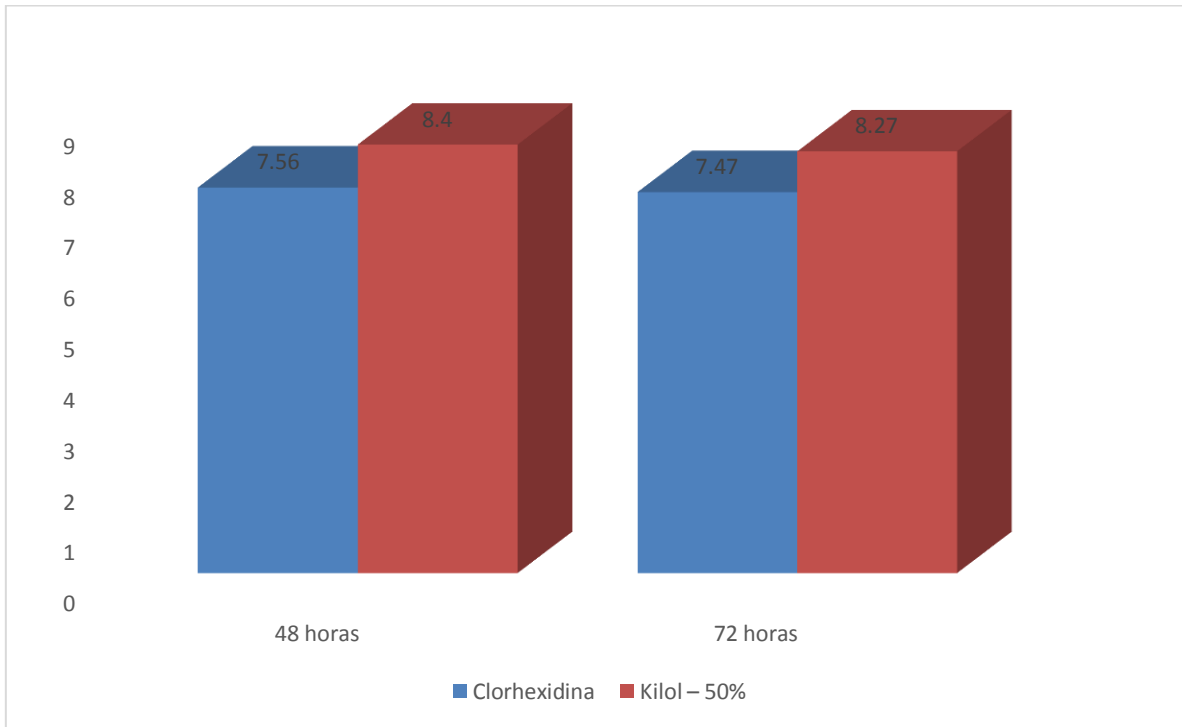
**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 48 horas de aplicados los estímulos, la clorhexidina logró un halo de inhibición promedio de 7.56 mm frente al Kilol en una concentración de 50% que obtuvo un promedio de 8.40 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Kilol fue más efectivo que la clorhexidina.

A las 72 horas apreciamos que la clorhexidina llegó a un halo de inhibición promedio de 7.47 mm, mientras que el Kilol obtuvo un valor de 8.27 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Kilol fue más efectivo que la clorhexidina.

### GRÁFICA N° 7

#### COMPARACIÓN DE LA CLORHEXIDINA Y EL KILOL AL 50% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS A LAS 48 Y 72 HORAS



**TABLA N° 8**

**COMPARACIÓN DE LA CLORHEXIDINA Y EL KILOL AL 75% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS A LAS 48 Y 72 HORAS**

Halo de Inhibición	Grupo de Estudio	
	Clorhexidina	Kilol – 75%
<b>48 horas</b>		
Media Aritmética (Promedio)	7.56	9.18
Desviación Estándar	0.39	0.40
Halo Mínimo	7.10	8.65
Halo Máximo	8.35	9.90
P	0.000 (P < 0.05) S.S.	
<b>72 horas</b>		
Media Aritmética (Promedio)	7.47	8.56
Desviación Estándar	0.40	0.40
Halo Mínimo	7.05	8.00
Halo Máximo	8.40	9.15
P	0.000 (P < 0.05) S.S.	
Total	8	8

Fuente: Matriz de datos

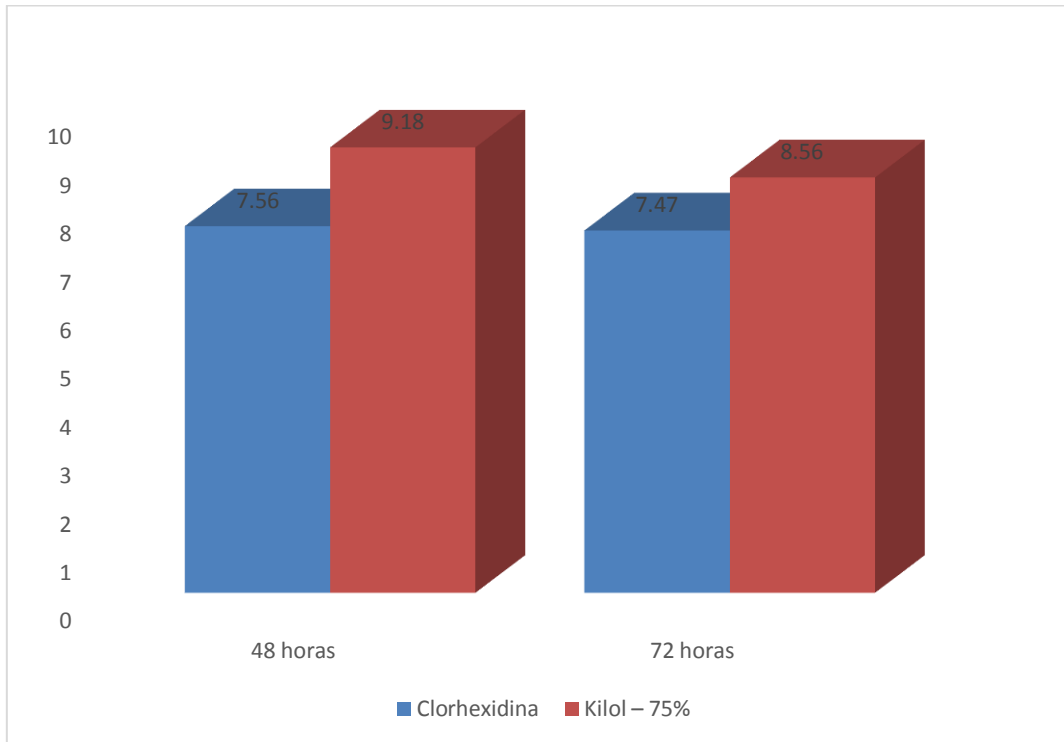
**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 48 horas de aplicados los estímulos, la clorhexidina logró un halo de inhibición promedio de 7.56 mm frente al Kilol en una concentración de 75% que obtuvo un promedio de 9.18 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Kilol fue más efectivo que la clorhexidina.

A las 72 horas apreciamos que la clorhexidina llegó a un halo de inhibición promedio de 7.47 mm, mientras que el Kilol obtuvo un valor de 8.56 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Kilol fue más efectivo que la clorhexidina.

**TABLA N° 8**

**COMPARACIÓN DE LA CLORHEXIDINA Y EL KILOL AL 75% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS A LAS 48 Y 72 HORAS**



**TABLA N° 9**

**COMPARACIÓN DE LA CLORHEXIDINA Y EL KILOL AL 100% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS A LAS 48 Y 72 HORAS**

Halo de Inhibición	Grupo de Estudio	
	Clorhexidina	Kilol – 100%
<b>48 horas</b>		
Media Aritmética (Promedio)	7.56	11.95
Desviación Estándar	0.39	0.61
Halo Mínimo	7.10	11.10
Halo Máximo	8.35	12.90
P	0.000 (P < 0.05) S.S.	
<b>72 horas</b>		
Media Aritmética (Promedio)	7.47	11.20
Desviación Estándar	0.40	0.33
Halo Mínimo	7.05	10.70
Halo Máximo	8.40	11.55
P	0.000 (P < 0.05) S.S.	
Total	8	8

Fuente: Matriz de datos

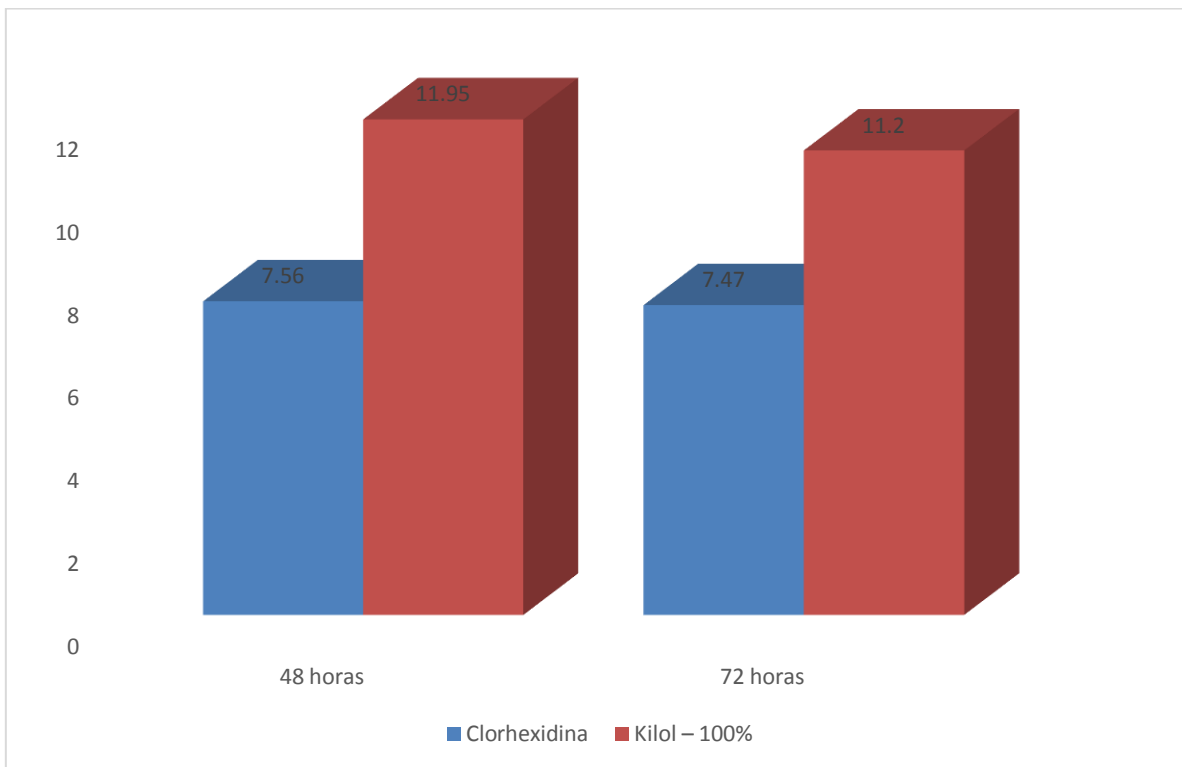
**INTERPRETACIÓN:**

La presente tabla nos muestra que a las 48 horas de aplicados los estímulos, la clorhexidina logró un halo de inhibición promedio de 7.56 mm frente al Kilol en una concentración de 100% que obtuvo un promedio de 11.95 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Kilol fue más efectivo que la clorhexidina.

A las 72 horas apreciamos que la clorhexidina llegó a un halo de inhibición promedio de 7.47 mm, mientras que el Kilol obtuvo un valor de 11.20 mm. Según la prueba estadística, estas diferencias son significativas, es decir, el Kilol fue más efectivo que la clorhexidina.

### GRÁFICA N° 9

#### COMPARACIÓN DE LA CLORHEXIDINA Y EL KILOL AL 100% FRENTE A LA CANDIDA ALBICANS A LAS 48 Y 72 HORAS





## 2. Discusión:

En el presente trabajo se investigó el efecto antifúngico del Extracto Acuoso de semillas de Citrus Paradisi Kilol, comparado con el Gluconato de Clorhexidina al 0.12% in vitro, en cepas certificadas de Candida Albicans, agente principal del hongo. El Gluconato de Clorhexidina, que se usa como solución colutorio, y que en ciertas formas sus componentes químicos inhiben el crecimiento de la Candida Albicans, también se podría utilizar el extracto acuoso de Citrus Paradisi Kilol como ya se comprobó en los diferentes tiempos donde responde a una acción en la que el halo de inhibición es superior a la del Gluconato de Clorhexidina al 0.12%, determinando que el kilol al 25% formó un halo de inhibición a las 48 horas de 8.10mm y a las 72 horas de 8.03mm, a una concentración del 50%, logró un halo de 8.40mm a las 48 horas, y de 8.27mm a las 72 horas. A la concentración de 75% llegó a formar un halo de inhibición de 9.18mm a las 48 horas, y de 8.56mm a las 72 horas. Finalmente, a una concentración del 100%, formó un halo de 11.95mm a las 48 horas, 11.20mm a las 72 horas. Esto demuestra la eficacia del kilol en sus diferentes concentraciones frente a la Candida Albicans, al igual que el presente trabajo demostró su eficacia del Kilol contra el Streptococcus mutans, Miranda Junco, Cesar Isidro. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de semillas del Citrus paradisi (Kilol) y gluconato de Clorhexidina al 0.12%, en Streptococcus mutans. Se observa que a las 24 horas el extracto acuoso de semillas de Citrus paradisi presenta un halo máximo de 37mm y un mínimo de 28mm, a las 48 horas presenta un halo máximo de 37mm y un mínimo de 27mm y a las 72 horas, presenta un halo máximo de 35mm y mínimo de 27mm. Decimos que el extracto tiene efectos positivos antifúngicos y que el efecto tiende a disminuir con el tiempo.

## **CONCLUSIONES**

### **PRIMERA:**

El gluconato de clorhexidina al 0.12% formó un halo de inhibición, a las 48 horas, de 7.56 mm y, a las 72 horas, de 7.47 mm, demostrando así su efectividad frente a la Candida Albicans.

### **SEGUNDA:**

El Kilol al 25% formó un halo de inhibición, a las 48 horas, de 8.10 mm y a las 72 horas de 8.03 mm; a una concentración del 50%, logró un halo de 8.40 mm a las 48 horas y de 8.27 mm a las 72 horas. A la concentración de 75%, llegó a formar un halo de inhibición de 9.18 mm a las 48 horas y de 8.56 mm a las 72 horas. Finalmente, a una concentración del 100% formó un halo de 11.95 mm a las 48 horas y 11.20 mm a las 72 horas. Esto demuestra la efectividad del Kilol, en sus diferentes concentraciones, frente a la Candida Albicans.

### **TERCERA:**

Comparando el gluconato de clorhexidina al 0.12% con las diferentes concentraciones de Kilol, queda demostrado que desde la concentración del 25% el Kilol es más efectivo que la clorhexidina. Contrastando estos resultados con la hipótesis planeada, esta se rechaza, pues el Kilol resultó siendo mejor.

## **RECOMENDACIONES**

### **PRIMERA:**

Dado los resultados, se recomienda a los cirujanos dentistas que pueden, como parte de sus protocolos de atención, optar por el extracto de Kilol como tratamiento alternativo para la Candida Albicans, siendo suficiente una concentración al 25%.

### **SEGUNDA:**

Se recomienda a los Cirujanos Dentistas que sugieran a sus pacientes la utilización del Kilol para la desinfección de sus prótesis completas y/o removibles, dado que es un producto económico y fácil de conseguir.

### **TERCERA:**

Se sugiere se lleve a cabo un trabajo de investigación donde se pruebe las propiedades antibacterianas del Kilol frente a la Prebotella gingival, que es una agente de la gingivitis.

## Referencia Bibliográfica:

- 1) Apaza Villasante, Karla Wendy. Determinación in vitro de la actividad antibacteriana del extracto de erythroxyllum coca sobre el streptococcus mutans.
- 2) Aguirre Urizar, José Manuel. Candidiasis Oral. Forum Micológico España 2002. (Citado el 18 de Julio del 2016). Disponible en <http://reviberoammicol.com/2002-19/017021.pdf>
- 3) Bascones Martínez, A , Mudarra ,Morante S, Perea Pérez E. Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. 2002 <http://scielo.isciii.es/pdf/peri/v14n3/original1.pdf>
- 4) Beiro Fuentes, R. Factores predisponentes a la candidiasis oral. 2012.
- 5) Barrios Medina Gustavo. Odontología su fundamento Biológico. 2da edición. Editorial Colombia 2004.
- 6) Botanical.Online . Los cítricos. (Citado el 10 de agosto del2016). Disponible en : <http://www.botanical-online.com/citricos.htm>
- 7) Burnett, George. Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca. 1ra Edición. Editorial Limusa. Madrid. 1998.
- 8) Carranza, Fermin A, Newman, Michael G, Periodontología Clínica de Glickman, 7ma edición. Editorial Interamericana McGranwhill. México, 1994.
- 9) Charles Morin L, Ing. Agric.Jefe del Departamento de Horticultura de la Universidad Nacional Agraria “La Molina”. Lima–Perú. Cultivo de Cítricos. 2009.( Citado el 10 de Setiembre del 2016). Disponible en :<https://books.google.com.pe/books?id=fxsPAQAAIAAJ&pg=PA63&lpg=PA63&dq=TORONJOS+COM>
- 10)Choque Yaya, Selene Edith. Efecto antibacteriano y antifungico in vitro del aceite esencial de oreganun vulgare y gluconato de clorhexidina al 0.12%enterococcus faealis y candida albicans.
- 11)Delgado Iribarren, Alberto , “Laboratorio de Microbiología”, 1ra edición, Editorial Interamericana, Madrid, 1994.
- 12)García Barbejo, Javier. Patología y Terapéutica Dental, 1ra edición editorial Síntesis. Madrid. 2000

- 13) García Rodríguez, José. Microbiología Medica General y Clínica. 1ra edición. Editorial harcourt. Madrid. 1996
- 14) Inlago Guasgua, Maria Ines. Determinación de la actividad antimicótico in vitro del extracto de tomillo en comparación con la nistatina y el gluconato de clorhexidina al 0.2% sobre cepas de Candida Albicans.
- 15) Insumos y Tecnología para la Industria Alimentaria Cimpa S.A.S. Ficha técnica del Kilol. <http://www.cimpaltda.com/modulo/quimicos/kilol.pdf>
- 16) Jaramillo, Javier. Desinfectante Natural Kilol. 2012. (Citado el 7 de Octubre del 2016) Disponible en : <http://www.kilol.com.ec/>
- 17) Joklik Wolfgang Kimberly. Zinsser Microbiologic. 5ta Edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 1986.
- 18) Koneman, José, "Diagnóstico Microbiológico", 5ta Edición, Editorial Medica Panamericana, Colombia, 1999.
- 19) Licata Marcela. El pomelo o Toronjo una fruta con grandes propiedades. 2009. (Citado el 25 de Octubre del 2016). Disponible en <http://www.zonadiet.com/comida/pomelo.htm>
- 20) Liébana Ureña, José. 2da edición. Microbiología Oral. Madrid. España. 2002
- 21) Matute Centeno, Maria Elena. Evaluación in vitro del extracto de piper angustifolium (matico) y la clorhexina como antisépticos bucales.
- 22) Miranda Junco, Cesar Isidro. Efecto Antibacteriano in vitro del extracto acuoso de semillas del citrus paradisi (Kilol) y gluconato de Clorhexidina al 0.12% , estreptococcus mutans.
- 23) Morin Lous Charles. Cultivo de cítricos. 2da edición. editorial Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura – San José, Costa Rica. 1985.
- 24) Montacero León, José. Taxonomía de las fanerógamas. Útiles del Perú. 2009
- 25) Mouton Christian. Bacteriología Bucodental. 1ra edición. editorial Masson. España 1995
- 26) Monsell Antonio. El extracto de Semillas de Pomelo, una alternativa Natural a los Antibióticos. 2006. (Citado el 8 de Agosto del 2016). Disponible en: [file:///C:/Downloads/EXTRACTO-DE-SEMILLA-DE-POMELO%20\(5\).pdf](file:///C:/Downloads/EXTRACTO-DE-SEMILLA-DE-POMELO%20(5).pdf)
- 27) Ojeda de Rodríguez, G. Caracterización Química del Aceite esencial de la Toronja. 2013. (Citado el 4 de Junio del 2016). Disponible en:

[http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/abril\\_junio2013/v30n2a2013266283.pdf](http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/abril_junio2013/v30n2a2013266283.pdf)

- 28) Pardi German, Cardozo Ines. Algunas consideraciones sobre Candida Albicans como etiológico de Candidiasis Oral. [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-63652002000100003](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652002000100003)
- 29) Pérez Álvarez, Ángel. Micosis Oral causada por Hongos Oportunistas. 2010. (Citado el 20 de Setiembre del 2016). Disponible en : <https://microral.wikispaces.com/Infecciones+orales+por+hongos+y+par%C3%A1sitos>
- 30) Sánchez Saldaña, Leonardo, Saenz Anduaga Eliana – Antisépticos y desinfectantes – Clorhexidina.
- 31) Seif R, Tomas, cariología (Prevención, Diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la Caries dental, 1997. Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica. Caracas – Venezuela.
- 32) Tello Vivanco, Janina. Acción antimicrobiana del Anardium occidentale sobre Candida Albicans y Staphylococcus Aureus. Estudio en vitro.
- 33) Torres López Mileydi, La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en estomatología.
- 34) Velasco Martín Alfonso. Farmacología Clínica y Terapéutica Médica. 1ra Edición Síntesis. Madrid. 1996

# **ANEXOS**

## ANEXO 1 MATRIZ DE DATOS

48 horas


	clorhexidina 12,5%	kilol 100%	kilol 75%	kilol 50%	kilol25%
disco 1	7.70	12.10	9.15	8.00	7.95
disco 2	8.35	11.10	9.90	8.00	8.25
disco 3	7.65	12.05	8.75	8.45	8.25
disco 4	7.65	11.20	9.40	8.85	8.20
disco 5	7.65	12.60	9.45	8.95	8.15
disco 6	7.30	12.90	9.20	8.65	7.65
disco 7	7.15	11.80	9.00	8.00	8.10
disco 8	7.10	11.85	8.65	8.35	8.25
Promedio	7.57	11.95	9.19	8.41	8.10

72 horas

	clorhexidina 12,5%	kilol 100%	kilol 75%	kilol 50%	kilol25%
disco 1	7.35	10.80	8.50	8.35	7.15
disco 2	8.40	11.40	9.15	7.00	8.75
disco 3	7.35	11.50	8.15	8.50	8.30
disco 4	7.55	10.70	8.75	8.95	8.60
disco 5	7.55	11.20	8.85	8.65	7.55
disco 6	7.05	11.55	8.85	8.75	7.55
disco 7	7.30	11.00	8.25	8.00	8.10
disco 8	7.25	11.50	8.00	8.00	8.25
Promedio	7.48	11.21	8.56	8.28	8.03



ANEXO 2 DOCUMENTACIÓN SUSTENTATORIA:



**GenLab**  
del Perú S.A.C.  
Tecnología para la Vida

ON SOCIAL: GEN LAB DEL PERU S.A.C.

N° 3434 Lima, Lima, Perú - P.O. Box. 8 Av. 7 de Mayo San Isidro  
Oficina N° 648 Urb. Las Flores San Juan de Lurigancho, Lima, Lima  
Teléfono: 203-7500 Telefax: (51-1) 203-7501  
www.genlabperu.com web: www.genlabperu.com

**R.U.C. 20501262260**

**GUIA DE REMISION  
REMITENTE**

**0002- N° 0021072**

**Comprobante de Pago N°**

2016	0020015376
------	------------

**R.U.C.:** 20303063766

**Cod. Cliente:** 000095

**Orden de Compra:** 003505

**Numero de Pedido:** 013620

**Tipo de Movimiento:** VENTAS

**Fecha de Traslado:** 05/04/2016

**Empresa de Transporte**

**Sr(es):** OLYA COURIER S.A.C

**R.U.C.:** 20100686814

**MOTIVO DEL TRASLADO**

Compras( ) Consignación( ) Ventas con Entrega a Terceros( ) Ventas Sujeta a Confirmación por ( )  
 ) Traslado entre Establecimientos de la misma Empresa( ) Devolución( ) Otros( )

CANT.	UNIT	DESCRIPCION
1		Individual Microorganism Candida albicans ATCC® 10231™ LOTE: 443-518-1 / Vencimiento: 31/08/2017

**RECEPCIONADOS:**

Una vez recepcionada la mercadería no habrá lugar a devoluciones.

**Firma y Sello**

p. GEN LAB DEL PERU S.A.C.  
Despachador

*[Firma]*

p. GEN LAB DEL PERU S.A.C.  
Almacén

RECIBI CONFOR  
DEST

## RESULTADO DE PRUEBA DE SENSIBILIDAD:

**CÓDIGO:** 04-016  
**MUESTRA:** Tesis  
**FECHA DE ENVÍO:** 26 de mayo del 2016  
**ESPECIE:** Cepas ATCC de *Candida albicans*  
**ANÁLISIS:** Pruebas de sensibilidad con Clorhexidina, y Kílol  
**DUEÑO:** Srta. Anabelen  
**ENVIADO POR:** Srta. Anabelen

Se realizaron activaciones de cepas ATCC de *Candida albicans* y sembradas en Agar Saboroud a 25° C por 72 horas.  
 Se preparó Kílol al 25%, 50%, 75% y 100%, y Clorhexidina de uso comercial al 12.5% colocados en discos de sensibilidad estériles en cantidad de 7ul en cada disco de cada dilución.

Al cabo de cultivo se obtuvieron los siguientes resultados:

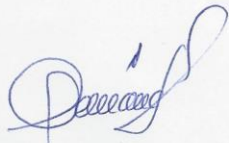
48 horas

	Clorhexidina 12.5%	Kílol 100%	Kílol 75%	Kílol 50%	Kílol 25%
Disco 1	7.70	12.10	9.15	8.00	7.95
Disco 2	8.35	11.10	9.90	8.00	8.25
Disco 3	7.65	12.05	8.75	8.45	8.25
Disco 4	7.65	11.20	9.40	8.85	8.20
Disco 5	7.65	12.60	9.45	8.95	8.15
Disco 6	7.30	12.90	9.20	8.65	7.65
Disco 7	7.15	11.80	9.00	8.00	8.10
Disco 8	7.10	11.85	8.65	8.35	8.25
Promedio	7.57	11.95	9.19	8.41	8.1

72 horas

	Clorhexidina 12.5%	Kilol 100%	Kilol 75%	Kilol 50%	Kilol 25%
Disco 1	7.35	10.80	8.50	8.35	7.15
Disco 2	8.40	11.40	9.15	7.00	8.75
Disco 3	7.35	11.50	8.15	8.50	8.30
Disco 4	7.55	10.70	8.75	8.95	8.60
Disco 5	7.55	11.20	8.85	8.65	7.55
Disco 6	7.05	11.55	8.85	8.75	7.55
Disco 7	7.30	11.00	8.25	8.00	8.10
Disco 8	7.25	11.50	8.00	8.00	8.25
Promedio	7.48	11.21	8.56	8.28	8.03

Atte.

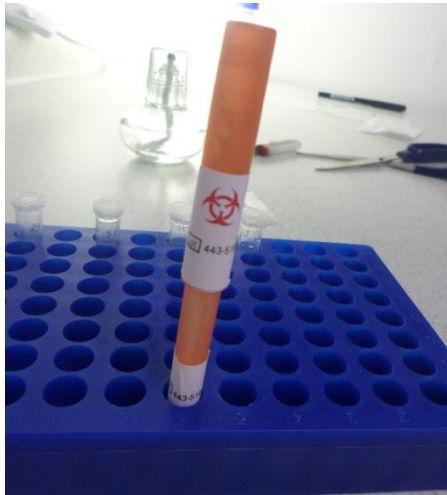


DR. FERNANDO A. FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ  
BIOLABORATORIOS VET GEN E.I.R.L.  
GERENTE

CMVP: 2352

Arequipa, 10 de junio del 2016

### ANEXO 3 CEPAS ESTANDARIZADAS



### ANEXO 4 SECUENCIA FOTOGRAFICA

