



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# **ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS, PREVALENCIA DE CANDIDIASIS ORAL Y COMPARACIÓN DE SU RESOLUCIÓN CON O SIN EL EMPLEO DE ANTIMICÓTICOS**

**Mabel Rocío Ríos Dueñas**

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Odontología

Bogotá, Colombia

2014



# **Estomatitis Subprótesis, Prevalencia de Candidiasis Oral y comparación de su resolución con o sin el empleo de Antimicóticos**

**Mabel Rocío Ríos Dueñas**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:

**Especialista en Rehabilitación Oral**

Director :

**Dr. Dairo Javier Marín Zuluaga, Ph.D**

Línea de Investigación:

Manejo de patologías bucales y alternativas terapéuticas en el adulto mayor

Grupo de Investigación:

Gerodontología

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Odontología

Bogotá, Colombia

2014



## Agradecimientos

*A dios, ser maravilloso por darme la fortaleza y virtudes necesarias para salir siempre adelante pese a las dificultades.*

*A el doctor Dairo Marín director del presente trabajo por su dedicación, colaboración y consejos sin los cuales no hubiese podido llevar a cabo ésta investigación.*

*A mis padres y en general a mi familia por su comprensión, cariño y apoyo permanente para poder llegar a esta instancia de mi carrera y en especial a mi hermana Sandra por su asesoría en el estudio.*

*A mi novio Sergio por ayudarme, acompañarme y ser la motivación de mi vida.*

## Resumen

**Objetivo:** Analizar el tiempo de resolución de la estomatitis protésica con el uso o no de antifúngicos durante el tratamiento, en un grupo de personas que asisten a las clínicas de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia.

En Colombia, el 93% de las personas con 55 o más años han perdido al menos a uno de sus dientes naturales y la mayoría de ellos utilizan prótesis removible. La estomatitis Protésica (EP) afecta a alrededor del 11-67% de los pacientes portadores de prótesis.

**Método:** se realizó un estudio cuasi-experimental, doble ciego con dos grupos con asignación aleatoria para el tratamiento. La muestra consistió en 50 participantes con diagnóstico de Estomatitis Protésica que utilizan prótesis mucosoportadas. Un odontólogo calibrado realizó el diagnóstico de la severidad de la EP de acuerdo con los criterios de Newton. Se tomaron muestras mediante dos hisopos estériles en cada mitad del paladar. Una de las muestras se utilizó para identificar la presencia de especies de *Candida*, con la otra muestra se identificó la presencia de hifas, lo que indica la actividad infecciosa de la *Candida spp.* Se dejó registrar el índice de higiene protésica (Jeganathan et al.) y se preguntó si el participante dormía con la prótesis.

**Resultados:** Un análisis de regresión multinomial con las variables que pueden incidir en el tiempo de resolución de la EP fue realizado. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tratamiento antifúngico con Nistatina y Placebo con 0,2 semanas de diferencia y con un valor de **p=0.151**, de igual forma no se encontraron diferencias significativas con las demás variables: higiene protésica **p=0.114**, presencia de *Cándida* **p=0.551**, presencia de hifas **p=0.256** y especie de *Cándida* **p=0.385**, dormir con la prótesis **p=0.092**. La edad del paciente **p=0.28** y el género **p=0.157** fueron consideradas como covariables para tiempo de resolución de la EP.

**Conclusion:** El uso de Nistatina tópica no disminuyó significativamente el tiempo de resolución de la Estomatitis Protésica, al compararlo con el uso de un placebo.

## Abstract

**Objective:** to analyse the time for resolution of the denture stomatitis when use or not antifungal during treatment, in a group of people attending the dental clinics of the School of Dentistry of the National University of Colombia.

In Colombia, 93% of people with 55 or more years have lost at least one of their natural teeth and most of them wear movable prosthesis. DS stomatitis affects about 11-67% of denture wearers.

**Method:** this is a quasi-experimental, double-blind study with two groups and random allocation of treatments. Consisting of 50 participants presenting with DS who wear denture. One calibrated dentist made the diagnosis of the severity of the DS (Newton's criteria). The palatal mucosa was swabbed with two plain cotton wools. One sample was used to identify the presence of *Candida* species, with the other was identified the presence of hyphae, indicating the infectious activity of *Candida* spp. They recorded the rate of prosthetic hygiene (Jeganathan et al.). Finally asked them if the participant slept with dentures.

**Results:** A multinomial regression analysis of the variables that can affect the time resolution of the EP was made. No statistically significant differences in the antifungal treatment with Nystatin and Placebo was found (0.2 weeks and a value of  $p = 0.151$ ), similarly showed no significant differences with the other variables:  $p = 0.114$  prosthetic hygiene, presence of *Candida*  $p = 0.551$ ,  $p =$  hyphae and *Candida* species  $0.256$   $p = 0.385$ , sleep with dentures  $p = 0.092$ . Another variables as patient age ( $p = 0.28$ ) and gender ( $p = 0.157$ ) were considered as covariates for time resolution of the EP.

**Conclusion:** The use of topical nystatin did not significantly decrease the time resolution of Denture Stomatitis, when it was compared with a placebo.

**Keywords:** Oral hygiene, denture stomatitis, *Candida*, antifungal medications



# Contenido

	Pág.
<b>Lista de figuras.....</b>	<b>10</b>
<b>Lista de tablas .....</b>	<b>11</b>
<b>Lista de Símbolos y abreviaturas.....</b>	<b>12</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>13</b>
<b>2. Objetivo General .....</b>	<b>16</b>
<b>3. Marco Teorico .....</b>	<b>17</b>
<b>4. Materiales y Métodos.....</b>	<b>45</b>
4.1. Diseño del Estudio.....	45
4.1.1. Hipótesis.....	45
4.1.2. Sujetos del Estudio .....	45
4.1.3. Tamaño muestral.....	46
4.1.4. Tipo de muestreo.....	47
4.2. Variables del estudio .....	47
4.2.1. Variable Independiente .....	47
4.2.2. Variables Dependientes.....	48
4.2.3. Variables Extrañas.....	49
4.2.3.1. Variables relacionadas con los sujetos experimentales .....	49
4.2.3.2. Variables referidas al tratamiento .....	49
4.3. Procedimientos de Intervención.....	49
4.3.1. Elementos utilizados para la recolección de datos.....	50
4.3.1.1. Consentimiento Informado y normas bioéticas .....	50
4.3.2. Formato de datos personales y Clínicos .....	50
4.3.2.1. Toma de muestras del paladar .....	51
4.3.2.2. Medios de transporte del cultivo microbiológico .....	51
4.3.2.3. Frotis de Paladar .....	51
4.3.2.4. Cultivo microbiológico.....	52
4.3.2.5. Índice de Higiene Protésica .....	53
4.3.2.6. Acondicionamiento de la Prótesis .....	53
4.3.2.7. Tratamiento antifúngico .....	54
4.4. Protocolo de Intervención .....	55
4.4.1. Proceso de obtención de datos – Mediciones Pre y Post Intervención .....	55
<b>5. Resultados del Estudio .....</b>	<b>60</b>
<b>6. Discusión .....</b>	<b>71</b>
<b>7. Conclusiones-Recomendaciones.....</b>	<b>75</b>

## Lista de figuras

**Figura 1:** Tipo 0 Mucosa Saludable

**Figura 2:** Tipo 1A. Petequias en tejido palatino normal

**Figura 3:** Tipo 1B. Area de hiperémica localizada

**Figura 4:** Tipo II. Area de inflamación generalizada

**Figura 5:** Tipo III. Superficie palatina hiperplásica con inflamación

**Figura 6:** Hisopo estéril

**Figura 7:** Medio de transporte

**Figura 8:** Lámina Portaobjetos

**Figura 9:** Medio de cultivo Agar de Sabouraud

**Figura 10:** Kit de Remel

**Figura 11:** Solución Reveladora de Placa

**Figura 12:** Material de rebase duro autopolimerizable

**Figura 13:** Suspensión Nistatina y Placebo

**Figura 14:** Diagrama toma de la muestra en paladar

---

## Lista de tablas

**Tabla 1:** Clasificación de la Estomatitis Protésica modificada

**Tabla 2:** Distribución de la muestra por sexo y edad en los grupos de estudio

**Tabla 3:** Distribución de las variables en el grupo Nistatina

**Tabla 4:** . Distribución de las variables en el grupo Placebo

**Tabla 5:** Distribución de los casos con presencia de Cándida, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo tratado con Nistatina.

**Tabla N 6:** Distribución de los casos con presencia de Cándida, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo tratado con Placebo.

**Tabla N 7:** Distribución de los casos con presencia de hifas, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo Nistatina.

**Tabla N 8:** Distribución de los casos sin presencia de hifas, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo Nistatina.

**Tabla N 9:** Distribución de los casos con presencia de hifas, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo Placebo.

**Tabla N 10:** Distribución de los casos sin presencia de hifas, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo Placebo.

**Tabla N 11:** Casos de acuerdo al Hábito de dormir con la prótesis al inicio y al final del tratamiento.

**Tabla N 12:** Nivel de significancia por variables

**Tabla N 13:** . Estimación de parámetros

## Lista de Símbolos y abreviaturas

### Abreviatura Término

---

GN	Grupo Nistatina
GP	Grupo Placebo
EP	Estomatitis Protésica
FOUN	Facultad de Odontología Universidad Nacional
A.M.M	Asociacion Medica Mundial
PDT	Terapia Fotodinamica
PEMA	Polietilmetacrilato
PMMA	Metacrilato de butilo
IBMA	Isobutilometacrilato
BMA	Metacrilato de butilo
PAS	Acido peryódico de Schiff
MIC	Concentración mínima inhibitoria
USE	Extracto de Semilla de Uva

## Introducción

La Estomatitis Protésica se define como un proceso inflamatorio de la mucosa oral relacionado con una prótesis removible (1,2,3). Es una de las alteraciones más comúnmente diagnosticadas en cavidad oral, debido al uso frecuente de prótesis mucosoportadas en la población adulta, por su fácil elaboración y bajo costo.

Comúnmente existen dos aspectos fundamentales en esta entidad que son: el trauma y la infección, sin embargo la etiología sigue siendo multifactorial lo cual ha generado una serie de investigaciones con el fin de identificar el factor etiológico que se relacione con mayor frecuencia y de esta forma aproximarse cada vez más al tratamiento efectivo de la entidad.

Entre los factores etiológicos que principalmente se le han asociado se encuentran: la mala higiene y el dormir con la prótesis, inestabilidad oclusal por desadaptación de la misma, alergia a los componentes acrílicos y antecedentes sistémicos adicionales como diabetes, disfunción endocrina, anemia, infección por HIV que facilitan el establecimiento de la enfermedad (4,5,6,7,8)

La *Candida spp*, considerada como microorganismo oportunista de la cavidad oral, frecuentemente se ha sugerido como factor etiológico de Estomatitis Protésica (EP) por su alta prevalencia y por la virulencia que puede generar, principalmente cuando las medidas de higiene no son adoptadas adecuadamente, llevando en estadios avanzados a instaurar una lesión hiperplásica, que favorece el acúmulo adicional de placa en la zona inflamada (9,10,11,12).

Actualmente continúan las investigaciones con diferentes opciones de tratamiento con el fin de establecer un protocolo de manejo que nos permita la resolución oportuna de la enfermedad. El tratamiento incluye varias medidas como la utilización del materiales de rebase protésico, desinfección química y mecánica de la prótesis, ajuste oclusal de las prótesis, cambio de hábitos alimenticios y la utilización de antifúngicos.

En la Facultad de odontología de la Universidad Nacional de Colombia, se han realizado estudios para evaluar la eficacia del tratamiento para la Estomatitis Protésica, con diferentes acondicionadores de tejidos. El presente estudio evalúa el tratamiento con el uso de antimicóticos que en la literatura actual sigue siendo controvertido.

## 1. Justificación

El ENSAB-III mostró que el 25.8% de los mayores de 15 años usaba prótesis superior y otro 22.3% la necesitaba. Entre los primeros, el 24.7% usaba removibles parciales y el 71% totales. El porcentaje de usuarios de prótesis aumentaba con la edad, pasando del 1.2% a los 15 años al 63.5% en los mayores de 55. Entre quienes necesitaban prótesis superior estos porcentajes eran 6.4% y 29.6% respectivamente. La Estomatitis Protésica afecta hasta al 67% de los usuarios de prótesis mucosoportadas (13, 14).

Sin embargo, se ha establecido la presencia del hongo *Candida albicans* sin presencia de lesiones en individuos sanos (7,15) y que algunos individuos con Estomatitis Protésica no presentan el hongo, así mismo, que aun bajo la presencia del hongo, la Estomatitis Protésica se resuelve instaurando medidas locales que no involucran el uso de antimicóticos (16). Se hace entonces necesario establecer si en un individuo inmunocompetente que presenta Estomatitis Protésica, es necesario el uso de antimicóticos para su tratamiento, o si esta revierte solamente con mejorar las condiciones de higiene Buco-dental y de adaptación de la prótesis.

### 1.1. Pregunta de Investigación

¿Existen diferencias en la resolución de la estomatitis protésica al emplear o no antimicóticos?

## **2. Objetivo General**

Aportar información para el establecimiento de un protocolo de manejo de la Estomatitis Protésica,

### **2.1. Objetivos Especificos**

- Analizar la posible asociación entre la severidad de la Estomatitis Protésica y la presencia de candida.
- Determinar la prevalencia de cándida en los grupos participantes y la proporción de casos con evidencia de actividad infecciosa de la candida.
- Analizar el tiempo de resolución de la estomatitis sub-prótesis al emplear o no antimicóticos durante su tratamiento.

## **3.Marco Teorico**

### **3.1. Definición de Estomatitis Protésica**

Proceso inflamatorio de la mucosa oral relacionado con una prótesis removible, considerando los dos signos fundamentales de esta enfermedad: la inflamación de la mucosa y la prótesis.

Tradicionalmente ha existido controversia con respecto a la definición más adecuada para esta enfermedad. La primera fue realizada por Cahn en 1936 quien la denominó "Denture sore mouth" (15), lo que puede ser traducido como llaga o herida. También Pryor en 1936 la denominó "Chronic denture palatitis" (16), término con el cual hacía referencia a la cronicidad del proceso y a su ubicación anatómica. Hacia 1963, Cawson se refirió a la entidad como "Denture Stomatitis" (17), esta definición es el término más aceptado en la lengua inglesa. También ha sido descrita como: Candidiasis Atrófica Crónica (18) e "Hiperplasia papilar inflamatoria del paladar" (19); estos términos no representan una condición estable debido a que en algunos casos de la entidad no existe esta característica o condición clínico-patológica.

En el presente trabajo hemos adoptado la definición Estomatitis Protésica, la cual es aceptada universalmente por diversos autores (1,2,3,22,23,24) y resume los aspectos esenciales de la enfermedad: la inflamación y su asociación protésica.

## 3.2. Clasificación de la Estomatitis Protésica

Desde el punto de vista clínico existen varios tipos de Estomatitis Protésica, dependiendo fundamentalmente del aspecto de la mucosa inflamada, la cual en el curso evolutivo de la enfermedad sufre modificaciones donde puede variar la gravedad inflamatoria e incorporar cambios fibroproliferativos en sus etapas más avanzadas.

En este sentido, la clasificación más usada es la descrita por Newton en 1962 (25) quien agrupó la Estomatitis Protésica en tres grados dependiendo la severidad y la extensión de la inflamación.

**Grado I:** *Estomatitis Protésica localizada simple:* Clínicamente se observan áreas hiperémicas en forma de pequeños puntos eritematosos localizados. Esta es considerada la lesión mínima visible a la inspección. También se puede definir como una inflamación de carácter local, con obstrucción de los ductos salivales por la prótesis y con signos inflamatorios mínimos, que se manifiesta con un punteado rojizo sobre la mucosa. Este grado se relaciona más con el trauma por prótesis [Fig. 1 y 2].

**Grado II:** *Estomatitis Protésica difusa simple:* Se observa una inflamación difusa o un enrojecimiento generalizado de la mucosa que aparece hiperémica, lisa y atrófica, circunscrita al área cubierta por la prótesis. Se considera una lesión inflamatoria verdadera [Fig. 3 y 4].

**Grado III:** *Estomatitis Protésica granular o de hiperplasia granular:* Es una inflamación intensa con hiperemia de la mucosa y de aspecto nodular en el área cubierta por la prótesis. Las alteraciones máximas se observan principalmente en la parte central de la mucosa palatina [Fig. 5].

Los tipos II y III, se relacionan con la presencia de placa microbiana de origen bacteriano o fúngico en la prótesis y en la mucosa subyacente.

Existe una modificación de la clasificación de Newton, descrita en el estudio de Kabawat y col (26) en la cual se presenta una subdivisión de la tipo I, como se muestra en la tabla no. 1 y en las figuras no. 1-5.

TIPO DE ESTOMATITIS	DESCRIPCIÓN
<b>Tipo 0</b>	Mucosa saludable
<b>Tipo IA</b>	Petequias en tejido palatino normal, usualmente se encuentra alrededor de los orificios de los ductos de glándulas mucosas palatinas.
<b>Tipo IB</b>	Area de hiperémica localizada en la zona protésica.
<b>Tipo II</b>	Area generalizada de inflamación de la zona protésica.
<b>Tipo III</b>	Superficie palatina hiperplásica con inflamación en el área protésica.

Tabla no 1: Clasificación de la Estomatitis Protésica modificada(26).

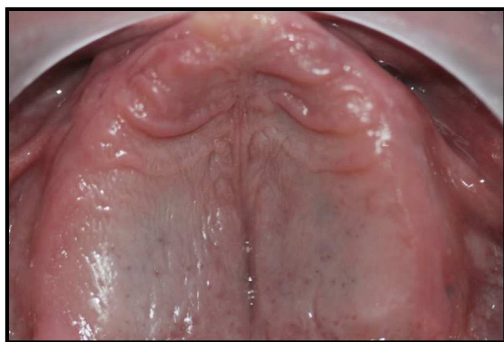


Figura 1:  
Tipo 0 Mucosa Saludable.

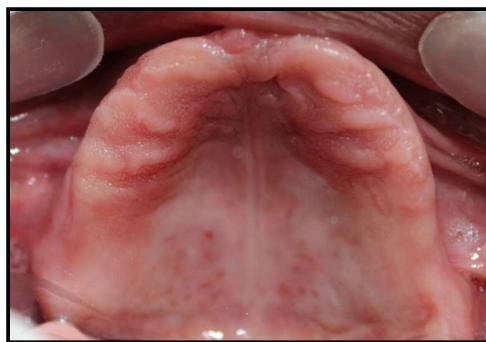


Figura 2:  
Tipo 1A. Petequias en tejido palatino normal.



Figura 3:  
Tipo 1B. Area de hiperémica localizada.



Figura 4:  
Tipo II. Area de inflamación generalizada.

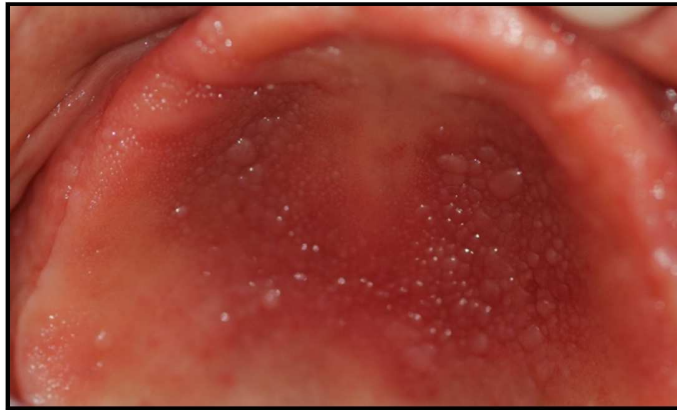


Figura 5:  
Tipo III. Superficie palatina hiperplásica con inflamación.

### 3.3. Etiología de la Estomatitis Protésica

A pesar de ser una alteración común, no hay una clara relación causa-efecto, actualmente se considera de origen multifactorial. Dentro de los factores asociados se encuentran: el trauma protésico por prótesis desadaptadas, la higiene oral deficiente, la colonización de la parte noble de la prótesis por microorganismos de tipo bacteriano y/o fúngico principalmente *Candida spp*, el uso nocturno de la prótesis; la dieta con exceso de carbohidratos, reacciones alérgicas a los materiales de la prótesis entre otros (4).

A pesar de lo aceptado por la comunidad científica en lo referente a la etiología de la Estomatitis Protésica, encontramos que los factores más asociados o que predominan en la aparición de esta son: La falta de higiene y/o mantenimiento de la prótesis, la patogenicidad de la *Candida*, el uso nocturno de la prótesis y un pH de la mucosa oral inferior a 6.5. (4, 14).

En general hemos dividido estos factores asociados en locales y sistémicos como se describe a continuación.

### **3.3.1. Factores Sistémicos**

#### **➤ Diabetes.**

Se ha demostrado que en la superficie protésica de los participantes diabéticos hay recuentos de colonias de levaduras más elevados en comparación con los sujetos no diabéticos, considerando a la saliva de los participantes diabéticos como el factor predisponente para el crecimiento de *Candida albicans* in vitro (25,27,28).

#### **➤ La deficiencia de factores nutricionales.**

Desde el punto de vista sistémico algunos autores (7,28,29) reportan que la anemia ferropénica y los altos niveles de colesterol, son factores que se asocian con la predisposición a padecer de Estomatitis Protésica.

#### **➤ Patologías Renales.**

Las patologías renales al ser frecuentes en las personas de edad avanzada y al requerir tratamientos repetitivos con antibióticos y sulfamidas, presentan frecuentemente alteraciones de la flora microbiana principalmente en la cavidad oral (29), favoreciendo el crecimiento de microorganismos oportunistas que generan reacción inflamatoria de la mucosa oral.

➤ **Xerostomía.**

Las alteraciones cualitativas y cuantitativas de la saliva en adultos mayores, son consideradas consecuencias de la ingesta de medicamentos, principalmente de tipo antihipertensivos. Estos medicamentos presentan como efecto secundario la reducción sustancial de los niveles de saliva, lo cual puede actuar como factor predisponente a la virulencia de las especies de *Cándida* presentes en la cavidad oral (7,28,29).

Otros factores que predisponen a la infección por *Candida spp.* y EP incluyen: disfunción endocrina, infección por HIV, quimioterapia, tabaquismo y consumo de alcohol (7).

### **3.3.2. Factores Locales**

➤ **Trauma Protésico.**

Como es sabido, las prótesis mal adaptadas, generan irritación de la mucosa palatina, generalmente del grado localizada simple (similar al descrito por Newton en la Tipo I).

Otras formas de estomatitis con mayor severidad y extensión con hiperplasia granular e inflamación, están más asociadas con la mala higiene de la prótesis y con la infección por *Candida*. Por ejemplo, Emami E. y col. encontraron 300 veces mayor cantidad de unidades formadoras de colonias de levaduras, en la Estomatitis Protésica tipo II que en la tipo I, con una diferencia estadísticamente significativa entre los dos tipos (12).

Salerno C. et al. en 2011, consideraron el trauma como el principal factor etiológico de Estomatitis Protésica (4). Por el contrario Anibal P. et al. en 2010, reportaron que el trauma por sí solo no produce Estomatitis Protésica generalizada pero, podría ser la causa de las formas localizadas; en lugar de ello en las formas generalizadas el principal agente asociado es la *Candida albicans* y el trauma podría actuar como co-factor al

favorecer la adhesión y la penetración de la levadura, aumentando la permeabilidad del epitelio a toxinas y agentes solubles producidos por la levadura *Candida* (24, 25).

Adicional al trauma, existe otro factor local irritativo de los propios componentes de la prótesis como el monómero residual de las resinas acrílicas, que puede generar una reacción alérgica en los tejidos; aunque se reporta este tipo de alergia como fenómeno de hipersensibilidad tipo IV (retardada), que no es tan frecuente (5).

### ➤ **La Saliva.**

El papel de la saliva en la Estomatitis Protésica está relacionado con la colonización de *Candida albicans* y sigue siendo controversial. Algunos estudios han demostrado que la saliva reduce la adhesión de los microorganismos, al poseer moléculas defensivas como la lisozima, lactoferrina, calprotectina y principalmente IgA que disminuye la adherencia de *Candida* a las superficies orales (13).

Adicionalmente proteínas salivales como las mucinas, pueden actuar como receptores de las especies de *Candida*, evitando la adherencia. Por el contrario en el caso de disminución o ausencia completa de saliva, se genera un cambio y desequilibrio de las comunidades microbianas normales, favoreciendo la proliferación de bacterias como *Staphylococcus aureus*, especies de *Cándida*, *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* (13, 24, 25).

### ➤ **pH de la Cavidad Oral**

El pH bajo del medio ambiente oral está dado por el metabolismo de los carbohidratos que generan productos ácidos (7, 25). Los niveles bajos de pH pueden favorecer la adhesión y proliferación de la levadura *Candida*. De hecho, un pH igual a tres es óptimo no sólo para la adhesión de las levaduras, sino también para la actividad enzimática de las proteinasas que junto con las lipasas, son los factores de virulencia más importantes de las especies de *Candida*.

Adicionalmente el descenso en el valor de pH puede darse por el uso continuo de la prótesis. Este hábito permite tener un medio anaerobio que favorece la proliferación de levaduras, lactobacilos y estreptococos que aumentan la inflamación de la mucosa que se encuentra en contacto con la superficie protésica (27).

➤ **Permeabilidad de las resinas acrílicas**

La adhesión inicial de *Candida* depende de la microporosidad presente en la superficie de la prótesis. Las irregularidades de la superficie hacen posible a las levaduras adherirse y sobrevivir dentro de la prótesis. Una vez anidadas es más difícil eliminar estas bacterias y levaduras de forma mecánica y química. Por lo tanto, una superficie protésica irregular, en presencia de una mala higiene bucal, permite que especies de *Candida* puedan penetrar, adherirse y coagregarse con las comunidades bacterianas, como *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis* y *Streptococcus anginosus* (*S. milleri*), esta coagregación está dada por las interacciones entre proteínas y carbohidratos, que finalmente llevan a la inflamación de la mucosa oral (11).

➤ **Presencia de placa microbiana**

Varios estudios microbiológicos reportan que la placa acumulada en las prótesis de participantes con EP, tiene una composición compleja, representada principalmente por: especies de *Cándida*, bacterias gram-positivas, como *Streptococcus sanguis*, *S. gordonii*, *S.oralis*, *S. anginosus*, estafilococos y bacilos predominantemente actinomicetos, seguido de *Lactobacillus* (4).

➤ **Adhesión**

Se ha observado que especies de *Candida* tienen la capacidad de adherirse e invadir rápidamente los tejidos del huésped pero específicamente las formas dotadas de hifas.

La primera etapa del proceso infeccioso consiste en un complejo mecanismo de interacción entre la *Candida* y el hospedero, por medio de las proteínas presentes en la superficie celular de las levaduras, específicamente entre las manoproteínas y la fucosa o la N-acetilglucosamina presente en las proteínas de la superficie de las células epiteliales (4).

➤ **Patogénesis**

La presencia de bacterias como *estreptococos* y *actinomicetes* induce al organismo a producir proteasas como IgA y enzimas como amino-peptidasas, hyaluronidasas, condroitinasas y neuraminidasas, capaces de degradar el epitelio oral. Estas enzimas permanecen en estrecho contacto con la mucosa oral, ocasionando un incremento en el exudado inflamatorio que no sólo favorece la colonización bacteriana, sino también la proliferación de levaduras principalmente especies de *Candida* sobre la mucosa que se encuentra en contacto con la superficie de la prótesis.

Las proteasas pueden aumentar la patogenicidad de las sustancias bacterianas, al destruir las inmunoglobulinas salivales, lo que conlleva a la atrofia epitelial, facilitando la invasión de hifas que dan origen a las lesiones características de la Estomatitis Protésica (4).

➤ **Higiene y uso nocturno de la Prótesis**

La mala higiene de la prótesis está claramente aceptada como un factor de riesgo crítico para la Estomatitis Protésica. Estudios (4,5,6) demuestran una clara asociación entre la mala higiene de la prótesis y el mayor riesgo de prevalencia de Estomatitis Protésica.

El no retirar la prótesis en la noche mientras se duerme, favorece las condiciones anaeróbicas y un pH relativamente bajo entre la base de la prótesis y la mucosa, lo cual permite el crecimiento excesivo de patógenos oportunistas como *Candida*. Gauthier G. y col. reportan una prevalencia de Estomatitis Protésica 10 veces mayor en los participantes que usan sus prótesis al dormir (6,7,8). De igual forma autores como Marinoski J. y col. reportaron una prevalencia significativamente mayor cuando los

participantes presentaban deficiente higiene de la prótesis, sumada al uso nocturno de la misma en participantes usuarios de prótesis removibles con diagnóstico de Estomatitis Protésica (7).

El retirar la prótesis durante la noche se puede considerar como un procedimiento que ayuda a reducir en cantidad las colonias de *Candida spp*, diversos estudios han reportado una reducción de *Cándida* del 48% a 74% en los participantes con Estomatitis Protésica que retiran la prótesis al dormir, frente a quienes únicamente se les realiza la limpieza y desinfección de la prótesis. (22, 28,29,30)

La limpieza inadecuada de las prótesis, desarrolla rápidamente un biofilm adherente y acumulo de placa, este Biofilm y la placa de la superficie protésica contienen bacterias y levaduras que también colonizan la mucosa oral al encontrar un medio ambiente favorable para su proliferación, siendo la ecología microbiana del biofilm muy compleja. El estudio de He, Meurman (13) reportó hasta 82 filotipos bacterianos y tres especies de hongos.

### **3.4. Estomatitis Protésica asociada a *Cándida***

Las especies de *Candida*, comprenden del 25 - 50% de la microbiota de la cavidad oral de individuos sanos, son una de las principales causas de la formación de biofilm en prótesis y catéteres, y comprenden casi un 80% de los microorganismos de la mucosa oral de los portadores de prótesis.

La especie *Candida Albicans* está comúnmente asociada al uso de prótesis en un 77,9%, aunque pueden encontrarse otras especies de *Candida* tales como: *Candida glabrata* en un 44,1% y *Tropicalis* en un 19,1% (9, 10).

La *Candida Albicans* coloniza la cavidad oral compitiendo y cooperando con un estimado de 300 especies diferentes de bacterias. Como resultado, cuando una infección por *Candida* se lleva a cabo, a menudo está en asociación con el crecimiento bacteriano (31).

Al evaluar la superficie de las prótesis, las especies de *Candida*, son los microorganismos más frecuentes, seguidos por *Strep. mutans* y *Staph. aureus*. Se reporta que *Candida spp* está presente en un 65,5%, mientras que *Strep. mutans* y *Staph. aureus* están presentes en un 53,3 y 34,4%, respectivamente (32).

La *Cándida Albicans* está implicada como el principal agente causal de la Estomatitis Protésica, debido a su capacidad de adherirse fácilmente al material de resina acrílica (metacrilato de metilo (PMMA)), y por la formación de biofilms que son resistentes a los antifúngicos (33).

Se demostró que las infecciones por *Candida* son un factor predisponente en la ocurrencia de la Estomatitis Protésica (12).

Existen ciertas cepas de *Candida*, *hifas* de *C. albicans*, que son tipos clonales y que se encuentran con mayor frecuencia en las infecciones de participantes con Estomatitis Protésica (13); siendo estas cepas virulentas capaces de unirse al epitelio e interrumpir la integridad del tejido, logrando invadir la mucosa. Teniendo en cuenta que adicional a las especies de *Cándida*, bacterias gram-negativas anaerobias están presentes en el biofilm de la superficie de la prótesis, el uso de antibióticos se ha considerado eficaz para la resolución de algunos casos de Estomatitis Protésica refractaria (32, 34, 35).

Sumado a la presencia de los microorganismos anteriormente descritos, cuando las condiciones del microambiente oral son favorables para el crecimiento y la adhesión de levaduras y cuando los factores sistémicos de defensa del hospedero se encuentran suprimidos (4), se puede dar lugar al inicio de la enfermedad (35, 36).

### **3.4.1. Mecanismos de adherencia y proliferación de la cándida**

#### **3.4.1.1. Sobre superficies de resina acrílica**

La prótesis acrílica en participantes parcial o completamente edéntulos puede actuar como reservorio para microorganismos, favorece la colonización por *Candida*, dando

lugar a los siguientes eventos celulares: adherencia, agregación, co-agregación y posterior invasión (10). Debido a que la adherencia de la *Candida* a la superficie de la prótesis es el primer paso para el inicio y la propagación de la Estomatitis Protésica (10, 37), hay que tener presente que la topografía de la superficie de la prótesis también influye en gran medida en la adhesión y posterior retención de placa; así entonces con superficies más rugosas se genera mayor retención de microorganismos. Por este motivo el uso de cepillos duros o limpiadores abrasivos debe evitarse ya que pueden generar porosidades y alterar la topografía de la superficie (38).

Adicionalmente a la topografía de la superficie protesica, varias investigaciones han demostrado la implicación de otros factores en la adhesión de *Candida Albicans* a las bases de la prótesis como son: hidrofobicidad de la superficie y fuerzas electrostáticas (37). Estas características están influenciadas por el material de la prótesis lo que puede modificar la adhesión de las especies de *Cándida*.

He X. y col. (13) reportan diferencias notables en la adhesión de las especies de *Candida* a varios materiales de prótesis, lo que puede ser explicado por las diferencias en la energía libre superficial de las resinas acrílicas. Así, los materiales curados con calor podrían ser la mejor opción clínica en términos de prevenir la adherencia de *Candida* y la colonización in vivo. Esta afirmación también es soportada por otros autores quienes reportan que las resinas acrílicas de termo-curado tienden a tener significativamente un menor número de levaduras cuando se comparan con las de auto-curado (10, 37).

Posterior a la adherencia de *Cándida* sucede otro fenómeno que promueve la formación del biofilm y consiste en la coagregación de microorganismos. Específicamente la colonización por *C. albicans*, la cual es facilitada por colonizadores primarios, tales como *streptococcus*. De hecho la prevalencia de prótesis colonizadas con una asociación de *Candida spp.* y bacterias, es mayor que la de prótesis colonizada sólo por levaduras o sólo por bacterias. Lo anterior explica la dependencia metabólica que existe entre los microorganismos, lo cual promueve la interacción entre cepas distintas. De esta forma la coagregación entre *C. albicans* y otros microorganismos orales se ha sugerido como un factor coadyuvante en la colonización microbiana de la cavidad oral (32).

---

Una vez coagregadas, las levaduras germinadas pasan a la etapa de filamento después de cuatro horas y posteriormente adquieren la forma de pseudo y verdaderas *hifas* (aproximadamente a las ocho horas). Las células vecinas y los filamentos formados se entrelazan y forman estructuras espacialmente organizadas. Después de 24 a 48 horas de crecimiento no perturbado, la biopelícula de *Candida* aumenta en complejidad, con la formación de varias capas y todas las posibilidades morfológicas de hongos. Esta capacidad de la *C. albicans* para alterar su morfología se ha considerado como un factor que contribuye a su virulencia, especialmente las formas de *hifas*, las cuales aumentan la adhesión a las superficies y adicionalmente se sabe que se unen a varias proteínas humanas, incluyendo fibrinógeno, C3d y laminina; también se ha sugerido que las hifas son importantes para la invasión del epitelio del hospedero lo cual permite la diseminación de la infección al interior de los tejidos (38).

#### **3.4.1.2. Sobre tejidos biológicos**

La invasión de los tejidos biológicos por *Cándida* se genera gracias a sus factores de virulencia tales como: 1- adhesión (adhesión a células de la mucosa); 2- dimorfismo [capacidad de convertir pasar de una forma de levadura unicelular a una forma filamentosa]; 3- producción de enzimas (aspártico proteinasas secretoras y fosfolipasas) y 4- formación de biofilm.

Las dos enzimas relacionadas con la patogenicidad de la *Cándida* son: fosfolipasas y aspartil proteinasas, siendo estas últimas capaces de invadir el epitelio y degradar las proteínas de la mucosa oral. Por otro lado, las Fosfolipasas degradan los fosfolípidos presentes en la membrana celular, llevando también al deterioro de las células epiteliales (39).

Arias M. y col. reportan que la producción de fosfolipasa por *C. albicans* está significativamente asociada con la presencia de Estomatitis Protésica, pero no con la gravedad de la lesión. Por el contrario, la producción de proteinasas por *Candida spp.* no representa una asociación significativa con la presencia de Estomatitis Protésica (40).

### **3.4.2. Estomatitis Protésica y envejecimiento**

Estudios como el de Leigh JE. y col. en 2002 (41), han demostrado que el envejecimiento se acompaña de una sobre regulación de la respuesta inflamatoria, debido a una disminución funcional de neutrófilos y a la sobre producción de IL-6 frente a las enfermedades infecciosas.

Los neutrófilos son los responsables de la secreción temprana de citoquinas y quimioquinas, y de la liberación de factores antimicrobianos tales como especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, como respuesta a los microorganismos patógenos, dentro de los cuales se incluyen diversas especies de *Candida*.

Adicionalmente se presentan cambios en la función y el fenotipo de los neutrófilos en los sujetos de edad avanzada. Como consecuencia de ello, se reporta que estas características pueden estar asociadas significativamente con la mayor vulnerabilidad a presentar Estomatitis Protésica en estos individuos (42).

Otros autores como Costa F. y col. (43), refieren que el envejecimiento conduce a una disminución en la función del sistema inmune, debido a la alteración de las células T, macrófagos y células dendríticas.

### **3.4.3. Factores socio-demográficos**

La Estomatitis Protésica afecta el paladar de los usuarios de prótesis en un 11% a 67% (13, 14), otros autores reportan 77,5% (12). En cuanto a la edad promedio de estos participantes se encuentran reportes de 51,68 años aproximadamente y la distribución de este tipo de lesión en portadores de prótesis removibles tiende a aumentar con la edad (44). Otros autores como Mandali G. et al. en 2011, reportan que los participantes con diagnóstico de Estomatitis Protésica fueron significativamente mayores en edad que los que no presentaban estas lesiones (9).

Al evaluar el sexo se ha demostrado en muchos países que más mujeres que hombres son edentulos, revelando de igual forma una mayor prevalencia en la población femenina (9, 14, 33, 36, 39, 44). En cuanto al nivel educativo de los participantes con Estomatitis Protésica, Mandali G. et al. en 2011 (9), encontraron que un 33,3% [n = 51] de participantes presentaron un nivel educativo primario; 57,5% [n = 88] secundaria y el 9,2% [n = 14] universitario, demostrando que no existe una relación entre el nivel educativo y la presencia de Estomatitis Protésica en la población estudiada.

Adicionalmente se analizó la situación económica de los participantes con Estomatitis Protésica, encontrándose un 0% pobres, el 81,5% de la clase trabajadora [n = 140], un 8,5% de la clase media [n = 13] y un 0% ricos (9). En otro estudio (45), se investigó si el hábito de fumar tendría alguna influencia en la aparición de Estomatitis Protésica y se demostró que no existe una asociación positiva entre el hábito de fumar y la presencia de la enfermedad evaluada.

#### **3.4.4. Tratamientos para la Estomatitis Protésica**

Teniendo en cuenta que la Estomatitis Protésica es una entidad de etiología multi-causal su manejo debe estar encaminado a corregir las deficiencias que presente la prótesis y a mejorar la higiene y/o los hábitos de uso y dietéticos del paciente para permitir la resolución de la patología antes de la elaboración de una nueva prótesis.

Este manejo implica el estricto control de la higiene. Adicionalmente los participantes deben ser conscientes de no usar sus prótesis durante la noche, dejándolas humedecidas con una solución antiséptica para lograr la desinfección de las mismas (11, 46).

Varios estudios se han llevado a cabo con el objetivo de demostrar las propiedades antifúngicas de los productos de limpieza para las superficies acrílicas. Aquellos con un pH alto como el hipoclorito de sodio han demostrado ser eficaces en la eliminación de microorganismos de la superficie protésica.

El efecto del hipoclorito de sodio es debido a la presencia de ácido hipocloroso no disociado [HOCl], donde la concentración es dependiente del pH que oxida los grupos sulfhidrilo [-SH] de aminoácidos y proteínas, a la forma disulfuro [S-S]. Por el contrario, el uso de microondas como método de desinfección para prótesis en participantes con Estomatitis Protésica es relativamente reciente; se reporta que someter la prótesis a radiación de microondas en una solución a alta temperatura durante ocho minutos, haría esterilizar aquellas prótesis contaminadas con *C. albicans* (11).

Los medicamentos antifúngicos tópicos o sistémicos se han utilizado en el tratamiento de Estomatitis Protésica, entre estos: Nistatina, Anfotericina B, Clotrimazol, Miconazol; sin embargo, factores tales como la resistencia a los antifúngicos y la toxicidad del fármaco han conducido a la búsqueda de tratamientos alternativos (47).

Los agentes tópicos como la Nistatina y Miconazol se han utilizado eficazmente, pero el efecto diluyente de la saliva y la acción de limpieza de la musculatura oral, tienden a reducir la concentración de estos agentes a niveles sub-terapéuticos; por lo tanto, los regímenes de tratamiento tienden a ser extensos y las tasas de recurrencia son altas (48).

Agentes antifúngicos sistémicos como la Anfotericina B y Fluconazol, también son eficaces, pero no erradican los microorganismos que colonizan la prótesis (34). Se ha encontrado como principal problema, que el uso prolongado o recurrente de fármacos antifúngicos desarrolla de resistencia microbiana.

Todo lo anterior hace que sea necesario buscar nuevos enfoques terapéuticos. Una técnica prometedora es la terapia fotodinámica [PDT], que utiliza un agente fotosensibilizante y una luz de longitud de onda apropiada. La interacción entre el fotosensibilizador y la luz en presencia de oxígeno, produce especies reactivas de oxígeno y radicales libres, los cuales causan muerte celular; adicionalmente, organismos resistentes a los agentes antifúngicos convencionales, podrían ser manejados con éxito con la PDT (46).

La exposición de *Candida* a clorhexidina resulta en la pérdida de integridad estructural, menos capacidad de adhesión y la fragmentación de la pared celular (49). Una

---

característica notable de la clorhexidina es que se adhiere a las glicoproteínas salivales en la placa y que es lentamente liberada en el tiempo. El estudio de Dorocka-B. y col. (8) demostró que después de realizar enjuagues con clorhexidina por un minuto, solo el 30% de *Candida* permaneció en la cavidad oral durante 24 horas.

#### **3.4.4.1. Acondicionadores de tejidos**

Los acondicionadores de tejidos son materiales utilizados para amortiguar la superficie interior de las prótesis. Ellos ayudan a distribuir uniformemente las fuerzas de la masticación y evitan la inflamación de los tejidos de soporte; se utilizan en casos de rebordes óseos irregulares, retenciones óseas, mucosa atrofiada e inflamada; en prótesis transicionales después de la colocación de implantes múltiples entre otras (50).

##### **➤ Clasificación de acondicionadores de tejido**

###### **○ Resinas acrílicas plastificadas:**

Estas vienen en una presentación de polvo/líquido. El polvo contiene polímeros y copolímeros de acrílico y el líquido contiene monómero acrílico y plastificantes (alcohol etílico y/o acetato de etilo) responsables de preservar el material blando (31). El plastificante es por lo general un ftalato. Los estudios realizados recientemente in vitro e in vivo han demostrado que algunos esteres de ftalatos son disruptores endocrinos, incluso cuando son consumidos en cantidades muy pequeñas (50,51,52).

Los acondicionadores de tejido, muestran una progresiva lixiviación del alcohol y el plastificante, lo cual produce un endurecimiento gradual del material y por lo tanto debe ser sustituido periódicamente (entre el 4 y 7 días luego de su colocación), esta sustitución también evitará irritación en el tejido y la colonización bacteriana del material, pero, los cambios frecuentes pueden ser igualmente problemáticos para el paciente, ya que aumentan su exposición a los ftalatos; además el recambio continuo del material incrementa los costos del tratamiento protésico (48).

- **Elastómeros de silicona:**

Estos contienen polímeros de dimetilsiloxano, con una composición similar a los materiales de impresión como la silicona. No solo dependen de plastificantes y por lo tanto conservan sus propiedades elásticas por tiempo prolongado (54).

Por sus diferencias estructurales presentan ventajas y desventajas. Entre sus ventajas se reporta su resiliencia, flexibilidad, estabilidad de color, resistencia y capacidad de absorción de golpes; además ofrecen un mayor confort para los participantes en rebordes residuales reabsorbidos y mucosas delgadas (54). Tienen una buena adherencia a la base de la prótesis. Sin embargo, cuando se sumergen en la saliva o agua pierden plastificantes, cambiando sus propiedades. Esta pérdida puede causar cambios en la dureza, color y rigidez del material (54). También se han reportado alteraciones en sus propiedades, mecánicas permitiendo una mayor microfiltración bacteriana (55).

- **Materiales de rebase duro autopolimerizable:**

Es una alternativa para el manejo de la Estomatitis Protésica; el polvo contiene Polietilmetacrilato [PEMA]; la composición del líquido puede variar isobutilo metacrilato, metacrilato de butilo [PMMA] o una mezcla de PEMA / PMMA; (46). Estos materiales generan una reacción exotérmica baja, lo cual permite su uso directo en boca; su vida útil es más larga que los acondicionadores de tejido y permiten un mayor tiempo de uso, disminuyendo sus recambios.

Aunque la sorción del agua disminuye sus propiedades mecánicas, se considera menor que los de tipo blando. Sin embargo se reporta que los monómeros residuales que se liberan tardíamente, pueden generar alergias en los tejidos en contacto. Por lo tanto el mejor método utilizado es el rebase de resinas acrílicas duras ya que permite una mejor adherencia con la prótesis, generando mayor estabilidad, aunque su rugosidad según sea mayor o menor se asocia con más o menos retención bacteriana (55).

Los acondicionadores de tejido duros tienen la capacidad de re-adaptarse y estabilizarse con la prótesis, permitiendo que los tejidos regresen a su normalidad (3), en caso de que el paciente presente alergias al material se debe contemplar el uso de otro tipo de material (55). En cuanto al nivel de satisfacción del paciente a los acondicionadores de tejido, Kimoto y col. midieron la preferencia entre las prótesis con revestimiento elástico a base de silicona y los materiales de resina acrílica convencionales y no encontraron diferencias significativas en los índices de satisfacción de los participantes entre los dos tipos de material de recubrimiento (56).

Actualmente las investigaciones están enfocadas en adicionar agentes antimicrobicos al material de rebase de la prótesis. Así por ejemplo, un material de rebase que contiene Nistatina, disminuye la presencia de levaduras salivales de participantes con Estomatitis Protésica cuando se compara con un revestimiento sin medicación (48).

La adhesión de microorganismos a la superficie de resina acrílica y a los materiales de rebase de las prótesis va a depender en gran parte a la topografía de la superficie y de la composición de estos biomateriales como se mencionó anteriormente. De esta forma se ha encontrado que los materiales de recubrimiento para prótesis ya sean duros o blandos, serán más propensos a la adherencia microbiana que la resina acrílica de termopolimerización utilizada convencionalmente para la elaboración de la prótesis.

Debido a esto surge la necesidad de impermeabilizar la superficie de los materiales de recubrimiento de la superficie protésica con el fin de disminuir el acúmulo de placa. Esto ha llevado a crear un sellador o liner para materiales acrílicos, que permite el mantenimiento de las propiedades físicas iniciales, sin embargo, el sellador debe volver a aplicarse cada tres meses, realizando la limpieza de la prótesis antes de la aplicación del mismo (57).

Se recomienda de manera general que el uso de los materiales de revestimiento de silicona debe ser cauteloso en participantes con antecedentes de Estomatitis Protésica, debido a que acumulan una mayor cantidad de biofilm y por lo tanto se va a presentar un aumento en especies de *Candida no albicans*, que se sabe son difíciles de tratar (48).

### 3.4.4.2. Higiene Protésica

#### ➤ Limpieza Mecánica

El 67% de la población que usa prótesis removibles tiene una deficiente higiene, según Singh K. y col. (58). Lo anterior es coadyuvante en el crecimiento de hongos y bacterias oportunistas que generan irritación de los tejidos por lo que siempre estará indicado una buena higiene como ayuda principal en el tratamiento de la Estomatitis Protésica (29, 42, 59, 60). La limpieza mecánica implica la eliminación de la placa por medio de un cepillo de dientes o cepillos diseñados para prótesis dentales; también se logra limpieza mecánica mediante el uso de aparatos de ultrasonido.

El cepillado de la prótesis, desordena las colonias que se establecen y se estabilizan en la superficie, alterando su configuración y disminuyendo su patogenicidad. Es importante tener en cuenta que la prótesis no se deben cepillar con crema dental ya que sus ingredientes presentan cristales como el sílice y, en algunas ocasiones, bicarbonato de sodio, que son muy abrasivos para el acrílico, aumentando el deterioro y envejecimiento de las prótesis. Lo ideal es cepillarlas con jabón, ya que este rompe las moléculas de grasa y suciedades, por contener un componente tensoactivo que actúa como enlace entre el agua y estos elementos, facilitando la eliminación de los mismos (61).

Adicionalmente se debe cepillar la lengua y mucosa palatina con crema dental convencional para disminuir las colonias de hongos aquí localizadas (60, 62).

Es importante también tener en cuenta que la mayor parte de la población con Estomatitis Protésica es adulta mayor y que parte de ella experimenta una disminución en la destreza manual para eliminar adecuadamente la placa bacteriana de prótesis y dientes. Lo anterior sumado a la respuesta inmune disminuída y a un aumento de enfermedades crónicas tales como la diabetes mellitus, deficiencias nutricionales, hipertensión y cáncer. Por estas razones, la limpieza y desinfección de la prótesis, debe realizarse con métodos alternativos ya sea de tipo físico y/o químico.

---

Existe evidencia que la radiación con microondas a un valor alto y por tiempos de exposición específica es tanto bactericida como fungicida. Rohrer y Bulard, demostraron que someter la prótesis acrílica en el microondas a alta temperatura durante ocho minutos, produciría esterilización de las superficies contaminados con *C. albicans* (3).

Una revisión sistemática reciente, sugiere que es escasa la evidencia sobre la efectividad comparativa de la diferentes métodos de limpieza de las prótesis, tanto químicos como mecánicos, este punto se repite en un análisis paralelo que también llegó a la conclusión que no estaba claro si el enfoque de limpieza óptima de la prótesis debe ser químico, mecánico, o una combinación de los dos métodos (59).

- **La irradiación con microondas:**

Las microondas producen un efecto térmico con alteraciones en la estructura celular, modificando la permeabilidad de la membrana y produciendo la posterior muerte celular.

Este puede ser considerado un método simple, fácil de usar, eficaz, rápido y de bajo costo para la desinfección y esterilización de las prótesis; debido a que el uso de un horno de microondas no requiere especial almacenamiento ni tampoco tiene una fecha de caducidad. Tampoco genera resistencia en los hongos u otros microorganismos y parece no alterar el color u olor de la prótesis (4, 59, 62). Un artículo que soporta la eficacia de este método es el publicado por Sanita, Machado (63), en el que reporta su uso sobre prótesis totales, demostrando que este fue tan eficaz como el tratamiento con Nistatina en participantes diabéticos bien controlados con Estomatitis Protésica.

- **Cepillado palatino:**

Es un procedimiento simple que podría reducir la extensión de la inflamación a través de mecanismos tales como la eliminación de la placa de la mucosa oral y la estimulación de la circulación sanguínea de la mucosa, así como el flujo salival. Sin embargo, ningún ensayo clínico previo ha evaluado el cepillado del paladar como un tratamiento para la Estomatitis Protésica. Se sugiere que la estimulación mecánica del tejido fomenta la

queratinización, reduce la infiltración de células inflamatorias, y aumenta la proliferación de fibroblastos y síntesis de colágeno (62).

**Limpieza Química:** Los desinfectantes químicos se pueden clasificar de acuerdo a la probabilidad de causar cambios en la rugosidad. Teniendo en cuenta este factor el perborato de sodio es el agente que mayor rugosidad genera en la superficie, seguido del digluconato de clorhexidina, hipoclorito de sodio y glutaraldehído respectivamente(57).

#### ○ **CLORHEXIDINA**

La clorhexidina es uno de los agentes más ampliamente utilizados en odontología y se ha empleado como un coadyuvante en el tratamiento de la candidiasis oral desde la década de 1970. Funciona como un agente antiséptico de amplio espectro con actividad antimicrobiana sobre *Candida albicans* y *no Albicans*. La inmersión de las prótesis dentales durante cinco minutos en gluconato de clorhexidina al 4% disminuye significativamente la colonización de *Candida* y se puede utilizar de manera efectiva. Sin embargo algunos estudios refieren que la desinfección al 2% más eficaz (60, 62, 64).

La clorhexidina puede ser utilizada como antiséptico al 0,2%, administrada tres o cuatro veces al día; con lo cual se obtiene una disminución significativa de la placa, pero no tiene un efecto significativo en la reducción de las colonias de *Candida* (7). De igual forma es importante tener en cuenta cuando se utiliza como solución antiséptica, que no debe ser administrada al mismo tiempo con Nistatina, debido a que genera interacción y puede inhibir la capacidad antifúngica (57).

La desinfección química de la prótesis puede realizarse también con digluconato de clorhexidina al 0.12%, 2% o 4% (64).

#### ○ **Perborato de sodio**

Hay reportes de la efectividad en la desinfección del perborato de sodio a una concentración de 3,8% sobre prótesis acrílicas; sin embargo, la mayoría de los estudios

---

refieren que con el uso de este desinfectante se produce una alteración significativa de la superficie en aproximadamente más de 0,2 micras (57, 64).

- **Hipoclorito de sodio**

Varios estudios se han llevado a cabo para demostrar las propiedades antifúngicas de los productos de limpieza protésicos. Ghalichebaf y col. (61) encontraron que el hipoclorito de sodio fue de los más eficaces en la eliminación de la placa de la prótesis.

Como desventaja, algunos estudios reportaron cambios de la rugosidad de la prótesis desde 0.195 micras a 0,26 micras después de la inmersión en hipoclorito de sodio en concentraciones de 0,05% a 5,25%, para diferentes materiales acrílicos (termopolimerización y autopolimerización); por el contrario otros estudios no revelaron diferencias significativas en las propiedades de superficie después de la inmersión (57, 65, 66).

#### **3.4.4.3. Efectividad de los Agentes de Limpieza**

Paranhos y col. evaluaron el efecto de los diferentes métodos mecánicos y químicos en la eliminación del biofilm localizado en la superficie de la prótesis; concluyeron que el cepillado por sí solo fue más eficaz que el método químico empleado. Además, que la combinación de ambos métodos logran los mejores resultados para la limpieza de la prótesis (28).

Al comparar otros métodos de limpieza empleados, se ha demostrado que la irradiación con microondas es más eficaz que sumergir en hipoclorito de sodio únicamente (59, 62, 63, 67).

Este método de esterilización con microondas ha sido evaluado bajo diferentes condiciones y con diferentes medios de transmisión de energía a la prótesis, es decir que, si se realiza la exposición en seco o sumergida la prótesis en alguna solución, se ha encontrado que la inmersión en agua u otra solución evita cambios dimensionales y estructurales en la prótesis. Adicionalmente, la esterilización se logra una vez que la prótesis tiene suficiente humedad para facilitar la coagulación de las proteínas del

microorganismo, en conclusión sumergir la prótesis en un vaso de agua transfiere el calor uniformemente siendo más eficaz la esterilización de la prótesis.

El tiempo de exposición promedio requerido para la esterilización cuando se sumerge en agua o en hipoclorito de sodio es de 5 minutos (62, 67).

El uso a largo plazo y los cambios estructurales de la prótesis después de la irradiación de microondas sigue siendo incierto. Aunque los cambios dimensionales y estructurales comprobados son mayores cuando se realiza la esterilización en seco (62).

### **3.4.5. Medicamentos utilizados en Estomatitis Protésica**

Los medicamentos antimicóticos son rutinariamente prescritos para el tratamiento de la Estomatitis Protésica, este enfoque está basado en la hipótesis de que la infección por *Candida* es el principal factor etiológico de esta enfermedad.

Los antifúngicos más utilizados son suspensiones de Nistatina, Anfotericina-B, Miconazol y fluconazol. Casi todos los medicamentos producen generalmente una remisión completa de los síntomas dentro de 12-14 días. Epstein y col. mostraron la importancia de la terapia antifúngica en el tratamiento y la prevención de candidiasis oral (7), se dieron cuenta de que Nistatina y Anfotericina-B, producen muerte celular debido a su unión al ergosterol que altera la permeabilidad de la membrana (4).

La relación de causa y efecto entre la presencia de especies de *Cándida* y Estomatitis Protésica no se ha demostrado, además una alta recurrencia de Estomatitis Protésica y recolonización de *Candida* se presenta después de terminado el tratamiento (8, 68).

Si un enfoque sistémico es requerido, medicamentos tales como Fluconazol son con frecuencia utilizados en el tratamiento de candidiasis oral. Se requiere unas concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) altas, y deben ser administrados con

precaución, debido a los efectos efectos colaterales como hepatotoxicidad y nefrotoxicidad.

Es importante también destacar que el uso generalizado de medicamentos antimicóticos ha promovido la resistencia microbiana con el desarrollo de mutaciones (63). Otros efectos adversos sistémicos, incluyen dolores de cabeza, erupciones en la piel, vómito, dolor abdominal y diarrea (68).

La susceptibilidad de todas las cepas de *Candida* a Fluconazol e Itraconazol es alta: el 80% y el 84,2% respectivamente son completamente susceptibles. Como desventaja de estos medicamentos, se reporta resistencia antimicrobiana ligeramente superior con Fluconazol e Itraconazol, que para otros antifúngicos como la Anfotericina B (69).

En general, la alta susceptibilidad a los antifúngicos observados in vitro, particularmente para *C. albicans*, no se correlaciona con los resultados de la terapia antifúngica in vivo en participantes con Estomatitis Protésica. Esto puede reflejar, la etiología multifactorial de la enfermedad (2), las interacciones complejas entre la *Candida* y el hospedero (3), la formación de biopelículas por *Candida* tanto en las superficies mucosas como en la prótesis (8).

Cross et al. compararon in vivo el Itraconazol y el Fluconazol como tratamiento de participantes con Estomatitis Protésica, resultando ser ambos eficaces para eliminar levaduras en el paladar. En una investigación realizada por Martin-Mazuelos y col. en 1997, en 115 participantes con Estomatitis Protésica, encontraron que el 3,2% de las cepas de *Candida albicans* aisladas, fue resistente a Fluconazol in vivo (22).

Al comparar la efectividad de Nistatina con Fluconazol, el estudio de Falah-Tafti, Jafari (44) mostró mayores efectos inhibitorios con Nistatina. En todas las combinaciones ensayadas inhibió completamente el crecimiento de *C. albicans* (70, 47).

A pesar de la terapia antifúngica para el tratamiento de la Estomatitis Protésica, la infección se restablece poco después que se deja el tratamiento, lo que sugiere que la prótesis sirve como un depósito para las especies de *Candida* (38).

### 3.5. Manejo Fitológico

El manejo con productos naturales ha demostrado ser una alternativa a las sustancias químicas sintéticas en el tratamiento de la estomatitis protésica, como se encuentra reportado en la literatura. El interés en las plantas medicinales como fuente de agentes antimicrobianos se ha aumentado significativamente por lo cual se ha identificado una amplia variedad de extractos de plantas que poseen actividad antifúngica contra *Candida Albicans* (71,72,73), encontrándose entre los más utilizados:

#### ➤ Propóleo

Son mezclas resinosas que obtienen las abejas de las yemas de los árboles y que luego procesan en la colmena como sellante de pequeños agujeros [6 mm o menos]. El color del propóleo depende de la fuente de la que haya sido obtenido, siendo el más común el marrón oscuro. A temperatura ambiente [20 °C] el propóleo es pegajoso y a temperaturas menores tiende a solidificarse. Los compuestos que comprenden el propóleo incluyen resinas y bálsamos [50%], cera de abeja [30%], aceites esenciales [10%], polen y diversos minerales: aluminio, plata, bario, boro, cromo, cobalto, estaño, hierro y muchos otros. También contiene provitamina A y vitaminas del grupo B, especialmente B3.

El propóleo tiene una notable acción antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatoria (74), anti-oxidante (75) e incluso posee propiedades inmunomoduladoras (76).

Muchos autores han estudiado la actividad del propóleo contra *C. albicans* (77,78,79,80) debido a su actividad antifúngica y esta es debida a cambios en la pared celular que conducen a un aumento del volumen y a la ruptura de la membrana celular. Autores como Sforcin (80) afirman que el propóleo puede activar los macrófagos, aumentando su actividad microbicida.

Santos y col. en el 2005 (82) estudiaron el efecto terapéutico tópico del extracto de etanol de propóleo en la estomatitis causada por el uso de prótesis dentales y observaron regresión de las lesiones en todos los participantes tratados.

➤ **Granada**

La granada es una rica fuente de antocianinas y otros compuestos fenólicos que tienen una fuerte actividad anti-oxidante. De las partes comestibles de la fruta, aproximadamente 80% del peso total comprende el zumo y el 20% las semillas (81).

El jugo de granada tiene varios efectos biológicos, algunos de los cuales pueden tener importantes implicaciones clínicas como Anti-oxidante, anti-tumoral y virucida (81, 82). La actividad antimicrobiana de esta fruta ha sido ampliamente investigada. Los resultados de varios estudios incluyen algunos relacionados con la inhibición de la adherencia; estos estudios sugieren que las bacterias orales y *C. albicans* son sensibles al extracto de granada (83, 84).

En un ensayo clínico, realizado a participantes con Estomatitis Protésica se les aplicó el gel de granada sobre las lesiones, y se observó la ausencia de levaduras en la mayoría de los sujetos, por lo tanto, este extracto de granada en gel, puede ser utilizado como un agente antimicótico tópico para el tratamiento de la Estomatitis Protésica asociada a Cándida (85).

➤ **Extracto de semilla de uva**

Estas semillas contienen lípidos, proteínas, carbohidratos y 5-8% de polifenoles (51), el extracto de semilla de uva (USE) ha demostrado poseer propiedades antioxidantes, atribuidas principalmente a los compuestos fenólicos, tales como catequina y de bajo peso molecular proantocianidina (86). Varios estudios también han mencionado la actividad antifúngica del USE contra *C. albicans* (87, 88).

Estudios realizados en ratones (89), han demostrado que el extracto de semilla de uva provoca la inhibición del crecimiento de levaduras, especialmente de Cándida, indicando que puede ser utilizado con fines terapéuticos en caso de presentar Estomatitis Protésica con candidiasis asociada.

Por otro lado, se ha reportado la eficacia de otras plantas medicinales como manzanilla, clavo y tomillo, sobre la inhibición de la *Cándida Albicans*, pero faltan estudios para que sea un tratamiento de elección en el manejo de la Estomatitis Protésica (90,91,92).

## **4. Materiales y Métodos**

### **4.1. Diseño del Estudio**

El presente estudio fue de tipo cuasi-experimental, longitudinal, doble ciego, controlado, con distribución aleatoria de los sujetos de la muestra a los grupos de estudio, llevado a cabo en el Posgrado de Rehabilitación Oral en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia.

#### **4.1.1. Hipótesis**

- El grupo que reciba tratamiento antimicótico para la Estomatitis Prótesis, se presentará un mayor porcentaje de casos resueltos y en menor tiempo.
- No habrá diferencias en el tiempo y porcentaje de casos resueltos entre los grupos de estudio al recibir o no tratamiento antimicótico para la Estomatitis Subprotesis.

#### **4.1.2. Sujetos del Estudio**

La muestra del presente estudio estuvo constituida por 50 sujetos [n=50] con edades comprendidas entre los 47 y 92 años, de los cuales 19 fueron hombres y 31 mujeres. La muestra estuvo dividida en dos grupos: Grupo uno, a quienes se suministró nistatina (GN), con 26 participantes y Grupo dos, a quienes se suministró placebo (GP), con 24 participantes, tomados de la consulta odontológica general de pregrado y especializada de los posgrados de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia en la sede de Bogotá.

Se invitó a participar en el estudio a todas las personas que cumplieran los siguientes criterios de inclusión:

Los criterios de inclusión que se consideraron para los dos grupos fueron los siguientes:

- Usuarios de prótesis removible superior con soporte mucoso.
- Diagnóstico clínico de Estomatitis Protésica
- Sujetos de ambos sexos.
- No presentar patologías sistémicas que comprometieran el sistema inmunológico.
- Firmar el consentimiento informado.

Por otro lado como criterios de exclusión se consideraron:

- Tratamiento inmunosupresor en los tres meses anteriores.
- Tratamiento con antibióticos en los tres meses anteriores.
- Participantes hospitalizados en los tres meses anteriores.
- Diagnóstico de inmunosupresión.
- Empleo de enjuagues bucales.

### **4.1.3. Tamaño muestral**

Para el cálculo de la muestra se tomó en cuenta el histórico de casos atendidos con prótesis parcial y total superior en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia (FOUN), el cual fue de 133 casos en el año 2010.

Debido a que no se encontraron reportes de prevalencia de Estomatitis Subprótesis en Colombia, se tomó un estimativo del 40%, basándonos en los reportes de la literatura, los cuales oscilan entre el 11% y el 67%, y en los dos estudios previos realizados por el grupo de investigación, "GERODONTOLOGÍA" de la FOUN, en los que se trabajó con 51 sujetos con la patología en un año. Con base en los datos anteriores y con un error de muestreo de 0.11, se calculó un tamaño muestral de 53 individuos, conformada por aquellos que aceptaron inicialmente participar en el estudio y que reunieron los criterios de inclusión anteriormente descritos. Los participantes fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos de la siguiente manera: Grupo Nistatina (GN) conformado por 27 participantes y Grupo Placebo (GP) conformado por 26 participantes. Durante la etapa

inicial del tratamiento se tuvo una deserción de tres participantes (5,66% de la muestra), permitiéndonos continuar con el estudio al estar por debajo del 15% permitido; obteniendo un tamaño de muestra final de 50 participantes (n=50): Grupo uno, 26 participantes y grupo dos 24 participantes.

Para la aleatorización de la muestra se contrató a personal no adscrito al equipo de investigación para la generación de una serie de números aleatorios, con el fin de establecer la secuencia de asignación aleatoria de los sujetos a los grupos de estudio (grupo 1 y grupo 2), dicha secuencia fue desconocida por los investigadores, para lo cual se emplearon sobres sellados y numerados, que contenían la asignación de cada individuo al grupo de estudio respectivo, los sobres se abrieron a medida que se fue recolectando la muestra.

#### **4.1.4. Tipo de muestreo**

El método de muestreo que hemos seguido se basa en las condiciones del estudio y en el diseño del mismo, es decir centrado en una población accesible, constituida por trabajadores de diferentes ámbitos (servicios, industria, administración, hogar), adultos, de ambos sexos y sin compromiso sistémico.

### **4.2. Variables del estudio**

Según su naturaleza en la investigación, organizamos la descripción y el análisis de las variables de este estudio cuasi-experimental en tres grupos: variables independientes, variables dependientes y variables extrañas.

#### **4.2.1. Variable Independiente**

La variable independiente considerada en el diseño de nuestra investigación, ha sido la aplicación del antifúngico Nistatina a uno de los grupos, esta variable es de tipo cualitativo y se aplicó únicamente a este grupo.

### 4.2.2. Variables Dependientes

Las variables dependientes consideradas en nuestra investigación han sido:

- La severidad de la enfermedad de acuerdo con la clasificación mas usada (Newton 1967) (25). Esta variable se ha obtenido mediante observación por investigadores previamente calibrados por el patólogo, calculando el valor de Kappa tanto para el diagnóstico inicial como semanal de los casos, los datos se almacenaron en una base de datos diseñada en Microsoft Office Excel 2011 ® para el estudio.
- Presencia de *Candida* en la mucosa palatina y su identificación por fenotipo. Esta variable se ha obtenido mediante estudio microbiológico en el laboratorio clínico del Instituto de Diagnostico Medico (IDIME) de la ciudad de Bogotá.
- La presencia de *Hifas* en la mucosa palatina, que corresponden a tipos clonales de *Cándida*. Esta variable ha sido obtenida mediante extendido, tinción y observación microscópica (100x); esta variable fue observada al inicio y al final del tratamiento.
- El índice de Higiene Protésica, clasificada en tres grupos de acuerdo a la extensión de placa sobre la prótesis. 1: Buena (ninguno o solo algunos puntos aislados de placa bacteriana cubriendo la superficie noble de la prótesis); 2: Regular (áreas de placa bacteriana cubriendo menos de la mitad de la superficie noble de la prótesis) y 3: Mala (más de la mitad de la superficie noble protésica cubierta por placa bacteriana), esta variable es de nominal de intervalo continuo.
- Tiempo de resolución de la Estomatitis Protésica, en semanas, obtenido mediante observación por investigadores previamente calibrados por el patólogo.

### **4.2.3. Variables Extrañas**

Las variables extrañas o de confusión que hemos considerado para el control estadístico y metodológico de nuestra investigación han sido de dos tipos:

#### **4.2.3.1. Variables relacionadas con los sujetos experimentales**

Estas variables las hemos recogido mediante un formato (anexo 1), con el objetivo de administrar los datos de cada participante, entre las diferentes variables extrañas tenemos:

- Edad: Esta variable es de tipo cuantitativo continuo de razón.
- Sexo: Esta variable es de tipo cualitativo dicotómico.

#### **4.2.3.2. Variables referidas al tratamiento**

Estas variables en su conjunto, nos sirven para asegurar la validez interna del estudio, así hemos tomado los hábitos de los sujetos, específicamente si duerme o no con la prótesis; mediante el interrogatorio a cada uno de ellos, tanto en la evaluación inicial como en la final a la cuarta semana de tratamiento.

## **4.3. Procedimientos de Intervención**

Los procedimientos utilizados para la realización del presente estudio han seguido los principios éticos para las investigaciones en seres humanos según se describe en la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial de 1975, en la versión revisada (clarificación del párrafo 30) de la 55 Asamblea General de A.M.M. Tokio octubre de 2004.

Este estudio fue sometido a evaluación por parte del Comité de Ética en Investigación Odontológica de la Facultad de Odontología de Universidad Nacional de Colombia, con el fin de establecer si dicho trabajo se ajustaba a la normatividad vigente en Colombia, así como a los principios éticos que deben regular cualquier investigación en los seres humanos. Dicho comité valoró favorablemente la presente investigación (anexo 2), por

otro lado los elementos empleados para la presente investigación se detallan a continuación.

### **4.3.1. Elementos utilizados para la recolección de datos**

Los diferentes elementos utilizados para la recolección de los datos han sido estandarizados previamente para asegurar la fiabilidad de los resultados a obtener en las diferentes variables del estudio.

#### **4.3.1.1. Consentimiento Informado y normas bioéticas**

Todos los participantes del estudio firmaron un consentimiento informado, de acuerdo con la declaración de Helsinki, tras ser informados en detalle sobre la investigación a realizar. De esta manera al inicio de nuestro trabajo de campo y como requisito previo indispensable para su inclusión en la muestra del estudio, presentamos a cada sujeto el modelo del Consentimiento Informado, ofreciéndole explicaciones y solicitando su aceptación de inclusión al estudio mediante la firma del documento.

Dicho documento (anexo 3), consta de dos partes. En la primera parte se hace referencia a la información general sobre el presente estudio; en la segunda parte se consignan los datos del participante y su autorización para que se le practiquen los procedimientos explicados por el investigador principal o por los ayudantes; igualmente se dejó constancia que el participante se podía retirar del estudio en el instante que lo deseara, sin explicación previa.

#### **4.3.2. Formato de datos personales y Clínicos**

Para conseguir el objetivo de nuestra investigación, en el trabajo de campo hemos empleado un formato de recolección de datos el cual por un lado permitió consignar los datos de identificación de cada participante, y por otro lado los valores de las diferentes variables del estudio, este formato se codificó con el fin de proteger la intimidad de cada sujeto.

#### 4.3.2.1. Toma de muestras del paladar

Para la toma de la muestra se optó por la utilización de un hisopo estéril con punta de dacron y palo plástico, Figura 6. Este elemento fue suministrado por la empresa IDIME.



Figura 6: hisopo estéril.

#### 4.3.2.2. Medios de transporte del cultivo microbiológico

Se utilizó el medio de transporte **Amies**, el cual es recomendado para secreciones de garganta causadas por flora difícil de mantener viable, Figura 7. Este medio fue suministrado por la empresa IDIME.



Figura 7: Medio de transporte.

#### 4.3.2.3. Frotis de Paladar

Para evaluar la presencia de hifas, se utilizó un hisopo estéril y una lámina portaobjetos para realizar el extendido .

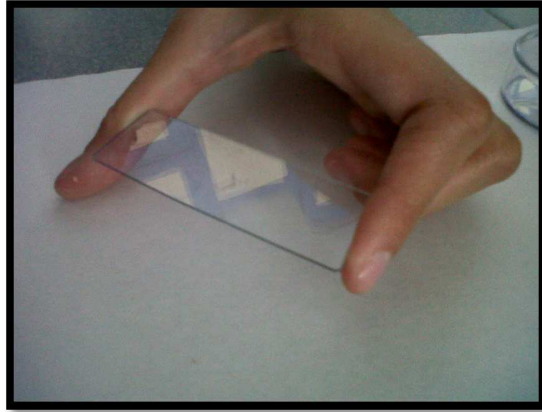


Figura 8: Lámina Portaobjetos.

#### 4.3.2.4. Cultivo microbiológico

Para el cultivo microbiológico se utilizó el medio **Agar de Sabouraud** para teñirse con colorante **Azul de Lactofenol**, Figura 9.



Figura 9: Medio de cultivo Agar de Sabouraud.

Para la identificación fenotípica el laboratorio clínico utilizó el Kit para identificación fenotípica de **REMEL®**, Figura 10.



Figura 10: Kit de Remel

#### 4.3.2.5. Índice de Higiene Protésica

Para determinar el índice de Higiene Protésica se utilizó un hisopo de algodón impregnado en solución reveladora de placa bacteriana de la línea dental **Eufar®**, Figura 11.



Figura 11: Solución Reveladora de Placa

#### 4.3.2.6. Acondicionamiento de la Prótesis

Como tratamiento para la Estomatitis Subprotésica, de acuerdo a los resultados de estudios realizados anteriormente (Marín et al, 2011), es imprescindible realizar el rebase





Figura 13: Suspensión Nistatina y Placebo

#### 4.4. Protocolo de Intervención

Todos los participantes recibieron un contenedor de apariencia similar teniendo en cuenta el grupo al cual fueron asignados, con una suspensión que debían usar dos veces al día hasta y hasta tres días después de la desaparición de la inflamación del paladar o por un máximo de 28 días. La información sobre cuál de los contenedores tenía el principio activo fue mantenida en secreto por el laboratorio farmacéutico hasta el final del estudio.

##### 4.4.1. Proceso de obtención de datos – Mediciones Pre y Post Intervención

El proceso de obtención de datos se ha realizado mediante los formatos que se han elaborado para el presente estudio y anteriormente descritos. A los participantes que cumplieran con los criterios de inclusión, se les entregó el formato de Consentimiento Informado.

Una vez firmado el consentimiento informado (ver anexo 3) se procedió a abrir el sobre correspondiente a la orden de llegada de cada paciente, para determinar el grupo al que debería ser asignado.

Usando un hisopo estéril, se pasó sobre la mucosa palatina, dividiendo la mucosa en dos mitades por la línea media, la muestra de la mitad izquierda se utilizó para el cultivo microbiológico, la muestra de la mitad derecha se utilizó para el extendido y tinción con coloración de PAS. Figura 14

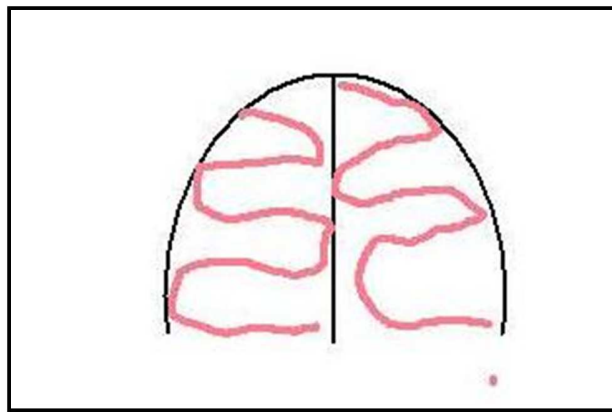


Figura 14: Diagrama toma de la muestra en paladar.

Con la punta del hisopo de la mitad derecha se realizó un extendido sobre una lámina de vidrio portaobjetos, limpia. Seguidamente se fijó con alcohol de 95° y se dejó secar a temperatura ambiente, esta lámina se llevó al laboratorio de patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia para realizar la tinción con PAS, luego de esto la lámina fue leída por el patólogo oral.

El hisopo de la mitad izquierda se introdujo inmediatamente en el medio de transporte, se selló el tubo y se llevó al laboratorio Clínico IDIME de la ciudad de Bogotá dentro de las siguientes 24 horas, en nevera portátil a 4°C. Estas muestras se cultivaron en Agar de Sabouraud por duplicado, a 37° C por 24 a 48 horas; a partir de este cultivo se tomó una muestra de las colonias sospechosas para teñirse con colorante Azul de Lactofenol y verificar la presencia de levaduras; tras comprobarse su presencia mediante microscopía óptica (40X) se resembró para obtener un cultivo puro y se procedió a la identificación; se

incubó 24 a 48 horas a 37° C. Siguiendo las indicaciones del fabricante, posteriormente se realizaron las pruebas de identificación para levaduras mediante incubación a 30° C por 4 horas y se procedió a la lectura mediante un software para determinar el género y la especie de los microorganismos aislados de la muestra, este procedimiento se repitió una semana después de haber suspendido el uso del antimicótico.

Se aplicó el Índice de Higiene Protésica (IHP) para medir la higiene de las prótesis de los participantes, este índice clasificó la limpieza de las dentaduras así: 1: Buena (ninguno o solo algunos puntos aislados de placa bacteriana cubriendo la superficie noble de la prótesis); 2: Regular (áreas de placa bacteriana cubriendo menos de la mitad de la superficie noble de la prótesis) y 3: Mala (más de la mitad de la superficie noble protésica cubierta por placa bacteriana). Para hacerlo, se colocó la prótesis del paciente bajo agua corriente durante 20 segundos, con el fin de eliminar los detritos acumulados en su superficie y luego se pasó un isopo de algodón impregnado en solución reveladora de placa bacteriana (Línea dental ditonos, Eufar®), sobre toda la superficie protésica. Luego de 30 segundos, se colocó nuevamente la prótesis bajo agua corriente durante 30 segundos para después evaluar la presencia y extensión de la placa bacteriana.

Luego del revelado de placa, la superficie noble protésica se decortizó usando una fresa pimpollo y se realizó un decortizado de aproximadamente 1 - 2 mm en la zona noble, extendiéndose aproximadamente 3 - 4 mm hacia la zona del sellado periférico (flancos y zona palatina posterior).

Se limpiaron las zonas decortizadas con monómero para mejorar la adhesión del material de rebase. Se aplicó separador sobre los dientes y superficies pulidas de la prótesis para evitar que el material de rebase se adhiera en estas áreas.

Según las recomendaciones del fabricante se realizó la mezcla del material de rebase (**KOOLINER®63720; G.C America Inc.**) en las proporciones adecuadas polvo/ líquido. Se colocó en la zona noble de la prótesis e introdujo en la cavidad oral del paciente, haciendo presión moderada sobre la zona media palatina, se eliminaron los excesos del material que podrían generar laceraciones de la mucosa y se chequeó que no se invadiera el espacio libre inter-oclusal, mediante la prueba fonética para verificar el espacio mínimo para el habla. Todos los participantes recibieron instrucciones, (ver anexo 4) sobre la limpieza mecánica de su prótesis, mediante el empleo de cepillo dental,

también se les indicó su retiro nocturno y la colocación de esta dentro de un recipiente con agua al que no se debía agregar ningún tipo de elemento químico para el control de la placa dental.

Se realizaron fotografías estandarizadas de la situación clínica inicial y de la evolución semanal, durante cuatro semanas, a todos los participantes (Cámara Canon EOS 40D, Lente macro Canon EF 100mm 1:2.8 L IS USM, macro ring lite MR-14EX&#63720).

Los investigadores hicieron el diagnóstico inicial y semanal de los casos, la información se fue almacenando en una base de datos diseñada en Microsoft Office Excel ® para el estudio.

Una vez desaparecieron los signos clínicos de inflamación y una semana después de suspendido el uso del antifúngico, se repitió el proceso de cultivo microbiológico para determinar la presencia y actividad de *hongos*, en la misma sesión también se repitió la medición de la higiene protésica de cada participante.

Una vez desaparecieron los signos clínicos de inflamación, el paciente continuó con el desarrollo de su tratamiento protésico normal, al finalizar la recolección de datos se remitió al estadístico la base de datos para su análisis e interpretación, una vez terminado este proceso se descubrió cuál de los grupos recibió el tratamiento antimicótico y cuál el placebo.

## **4.5. Análisis Estadístico de los Datos**

Los diagnósticos de los exámenes iniciales y de seguimiento se codificaron y archivaron en una base de datos diseñada en Microsoft Office Excel ® para el estudio. Se utilizaron estadísticos descriptivos para su análisis. Se ha calculado el tiempo requerido por cada grupo para resolver la inflamación, luego se calculó el tiempo medio para cada grupo y se elaboró un análisis de diferencia de medias usando la siguiente fórmula:

Se emplearon pruebas “t” para analizar las variables numéricas con distribución normal y pruebas “chi cuadrado” para comparar variables categóricas o numéricas con distribución

no normal. Adicionalmente se realizó un Análisis de Correspondencias Múltiples para determinar la probabilidad en que las observaciones están en cada una de las categorías de la variable respuesta.

## 5. Resultados del Estudio

A continuación mostramos los resultados de nuestro estudio en función de los objetivos expuestos anteriormente. En primer lugar, describimos y analizamos las variables que nos permiten conocer las características de los sujetos que integran la muestra. Para realizar el estudio de análisis estadístico empleamos medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación típica), así como la distribución de frecuencia y de porcentajes de cada variable según su naturaleza (escalar, ordinal o nominal).

### 5.1. Descripción de la muestra

Los resultados del estudio nos confirman que estamos ante una muestra de sujetos con una edad media de 71 años en un rango de 47-92 años; la distribución por sexos nos ofrece un 62 % (31) de mujeres y un 38% (19) de hombres.

La representación por sexos se distribuyó homogéneamente en los dos grupos de estudio. Tabla no 2.

Grupo	Hombre		mujer		≤40 Años		41-59 años		≥60 años	
	n	%	n	%	N	%	n	%	N	%
1	8	30,7	18	69,2	0	0%	5	19,2	21	80,7
2	11	45,8	13	54,1	0	0%	5	20,8	19	79,1

Tabla no 2. Distribución de la muestra por sexo y edad en los grupos de estudio.

En las tablas no. 3 y 4, se muestran las variables para el grupo Nistatina y Placebo respectivamente.

Número del caso	Severidad			Candida			Hifas		Higiene Protésica			Duerme con Prótesis		Tiempo de resolución semanas			
	I	II	III	A*	T**	G***	SI	NO	B	R	M	SI	NO	1	2	3	4
1		X		+				X			X	X				X	
3		X		+				X		X		X				X	
5		X		+			X			X		X				X	
7	X			+				X		X		X			X		
9			X	+				X	X				X				X
11	X			+			X			X		X			X		
13	X			+				X		X			X				X
15	X				+			X	X				X				X
17		X		+				X		X		X					X
19		X		+				X			X	X				X	
21			X	+				X		X			X			X	
23			X	+				X		X			X			X	
25			X	+		+		X		X		X			X		
27			X	+	-	-		X		X			X			X	
29			X	+			X			X		X					X
31	X							X			X	X			X		
32	X							X			X	X				X	
33	X			+				X		X		X			X		
37	X			+		-	X				X	X			X		
41		X		+			X				X		X			X	
45		X		+			X				X	X					X
46			X	+			X				X	X					X
49	X			+			X			X			X	X			
50		X		+				X			X	X					X
51		X		+			X				X	X					X
53	X			+				X		X		X					X

\* Candida Albicans, \*\* Candida Tropicalis, \*\*\*Candida Glabrata

Tabla no 3. Distribución de las variables en el grupo Nistatina (n= 26).

Número del caso	Severidad			Candida			Hifas		Higiene Protésica			Duerme con Prótesis		Tiempo de resolución Semanas			
	I	II	III	A*	T**	G***	SI	NO	B	R	M	SI	NO	1	2	3	4
2			X	+				X		X		X					X
4		X		+			X			X			X			X	
6			X	+			X				X	X					X
8	X			+				X		X			X			X	
10		X		+			X				X	X					X
12	X			+			X			X			X	X			
14			X	+			X			X		X					X
16	X			+				X			X		X			X	
18			X	+			X				X	X					X
20			X	+				X			X	X					X
22		X		+				X		X		X					X
24		X		+			X				X	X					X
26		X		-	-	-		X		X		X				X	
28	X			-	-	-		X			X	X		X			
30	X			+				X			X	X		X			
34		X		+			X				X	X				X	
35			X	-	-	-	X				X	X				X	
36	X			-	-	-	X			X			X	X			
38	X			+				X			X	X				X	
39		X		+			X				X	X					X
40	X			+			X			X			X	X			
43			X	+			X				X	X					X
47	X			+				X		X			X		X		
48		X		+			X			X		X				X	

\* Candida Albicans, \*\* Candida Tropicalis, \*\*\*Candida

Tabla no. 4 Distribución de las variables en el grupo Placebo (n= 24).

### Severidad de la Estomatitis Protésica y Presencia de Cándida

Con respecto al primer objetivo planteado, se buscó analizar la posible asociación entre la severidad de la Estomatitis Protésica y la presencia de candida, obteniendo los siguientes resultados: 17 casos con presencia de Cándida se diagnosticaron con grado II (42%), seguida por 14 casos con grado I (35%), y por último 9 casos con diagnóstico de grado III (23%).

## Prevalencia de cándida

En relación con la prevalencia de cándida en los grupos participantes, se obtuvo el siguiente resultado:

$$\text{Prevalencia puntual} = \text{Ct/Nt}$$

Ct= número de casos existentes(prevalentes) en un momento o edad determinados  
Nt= número total de individuos en la población en ese momento o edad determinados.

$$39/50 = 0,78$$

Este 0,78 obtenido como resultado corresponde a una prevalencia del 78% de *Cándida*.

## Porcentaje de casos con hifas

Si valoramos la proporción de casos con evidencia de actividad infecciosa de la candida. El porcentaje de casos con hifas, con respecto al total de la muestra corresponde al **46%**

## ANÁLISIS DEL TIEMPO DE RESOLUCIÓN AL UTILIZAR O NO ANTIMICÓTICO

Al analizar el tiempo de resolución de la Estomatitis Protésica, al emplear o no antimicóticos durante el tratamiento encontramos:

### Análisis de diferencia de medias

Al analizar el promedio de semanas de resolución de cada grupo (Nistatina y Placebo), se encontró que existe una diferencia entre estos de 0,2 semanas en tiempo de resolución de la Estomatitis, el grupo tratado con Nistatina tomó 3,5 semanas de

resolución; frente a 3,2 semanas del grupo Placebo, con un valor de **p=0.151** el cual no se consideró estadísticamente significativo.

## Presencia de Cándida

Con respecto al tiempo de resolución, severidad y presencia de Cándida, se encontró que tres casos de cinco, con severidad grado III resolvieron en más de cuatro semanas; 4 de 7 casos con severidad grado II tomaron más de cuatro semanas en resolverse y 3 de 8 casos con severidad grado I tomaron más de cuatro semanas en el grupo tratado con Nistatina.

Severidad	1 semana	2 semana	3 semanas	4 semanas	4+ semanas	Total
I	0	4	1	0	3	8
II	0	0	2	1	4	7
III	0	1	1	0	3	5
Total	0	5	4	1	10	20

Tabla no. 5 Distribución de los casos con presencia de Cándida, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo tratado con Nistatina.

En el grupo tratado con Placebo, se observó que 4 de 6 casos con severidad grado I tomaron una semana para su resolución; por otro lado 4 de 9 casos con severidad grado II tomaron más de cuatro semanas en resolverse, y por último 3 de 4 con severidad grado III, lo cual sugiere que no existe una relación significativa en el tiempo de resolución con respecto a la severidad de la Estomatitis Protésica para los casos con presencia de Cándida

Severidad	1 semana	2 semana	3 semanas	4 semanas	4+ semanas	Total
I	4	1	1	0	0	6
II	0	1	2	2	4	9
III	0	0	1	0	3	4
Total	4	2	4	2	7	19

Tabla no. 6 Distribución de los casos con presencia de Cándida, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo tratado con Placebo.

Al analizar la probabilidad de que la presencia de Cándida influya en el tiempo de resolución, se obtuvo un valor de  $p = 0,551$ , esto demuestra que no existe una diferencia significativa en el tiempo de resolución de la Estomatitis Protésica con respecto a la presencia de Cándida.

## Higiene protésica

En la evaluación inicial, la higiene protésica fue deficiente para la mayoría de la muestra, en tanto esta fue regular o mala para el 96% de las prótesis evaluadas. Este porcentaje pasó a ser del 52% una vez terminado el periodo de observación.

En el grupo de Nistatina, el 34,6% de los casos presentó hifas. De los nueve casos positivos para hifas, todos (9) presentaron higiene protésica regular o mala y siete dormían con las prótesis, los dos individuos que no dormían con la prótesis y presentaron hifas en el extendido, presentaron igualmente una higiene protésica regular o mala, la higiene protésica en dos de los casos fue buena, estos dos dieron negativo para hifas.

En el grupo de Placebo, el 58,33% de los casos presentó hifas. De los 14 casos positivos para hifas, todos presentaron higiene protésica regular o mala y ocho dormían con las prótesis; tres de los cuatro individuos que no dormían con la prótesis y presentaron hifas en el extendido, presentaron igualmente una higiene protésica regular o mala.

## Presencia de Hifas

En cuanto al tiempo de resolución de la Estomatitis Protésica en el grupo de Nistatina, con respecto a la presencia de hifas (actividad infecciosa), se encontró que el 66,6% de los casos que presentaron hifas, requirió tres semanas o más para la resolución de esta condición.

De los 11 casos del grupo Nistatina que tardaron más de tres semanas para la resolución, solamente tres no dormían con la prótesis, seis de los casos fueron negativos para hifas, de los diez casos, siete dormían con la prótesis, ver Tablas 7 y 8.

Severidad	3 semanas	4 semanas	4+ semanas
I	0	2	2
II	2	1	2
III	0	0	2

Tabla no. 7 Distribución de los casos con presencia de hifas, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo Nistatina

Severidad	3 semanas	4 semanas	4+ semanas
I	1	0	3
II	3	0	2
III	3	0	1

Tabla no. 8 Distribución de los casos sin presencia de hifas, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo Nistatina

En cuanto al tiempo de resolución de la Estomatitis Protésica en el grupo Placebo, con respecto a la presencia de hifas (actividad infecciosa), se encontró que el 71,4% de los casos que presentaron hifas requirieron más de tres semanas para la resolución de esta condición. En total, en este grupo hubo ocho casos que tardaron más de cuatro semanas para la resolución de la Estomatitis Protésica, de estos ocho casos, sólo uno no dormía con la prótesis y todos tenían una higiene protésica entre regular y mala. Las tablas 9 y

10 presentan la distribución de casos según la severidad de la Estomatitis Protésica y la presencia o no de hifas, con respecto al tiempo de resolución de la patología.

Severidad	3 semanas	4 semanas	4+ semanas
I	0	0	0
II	1	1	2
III	1	0	4

Tabla no. 9 Distribución de los casos con presencia de hifas, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo Placebo

Severidad	3 semanas	4 semanas	4+ semanas
I	2	2	0
II	1	1	0
III	0	0	1

Tabla no. 10 Distribución de los casos sin presencia de hifas, de acuerdo con la severidad de la estomatitis protésica y el tiempo de resolución en el grupo Placebo

## Dormir con la prótesis

En la evaluación inicial el 68% de los participantes refiere dormir con la prótesis, el Índice de higiene Protésica fue deficiente para la mayoría de la muestra, en tanto esta fue regular o mala para el 96% de las prótesis evaluadas. Este porcentaje pasó a ser del 36% una vez terminado el periodo de observación.

DUERME CON LA PRÓTESIS	INICIO DEL ESTUDIO			FINAL DEL ESTUDIO		
	NISTATINA	PLACEBO	TOTAL	NISTATINA	PLACEBO	TOTAL
SI	18	17	35	6	11	17
NO	8	7	15	19	14	33
<b>TOTAL</b>	50			50		

Tabla no. 11 Casos de acuerdo al Hábito de dormir con la prótesis al inicio y al final del tratamiento.

En el grupo Placebo, el 58,33% de los casos presentó hifas, de los 14 casos positivos para hifas, diez dormían con las prótesis, tres de los cuatro individuos que no dormían con la prótesis y presentaron hifas en el extendido, presentaron igualmente una higiene protésica regular o mala.

Al evaluar el hábito de dormir con prótesis en los dos grupos, vemos como 10 casos del grupo Nistatina pasaron a no dormir con la prótesis, similar comportamiento se observó en el grupo Placebo con nueve casos.

### **Análisis de regresión multinominal**

Se realizó el análisis de regresión multinominal con las cinco categorías de acuerdo con el número de semanas en las cuales se resuelve la Estomatitis Protésica: (1) Semana uno; (2) semana dos; (3) semana tres; (4) semana cuatro; y (5) más de cuatro semanas. Se consideraron las siguientes variables: Tratamiento con y sin antimicótico, higiene protésica, cultivo, especie y presencia de hifas, que corresponden a las variables explicativas que pueden incidir en el tiempo en que la Estomatitis Protésica se resuelve.

Se procedió a estimar la probabilidad de estar en cada una de las categorías de la variable respuesta obteniendo los siguientes resultados:

Variable	Valor p
Grupo	0.151
Higiene	0.114
Duerme con la prótesis	0.092*
Cultivo	0.551
Especie	0.385
Extendido	0.256

\*Significancia al 10%

Tabla no. 12 Nivel de significancia por variables

Iniciamente se realizó el análisis con el 5% de significancia para todas las variables, observando que no existen diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de

resolución de la Estomatitis Protésica para las variables: 1: tratamiento con y sin antimicótico, higiene protésica, presencia de Cándida, tipo de especie, y presencia o no de Hifas.

A partir de estos resultados, se procedió a realizar el mismo análisis con el 10% de significancia encontrando que la única variable incidente en el tiempo de resolución fue si duerme con la prótesis o no lo hace. Esta variable presentó diferencias estadísticamente significativas cuando se analizó con el 10% de significancia obteniéndose un valor de  $p = 0.092$

Es importante aclarar que se consideraron como covariables la edad y el sexo del participante y la conclusión fue que ninguna de estas variables afecta de manera directa el tiempo en el que se resuelve la Estomatitis Protésica (valor de  $p$ . edad = **0.28** y valor de  $p$ . sexo = **0.157**).

### Estimacion de los Parámetros

NUMERO_SEMANAS <sup>a</sup>		B	Error típ.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Intervalo de confianza al 95% para Exp(B)	
								Límite inferior	Límite superior
UNA SEMANA	Intersección	-2,079	,750	7,687	1	,006			
	[DUERME_PROTESIS=No]	2,367	1,070	4,890	1	,027	10,667	1,309	86,933
	[DUERME_PROTESIS=Si]	0 <sup>b</sup>	.	.	0	.	.	.	.
DOS SEMANAS	Intersección	-,827	,453	3,328	1	,068			
	[DUERME_PROTESIS=No]	-,272	1,240	,048	1	,826	,762	,067	8,665
	[DUERME_PROTESIS=Si]	0 <sup>b</sup>	.	.	0	.	.	.	.
TRES SEMANAS	Intersección	-,693	,433	2,562	1	,109			
	[DUERME_PROTESIS=No]	1,204	,849	2,011	1	,156	3,333	,631	17,602
	[DUERME_PROTESIS=Si]	0 <sup>b</sup>	.	.	0	.	.	.	.
CUATRO SEMANAS	Intersección	-2,079	,750	7,687	1	,006			
	[DUERME_PROTESIS=No]	1,674	1,181	2,008	1	,157	5,333	,526	54,032
	[DUERME_PROTESIS=Si]	0 <sup>b</sup>	.	.	0	.	.	.	.

a. La categoría de referencia es: MAS DE CUATRO SEMANAS.

b. Este parámetro se ha establecido a cero porque es redundante.

Tabla no. 13 Estimación de parámetros.

Con respecto a la anterior tabla, se puede concluir que el no dormir con prótesis aumenta en alrededor de 10 veces la probabilidad de resolver en la primera semana con respecto a resolver en más de cuatro semanas (categoría de referencia). Así mismo, si el paciente no utiliza la prótesis al dormir, la probabilidad de recuperarse en tres semanas es tres veces mayor que la probabilidad de recuperarse en más de cinco semanas y la probabilidad de recuperarse en cuatro semanas es cinco veces mayor a la probabilidad de recuperarse en más de cuatro semanas.

## 6. Discusión

La terapéutica actual para la Estomatitis Protésica, de acuerdo con los estudios de diferentes autores (11,68,44,38,16,93,94 ) está basada en las medidas de higiene de la prótesis como limpieza mecánica y química, sumadas al retiro nocturno de la misma.

Las medidas terapéuticas rutinariamente utilizadas, incluyen el uso de los fármacos antimicóticos tópicos y sistémicos. Este enfoque está basado en la hipótesis de que la infección por *Candida* es el principal factor etiológico de esta enfermedad. Sin embargo, una relación de causa y efecto entre la presencia de estomatitis protésica y la *Candida* no se ha demostrado.

Estudios realizados por diferentes autores desde 1998 (14,95,96,97) hasta los realizados en el 2012 (4,11), sugieren la efectividad del uso de antifúngicos en el tratamiento de la Estomatitis Protésica.

Los antifúngicos más utilizados son Nistatina, Anfotericina-B, Miconazol y Fluconazol, debido a su unión al ergosterol en las membranas celulares, lo cual produce cambios en la permeabilidad de la membrana y muerte celular (4). La eficacia del Fluconazol en la candidiasis oral ha sido investigada por diversos autores y resultados exitosos han sido reportados. Sin embargo el fluconazol tiene algunos efectos adversos sistémicos que incluyen dolores de cabeza, erupciones en la piel, vómitos, dolor abdominal y diarrea. Adicionalmente se encuentran en la literatura estudios como el realizado por Martin-Mazuelos y col. en 1997 (98) , que reportan un 3,2% de las cepas de *Candida albicans* aisladas, resistentes a Fluconazol in vivo (24), por el contrario los resultados de resistencia no fueron frecuentes para la Anfotericina B.

Emami E. et al. 2014 (47), en su meta-análisis, revelan la la escasez de ensayos clínicos controlados que evalúen el uso de antifúngicos vs placebo. Uno de ellos es el realizado por Budtz-Jorgensen E (99), donde se encontró que cápsulas de Anfotericina B, Nistatina y Fluconazol fueron más eficaces que cápsulas placebo, en la reducción de inflamación y presencia de levaduras cuando se usan vía sistémica.

Por otro lado, con el fin de disminuir los efectos adversos de los antimicóticos vía sistémica y de disminuir el costo para el paciente, la estomatitis protésica suele tratarse con aplicación tópica de Nistatina, Clorhexidina o Miconazol. Sin embargo, es frecuente el fracaso de la terapia tópica, debido al efecto dilusor de la saliva y a la acción de musculatura como la lengua, que favorece la limpieza y tienden a reducir la concentración de estos agentes a niveles sub-terapéuticos.

Adicional al efecto dilusor, autores como Budtz J. et al., 1988 (99); Lyon JP. et al., 2006 (100), reportan una alta recurrencia y recolonización de *Candida*, una vez finalizado el tratamiento. Se ha sugerido que la prótesis puede servir como un reservorio de *C. albicans* (11,38,68,101).

De acuerdo con los resultados obtenidos en nuestro estudio, tanto el grupo que recibió Nistatina, como el grupo que recibió placebo, mejoraron la condición clínica sin diferencias significativas entre ambos; cuando se toman las medidas de higiene oral como el retiro nocturno de la prótesis, el uso de materiales de rebase de la prótesis, y la limpieza adecuada de la misma. Los hallazgos de nuestro estudio evidencian que las medidas de higiene de la prótesis son tan efectivas, como utilizar Nistatina tópica para el manejo de la Estomatitis Protésica.

La estomatitis protésica fué más prevalente en la población femenina con un 62% de mujeres y un 38% de hombres. Lo cual coincide con los reportes de la mayoría de estudios (9,14,33,38,44).

La prevalencia de *Candida* fue de 80% para el grupo tratado con Nistatina mientras que para el grupo que recibió placebo fue de 84%. El diagnóstico inicial más frecuente para ambos grupos fue el grado I, encontrándose para el grupo de Nistatina diez casos,

---

correspondientes al 20% y para el grupo de Placebo se encontraron nueve casos que corresponden al 18%.

La mayoría de los casos con severidad grado II y III pasaron a un grado de menor severidad. Por el contrario dos casos que inicialmente se encontraban en grado I, se mantuvieron en el mismo diagnóstico a lo largo de las 4 semanas. Esto confirma que la etiología es multifactorial y en éstos pacientes podría asociarse a otros factores como la persistencia en el hábito de dormir con la prótesis, que puedan estar impidiendo una resolución adecuada (6,7,8).

El 43% de los casos estudiados presentó actividad infecciosa al inicio del estudio, la cual disminuyó significativamente, pasando a un 12% de casos a las cuatro semanas de observación. Los resultados del análisis de regresión multinomial mostraron que no existe diferencia estadísticamente significativa en el tiempo de resolución para los dos grupos, con el uso o no de antimicótico, indicando que ambos presentaron comportamiento similar en cuanto a su eficacia para el tratamiento de la Estomatitis Protésica, lo cual puede ser explicado por el hecho de que ambos grupos recibieron las mismas instrucciones sobre higiene protésica, retiro nocturno de la prótesis y rebase de la misma, generando un cambio desfavorable al medio ambiente para el hongo, y evidenciando que es más importante controlar los hábitos de higiene y de uso protésico para controlar la infección por *Candida*, que el emplear antimicóticos como lo reportado por otros autores (20,102,103).

Ninguno de los participantes evaluados reportó efectos adversos al antifúngico, sólo en uno de los participantes se sospechó de reacción alérgica como efecto del uso de material de rebase, por presentar exacerbación de la estomatitis a quien se le cambió el material de rebase y se sumergió la prótesis en agua a altas temperaturas para la liberación de monómeros residuales, tal como lo recomienda el estudio de Urban V et al 2007 (104).

No se encontraron estudios donde se compare y que evalúe el tiempo de resolución de la Estomatitis Protésica, cuando se usan antifúngicos tópicos. En nuestro estudio se evidenció que a pesar de obtener un alto porcentaje de casos (16%) que resolvió la inflamación al pasar tres semanas de tratamiento antifúngico, un porcentaje mayor de la

muestra (22%), tomó más de cuatro semanas para su resolución, así mismo se encontró que en el grupo placebo, un porcentaje menor tomó más de cuatro semanas, y contrario a lo esperado, el mayor porcentaje tomó solo tres semanas para su resolución. Lo anterior sugiere que usar Nistatina tópica no acelera el tiempo de resolución de la enfermedad, como ha sido sugerido por Budtz-Jorgensen E. et al en 1988 (99), cuando comparó Fluconazol vs placebo durante de 4 semanas en pacientes con Estomatitis Protésica.

Se ha evidenciado que la base protésica constituye un reservorio de microorganismos (101). Se encontró una asociación significativa del índice de higiene protésica con al diagnóstico inicial de poseer la enfermedad; con un (96%) de casos que, se encontraban en índice de Higiene Protésica regular o mala; pero no presentó diferencias significativas con respecto al tiempo de resolución. Lo anterior coincide con lo reportado por Kulak Y. et al, 2002 (28); Webb BC. Et al, 2005 (42), Ramage G. et al, 2012 (57); Mantri S. et al, 2013 (58), quienes encontraron una relación estadísticamente significativa entre el diagnóstico de estomatitis protésica con la presencia de levaduras y la limpieza de la prótesis.

No se presentó asociación positiva entre la severidad de la inflamación de la Estomatitis Protésica y la colonización por *Candida albicans*; lo cual está en contra de lo reportado en estudios anteriormente realizados por Marín D. et al, 2007 (105) quienes encontraron una clara asociación entre la presencia de hifas 75% (lo cual indica actividad infecciosa de la *Candida albicans*) y la severidad de la lesión, comparado con un 46% en nuestro estudio lo cual puede deberse al alto porcentaje de casos (38%) con estadio grado I de la Estomatitis Protésica con que hacen parte de la muestra.

Una de las limitaciones de este estudio fue asegurar el retiro nocturno de la prótesis, un cinco participantes manifestaron no haberla retirado, debido a las implicaciones sociales que esto genera. Sin embargo, el retiro de la prótesis al dormir es una variable que influyó significativamente en el tiempo de resolución de la Estomatitis Protésica. Este resultado está de acuerdo con lo reportado por varios autores Kulak Y. 2002, (29); Takamiya A. et al, 2011 (28); Sadig W. et al, 2010 (30); Brevis A. et al, 2008 (24).

## 7. Conclusiones-Recomendaciones

Bajo las condiciones de este estudio y para la muestra, se puede concluir:

- El uso de Nistatina tópica no disminuyó el tiempo de resolución de la Estomatitis Protésica, al compararlo con el uso de un placebo.
- No se presentan diferencias estadísticamente significativas microbiológicas y clínicas en la resolución del proceso inflamatorio en participantes con Estomatitis Protésica, cuando se utiliza nistatina tópica y solución placebo.
- No se confirma la asociación significativa entre la severidad de la inflamación de la Estomatitis Protésica y la colonización por *Candida albicans*.
- Existe una alta proporción de casos con evidencia de actividad infecciosa de *Candida* en la muestra estudiada, evidenciando una disminución significativa como resultado del tratamiento, independientemente del uso tópico de Nistatina.

## Bibliografía

1. Fisher AA. Allergic sensitization of the skin and oral mucosa to acrylic denture materials. *Journal of the American Medical Association*. 1954;156(3):238-42.
2. Wilson J. The aetiology, diagnosis and management of denture stomatitis. *Br Dent J*. 1998;185(8):380-4.
3. Marín DJ ÁE, Rojas JK. Comparación de la resolución de la estomatitis subprótesis tratada con acondicionador de tejidos blando y material de rebase duro autopolimerizable. *Rev Fac Odontol Univ Antioq*. 2007;19(1):21-34.
4. Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, et al. Candida-associated denture stomatitis. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*. 2011;16(2):e139-43.
5. Jackson S, Coulthwaite L, Loewy Z, Scallan A, Verran J. Biofilm development by blastospores and hyphae of *Candida albicans* on abraded denture acrylic resin surfaces. *The Journal of prosthetic dentistry*. 2014;112(4):988-93.
6. Thomas CJ, Nutt GM. The in vitro fungicidal properties of Visco-gel, alone and combined with nystatin and amphotericin B. *Journal of oral rehabilitation*. 1978;5(2):167-72.

- 
7. Zomorodian K, Haghighi NN, Rajaei N, Pakshir K, Tarazooie B, Vojdani M, et al. Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. *Medical mycology*. 2011;49(2):208-11.
  8. Dorocka-Bobkowska B, Konopka K. Susceptibility of *Candida* isolates from denture-related stomatitis to antifungal agents in vitro. *The International journal of prosthodontics*. 2007;20(5):504-6.
  9. Mandali G, Sener ID, Turker SB, Ulgen H. Factors affecting the distribution and prevalence of oral mucosal lesions in complete denture wearers. *Gerodontology*. 2011;28(2):97-103.
  10. Marcos-Arias C, Eraso E, Madariaga L, Aguirre JM, Quindós G. Phospholipase and proteinase activities of *Candida* isolates from denture wearers. *Mycoses*. 2011;54(4):e10-e6.
  11. Mima EG, Vergani CE, Machado AL, Massucato EM, Colombo AL, Bagnato VS, et al. Comparison of Photodynamic Therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical trial. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2012;18(10):E380-8.
  12. Emami E, Seguin J, Rompre PH, de Koninck L, de Grandmont P, Barbeau J. The relationship of myceliated colonies of *Candida albicans* with denture stomatitis: an in vivo/in vitro study. *The International journal of prosthodontics*. 2007;20(5):514-20.
  13. He XY, Meurman JH, Kari K, Rautemaa R, Samaranayake LP. In vitro adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses*. 2006;49(2):80-4.
  14. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. *Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 2. Oral diseases caused by *Candida* species. *Australian dental journal*. 1998;43(3):160-6.

15. Gasparoto TH, Vieira NA, Porto VC, Campanelli AP, Lara VS. Ageing exacerbates damage of systemic and salivary neutrophils from patients presenting Candida-related denture stomatitis. *Immunity & ageing : I & A*. 2009;6:3.
16. Anibal PC, de Cassia Orlandi Sardi J, Peixoto IT, de Carvalho Moraes JJ, Hofling JF. Conventional and alternative antifungal therapies to oral candidiasis. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*. 2010;41(4):824-31.
17. L.R. C. The Denture Sore Mouth. *Ann Dent*. 1936;3:33.
18. WJ P. Antiseptics for use in the mouths of denture patients. *Apolonia*. 1936;1:147.
19. RA C. Denture sore mouth and angular cheilitis. Oral candidiasis in adults. *Br Dent J*. 1963;115:441.
20. Nairn RI. Nystatin and amphotericin B in the treatment of denture-related candidiasis. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1975;40(1):68-75.
21. Ettinger RL. The etiology of inflammatory papillary hyperplasia. *The Journal of prosthetic dentistry*. 1975;34(3):254-61.
22. Iacopino AM, Wathen WF. Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. *Journal of the American Dental Association (1939)*. 1992;123(1):46-51.
23. Konsberg R, Axell T. Treatment of Candida-infected denture stomatitis with a miconazole lacquer. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*. 1994;78(3):306-11.
24. Brevis APC, M. J. & Cantin, L. M. Estomatitis subprótesis: estudio clínico y microbiológico de Candida. *Int j odontostomatol*. 2008;2(1):101-8.

- 
25. Newton AV. Denture sore mouth as possible aetiology. *Br Dent J* 1962; 112: 357–360.
  26. Kabawat M, de Souza RF, Badaro MM, de Koninck L, Barbeau J, Rompre P, et al. Phase 1 clinical trial on the effect of palatal brushing on denture stomatitis. *The International journal of prosthodontics*. 2014;27(4):311-9.
  27. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists*. 2011;20(4):251-60.
  28. Takamiya AS, Monteiro DR, Barao VA, Pero AC, Compagnoni MA, Barbosa DB. Complete denture hygiene and nocturnal wearing habits among patients attending the Prosthodontic Department in a Dental University in Brazil. *Gerodontology*. 2011;28(2):91-6.
  29. Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikan A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *Journal of oral rehabilitation*. 2002;29(3):300-4.
  30. Sadig W. The denture hygiene, denture stomatitis and role of dental hygienist. *International journal of dental hygiene*. 2010;8(3):227-31.
  31. Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C. Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors - a large cohort. *Journal of oral rehabilitation*. 2007;34(6):448-55.
  32. Ribeiro DG, Pavarina AC, Dovigo LN, Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE. Prevalence of *Candida* spp. associated with bacteria species on complete dentures. *Gerodontology*. 2012;29(3):203-8.
  33. Gasparoto TH, Sipert CR, de Oliveira CE, Porto VC, Santos CF, Campanelli AP, et al. Salivary immunity in elderly individuals presented with *Candida*-related denture stomatitis. *Gerodontology*. 2012;29(2):e331-9.

34. Sakar O, Sulun T, Bilhan H, Ispirgil E. Does the presence of anterior mandibular teeth increase the incidence of denture stomatitis? *Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists*. 2013;22(3):174-8.
35. Marinoski J, Bokor-Bratic M, Cankovic M. Is denture stomatitis always related with candida infection? A case control study. *Medicinski glasnik : official publication of the Medical Association of Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina*. 2014;11(2):379-84.
36. Dagistan S, Aktas AE, Caglayan F, Ayyildiz A, Bilge M. Differential diagnosis of denture-induced stomatitis, Candida, and their variations in patients using complete denture: a clinical and mycological study. *Mycoses*. 2009;52(3):266-71.
37. Lalla RV, Dongari-Bagtzoglou A. Antifungal medications or disinfectants for denture stomatitis. *Evid-based Dent*. 2014;15(2):61-2.
38. Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ, et al. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *Journal of dental research*. 2001;80(3):903-8.
39. Gasparoto TH, de Oliveira CE, Vieira NA, Porto VC, Cunha FQ, Garlet GP, et al. Activation pattern of neutrophils from blood of elderly individuals with Candida-related denture stomatitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(6):1271-7.
40. Abaci O. Investigation of extracellular phospholipase and proteinase activities of Candida species isolated from individuals denture wearers and genotypic distribution of Candida albicans strains. *Current microbiology*. 2011;62(4):1308-14.
41. Leigh JE, Steele C, Wormley F, Fidel PL, Jr. Salivary cytokine profiles in the immunocompetent individual with Candida-associated denture stomatitis. *Oral microbiology and immunology*. 2002;17(5):311-4.

- 
42. Webb BC, Thomas CJ, Whittle T. A 2-year study of Candida-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. *Gerodontology*. 2005;22(3):168-76.
  43. Costa F, Manaia CM, Figueiral MH, Pinto E. Genotypic analysis of *Candida albicans* isolates obtained from removable prosthesis wearers. *Letters in Applied Microbiology*. 2008;46(4):445-9.
  44. Falah-Tafti A, Jafari AA, Lotfi-Kamran MH, Fallahzadeh H, Hayan RS. A Comparison of the eFficacy of Nystatin and Fluconazole Incorporated into Tissue Conditioner on the In Vitro Attachment and Colonization of *Candida Albicans*. *Dental research journal*. 2010;7(1):18-22.
  45. J. L. Estomatitis Subprotesica. *Acta Odontologica Venezuelana*. 2001;39(3).
  46. Marin Zuluaga DJ, Gomez Velandia OC, Rueda Cluijo DM. Denture-related stomatitis managed with tissue conditioner and hard autopolymerising reline material. *Gerodontology*. 2011;28(4):258-63.
  47. Emami E, Kabawat M, Rompre PH, Feine JS. Linking evidence to treatment for denture stomatitis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of dentistry*. 42(2):99-106.
  48. Valentini F, Luz MS, Boscato N, Pereira-Cenci T. Biofilm formation on denture liners in a randomised controlled in situ trial. *Journal of dentistry*. 2013;41(5):420-7.
  49. Pisani MX, Malheiros-Segundo Ade L, Balbino KL, de Souza RF, Paranhos Hde F, da Silva CH. Oral health related quality of life of edentulous patients after denture relining with a silicone-based soft liner. *Gerodontology*. 2012;29(2):e474-80.
  50. Song YH, Song HJ, Han MK, Yang HS, Park YJ. Cytotoxicity of soft denture lining materials depending on their component types. *The International journal of prosthodontics*. 2014;27(3):229-35.

51. Okuyama Y, Shiraishi T, Yoshida K, Kurogi T, Watanabe I, Murata H. Influence of composition and powder/liquid ratio on setting characteristics and mechanical properties of autopolymerized hard direct denture relining resins based on methyl methacrylate and ethylene glycol dimethacrylate. *Dental materials journal*. 2014;33(4):522-9.
52. Duran RL, Powers JM, Craig RG. Viscoelastic and dynamic properties of soft liners and tissue conditioners. *Journal of dental research*. 1979;58(8):1801-7.
53. Dayrell A, Takahashi J, Valverde G, Consani R, Ambrosano G, Mesquita M. Effect of sealer coating on mechanical and physical properties of permanent soft lining materials. *Gerodontology*. 2012;29(2):e401-7.
54. Boscato N, Delavi JD, Muller L, Pereira-Cenci T, Imanishi SW. Influence of varnish application on a tissue conditioner: analysis of biofilm adhesion. *Gerodontology*. 2010;27(3):207-10.
55. J W. song The oral health related quality of life of edentulous patients after denture relining with a silicone-based soft liner. *Gerodontology*. 2012;29:474 80.
56. Geerts GA, Stuhlinger ME, Basson NJ. Effect of an antifungal denture liner on the saliva yeast count in patients with denture stomatitis: a pilot study. *Journal of oral rehabilitation*. 2008;35(9):664-9.
57. Schwindling FS, Rammelsberg P, Stober T. Effect of chemical disinfection on the surface roughness of hard denture base materials: a systematic literature review. *The International journal of prosthodontics*. 2014;27(3):215-25.
58. Singh K, Chand P, Singh BP, Patel CB. Study of the effect of surface treatment on the long term effectiveness of tissue conditioner. *Journal of oral science*. 2010;52(2):261-5.
59. Ramage G, Zalewska A, Cameron DA, Sherry L, Murray C, Finnegan MB, et al. A comparative in vitro study of two denture cleaning techniques as an effective

- 
- strategy for inhibiting *Candida albicans* biofilms on denture surfaces and reducing inflammation. *Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists*. 2012;21(7):516-22.
60. Mantri SS, Parkhedkar RD, Mantri SP. *Candida* colonisation and the efficacy of chlorhexidine gluconate on soft silicone-lined dentures of diabetic and non-diabetic patients. *Gerodontology*. 2013;30(4):288-95.
61. Ghalichebaf M, Graser GN, Zander HA. The efficacy of denture-cleansing agents. *The Journal of prosthetic dentistry*. 1982;48(5):515-20.
62. Brondani MA, Samim F, Feng H. A conventional microwave oven for denture cleaning: a critical review. *Gerodontology*. 2012;29(2):e6-15.
63. Sanita PV, Machado AL, Pavarina AC, Massucato EM, Colombo AL, Vergani CE. Microwave denture disinfection versus nystatin in treating patients with well-controlled type 2 diabetes and denture stomatitis: a randomized clinical trial. *The International journal of prosthodontics*. 2012;25(3):232-44.
64. Nalbant AD, Kalkanci A, Filiz B, Kustimur S. Effectiveness of different cleaning agents against the colonization of *Candida* spp and the in vitro detection of the adherence of these yeast cells to denture acrylic surfaces. *Yonsei medical journal*. 2008;49(4):647-54.
65. Barnabe W, de Mendonca Neto T, Pimenta FC, Pegoraro LF, Scolaro JM. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Journal of oral rehabilitation*. 2004;31(5):453-9.
66. Khaledi A, Borhanihaghghi Z, Vojdani M. The effect of disinfectant agents on dimensional stability and surface roughness of a tissue conditioner material. *Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research*. 2011;22(4):499-504.

67. Sanita PV, Vergani CE, Giampaolo ET, Pavarina AC, Machado AL. Growth of *Candida* species on complete dentures: effect of microwave disinfection. *Mycoses*. 2009;52(2):154-60.
68. Koray M, Ak G, Kurklu E, Issever H, Tanyeri H, Kulekci G, et al. Fluconazole and/or hexetidine for management of oral candidiasis associated with denture-induced stomatitis. *Oral diseases*. 2005;11(5):309-13.
69. Lyon JP, da Costa SC, Totti VM, Munhoz MF, de Resende MA. Predisposing conditions for *Candida* spp. carriage in the oral cavity of denture wearers and individuals with natural teeth. *Canadian journal of microbiology*. 2006;52(5):462-7.
70. Salomao K, Pereira PR, Campos LC, Borba CM, Cabello PH, Marcucci MC, et al. Brazilian propolis: correlation between chemical composition and antimicrobial activity. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*. 2008;5(3):317-24.
71. Taweechaisupapong S, Klanrit P, Singhara S, Pitiphat W, Wongkham S. Inhibitory effect of *Streblus asper* leaf-extract on adhesion of *Candida albicans* to denture acrylic. *Journal of ethnopharmacology*. 2006;106(3):414-7.
72. Finger D, Machado CS, Torres YR, Quináia SP, Thomaz ACG, Gobbo AR, et al. Antifungal Bioassay-Guided Fractionation of an Oil Extract of Propolis. *Journal of Food Quality*. 2013;36(5):291-301.
73. Polaquini SR, Svidzinski TI, Kimmelmeier C, Gasparetto A. Effect of aqueous extract from *Neem* (*Azadirachta indica* A. Juss) on hydrophobicity, biofilm formation and adhesion in composite resin by *Candida albicans*. *Archives of oral biology*. 2006;51(6):482-90.
74. Mani F, Damasceno HC, Novelli EL, Martins EA, Sforcin JM. Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables. *Journal of ethnopharmacology*. 2006;105(1-2):95-8.

- 
75. Johnston JE, Sepe HA, Miano CL, Brannan RG, Alderton AL. Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. *Meat science*. 2005;70(4):627-31.
76. Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of ethnopharmacology*. 1999;64(3):235-40.
77. Sawaya AC, Palma AM, Caetano FM, Marcucci MC, da Silva Cunha IB, Araujo CE, et al. Comparative study of in vitro methods used to analyse the activity of propolis extracts with different compositions against species of *Candida*. *Lett Appl Microbiol*. 2002;35(3):203-7.
78. Sonmez S, Kirilmaz L, Yucesoy M, Yucel B, Yilmaz B. The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblasts. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;102(3):371-6.
79. Silici S, Koc NA, Ayangil D, Cankaya S. Antifungal activities of propolis collected by different races of honeybees against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. *Journal of pharmacological sciences*. 2005;99(1):39-44.
80. Sforcin JM. Propolis and the immune system: a review. *Journal of ethnopharmacology*. 2007;113(1):1-14.
81. Haidari M, Ali M, Ward Casscells S, 3rd, Madjid M. Pomegranate (*Punica granatum*) purified polyphenol extract inhibits influenza virus and has a synergistic effect with oseltamivir. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2009;16(12):1127-36.
82. Santos VR, Pimenta FJ, Aguiar MC, do Carmo MA, Naves MD, Mesquita RA. Oral candidiasis treatment with Brazilian ethanol propolis extract. *Phytotherapy research: PTR*. 2005;19(7):652-4.

83. Kimoto S, Kimoto K, Murakami H, Gunji A, Ito N, Kawai Y. Survival analysis of mandibular complete dentures with acrylic-based resilient liners. *Gerodontology*. 2013;30(3):187-93.
84. Anesini C, Perez C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *Journal of ethnopharmacology*. 1993;39(2):119-28.
85. Ali-Shtayeh MS, Abu Ghdeib SI. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*. 1999;42(11-12):665-72.
86. Vasconcelos LC, Sampaio FC, Sampaio MC, Pereira Mdo S, Higino JS, Peixoto MH. Minimum inhibitory concentration of adherence of *Punica granatum* Linn (pomegranate) gel against *S. mutans*, *S. mitis* and *C. albicans*. *Brazilian dental journal*. 2006;17(3):223-7.
87. Maeta K, Nomura W, Takatsume Y, Izawa S, Inoue Y. Green tea polyphenols function as prooxidants to activate oxidative-stress-responsive transcription factors in yeasts. *Applied and environmental microbiology*. 2007;73(2):572-80.
88. Casaroto AR, Lara VS. Phytomedicines for *Candida*-associated denture stomatitis. *Fitoterapia*. 2010;81(5):323-8.
89. Donini M, Zenaro E, Tamassia N, Dusi S. NADPH oxidase of human dendritic cells: role in *Candida albicans* killing and regulation by interferons, dectin-1 and CD206. *European journal of immunology*. 2007;37(5):1194-203.
90. Bakhshi M, Taheri JB, Shabestari SB, Tanik A, Pahlevan R. Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatin mouthwash in denture stomatitis. *Gerodontology*. 2012;29(2):e680-4.
91. Han Y. Synergic effect of grape seed extract with amphotericin B against disseminated candidiasis due to *Candida albicans*. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2007;14(11):733-8.

- 
92. Santos VR, Gomes RT, de Mesquita RA, de Moura MD, Franca EC, de Aguiar EG, et al. Efficacy of Brazilian propolis gel for the management of denture stomatitis: a pilot study. *Phytotherapy research : PTR.* 2008;22(11):1544-7.
  93. Radnai M, Whiley R, Friel T, Wright PS. Effect of antifungal gels incorporated into a tissue conditioning material on the growth of *Candida albicans*. *Gerodontology.* 2010;27(4):292-6.
  94. Martínez Y., López P., Velandrino A., Jornet V. Use of antifungal agents for oral candidiasis: results of a national survey. *Int J Dent Hygiene* 8, 2010; 47–52.)
  95. Cross LJ, Bagg J, Wray D, Aitchison T. A comparison of fluconazole and itraconazole in the management of denture stomatitis: a pilot study. *Journal of dentistry.* 1998;26(8):657-64.
  96. de Resende JC, de Resende MA. In vitro antifungal susceptibility of clinical isolates of *Candida* spp. from hospitalized patients. *Mycoses.* 1999;42(11-12):641-4.
  97. Kapic E, Becic F, Becic E. [Hexetidine--an oral antiseptic]. *Medicinski arhiv.* 2002;56(1):43-8.
  98. Martin-Mazuelos E, Aller AI, Romero MJ, Rodriguez Armijo A, Gutierrez MJ, Bernal S, et al. Response to fluconazole and itraconazole of *Candida* spp. in denture stomatitis. *Mycoses.* 1997;40(7-8):283-9.
  99. Budtz-Jorgensen E, Holmstrup P, Krogh P. Fluconazole in the treatment of *Candida*-associated denture stomatitis. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 1988;32(12):1859-63.
  100. Lyon JP, da Costa SC, Totti VM, Munhoz MF, de Resende MA. Predisposing conditions for *Candida* spp. carriage in the oral cavity of denture wearers and individuals with natural teeth. *Canadian journal of microbiology.* 2006;52(5):462-7.

101. Budtz-Jorgensen E. Histopathology, immunology, and serology of oral yeast infections. Diagnosis of oral candidosis. *Acta odontologica Scandinavica*. 1990;48(1):37-43.
102. Scher EA, Ritchie GM, Flowers DJ. Antimycotic denture adhesive in treatment of denture stomatitis. *Journal of Prosthetic Dentistry* 1978;40:622-7.
103. Koopmans AS, Smitt PA, Kalk W, de Graaff J. Efficacy of 2.5% Pimafucin suspension in the treatment of denture stomatitis. *Journal of Prosthetic Dentistry* 1984;51:461-6
104. Urban V, Machado A, Oliveira R et al. Residual monomer of reline acrylic resins. Effect of water-bath and microwave post-polymerization treatments. *Dent Mater* 2007; 23: 363-368.
105. Marín DJ, Álvarez EM, Rojas JK. Comparación de la resolución de la estomatitis subptótesis tratada con acondicionador de tejido blando y material de rebase duro autopolimerizable. *Rev Fac Odontol Univ Antioq* 2007; 19 (1): 21-34.