

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO**



**UPAGU**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**“DR. WILMAN RUIZ VIGO”**

**CARRERA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA CON INFUSIÓN DE *Juglans neotropica*  
Diels (NOGAL) EN COLONIAS DE *Candida albicans* (ATCC 10231).**

**Autoras:**

**Bach. Anita María Tesoro Bardales Chuquilín**

**Bach. Yazmyn Mercedes Soledad Ureta Lumbe**

**Asesor:**

**C.D. FELIPE MACAVILCA CAYAO**

**Coasesor:**

**Mg. JORGE ENRIQUE BAZÁN MAYRA**

**Cajamarca - Perú**

**Mayo - 2017**

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO**



**UPAGU**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**“DR. WILMAN RUIZ VIGO”**

**CARRERA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA CON INFUSIÓN DE *Juglans neotropica* Diels  
(NOGAL) EN COLONIAS DE *Candida albicans* (ATCC 10231).**

**Tesis presentada en cumplimiento parcial de los requerimientos  
para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista.**

**Bach. Anita María Tesoro Bardales Chuquilín**

**Bach. Yazmyn Mercedes Soledad Ureta Lumbe**

**Asesor: C.D. FELIPE MACAVILCA CAYAO**

**Coasesor: Mg. JORGE ENRIQUE BAZÁN MAYRA**

**Cajamarca – Perú**

**Mayo - 2017**

COPYRIGHT © 2017 by

ANITA MARÍA TESORO BARDALES CHUQUILÍN

YAZMYN MERCEDES SOLEDAD URETA LUMBE

Todos los derechos reservados

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**“DR. WILMAN RUIZ VIGO”**  
**CARRERA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

APROBACIÓN DE TESIS PARA OPTAR TÍTULO  
PROFESIONAL

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA CON INFUSIÓN DE *Juglans neotropica* Diels**  
**(NOGAL) EN COLONIAS DE *Candida albicans* (ATCC 10231).**

---

C.D. Lourdes Yánac Acedo  
PRESIDENTE

---

Mg. C.D. Laureano Leandro Cornejo  
MIEMBRO

---

C.D. Felipe Macavilca Cayao  
MIEMBRO

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a todas las personas que supieron guiarme y apoyarme para que logre mejorar cada día, tanto académica como personalmente.

A mis padres Humbelina y Homero, que han velado por mi bienestar y educación, y depositaron su entera confianza en cada reto que se presentaba, por sus constantes palabras de motivación y por confiar plenamente en mí.

A mis hermanos Homero y Mily, por su incondicional apoyo y compañía, que me ayudaron a cumplir con mis metas.

Anita María Tesoro Bardales Chuquilín

## **DEDICATORIA**

Con todo mi cariño y mi amor dedico esta tesis a las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños; por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes, integrantes de mi querida familia.

A mi padre Oscar, por sus constantes palabras de motivación, por confiar plenamente en mí.

A mi madre Gloria, por su incondicional acompañamiento en todos los momentos de mi vida.

A mi hermana Zulyn que, con su experiencia, me supo guiar y corregir a lo largo de toda mi carrera profesional.

Yazmyn Mercedes Soledad Ureta Lumbe

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios, por ser mi fortaleza, mi luz y mi guía toda mi vida.

Al Mg. Blgo. Mblgo. Jorge Enrique Bazán Mayra, por la enorme dedicación que puso en este trabajo y por el empeño con que se dedica a su profesión.

Al C.D. Felipe Macavilca Cayao, por su apoyo, colaboración y orientación a lo largo de toda mi carrera profesional.

A mis padres y a mis hermanos, quienes me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora, por ser un modelo de vida que voy a seguir.

Anita María Tesoro Bardales Chuquilín

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios, por protegerme durante todo este camino y por darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda la vida.

Agradezco, asimismo, a todas las personas que confiaron en mí y me brindaron todo su apoyo por medio de los seguimientos, supervisiones y exigencias que hacían para superar las metas trazadas.

Yazmyn Mercedes Soledad Ureta Lumbe



## RESUMEN

El uso de prótesis dentales de manera inadecuada, además de la falta de una higiene correcta, sumado al material de las prótesis, hacen que exista en estas la probabilidad de la colonización de *Candida albicans*. El objetivo de la presente tesis fue evaluar si la infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) debe usarse para obtener actividad antifúngica en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231); para cuyo efecto se utilizaron prótesis dentales que fueron sumergidas en la infusión de la corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) preparada en tres concentraciones de 10%, 20% y 30%. Además, se usó como grupo de control a la clorhexidina al 0,12% y se realizó recuento de colonias de *Candida albicans* luego de 5 tiempos de exposición de 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 1 hora y 8 horas, a razón de cinco repeticiones cada una.

Se observó que si se usa la infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 10% en tiempos de 1 hora y 8 horas, infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 20% en tiempos de 20 minutos, 30 minutos, 1 hora y 8 horas; y la infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 30% en tiempos de 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 1 hora y 8 horas, se evidencia actividad antifúngica en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231), en igual grado que con clorhexidina al 0,12%.

En base a la evidencia mostrada y la prueba estadística de U de Mann-Whitney se consideró a la diferencia encontrada en la presente investigación como una diferencia estadísticamente no significativa ( $p > 0,05$ ), y se concluyó que: Para obtener actividad antifúngica debe usarse infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) *in vitro*.

**Palabras clave:** Actividad antifúngica, infusión, *Juglans neotropica* Diels (nogal), *Candida albicans*.

## ABSTRACT

The use of the dental prosthesis improperly, in addition to the lack of a correct hygiene, added the material of the prosthesis, there exists in this the probability of the colonization of *Candida albicans*. The aim of the present thesis estimated infusion of *Juglans neotropica* Diels (walnut) should be used to obtain antifungal activity in colonies of *Candida albicans* (ATCC 10231); dental prostheses were used for all effects, which were immersed in the infusion of the cortex of *Juglans neotropica* Diels (walnut) prepared in three concentrations of 10%, 20% and 30%. In addition, 0.12% chlorhexidine was used as the control group and *Candida* colonies were counted after 5 exposure times of 10 minutes, 20 minutes, 30 minutes, 1 hour and 8 hours, a ratio of five repetitions each one.

It was observed that if the infusion of *Juglans neotropica* Diels (walnut) at 10% at times of 1 hour and 8 hours, at 20% in times of 20 minutes, 30 minutes, 1 hour and 8 hours; and at 30% in times of 10 minutes, 20 minutes, 30 minutes, 1 hour and 8 hours, antifungal activity is evidenced in colonies of *Candida albicans* (ATCC 10231), in the same degree as with 0.12% chlorhexidine.

Based on the evidence shown and the Mann-Whitney U statistical test, the difference found in the present study was considered as a statistically non-significant difference ( $p > 0.05$ ), and it was concluded that: In order to obtain antifungal activity, Infusion of *Juglans neotropica* Diels (walnut) in colonies of *Candida albicans* (ATCC 10231) *in vitro*.

**Key words:** Antifungal activity, infusion, *Juglans neotropica* Diels (walnut), *Candida albicans*.

## CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. MARCO CONCEPTUAL .....	6
III. MÉTODOS .....	35
3.1. Tipo de investigación según objetivo.....	35
3.2. Diseño de investigación .....	35
3.2.1. Tipo de diseño.....	35
3.2.2. Tipo de técnica de diseño.....	35
3.2.3. Estructura del tipo de técnica de diseño.....	35
3.3. Operacionalización de las variables de la hipótesis científica .....	36
3.4. Regla tecnológica.....	36
3.4.1. Regla tecnológica nula .....	36
3.4.2. Regla tecnológica alternativa .....	37
3.5. Método .....	37
3.6. Población y muestra .....	37
3.6.1. Población.....	37
3.6.2. Tamaño de la muestra: .....	37
3.6.2. Criterios de selección de la población.....	38
3.6.4. Tipos de unidades de la población .....	38
3.6.5. Tipo de muestreo.....	38

3.6.6. Tipo de técnica de muestreo.....	38
3.7. Técnica de recolección de datos.....	39
3.8. Instrumento de recolección de datos .....	39
3.9. Técnica de análisis de datos .....	39
3.10. Aspectos éticos.....	39
3.11. Recursos .....	39
3.11.1. Recursos humanos.....	39
3.11.2. Recursos físicos.....	40
3.12. Proceso .....	41
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	47
V. CONCLUSIÓN .....	60
VI. RECOMENDACIONES .....	61
VII. REFERENCIAS .....	62
ANEXOS .....	72
Anexo 1. Instrumento de recolección de datos .....	72
Anexo 2. Imágenes .....	73

## **LISTA DE CUADROS**

Cuadro 1. Matriz de consistencia de la secuencia básica de la investigación.....	4
Cuadro 2. Matriz de operacionalización de variables .....	36

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Actividad antifúngica con infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) con tiempo de exposición de 10 minutos .....	47
Tabla 2. Prueba estadística de U de Mann-Whitney para el tiempo de 10 minutos .....	48
Tabla 3. Actividad antifúngica con infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) con tiempo de exposición de 20 minutos .....	49
Tabla 4. Prueba estadística de U de Mann-Whitney para el tiempo de 20 minutos .....	50
Tabla 5. Actividad antifúngica con infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) con tiempo de exposición de 30 minutos .....	52
Tabla 6. Prueba estadística de U de Mann-Whitney para el tiempo de 30 minutos .....	52
Tabla 7. Actividad antifúngica con infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) con tiempo de exposición de 1 hora .....	54

Tabla 8. Prueba estadística de U de Mann-Whitney para el tiempo de 1 hora. ... 55

Tabla 9. Actividad antifúngica con infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) con tiempo de exposición de 8 horas  
..... 57

Tabla 10. Prueba estadística de U de Mann-Whitney para el tiempo de 8 horas  
..... 57

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Promedio del recuento de colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) en placas de Petri a los 10 minutos de exposición .....	48
Gráfico 2. Promedio del recuento de colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) en placas de Petri a los 20 minutos de exposición .....	50
Gráfico 3. Promedio del recuento de colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) en placas de Petri a los 30 minutos de exposición .....	53
Gráfico 4. Promedio del recuento de colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) en placas de Petri a 1 hora de exposición .....	55
Gráfico 5. Promedio del recuento de colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) en placas de Petri a 8 horas de exposición .....	58



## LISTA DE IMÁGENES

Imagen 1. Elaboración de prótesis .....	73
Imagen 2. Fase de esterilización .....	73
Imagen 3. Preparación de la infusión de la corteza de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal).....	74
Imagen 4. Contaminación de las prótesis .....	76
Imagen 5. Fase experimental .....	76
Imagen 6. Infusión de corteza de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) al 10% .....	78
Imagen 7. Infusión de corteza de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) al 20% .....	80
Imagen 8. Infusión de corteza de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) al 30% .....	82
Imagen 9. Clorhexidina al 0,12% .....	83

## **LISTA DE ABREVIACIONES**

1. UPAGU: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.
2. CMI: Concentración mínima inhibitoria.
3. ATCC: American Type Culture Collection.

## I. INTRODUCCIÓN

En el Perú la complejidad de las cadenas andinas presenta diversos pisos ecológicos. Se inicia con el mar tropical, el desierto, el bosque seco, los bosques templados, los valles cálidos (yunga). Se asciende hasta la jalca, y se baja, luego, a la ceja de selva (bosques de neblina) y los bosques tropicales amazónicos. Todos estos pisos son depositarios de una composición florística muy rica<sup>1</sup>.

Se calcula que el Perú posee unas 25 000 especies de plantas conocidas, 17 144 especies de plantas con flores; de las cuales 5 354 (31,3%) son especies endémicas, distribuidas en 2 458 géneros y 224 familias<sup>1</sup>.

La flora peruana posee grandes posibilidades para el descubrimiento de nuevos compuestos con actividad antifúngica<sup>1</sup>.

En estos últimos años, después de un período en que la industria farmacéutica se dedicó exclusivamente a la fabricación de fármacos, dejando atrás las antiguas medicinas que tenían como base plantas medicinales, hay programas industriales con dedicación a la búsqueda de nuevos medicamentos de origen herbario<sup>1</sup>.

Las infecciones por especies del género *Candida*, especialmente por *Candida albicans* han aumentado en las últimas 3 décadas (40-60%). La colonización por *Candida* oral se presenta en aproximadamente 40% a 70% de niños y adultos sanos, con tasas más altas observadas en niños con los dientes cariados y adultos con prótesis dentales<sup>2</sup>. La tasa de infección reportada es de un 50% durante la quimioterapia, 70% durante la radioterapia, y el 90% en la infección por VIH. Además, la colonización por *Candida* puede llevar a una infección oportunista de la mucosa como también una diseminación multiorgánico en personas inmunocomprometidas<sup>3</sup>.

Sobre la base de lo expuesto, se optó por estudiar a la corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal), proveniente del departamento de Cajamarca, que pertenece a la cordillera andina del Perú. Los resultados del trabajo de investigación contribuyen al conocimiento de la actividad antifúngica de esta planta; además, a generar un producto que esté al alcance de la población y finalmente las condiciones y limitaciones de su uso.

La presente tesis se llevó a efecto en el Laboratorio del Centro de Investigaciones Biomédicas S.R.L. (InvBiomed SRL) en el distrito, provincia y departamento de Cajamarca, Perú, en 2017.

Por lo tanto, la formulación del problema tecnológico fue: ¿Se obtendría actividad antifúngica debiéndose usar infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231)?

Se consideró como objetivo general: Evaluar si la infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) debe usarse para obtener actividad antifúngica en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231).

Como objetivos específicos se plantearon los siguientes:

Evaluar si la infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 10% en tiempos de 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 1 hora y 8 horas debe usarse para obtener actividad antifúngica en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231).

Evaluar si la infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 20% en tiempos de 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 1 hora y 8 horas debe usarse para obtener actividad antifúngica en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231).

Evaluar si la infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 30% en tiempos de 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 1 hora y 8 horas debe usarse para obtener actividad antifúngica en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231).

Sobre la base de los antecedentes indicados, se formuló la siguiente regla tecnológica: Para obtener actividad antifúngica debe usarse infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231).

A fin de mostrar la consistencia de la secuencia básica de la investigación, a continuación, se presenta la siguiente matriz.

**Cuadro 1.** Matriz de consistencia de la secuencia básica de la investigación.

Título	Actividad antifúngica con infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).
Problema	¿Se obtendría actividad antifúngica debiéndose usar infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)?
Objetivos	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar si la infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) debe usarse para obtener actividad antifúngica en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Evaluar si la infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) al 10% en tiempos de 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 1 hora y 8 horas debe usarse para obtener actividad antifúngica en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).</li> <li>- Evaluar si la infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) al 20% en tiempos de 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 1 hora y 8 horas debe usarse para obtener actividad antifúngica en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).</li> <li>- Evaluar si la infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) al 30% en tiempos de 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 1 hora y 8 horas debe usarse para obtener actividad antifúngica en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).</li> </ul>

Regla Tecnológica	Para obtener actividad antifúngica debe usarse infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal) en colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).		
Variable independiente	X: Infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal).	Tiempo de exposición	10 minutos
			20 minutos
			30 minutos
			1 hora
			8 horas
Variable dependiente	Y: Actividad antifúngica en <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).	Inhibición del crecimiento	(+): Existe inhibición.
			(-): No existe inhibición.

## II. MARCO CONCEPTUAL

Los antecedentes de la presente investigación son:

Huamaní y Ruiz<sup>1</sup> en 2005, con la investigación titulada: “Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú”, utilizaron el extracto etanólico de la corteza de *Juglans neotropica* Diels donde se obtuvo actividad antifúngica significativa con un halo de inhibición mayor que 18 mm en la prueba de difusión en agar contra *Candida albicans* (ATCC 10231).

Según Ruiz<sup>4</sup>, en su investigación “Actividad antifúngica *in vitro* y concentración mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho plantas medicinales”, realizada en 2013, demostró que el extracto etanólico, extracto metanólico y extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels tienen efecto antifúngico frente a *Candida albicans*. Halló halos de inhibición de 30 mm, 30 mm y 27 mm, respectivamente.

Ruiz y Roque<sup>5</sup>, en el análisis fitoquímico de *Juglans neotropica* Diels, realizado en el 2009; demostraron la presencia de quinonas y compuestos fenólicos (flavonoides y taninos), los cuales pueden ser los responsables de la actividad biológica, donde estos constituyentes son mayoritarios de la corteza.

Según Sreelatha, Kandhasamy y Dinesh<sup>6</sup> en 2014, investigaron la actividad antifúngica de la quinona de *Juglans neotropica* Diels (nogal) frente a bacterias grampositivas como *Staphylococcus aureus*, gramnegativas como *Pseudomonas aeruginosa*, y la levadura humana *Candida albicans*, donde se observó mayor actividad antibacteriana hacia



*Staphylococcus aureus* y actividad antifúngica contra *Candida albicans* por el método de difusión.

Según Vardhini<sup>7</sup> en 2014 se produce Juglona a partir de todas las partes de la planta de la familia *Juglandaceae*. Este componente posee propiedades antifúngicas, antimaláricas, antibacterianas y antivirales; también presenta efectos citotóxicos.

Según Bustamante y Huaccha<sup>8</sup>, en su investigación “Determinación de la actividad antimicótica *in vitro* del extracto etanólico de la corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) frente a *Candida albicans*”, en 2016, determinaron halos de inhibición de 24 mm, 27 mm y 33 mm del extracto etanólico al 10%, 50% y 100%, respectivamente.

En las bases del esquema conceptual tenemos:

### **Hongos**

Los hongos son seres unicelulares o pluricelulares, con estructura celular eucariótica y con núcleo similar al de los animales y plantas, organelas con membranas intracitoplasmáticas y pared celular con quitina, polisacárido constituido por el disacárido quitobiosa<sup>9</sup>.

Pueden presentar dos tipos de organización celular: filamentosa (mohos) o levaduras (unicelular o disociada), pero algunos, especialmente algunos patógenos de animales, pueden existir tanto como filamentosos o como unicelulares<sup>9</sup>.

El dimorfismo está presente en los patógenos primarios y en algunos hongos oportunistas como *Candida albicans* y esta capacidad del hongo para desarrollar dos tipos de crecimiento (filamentoso y levaduriforme) favorece una mejor adaptación al hospedador y facilita la evasión de los mecanismos defensivos ya que existen diferencias antigénicas entre las dos fases de crecimiento<sup>10</sup>.

### ***Candida albicans***

#### **Taxonomía**

Reino: Hongo.

División: Deuteromycota.

Clase: Blastomycetes.

Familia: Cryptococcaceae.

Género: *Candida*.

Especies: *albicans* (como la más frecuente y virulenta) y otras especies<sup>11</sup>.

El género *Candida* contiene más de 150 especies, con una principal característica que es la ausencia de forma sexual, con excepción de algunas especies micóticas<sup>12</sup>. Son clasificadas como levaduras, solamente una docena de las especies pertenecientes a este género que poseen la facultad de adaptarse a una temperatura de 37 °C y pueden ser ocasionalmente patógenas para el hombre. Estas son, entre otras: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* (*pseudotropicalis*), *C. krusei*, *C. guilliermondi*, *C. parakrusei*, *C. zeylanoides*, *C. stellatoidea* y *C. brumptii*<sup>9,13</sup>.

Los microorganismos del género *Candida* son oportunistas que se encuentran como comensales en cavidad bucal, intestino, vagina, secreción bronquial y piel del hombre y de ciertos animales<sup>13</sup>.

La *Candida albicans* es una levadura que pertenece a la familia Cryptococcaceae; es dimórfica que, según las condiciones del medio ambiente, pueden existir como dos fases principales: fase de levadura siendo una célula oval de 2 a 4 µm de diámetro con paredes finas, y fase de hifa o filamentosa<sup>14-19</sup>. También se presenta en una fase intermedia como levadura con pseudohifas que corresponden a células alargadas<sup>14,16,20,21</sup>.

La transición de la *Candida*, de ser un microorganismo comensal a convertirse en microorganismo patógeno, es determinada por la combinación de tres factores: características del mecanismo defensivo del hospedador, virulencia del hongo y de factores ambientales que modifican el microambiente de la cavidad oral, puede ser responsable de infecciones micóticas con repercusión local o sistémica; de ahí que sean considerados como hongos oportunistas<sup>14, 20-23</sup>.

El dimorfismo en *Candida albicans* presenta características especiales, ya que cuando se encuentra colonizando las mucosas se desarrolla fundamentalmente como levadura; mientras que cuando invade los tejidos se observan levaduras e hifas<sup>10</sup>.

Las especies de *Candida* crecen bien en medios de cultivo con agar, peptona, dextrosa, maltosa o sacarosa. Las colonias muy pequeñas aparecen en un lapso de 24 a 36 horas en agar Sabouraud y miden de 1,5 a 2 mm de diámetro después de 5 a 7 días. Las colonias son típicamente blancas por completo, pero adquieren un color crema o requemado al continuar envejeciendo. En agar Sabouraud o en otros medios de cultivo similares, las colonias que crecen son lisas, suaves, húmedas y de color y aspecto cremoso. Estas colonias tienen un tamaño que oscila entre 1,5 y 2 mm de diámetro, con

aspecto de levadura, de consistencia blanda y rápidamente proyectan filamentos hasta la profundidad del agar. Después de 4-5 días se percibe un olor característico de levadura<sup>17</sup>.

## **Candidiasis oral**

### **Definición**

"Es una enfermedad micótica causada por cualquiera de las especies del género *Candida*, constituyéndose como una enfermedad oportunista, muy frecuente en nuestros días, en la que siempre debemos investigar la presencia de factores favorecedores del crecimiento y transformación patógena del germen"<sup>24</sup>; suele limitarse a la piel y membranas mucosas, la probabilidad de que se generalice y cause lesiones viscerales es muy baja<sup>25</sup>.

La candidiasis es la infección micótica más frecuente y una de las micosis más importantes en la cavidad bucal descrita históricamente; afecta a ambos sexos y a cualquier edad, aunque son más frecuentes en los extremos de la vida<sup>24</sup>.

### **Etiología**

El agente causal de la candidiasis es la *Candida albicans*, aunque otros hongos de la especie pueden ser también patógenos para el hombre<sup>26</sup>. Para que este hongo se convierta en patógeno de la cavidad bucal tienen que coincidir una serie de factores tanto sistémicos como locales, descritos por diversos autores. En conclusión, se tiene<sup>27,28</sup>:

### **Factores sistémicos**

- Infancia, vejez, embarazo.
- Alteraciones endocrinas: diabetes mellitus, hipotiroidismo.

- Trastornos nutricionales: Deficiencias en Fe y Vit B12.
- Enfermedades malignas: Leucemia aguda, agranulocitosis.
- Defectos de inmunidad: SIDA, aplasia tímica, corticosteroides.
- Antibioticoterapia.
- Obesidad.

### **Factores locales**

- Xerostomía: Síndrome de Sjögren, irradiación, empleo de drogas, etc.
- Antibióticos de amplio espectro.
- Dieta rica en carbohidratos.
- Leucoplasia.
- Prótesis removibles (estomatitis protética).
- Fumadores.
- Disminución de la dimensión vertical (comisural).
- Falta de higiene.
- En el recién nacido (contagio por candidiasis vaginal de la madre, niñeras, chupetes o mamaderas contaminadas).
- Factores anatómicos: lengua fisurada, maloclusión, etc.

La mucosa oral presenta propiedades antifúngicas que protegen contra la invasión candidiásica gracias a la presencia de ciertas proteínas y otros factores no determinados<sup>23</sup>.

Todas aquellas circunstancias que alteren la integridad de la mucosa mediante traumatismos u oclusión (como ocurre en los portadores de prótesis dentales) favorecen la adhesión del hongo y la invasión mucosa<sup>23</sup>.

Las prótesis dentales removibles son un factor muy importante, ya que alteran las condiciones de la mucosa oral, producen lesiones por microtraumatismos, dificultan la llegada de los anticuerpos salivales y determinan la aparición de un medio ácido y anaerobio que favorece la proliferación de los hongos; se ha demostrado la presencia de *Candida albicans* en pacientes portadores de prótesis desde 35% hasta el 60-100%. Estos pacientes presentan estomatitis subprotésica<sup>23</sup>.

Los hongos causantes son parte de la flora normal de la cavidad bucal; pero frente a ciertos factores predisponentes (xerostomía, múltiples terapias con antibióticos, inmunosupresores, uso de prótesis dentales, etc.) son capaces de desarrollarse y producir la infección, principalmente el género *Candida* y en especial *Candida albicans*. Además, esta enfermedad ha pasado a ser una manifestación común en otros grupos de pacientes como los infectados por VIH, los sometidos a terapias inmunomoduladoras y antineoplásicas<sup>13, 29</sup>.

Se han identificado tres factores generales que pueden llevar a una candidiasis oral clínicamente evidente<sup>30-34</sup>.

**Factores que alteran el estado inmune del huésped:** Discrasias sanguíneas o enfermedades malignas avanzadas en ancianos e infantes, terapia con radiación y quimioterapia, infección por HIV u otros desórdenes de inmunodeficiencia, anomalías endocrinas, diabetes mellitus, hipotiroidismo, terapia con corticoesteroides y embarazo<sup>30-34</sup>.

**Factores que alteran el medio que envuelve la mucosa oral:** Antibióticoterapia, mala higiene oral o de la prótesis, malnutrición, mala absorción gastrointestinal, deficiencias

de hierro, ácido fólico o vitaminas, saliva ácida, dieta rica en carbohidratos, fumadores empedernidos, displasia epitelial oral y xerostomía<sup>30-34</sup>.

**La variedad de *Candida albicans***<sup>30-34</sup>.

### **Clasificación de candidiasis oral**

Según Holmstrup y Axell se clasifica en tres formas: Aguda, crónica y asociada a otras lesiones<sup>35</sup>.

#### **Forma aguda**

**a. Pseudomembranosa:** Se conoce con el nombre de "muguet". Se presenta tanto en niños como en adultos, pero con mayor frecuencia en niños, además de pacientes debilitados por HIV, leucemias, linfomas y en individuos tratados con drogas inmunosupresoras. Se caracteriza por la presencia de manchas en la mucosa de color crema, blanco perlado o blanco azulado; las lesiones se presentan como un exudado parecido al algodón, que se desprende al ser raspado, dejando una superficie cruenta, eritematosa y sensible. Las lesiones se presentan especialmente en la mucosa yugal, paladar, amígdalas y lengua. Histológicamente, la pseudomembrana comprende material necrótico, desechos alimenticios, epitelio descamado, queratina, fibrina, leucocitos, bacterias y pseudohifas de *Candida albicans* que no penetran profundamente sino hasta el estrato córneo<sup>35</sup>.

**b. Eritematosa:** También conocida como lengua dolorosa antibiótica. Se presenta tras un tratamiento con antibióticos y en pacientes que reciben grandes dosis de drogas inmunosupresoras y citotóxicas; el paciente sufre una depilación de la mucosa lingual, además de áreas eritematosas y dolorosas espontáneamente o a la palpación,

con sensación de ardor y picazón; acompañada de la imposibilidad de ingerir alimentos ácidos, picantes y calientes; disfagia y pérdida del espesor de la lengua.

Histológicamente, se observan pseudohifas en epitelio e infiltrado inflamatorio en la mucosa adyacente. Ambas formas curan con tratamiento específico en varios días, si no son tratadas o no curan, darán origen a las formas crónicas<sup>35</sup>.

### **Forma crónica**

**a. Pseudomembranosa:** Se presenta igual que en la forma aguda, con la diferencia de la persistencia del cuadro<sup>35</sup>.

**b. Eritematosa:** En la mucosa bucal se observan unas zonas enrojecidas, bien delimitadas, ligeramente dolorosas al contacto con los alimentos, que pueden acompañarse de formas pseudomembranosas, por lo que pueden ser una forma evolutiva de las anteriores. En la lengua cursa con depapilación en áreas. Son muy frecuentes en pacientes con SIDA<sup>35</sup>.

**c. Leucoplasia – candidiasis:** Se observa como una formación retrocomisural, generalmente de forma triangular de base anterior, bilateral, o en forma de parches o placas alargadas o radiadas; por esta razón, puede confundirse con el liquen plano. Son indoloras y al realizar la palpación encontramos una consistencia dura similar a la de una leucoplasia. Puede sufrir ulceraciones en su superficie, por lo que hay que realizar el diagnóstico diferencial con una lesión cancerosa<sup>35</sup>.

**d. Forma nodular:** Es la forma menos común; suele localizarse en la región retrocomisural, donde aparecen unas formaciones nodulares, endurecidas, que no alteran la coloración de la mucosa y que, a veces, están recubiertas de una capa queratósica adherida, dando la impresión que se está ante una lesión leucoplásica, de la que clínicamente es muy difícil de diferenciar<sup>35</sup>.



## **Asociada a otras lesiones**

**a. Queilitis angular:** También conocida como boquera, "perleche" o "candidiasis angular". En la forma fisurada, aparecen unas finas grietas que siguen los pliegues comisurales, cubiertos de una débil capa cremosa y que, al limpiarla con una gasa, deja un fondo nacarado brillante. La forma retrocomisural es muy difícil de deslindar, en la mayoría de los casos, de la forma comisural pura. Suele ser bilateral, a diferencia de la leucoplasia, y puede asentar sobre ella, agravando su pronóstico. Puede ulcerarse haciendo más difícil el diagnóstico que será histológico, produce molestias, especialmente matinales<sup>35</sup>.

**b. Glositis romboidal media:** Hay una serie de lesiones linguales que se han relacionado con la *Candida*, pero que no están suficientemente explicadas ni su etiología, ni su relación con ellas, son: lengua romboidal, lengua depapilada, lengua vellosa, lengua pilosa negra<sup>35</sup>.

**c. Estomatitis por prótesis:** Aparece en sujetos portadores de prótesis removibles. Es un eritema crónico difuso del paladar y edema de la mucosa que está en contacto con la dentadura, generalmente es asintomático y de larga evolución; suele afectar a ambos maxilares, con mayor frecuencia al paladar, por la ausencia o disminución de flujo salival y al aumento de temperatura. El origen es incierto, aunque parece deberse a la influencia de factores<sup>35</sup>:

- Traumatismos continuados ejercidos por la presión de la prótesis, tanto en el período de adaptación como por inadaptación.
- Infecciones por microorganismos.
- Alergia a los materiales de la prótesis.
- Diabetes mellitus.
- Falta de higiene.

Se clasificó en tres tipos<sup>35, 36</sup>:

**Primer período (Grado I):** Aparición de un punteado rojizo sobre la mucosa palatina, inflamación localizada o hiperemia puntiforme.

**Segundo período (Grado II):** La mucosa aparece hiperémica, lisa y atrófica.

**Tercer período (Grado III):** También llamado granular, que se caracteriza por la aparición de una mucosa hiperémica de aspecto nodular o granular.

### **Cuadro clínico**

La candidiasis oral puede manifestarse de diversas maneras. Al realizar el examen intraoral, los signos principales serán el eritema y los depósitos blanquecinos en la mucosa; también podemos encontrar fisuraciones o queilitis asociadas. La sintomatología es variable y generalmente mínima, puede presentarse desde asintomática hasta cuadros de disgeusia, ardor o quemazón de variada intensidad<sup>26, 37</sup>.

Dentro de la clasificación se considera forma aguda una lesión de corta duración que desaparece con tratamiento; dentro de este grupo se observan 2 formas, una pseudomembranosa (muguet) y una forma eritematosa (lengua dolorosa antibiótica); y como forma crónica son las de larga evolución de la forma aguda.

Sin hacer distinción entre formas agudas y crónicas, se pueden tomar en cuenta las características<sup>24</sup>:

En la forma pseudomembranosa se distinguen pequeños acúmulos de color blanquecino amarillento que se desprenden por el raspado, dejando una superficie enrojecida sobre la mucosa; como forma eritematosa, se observan con zonas enrojecidas primarias o por la eliminación de la capa pseudomembranosa; como leucoplasia-candidiasis, aquella que

curra con placas blanquecinas que no se desprenden por el raspado y que pueden ser causadas por una sobreinfección de una placa de leucoplasia, o una candidiasis crónica que ha evolucionado hacia ella<sup>24</sup>.

### **Diagnóstico**

De manera general las infecciones orales, en este caso candidiasis oral, pueden ser diagnosticadas observando la mucosa y la lengua, ya que estas lesiones micóticas tienen una apariencia distintiva, con lesiones típicas<sup>38</sup>; también es importante realizar otro tipo de exámenes de laboratorio para tener un diagnóstico seguro y evitar futuras complicaciones<sup>27</sup>:

- **Frotis:** Se realiza mediante la aposición de un portaobjetos en la lesión o raspando con una torunda o espátula. Luego se hace la extensión, se trata con una solución de KOH del 10 al 20% y se observa mediante microscopio la presencia de hifas tabicadas características<sup>27</sup>.
- **Cultivo:** Mediante agar Saboureaud o agar-sangre y a las 48 horas se observan las colonias cremosas, brillantes y redondeadas<sup>27</sup>.
- **Biopsia:** Se pueden apreciar esporas que aparecen con morfología redondeada u ovoide de 3-4 micras. En otras ocasiones, se pueden apreciar hifas que se tiñen bien con la técnica de PAS (ácido periódico de Schiff), Gram o con plata-metamina. Aparecen tabicadas y con pequeñas dicotomizaciones en ángulo agudo<sup>27</sup>.

En los raspados de las zonas con muguet se pueden encontrar restos de células necróticas, queratina, abundantes hifas en forma de red y esporas en los estratos superficiales del epitelio bucal<sup>27</sup>.

- **Serología:** Se utiliza la inmunofluorescencia para detectar anticuerpos anticandida.

Tiene especial importancia en las candidiasis crónicas y en estudios clínicos, ya que en estas formas el frotis y el cultivo son menos concluyentes<sup>27</sup>.

### **Diagnóstico diferencial**

El diagnóstico diferencial con otras lesiones blancas de la mucosa oral se basa en que al frotar con un depresor no se desprenden además que cada lesión tiene una histología peculiar; entre estas lesiones se menciona el liquen plano oral, el nevo esponjoso blanco y las leucoplasias (placas blancas mucosas de etiología incierta)<sup>39</sup>.

### **Tratamiento**

El tratamiento de la candidiasis oral se basa en cuatro pilares: realización de un diagnóstico precoz y certero de la infección; corrección de los factores facilitadores o de las enfermedades subyacentes; determinación del tipo de infección candidiásica y empleo de fármacos antifúngicos apropiados<sup>40,41</sup>.

Es importante evitar la interferencia con el equilibrio de la flora microbiana y las defensas del huésped; también se deben suprimir los irritantes, como los alimentos demasiado calientes, ácidos y picantes, el tabaco y el alcohol.

Se dispone, en general, de las siguientes alternativas terapéuticas<sup>11</sup>:

- Control de factores predisponentes.
- Colutorios.
- Antimicóticos específicos tópicos y/o sistémicos en uso tópico.
- Derivados poliénicos: Nistatina, anfotericina B.
- Derivados imidazólicos: Miconazol, ketoconazol, clotrimazol, econazol.

- Derivados triazólicos: Fluconazol, itraconazol.
- Tratamiento sistémico: Se utilizan los derivados imidazólicos y triazólicos, así como en casos muy excepcionales la anfotericina B<sup>42</sup>.

En el caso de ser una estomatitis por prótesis, el tratamiento consiste en:

- Higiene correcta de las prótesis.
- Dejar de usar la prótesis por la noche.
- Reparar los posibles ajustes protésicos.
- Nistatina o miconazol en gel 3 a 4 veces al día en la base de las prótesis.
- Colocar la prótesis por la noche en anfotericina B, clorhexidina al 0,12% o hipoclorito de sodio al 5-10%<sup>42</sup>.

### ***Juglans neotropica* Diels (nogal)**

#### **Taxonomía**

Nombre científico: *Juglans neotropica* Diels.

Nombre común: Nogal.

Familia: Juglandaceae.

Origen: Exótica.

Distribución en el mundo: Nativa de Honduras, Ecuador, Colombia, Perú y Bolivia<sup>43</sup>.

#### **Características botánicas**

Los nogales son especies forestales pertenecientes al género *Juglans*, el cual posee 20 especies deciduas de rápido crecimiento, nativos del Norte y Sur América, sureste de Europa y sureste de Asia<sup>44</sup>. El género *Juglans* comprende 20 especies que se distribuyen por Norteamérica y Europa, Centroamérica, Oeste de la India y los Andes del Perú y

Bolivia. Dos especies son endémicas de Perú: *Juglans neotropica* Diels y *Juglans boliviana*<sup>44</sup>.

*Juglans neotropica* es un árbol de crecimiento lento de 25 m de altura y 40 cm de diámetro. Posee una corteza externa agrietada de color que va de marrón oscuro a negruzco, provista de ritidoma que se desprende en láminas rectangulares. Su corteza interna es homogénea de color crema claro<sup>44</sup>. La corona es ovalada, con un follaje de color verde claro<sup>44</sup>. Las hojas compuestas son de 40 cm de largo, agrupadas en el extremo de las ramas, y se alternan con un dentado frontera. La especie crece en suelos de textura suelta, fangoso, sueltas de arena (suelos sueltos), con un neutro a ligeramente pH ácido. No tolera un pH bajo o suelos calcáreos y necesidad de suelos profundos y fértiles<sup>45</sup>. La especie tiene una distribución ecológica de gran alcance que crece en el bosque húmedo pre-montañoso (BH PM), bosque pre-montañoso muy húmedo (BMH-PM), bajo bosque seco montañoso (bs-MB), bosque húmedo montañoso de baja (Bh-MB), y bajo montañoso bosque muy húmedo (BMH-MB)<sup>46</sup>.

El fruto es una drupa que va de color pardo a negro, con pedúnculo corto, epicarpo y mesocarpo son carnosos y el endocarpo es leñoso y abre en forma loculicida cuando germina; contiene una sola semilla<sup>47</sup>.

La semilla es amorfa, llenando las cavidades internas del mesocarpo. Su testa es lisa, de color crema oscuro, y con un tejido carnoso comestible muy sabroso y nutritivo<sup>48</sup>.

Las hojas, el aceite esencial de las mismas, los frutos y la corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) han demostrado poseer propiedades antibacterianas y antifúngicas frente a

diferentes bacterias y hongos. Ello podría justificar su empleo en diversos tipos de infecciones. En el caso de bacterias que desarrollan el acné (*Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*), extractos de las hojas han mostrado poseer mayor efecto que el aceite esencial del árbol del té utilizado como referencia, pero menor que el conseguido con doxiciclina<sup>42</sup>.

En un estudio etnofarmacológico sobre diversas plantas utilizadas en el sur de Italia para tratar infecciones de piel y tejidos blandos, se comprobó que el extracto de frutos inmaduros de *Juglans neotropica* Diels (nogal) reducen la proliferación y adherencia del *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, microorganismo que origina este tipo de infecciones. No obstante, la limitada inhibición del crecimiento se observó con dosis elevadas del extracto (128-512 µg/ml)<sup>42</sup>.

En algunos países las cortezas se emplean en productos de higiene dental para tratar y prevenir la placa y la gingivitis y este uso ha quedado justificado al comprobarse su efecto sobre diversas bacterias orales<sup>42</sup>.

Las hojas de nogal se emplean además desde antiguo en el control de la diabetes. En este campo si se han publicado más que suficientes trabajos tanto *in vitro* como *in vivo* y clínicos que apoyan esta actividad<sup>42</sup>.

### **Distribución natural *Juglans neotropica* Diels (nogal)**

El *Juglans neotropica* Diels (nogal) es nativo en Ecuador, Colombia, Perú y Bolivia en América del Sur. Su distribución altitudinal varía de 1000 a 3000 msnm, con precipitaciones anuales de 800 a 2000 mm y temperaturas de 12 a 18 °C. Es una especie de bosques deciduos y semideciduos, donde forma parte del dosel superior. Prefiere

suelos profundos, de textura franca a franca arenosa, bien drenados y pH de neutro a ácido; no tolera suelos calcáreos, fríos intensos ni heladas<sup>4</sup>. En el Perú esta especie ha sido identificada en los departamentos de Amazonas, Cajamarca, Cusco, Huancavelica, Junín, La Libertad, Lambayeque, Lima y Paseo. El nogal tiene una distribución dispersa en la periferia de los Andes y en los Valles interandinos, algunas veces se encuentra de manera aislada en los campos de cultivo. Los árboles se encuentran a lo largo de los cauces de ríos y en bordes de bosques en donde se regeneran adecuadamente<sup>49,50</sup>.

### **Composición química**

La corteza contiene un tanino elágico. La pulpa del fruto es rica en ácido málico y oxálico, además contiene una naftaquinona: la juglona. Las hojas tienen un aceite esencial y alcaloide: la juglandina, juglona y polifenol. La almendra de la semilla del nogal contiene entre 60% y 65% de aceites<sup>51</sup>.

### **Importancia y usos de *Juglans neotropica* Diels**

En el Perú la infusión de hojas de *Juglans neotropica* Diels (nogal) (por su poder astringente) se usa para cortar diarreas, lavar heridas, contra la tos y para teñir de negro el cabello. También debido a dicha propiedad, el jugo de los frutos tiernos mezclados con miel de abeja es usado como cicatrizante en el tratamiento de heridas y llagas<sup>51</sup>.

*Juglans neotropica* Diels (nogal) presenta una madera muy fina, de excelente calidad y cualidades decorativas, la cual se usa en mueblería fina, ebanistería y artesanía de las esculturas más valiosas. También se usa en decoración de interiores, paneles decorativos, enchapes decorativos, etc. Además, las almendras de *Juglans neotropica* Diels (nogal) son comestibles, de donde se extraen tintes (amarillo y negro). El extracto



del nogal se usa para pescar porque su componente activo, la Juglona, obtenido de las raíces, es icotóxico además de ser fungistática. El extracto es ampliamente utilizado en medicina y, los extractos de la corteza pueden ser aprovechados en curtiembre. También se ha registrado la importancia de las nueces de nogal como fuente alimenticia. En el compendio Estadístico de la Actividad Forestal y Fauna, 1980 - 1991, hay registros de exportación de nueces de *Juglans neotropica* Diels (nogal)<sup>52</sup>.

Está considerado dentro de las plantas utilizadas en el Perú para el teñido de fibras. Dice que es posible obtener un color marrón-caoba a partir de sus hojas, ramas, frutos inmaduros y corteza del tallo<sup>52</sup>.

### **Infusión**

La infusión es una preparación muy conocida y habitual. Su objetivo es extraer los componentes activos de la planta que sean solubles en agua, para lograr esto se vierte agua caliente sobre las hojas, flores, semillas, cortezas o raíces ya sean frescas o secas, el tiempo de infusión debe durar de 10 a 15 minutos para luego filtrar<sup>53</sup>.

### **Preparación**

Para preparar una infusión se debe elegir de preferencia las partes blandas de la planta, como las hojas o flores, y se las puede realizar de varias formas; entre estas tenemos la preparación individual, donde se debe colocar cualquier parte de la planta, ya sean las hojas o flores en una taza. La dosificación va a depender si la parte de la planta seleccionada esté seca o fresca. En el caso de la última, la cantidad de planta será el doble de la seca. Se recomienda colocar una cucharada de planta, luego se vierte agua caliente y se debe dejar reposar la preparación de 10 a 15 minutos. Finalmente, se filtra y ya está listo para consumir<sup>54</sup>.

El procedimiento para preparar la infusión en cantidades más grandes es el siguiente: se debe hacer hervir agua en un recipiente que no sea de aluminio, ya que este metal podría contaminar nuestra preparación. Una vez que ha hervido el agua, se debe apagar la hornilla y colocar la cantidad necesaria de plantas; se debe tapar el recipiente y dejar reposar de 10 a 15 minutos. Finalmente, se filtrará. Cuando se desee preparar infusiones con concentración se sigue el mismo procedimiento<sup>54</sup>.

La infusión es el procedimiento más adecuado para obtener tisanas de las partes delicadas de las plantas: hojas, flores y tallos tiernos, ya que con ella se extrae suficiente cantidad de sustancias activas de la droga, con muy poca alteración de su estructura química. De esta manera, se minimiza el efecto destructivo del calor sobre estas. Las infusiones se utilizan tanto por vía interna como por vía externa<sup>54</sup>.

### **Clorhexidina al 0,12%**

#### **Historia**

La clorhexidina se desarrolló en la década del 40 por científicos de Imperial Chemical Industries de Inglaterra, en un estudio contra la malaria, aunque nunca fue utilizada con este fin. En ese momento, los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de 20 compuestos denominados polibiguanidas que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954, como antiséptico para las heridas de la piel. Posteriormente, comenzó a utilizarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el cirujano. En odontología empezó a utilizarse para la desinfección de la boca y en endodoncia. El estudio definitivo que introdujo la clorhexidina en el mundo de la periodoncia, fue el realizado por Løe y Schiott en 1970, donde se demostró que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de

clorhexidina al 0,2%, en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y el desarrollo de gingivitis. Según Altannir y colaboradores, en 1994, la clorhexidina es de uso corriente en más de noventa países y más diez mil millones de aplicaciones de digluconato de clorhexidina han sido llevadas a cabo en los dos últimos años<sup>55</sup>. Se considera como el agente gold standard por su acción antiplaca y antigingivitis, superior a la del resto de antisépticos que existen<sup>55-59</sup>.

### **Definición**

La clorhexidina es una bisguanida cargada positivamente que puede ser absorbida por diferentes receptores cargados negativamente, incluyendo las membranas mucosas, la película salival en los dientes e implantes, así como ciertos componentes de la placa dental (bacterias, polisacáridos y glicoproteínas), es hasta el momento la sustancia antimicrobiana más efectiva, tanto en bacterias grampositivas como en gramnegativas, en hongos y algunos virus<sup>57-64</sup>.

Es llamada también: diguclonato, gluconato o acetato de clahexina<sup>65</sup>.

Se ha demostrado la potente capacidad antifúngica de la clorhexidina en pacientes inmunocomprometidos o médicamente comprometidos, en los que el crecimiento de especies oportunistas como los hongos es más probable. Del mismo modo, en pacientes expuestos a radioterapia, y que pueden sufrir de mucositis, la clorhexidina se muestra efectiva para la reducción de especies periodontopatógenas y también de Candidas.

Además, en pacientes institucionalizados en los que la higiene bucal mecánica puede ser deficiente y difícil de realizar, la clorhexidina puede ser de gran ayuda para el control de enfermedades periodontales y de la caries<sup>56, 66, 67</sup>.

## **Estructura química**

La clorhexidina es una molécula bicatiónica simétrica, es un dímero proguanil, por lo que decimos que es una bisguanida, la cual está conectada por una cadena central hexametileno. En cada extremo se enlaza un radical paraclorofenil (2 anillos 4 clorofenil), resultando su nombre completo: paraclorofenilbiguanida<sup>63,68</sup>.

Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5, con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno. Es esta naturaleza dicatiónica la que la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos. Aunque es una base, la clorhexidina se mantiene más estable en forma de sal, y la preparación más común es sal de digluconato por su alta solubilidad en agua<sup>63, 68, 69</sup>.

La formulación de la clorhexidina al 0,12% se realiza con el fin de disminuir los efectos adversos tales como las manchas, erosiones mucosas, y el mal sabor. La clorhexidina PYOCLOR (Laboratorios UNION S.R.L, R.D.) contiene, además de dicha sustancia al 0,12%, Xilitol al 1%; este último es un sustituto del azúcar que es normalmente usado en comidas, goma de mascar y dulces. No puede ser metabolizado por el *Streptococcus mutans* (SM), pasando a producir un cambio en el metabolismo de esta bacteria, a través de un proceso selectivo de constricción o cadena<sup>60-62</sup>.

## **Concentraciones**

La clorhexidina suele presentarse en dos concentraciones, al 0,12% y al 0,2%. Se recomienda realizar un buche con 10 ml de producto a una concentración del 0,2% y de 15 ml al 0,12%. Esto es debido a la dosis total de clorhexidina, ya que 10 ml al 0,2% libera 20 mg, y 15 ml al 0,12% libera 18 mg. Cuando se observan los resultados

advertimos que ambas formulaciones son igual de efectivas. Las últimas investigaciones van encaminadas a conseguir una formulación de clorhexidina en medio no alcohólico igual de efectiva que la formulación de la misma en solución alcohólica<sup>70</sup>.

Existen numerosos casos clínicos donde se evidencia que el uso de clorhexidina al 0,12% reduce la formación de biopelícula y previene la gingivitis. Al mismo tiempo, está demostrado que la biopelícula puede incrementar, si se comienza el tratamiento con la clorhexidina sin realizar una profilaxis previa; por lo tanto, sin la presencia de esta en la cavidad oral dicha sustancia previene más efectivamente la colonización de bacterias<sup>60, 71</sup>.

La relación de la biopelícula y la clorhexidina no está del todo clara; pero es conocida porque envuelve una supersaturación localizada, nucleación y crecimiento de cristales, así como también la transformación de fases precursoras, como el dihidrato dicálcico de fosfato, el fosfato octacálcico y el fosfato amorfo de calcio en depósitos de hidroxiapatita cristalinos más estables<sup>60,71</sup>. El gluconato de clorhexidina en concentración al 0,12% sigue siendo la opción frente a la concentración al 2%, ya que produce efectos satisfactorios, además de evitar las manchas y la formación de placa dental<sup>60, 72,73</sup>. Por ende en esta investigación se usó como grupo control al gluconato de clorhexidina.

Investigaciones demuestran que el uso de clorhexidina al 0,12% por un lapso superior a las 32 horas impide la acumulación de microorganismos en el material de restauración. De esta manera, evita que se produzca gingivitis marginal y posterior fracaso del tratamiento protésico<sup>74</sup>.

### **Mecanismo de acción**

Clorhexidina tiene un extenso espectro de actividad antimicrobiana. Es activa frente a un amplio rango de organismos grampositivos y gramnegativos, así como sobre levaduras, hongos, anaerobios facultativos, algunos como: *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Sanguis salivarius* y *Escherichia coli*<sup>55, 57, 69, 74</sup>.

La cantidad de clorhexidina absorbida depende de la concentración utilizada. Su acción es el resultado de la absorción dentro de la pared celular del microorganismo, con la consecuente producción de filtración de los componentes intracelulares. Produce daño en las barreras de permeabilidad de la pared celular originando trastornos metabólicos en las bacterias<sup>75</sup>.

A bajas concentraciones de la clorhexidina, las sustancias de bajo peso molecular, tales como potasio y fósforo se filtran ejerciendo un efecto bacteriostático. En altas concentraciones, la clorhexidina es bactericida y, al causar precipitación, es menos importante que el efecto bacteriostático, el cual proporciona una liberación gradual prolongada del medicamento<sup>57, 63, 64, 68, 76, 77</sup>.

En la boca se absorbe rápidamente a las superficies, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita. La clorhexidina absorbida se libera gradualmente en 8-12 horas en su forma activa. Después de 24 horas, aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo. También reduce los microorganismos aerobios y anaerobios de la placa en un 54-97% en un período de seis meses<sup>60, 70, 72, 78-80</sup>.

**Efecto antiplaca:** Se produce a través de cuatro mecanismos:

- La clorhexidina bloquea los grupos ácidos de libres de las glicoproteínas salivales (mucinas), las cuales forman la película adquirida que permitirá la formación de la placa bacteriana. Al ser esta su primera capa, no permite la formación de la misma.
- La carga iónica positiva de la clorhexidina atrae a la superficie microbiana de carga negativa, a lo que contribuye el pH del medio, que es de naturaleza neutra o básica; lo que permite que los microorganismos se unan a las moléculas de clorhexidina y no se adhieran a la película adquirida. La clorhexidina actúa sobre la membrana de los microorganismos para producir cambios electroforéticos que actúan, a su vez, sobre las bacterias para producir precipitación de iones potasio y fosfato. A mayor concentración de clorhexidina se produce una precipitación plasmática de los microorganismos, lo que le confiere efecto bactericida y les produce la muerte.
- La clorhexidina también destruye la placa formada al competir con el ión calcio, factor coadyuvante de la formación y crecimiento de la placa bacteriana, que actúa como una molécula de enlace y permite a las bacterias fijarse a la película adquirida sin impedimentos. Cuando clorhexidina se une al ión calcio e impide la unión del mismo a las bacterias.
- A altas concentraciones, la clorhexidina produce, tras unirse a la pared bacteriana, cambios electroforéticos que generan una precipitación citoplasmática que conlleva a la muerte celular<sup>81</sup>.

### **Propiedades**

- Baja tensión superficial, para poder penetrar en conductos accesorios y túbulos dentinales.

- Acción bactericida, efecto antimicrobiano, como el hipoclorito de sodio, sustancia antibacteriana activa contra un amplio rango de microorganismos grampositivos y gramnegativos, levaduras, hongos, anaerobios facultativos y aeróbicos.
- No tiene olor desagradable.
- Fácil almacenamiento y manipulación.
- Baja toxicidad; bajo potencial de irradiación a los tejidos. La naturaleza catiónica de la clorhexidina minimiza su absorción a través de la piel y las mucosas, incluidas las vías gastrointestinales. Por lo tanto, no se ha descrito toxicidad sistémica por aplicación tópica o ingestión, ni tampoco hay evidencias de teratogenia en modelo animal<sup>82</sup>.

### **Indicaciones**

Actualmente, el uso de la clorhexidina en la concentración del 0,12% se ha convertido en un excelente colutorio, por su amplio espectro, en el tratamiento coadyuvante en la gingivitis, periodontitis, caries dental, para el control de placa bacteriana. Es efectivo contra bacterias como el *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, y *Escherichia coli*, *Candida albicans* por su alta sensibilidad<sup>63, 68</sup>.

Según el uso que se le va a dar se debe observar la concentración correspondiente; en forma general se emplea de la siguiente manera:

- En concentración del 0,3 al 1% para desinfección de heridas.
- En concentración al 4% se utiliza para desinfección preoperatoria de manos en cirugía y antisepsia pre y postoperatoria de piel.
- La solución alcohólica al 0,5% se utiliza en los siguientes casos: demarcación de campo quirúrgico, asepsia de piel y manos en zonas de alto riesgo, curación de heridas



quirúrgicas, preparación de la piel para procedimientos invasivos, curación de sitios de inserción de catéteres vasculares<sup>70</sup>.

- Al 0,12% Se utiliza para enjuagues bucales en el tratamiento de la gingivitis y de la enfermedad periodontal y tópicamente en la preparación de la piel del paciente antes de una operación quirúrgica, lavado de heridas, y tratamiento del acné vulgar. Otros usos de la clorhexidina incluyen la profilaxis y el tratamiento de las infecciones de boca, la estomatitis, la estomatitis ulcerativa y la gingivitis aguda ulcerativa necrotizante. Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno. Es esta naturaleza dicatiónica la que la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos<sup>56, 76</sup>.

### **Contraindicaciones**

La clorhexidina se absorbe escasamente por la piel. Solamente se han identificado trazas en suero cuando se emplea en neonatos prematuros, por lo cual su uso no está indicado para menores de 28 días. Aun así, no ha habido reportes de efectos adversos en pacientes pediátricos y no hay datos que sugieran que los niveles traza tengan importancia clínica. Se debe evitar el contacto ocular con preparaciones de concentración superior al 1%, porque pueden causar conjuntivitis y lesión corneal, y no se debe usar clorhexidina en cirugías que involucren el oído medio o interno, ya que es ototóxica<sup>55</sup>.

En un modelo en ratas, se encontró que, al aplicarla directamente en el tejido neural, la clorhexidina causaba una degeneración dependiente de la dosis de los nervios adrenérgicos; por esta razón, no suele usarse para preparar la piel antes de la colocación de catéteres epidurales. Aun así, no existen datos clínicos que contraindiquen su uso en

punciones lumbares, colocación de catéter epidural o procedimientos neuroquirúrgicos<sup>55</sup>.

En forma general, la clorhexidina está indicada para el uso en antisepsia de piel sana y escoriaciones superficiales, antisepsia preoperatoria de manos y tratamiento tópico de infecciones bucofaríngeas, gingivitis y enfermedad periodontal, estomatitis y estomatitis ulcerativa<sup>70</sup>.

### **Reacciones adversas**

Por décadas, la clorhexidina ha sido ampliamente usada como desinfectante de la piel y las mucosas por profesionales de la salud. La reacción más frecuente a la clorhexidina es la dermatitis de contacto; pero esta es más común con los productos elaborados sobre la base de yodo. Se han reportado reacciones de hipersensibilidad y anafilaxia a la clorhexidina; pero han sido casos esporádicos<sup>55</sup>.

La clorhexidina puede producir irritación de piel en el uso repetido. En CSM Farmacia dispone de un jabón cuyo principio activo es el Triclosan, el nombre comercial es Hospiderm y puede ser utilizado para el lavado de manos del equipo de salud (con excepción de block quirúrgico salvo que exista protocolo específico) e higiene de pacientes<sup>70</sup>.

Contrariamente a todo esto, la clorhexidina presenta un alto costo: no disuelve tejido, mancha o pigmenta la estructura dentaria, sabor amargo y, menos común, causa erosión de la mucosa por alteraciones en las células epiteliales superficiales en algunas personas; este efecto colateral depende de la concentración y, habitualmente, puede ser controlado con enjuagues de doble dilución<sup>71</sup>.

Uno de los efectos secundarios más conocidos de la clorhexidina es la tinción dental de tipo N2, la cual se denomina como una tinción directa de materiales coloreados que cambian el color del diente después de entrar en contacto con el mismo; esta se debe a la interacción de los cromógenos de la dieta y la clorhexidina, y también con aldehídos y cetonas que poseen algunos alimentos<sup>60, 71, 74, 83-87</sup>.

Las tinciones suelen localizarse en el tercio cervical de la corona y en las zonas interproximales. Las manchas son más evidentes en la unión amelocementaria expuesta o superficies radiculares, fosas y fisuras<sup>88</sup>.

Las tinciones se presentan en 1,5 de cada 3 pacientes, y se hacen evidentes tras varios días de enjuagues diarios con clorhexidina<sup>88</sup>.

Otro efecto secundario de los enjuagues con clorhexidina es la alteración del sentido del gusto. Estas alteraciones son relativamente infrecuentes, autolimitadas y tienden a persistir durante algunas horas. Tanto hipogeusia como disgeusia han sido constatadas sobre todo en la percepción del dulce. El salado y el ácido son menos afectados y el sabor amargo es el de menor afectación<sup>88</sup>.

Una solución al 20% de clorhexidina en contacto con la lengua puede producir ageusia durante más de 48 horas. Otros efectos secundarios reflejados en la bibliografía son sensación de quemazón, sequedad de tejidos blandos y lesiones descamativas y ulcerosas de la mucosa gingival<sup>88</sup>.

### **Eficacia fungicida frente a colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231)**

Es la operatividad fungicida determinada mediante el recuento de colonias.

El indicador de la eficacia fungicida se hará por un conteo de colonias en las placas de Petri de la Infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) y clorhexidina al 0,12%.

En definición de términos básicos de la presente investigación tenemos:

**a. Infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal)**

Preparación muy conocida y habitual, tiene el objetivo de extraer los componentes activos de la planta que sean solubles en agua<sup>53</sup>.

**b. Actividad antifúngica en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231)**

Capacidad para producir el efecto deseado con un antifúngico que actúa impidiendo el crecimiento o eliminando los hongos, en este caso la *Candida albicans*.

### III. MÉTODOS

**3.1. Tipo de investigación según objetivo:** Investigación tecnológica.

#### **3.2. Diseño de investigación**

**3.2.1. Tipo de diseño:** Diseño experimental.

**3.2.2. Tipo de técnica de diseño:** Según la clasificación de Campbell y Stanley es un diseño de un grupo preexperimental con solo posprueba y con grupo de control<sup>89,90</sup>.

**3.2.3. Estructura del tipo de técnica de diseño:** Según la simbología de Campbell y Stanley se usó el siguiente esquema gráfico<sup>89,90</sup>:

Esquema gráfico:

X O

O

Símbolos de los esquemas gráficos de Campbell y Stanley

X: Exposición de un grupo al tratamiento experimental y con subíndices numéricos correlativos si son varios.

O: Observación o medición de los sujetos de un grupo que forma la variable dependiente y con subíndices numéricos correlativos si son varios. Si aparece antes de X se denomina preprueba (pretest) y si aparece después de X se denomina posprueba (postest).

### 3.3. Operacionalización de las variables de la regla tecnológica.

**Cuadro 2.** Matriz de operacionalización de las variables de la regla tecnológica.

VARIABLE	DEFINICIÓN	INDICADOR	VALORES	INSTRUMENTO
Infusión de <i>Juglans neotropica</i> Diels (nogal). (Variable independiente)	Preparación con el objetivo de extraer los componentes activos de la planta que sean solubles en agua, en porcentajes de 10%, 20%, 30%.	Tiempo de exposición	10 minutos	Hoja de registro
			20 minutos	
			30 minutos	
			1 hora	
			8 horas	
Actividad antifúngica en <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231). (Variable dependiente)	Capacidad para producir el efecto deseado con un antifúngico que actúa impidiendo el crecimiento o eliminando los hongos.	Inhibición del crecimiento	(+): Existe inhibición.  (-): No existe inhibición.	Hoja de registro

Fuente: Elaboración de las tesis.

### 3.4. Regla tecnológica

Para obtener actividad antifúngica debe usarse infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231).

#### 3.4.1. Regla tecnológica nula

$\mu$  actividad antifúngica de infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal)  $\neq$   $\mu$  actividad antifúngica de clorhexidina 0,12% .

Interpretación: La media poblacional de la actividad antifúngica de infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) es estadísticamente diferente a la media poblacional de la actividad antifúngica de clorhexidina 0,12%.

### 3.4.2. Regla tecnológica alternativa

$\mu$  actividad antifúngica de infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) =  $\mu$  actividad antifúngica de clorhexidina 0,12% .

Interpretación: La media poblacional de la actividad antifúngica de infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) es estadísticamente igual a la media poblacional de la actividad antifúngica de clorhexidina 0,12%.

**3.5. Método:** Se usó el método tecnológico.

### 3.6. Población y muestra

**3.6.1. Población:** Prótesis totales elaboradas por las tesisistas.

**3.6.2. Tamaño de la muestra:** Al igual que Martínez *et al.* en su estudio

“Antagonismo *in vitro* de hongos endófitos frente a *Fusarium circinatum*” realizado en el 2013<sup>93</sup>, se realizó 5 repeticiones en cada tiempo de cada grupo experimental; además en otras investigaciones se realizaron desde 3 repeticiones<sup>91,92,94</sup>.

Para obtener el tamaño de muestra se determinó considerando el muestreo aleatorio simple para estimación de proporciones con una confiabilidad del 95% cuando se desconoce la población.

Se utilizó la formula para cálculo de la muestra en poblaciones infinitas.

$$n = \frac{Z^2 PQ}{E^2}$$

Donde:

n= Tamaño de la muestra.

Z= 1,96.

P= 0,9973 (efectividad estimada al 30% de infusión de la corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal)).

Q= 0,0027.

E= 0,05 (tolerancia de error en las mediciones).

n = 4 prótesis dentales.

### **3.6.2. Criterios de selección de la población**

#### **3.6.2.1. Criterios de inclusión**

- Corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) verde.
- Corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) limpia.
- Cepa de *Candida albicans* (ATCC 10231) del laboratorio Belomed.
- Prótesis totales estériles.

#### **3.6.2.2. Criterios de exclusión**

- Corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) con enfermedades o plagas.

### **3.6.4. Tipos de unidades de la población**

**3.6.4.1. Unidad de estudio:** Prótesis elaboradas por las tesistas que cumplan con los criterios de inclusión.

**3.6.4.2. Unidad de muestreo:** Prótesis elaboradas por las tesistas que cumplan con los criterios de inclusión.

**3.6.4.3. Unidad de observación:** Cada una de las prótesis elaboradas por las tesistas que cumplan con los criterios de inclusión.

**3.6.5. Tipo de muestreo:** Técnica de muestreo no probabilístico.

**3.6.6. Tipo de técnica de muestreo:** Muestreo por conveniencia.



**3.7. Técnica de recolección de datos:** Se realizó el recuento de colonias mediante la observación, usando una hoja de registro como instrumento de recolección de datos.

**3.8. Instrumento de recolección de datos:** Hoja de registro, donde se anotará el recuento de colonias en las placas de Petri, tanto de la infusión en las concentraciones 10%, 20% y 30% y la clorhexidina al 0,12%, en cinco tiempos determinados de 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 1 hora y 8 horas (anexo 1).

**3.9. Técnica de análisis de datos:** Los datos recolectados fueron procesados de manera automatizada en el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 22, y luego se presentaron los resultados en tablas y gráficos, donde se mostraron los resultados de acuerdo con los objetivos planteados. Se hizo uso de la prueba estadística U de Mann-Whitney y se consideró un nivel de significancia del 5%.

### **3.10. Aspectos éticos**

En esta investigación se usó de una especie vegetal y cepa estandarizada de *Candida albicans* (ATCC 10231), obtenida del laboratorio Biomed – lote 744159. No se incluyen individuos humanos o animales; por esta razón, no son necesarias las condiciones que protejan sus derechos.

### **3.11. Recursos**

#### **3.11.1. Recursos humanos**

##### **3.11.1.1. Equipo de labores**

Recursos disponibles: Dos operadores clínicos responsables de la investigación, un asesor y un coasesor de la investigación.

### **3.11.1.2. Equipo auxiliar**

Recursos disponibles: Asistente de laboratorio.

### **3.11.2. Recursos físicos**

#### **3.11.2.1. Equipos**

##### **Recursos disponibles**

- Refrigeradora.
- Incubadora.
- Autoclave.
- Balanza electrónica de 2 dígitos altamente sensible.
- Cocina eléctrica.

#### **3.11.2.2. Instrumental**

##### **Recursos disponibles**

- 21 hisopos estériles de algodón con envoltura individual.
- 12 tubos de ensayo 13 x 100 mm.
- 30 placas de Petri 90 x 15 mm.
- 6 frascos de dilución x 250 ml.
- 2 frascos de dilución x 500 ml.
- 1 asa bacteriológica.
- 2 pinzas quirúrgicas inoxidable.
- 1 mechero Bunsen.
- 1 micropipeta de 100 ul.
- 1 micropipeta de 1000 ul.

- 50 puntas para micropipetas.

### **3.11.2.3. Material**

#### **Recursos disponibles**

- 80 g. de corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) verde.
- Cepa estandarizada de *Candida albicans* (ATCC 10231).
- 100 g. agar Sabouraud en polvo.
- 10 porciones de prótesis dentales.
- 20 ml. de caldo TS.
- 1 frasco de clorhexidina 0,12%.
- 1 litro de alcohol etílico.
- Algodón.
- 1 galón de agua destilada.
- Guantes.
- Mascarillas.

### **3.12. Proceso**

#### **Sitio de investigación**

Todo el procedimiento experimental de este trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio del Centro de Investigaciones Biomédicas S.R.L. (InvBiomed S.R.L).

#### **Recolección y selección de la especie vegetal**

La corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) se recolectó en el departamento de Cajamarca. Se usó tijeras y guantes de látex.

La corteza se seleccionó siguiendo los criterios de inclusión.

### **Elaboración de las prótesis**

Para la confección de las prótesis se usaron modelos prefabricados (tipodont desdentado total). A partir de este se realizó los siguientes pasos:

#### **- Placas base y rodetes de oclusión**

Se identificaron la extensión y grosor de las placas base:

Modelo superior: Hasta fondo de surco vestibular, posterior hasta la línea que pase de surco hamular a surco hamular y que pase por detrás de las foveolas palatinas 2 mm.

Modelo inferior: Hasta fondo de surco vestibular y lingual, cubriendo totalmente las papilas retromolares.

El grosor de las placas bases fue de 2 mm en toda su extensión. Se bloquearon las zonas retentivas con cera base rosada derretida; luego se aplicó aislante para acrílico a los modelos (2 capas).

Se humedeció una zona del modelo con monómero mediante un gotero; se espolvoreó el polímero hasta que sature el monómero; para conseguir la extensión y grosor indicados se puede distribuir el acrílico con el dedo índice humedecido en monómero, y repetir la operación hasta completar la placa base. Luego se recortaron los excesos con bisturí antes que finalice la polimerización.

Se separó la placa base del modelo, se retiró la cera y se recortó los excesos con las piedras montadas.

Para los rodetes se siguieron las medidas estándar; con una espátula y mechero se fue adhiriendo la cera a la placa base según las medidas.

#### **- Enfilado de dientes**

Se realizó, mediante el uso de espátulas y mechero, el enfilado de los dientes de acrílico, siguiendo las normas de oclusión y empezando por las piezas anteriores.

#### **- Procesado**

Procedimiento por el que se reemplazó la placa base y encerado por un material plástico, duro y pulible.

Consta de cinco etapas: Enmuflado, eliminación de cera, empaquetado, polimerización del acrílico, desenmuflado.

#### **- Acabado de las prótesis**

Se eliminaron los excesos del acrilizado para luego alisar y pulir solamente las superficies externas de las prótesis.

#### **Fase de esterilización**

Las prótesis fueron introducidas en paquetes quirúrgicos y sometidas a un proceso de esterilización en autoclave a 121 °C, a una atmósfera de presión de 15 libras durante 15 minutos; a los paquetes se los extrajo de la autoclave cuando ya se habían enfriado, para evitar que se humedezcan; además estuvieron completamente secos, ya que de esta manera los poros del papel especial se cerraron dejando a los microorganismos fuera del empaque. De este modo, se conservó la esterilidad.

#### **Activación de la cepa de *Candida albicans* (ATCC 10231)**

Para la activación de la cepa de *Candida albicans* (ATCC 10231) fue necesario recoger una porción de la cepa liofilizada y sumergirla en 10 ml de solución salina fisiológica estéril en un tubo de ensayo, y se agitó fuertemente hasta lograr su disolución; se incubó

por 2 a 4 horas a 36 °C en ambiente de aerobiosis. Luego, se procedió a sembrar por estría con asa bacteriológica en anillo en agar Sabouraud. Finalmente, se incubó por 24-48 horas a 36 °C.

### **Preparación de la infusión *Juglans neotropica* Diels (nogal)**

Para la obtención de la infusión se usó corteza fresca y agua destilada.

Se preparó la infusión de la corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en 3 concentraciones: 10%, 20% y 30%; es decir, al 10%, 20 g de corteza de nogal en 200 ml de agua destilada; al 20%, 40g de corteza de nogal en 200 ml y al 30%, 60 g en 200 ml. El agua destilada al hervir se la retiró del fuego y se colocó los gramos de corteza de nogal respectivamente, y se dejó reposar por 10 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se filtró; la preparación de las infusiones se basó en el estudio realizado por Moromi *et al.* sobre el efecto antimicrobiano *in vivo* de la infusión de *Camellia sinensis* sobre bacterias orales.

### **Contaminación de las prótesis**

Se colocó sobre las porciones de prótesis dental sobre placas de Petri estériles y fueron inoculadas con *Candida albicans* (ATCC 10231).

### **Fase experimental**

Cada porción de prótesis fue sumergida en infusiones de 3 concentraciones diferentes; posteriormente con la ayuda de una pipeta se procedió a tomar un inóculo de 10 ul y sembradas en placas de Petri que contenían agar Sabouraud.

Las placas se las dividió en cuatro grupos: una porción de prótesis para cada grupo.

**Grupo 1:** Infusión de la corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 10%, se dejó reposar las porciones de prótesis en cinco tiempos:

- 10 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 20 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 30 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 1 hora: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 8 horas: 5 repeticiones en placas de Petri.

Se incubó a 36 °C durante 24 horas.

**Grupo 2:** Infusión de la corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 20%; se dejó reposar las porciones de prótesis en 5 tiempos:

- 10 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 20 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 30 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 1 hora: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 8 horas: 5 repeticiones en placas de Petri.

Se incubó a 36 °C durante 24 horas.

**Grupo 3:** Infusión de nogal al 30%; se dejó reposar las porciones de prótesis en 5 tiempos:

- 10 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 20 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 30 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.
- 1 hora: 5 repeticiones en placas de Petri.

- 8 horas: 5 repeticiones en placas de Petri.

Se incubó a 36°C durante 24 horas.

**Grupo 4:** Clorhexidina al 0,12%; se dejó reposar las porciones de prótesis en 5 tiempos:

- 10 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.

- 20 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.

- 30 minutos: 5 repeticiones en placas de Petri.

- 1 hora: 5 repeticiones en placas de Petri.

- 8 horas: 5 repeticiones en placas de Petri.

Se incubó a 36 °C durante 24 horas.

#### **Lectura de resultados**

Posterior a dicho procedimiento se realizó el conteo de las colonias de *Candida albicans* de cada placa de Petri, y se anotó dichos datos en una hoja de registro, para luego ser interpretados estadísticamente.



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se muestran en las siguientes tablas y gráficos, con su respectiva discusión, en los que es importante destacar que no existen antecedentes específicos con los cuales se pueda realizar una comparación.

**Tabla 1.** Actividad antifúngica con infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231), con tiempo de exposición de 10 minutos.

Tiempo de exposición	N° de placa de Petri con agar Sabouraud	Recuento de colonias en placas de Petri			
		Infusión de nogal a diferentes concentraciones.			C +
		10%	20%	30%	Clorhexidina 0,12%
10 minutos	N° 1	75	2	0	0
	N° 2	65	3	0	0
	N° 3	78	8	1	0
	N° 4	72	4	0	0
	N° 5	69	7	1	0
	Promedio	71.8	4.8	0.4	0

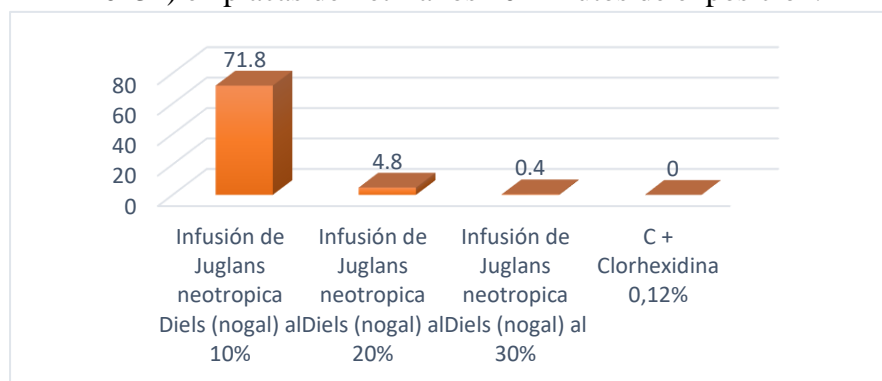
Fuente: Elaboración de los autores.

**Tabla 2.** Prueba estadística de U de Mann-Whitney para el tiempo de 10 minutos.

Tiempo	Comparación	U de Mann-Whitney	p - value	Decisión
10 minutos	N 10% vs C+	0,000	0,005	p < 0,05: Existe diferencia significativa.
	N 20% vs C+	0,000	0,005	p < 0,05: Existe diferencia significativa.
	N 30% vs C+	7,500	0,134	p > 0,05: No existe diferencia significativa.
	N 10% vs N 20%	0,000	0,009	p < 0,05: Existe diferencia significativa.
	N 10% vs N 30%	0,000	0,008	p < 0,05: Existe diferencia significativa.
	N 20% vs N 30%	0,000	0,008	p < 0,05: Existe diferencia significativa.

Fuente: Elaboración de los autores.

**Gráfico 1.** Promedio del recuento de colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) en placas de Petri a los 10 minutos de exposición.



Fuente: Elaboración de los autores.

**Discusión de la tabla 1, 2 y gráfico 1:** Se realizó el recuento de colonias en placas de Petri luego de 10 minutos de exposición y se obtuvo como promedio de las cinco

repeticiones: 71,8 colonias para la concentración de 10%, 4,8 colonias al 20%, 0,4 colonias al 30% y 0,0 colonias para la clorhexidina 0,12%.

Respecto del recuento de colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231), se realizó la prueba de U de Mann-Whitney, comparando los grupos de infusión de corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 10%, 20%, 30% y grupo control de clorhexidina 0,12% con tiempo de 10 minutos.

Al comparar la infusión de nogal al 30% con clorhexidina 0,12% se obtuvo un valor  $p = 0,134$  ( $p > 0,05$ ), por lo que se consideró a la diferencia como estadísticamente no significativa; entonces se rechazó la regla tecnológica nula; se aceptó la regla tecnológica alternativa, y se infirió que se cumplió la regla tecnológica; lo que significó que, si se aplica la infusión de nogal al 30% y clorhexidina 0,12%, con tiempo de 10 minutos, su efecto será igual.

**Tabla 3.** Actividad antifúngica con infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) con tiempo de exposición de 20 minutos.

Tiempo de exposición	N° de placa de Petri con agar Sabouraud	Recuento de colonias en placas de Petri			
		Infusión de nogal en diferentes concentraciones			C + Clorhexidina 0,12%
		10%	20%	30%	
20 minutos	N° 1	38	0	0	0
	N° 2	31	1	0	0
	N° 3	32	1	0	0
	N° 4	39	0	0	0
	N° 5	27	1	0	0
	Promedio	33,4	0,6	0	0

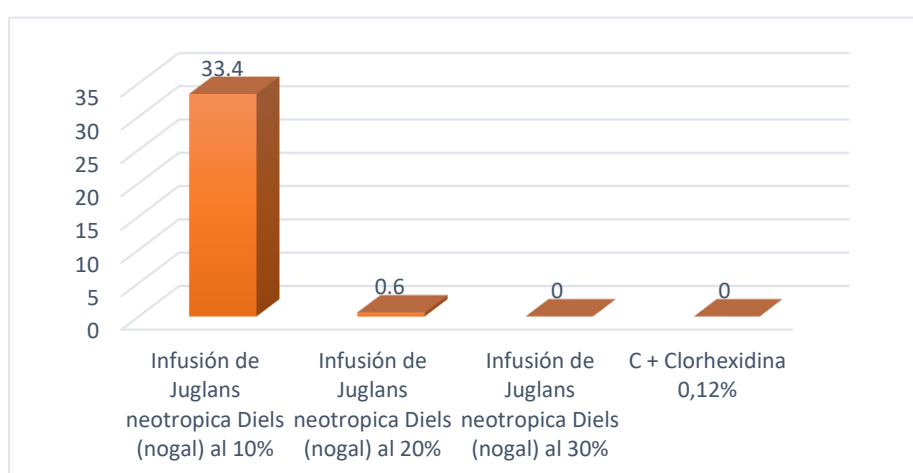
Fuente: Elaboración de los autores.

**Tabla 4.** Prueba estadística de U de Mann-Whitney para el tiempo de 20 minutos.

Tiempo	Comparación	U de Mann-Whitney	p - value	Decisión
20 minutos	N 10% vs C+	0,000	0,005	p < 0,05: Existe diferencia significativa.
	N 20% vs C+	5,000	0,050	p > 0,05: No existe diferencia significativa.
	N 30% vs C+	12,500	1,000	p > 0,05: No existe diferencia significativa.
	N 10% vs N 20%	0,000	0,008	p < 0,05: Existe diferencia significativa.
	N 10% vs N 30%	0,000	0,005	p < 0,05: Existe diferencia significativa.
	N 20% vs N 30%	5,000	0,050	p > 0,05: No existe diferencia significativa.

Fuente: Elaboración de los autores.

**Gráfico 2.** Promedio del recuento de colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) en placas de Petri a los 20 minutos de exposición.



Fuente: Elaboración de los autores.

**Discusión de la tabla 3, 4 y gráfico 2:** Se realizó el recuento de colonias en placas de Petri, luego de 20 minutos de exposición y se obtuvo como promedio de las cinco repeticiones: 33,4 colonias para la concentración de 10%, 0,6 colonias al 20%, 0 colonias al 30% y 0 colonias para la clorhexidina 0,12%.

Respecto del recuento de colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231), se realizó la prueba de U de Mann-Whitney, comparando los grupos de infusión de la corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 10%, 20%, 30% y grupo control de clorhexidina 0,12%, con tiempo de 20 minutos.

Al comparar los grupos de infusión de corteza de nogal al 20% con clorhexidina 0,12% se obtuvo un valor  $p = 0,050$  ( $p > 0,05$ ), infusión de corteza de nogal al 30% con clorhexidina 0,12%, se obtuvo un valor  $p = 1,000$  ( $p > 0,05$ ) y la infusión de corteza de nogal al 20% con infusión de corteza de nogal al 30%, se obtuvo un valor  $p = 0,050$  ( $p > 0,05$ ); por tanto, la diferencia fue estadísticamente no significativa; entonces se rechazó la regla tecnológica nula, se aceptó la regla tecnológica alternativa, y se infirió que se cumplió la regla tecnológica; lo que significó que, si se aplica la infusión de nogal al 20% y clorhexidina 0,12%, infusión de nogal al 30% y clorhexidina 0,12% y la infusión de nogal al 20% y la infusión de nogal al 30%, durante 20 minutos, su efecto será igual.

**Tabla 5.** Actividad antifúngica con infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) con tiempo de exposición de 30 minutos.

Tiempo de exposición	N° de placa de Petri con agar Sabouraud	Recuento de colonias en placas de Petri			
		Infusión de nogal en diferentes concentraciones			C + Clorhexidina 0,12%
		10%	20%	30%	
30 minutos	N° 1	4	0	0	0
	N° 2	5	0	0	0
	N° 3	10	1	0	0
	N° 4	7	1	0	0
	N° 5	14	0	1	0
	Promedio	8	0,4	0,2	0

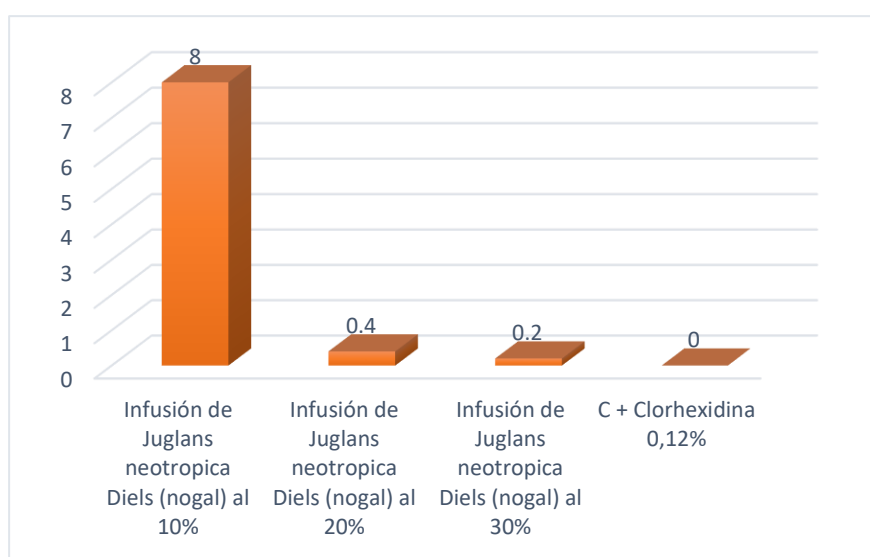
Fuente: Elaboración de los autores.

**Tabla 6.** Prueba estadística de U de Mann-Whitney para el tiempo de 30 minutos.

Tiempo	Comparación	U de Mann-Whitney	p-value	Decisión
30 minutos	N 10% vs C+	0,000	0,005	p < 0,05: Existe diferencia significativa.
	N 20% vs C+	7,500	0,134	p > 0,05: No existe diferencia significativa.
	N 30% vs C+	10,000	0,317	p > 0,05: No existe diferencia significativa.
	N 10% vs N 20%	0,000	0,008	p < 0,05: Existe diferencia significativa.
	N 10% vs N 30%	0,000	0,007	p < 0,05: Existe diferencia significativa.
	N 20% vs N 30%	10,000	0,513	p > 0,05: No existe diferencia significativa.

Fuente: Elaboración de los autores.

**Gráfico 3.** Promedio del recuento de colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) en placas de Petri a los 30 minutos de exposición.



Fuente: Elaboración de los autores.

**Discusión de la tabla 5, 6 y gráfico 3:** Se realizó el recuento de colonias en placas de Petri, luego de 30 minutos de exposición y se obtuvo como promedio de las cinco repeticiones: 8 colonias para la concentración de 10%, 0,4 colonias al 20%, 0,2 colonias al 30% y 0 colonias para la clorhexidina 0,12%.

Respecto del recuento de colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231), se realizó la prueba de U de Mann-Whitney, comparando los grupos de infusión de corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 10%, 20%, 30% y grupo control de clorhexidina 0,12%, con tiempo de 30 minutos.

Al comparar los grupos de infusión de corteza de nogal al 20% con clorhexidina 0,12%, se obtuvo un valor  $p = 0,134$  ( $p > 0,05$ ), infusión de corteza de nogal al 30%, con clorhexidina 0,12%, un valor de  $p = 0,317$  ( $p > 0,05$ ), y la infusión de corteza de nogal al 20%, con infusión de corteza de nogal al 30%, un valor  $p = 0,513$  ( $p > 0,05$ ); por lo que la diferencia fue estadísticamente no significativa; entonces se rechazó la regla tecnológica nula; se aceptó la regla tecnológica alternativa, y se infirió que se cumplió

la regla tecnológica; lo que significó que, si se aplica la infusión de corteza de nogal al 20%, infusión de corteza de nogal al 30% y clorhexidina 0,12%, con tiempo de 30 minutos, su efecto será igual.

**Tabla 7.** Actividad antifúngica con infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231), exposición de 1 hora.

Tiempo de exposición	N° de placa de Petri con agar Sabouraud	Recuento de colonias en placas de Petri			
		Infusión de nogal a diferentes concentraciones			C + Clorhexidina 0,12%
		10%	20%	30%	
1 hora	N° 1	0	0	0	0
	N° 2	0	0	0	0
	N° 3	0	0	0	0
	N° 4	0	0	0	0
	N° 5	0	0	0	0
	Promedio	0	0	0	0

Fuente: Elaboración de los autores.

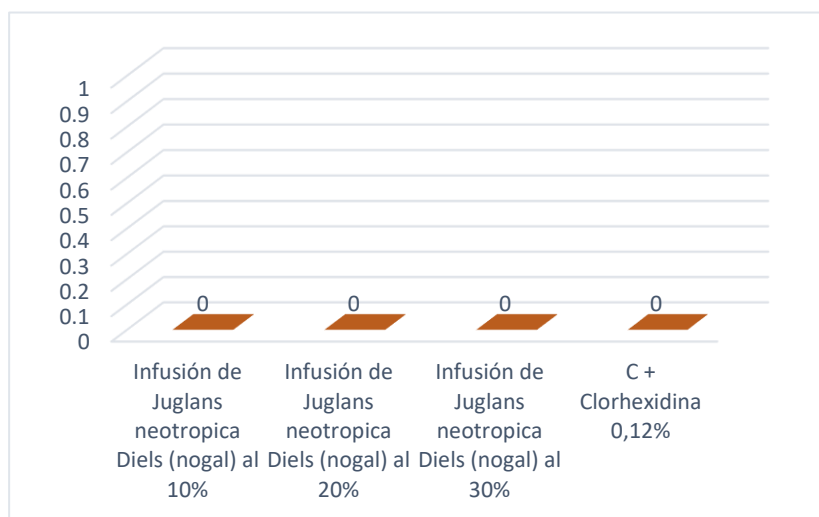


**Tabla 8.** Prueba estadística de U de Mann-Whitney para el tiempo de 1 hora.

Tiempo	Comparación	U de Mann-Whitney	p-value	Decisión
1 hora	N 10% vs C+	12,500	1,000	$p > 0,05$ : No existe diferencia significativa.
	N 20% vs C+	12,500	1,000	$p > 0,05$ : No existe diferencia significativa.
	N 30% vs C+	12,500	1,000	$p > 0,05$ : No existe diferencia significativa.
	N 10% vs N 20%	12,500	1,000	$p > 0,05$ : No existe diferencia significativa.
	N 10% vs N 30%	12,500	1,000	$p > 0,05$ : No existe diferencia significativa.
	N 20% vs N 30%	12,500	1,000	$p > 0,05$ : No existe diferencia significativa.

Fuente: Elaboración de los autores.

**Gráfico 4.** Promedio del recuento de colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) en placas de Petri a 1 hora de exposición.



Fuente: Elaboración de los autores.

#### **Discusión de la tabla 7, 8 y gráfico 4:**

Se realizó el recuento de colonias en placas de Petri luego de 1 hora de exposición y se obtuvo como promedio de las cinco repeticiones: 0 colonias para la concentración de 10%, 0 colonias al 20%, 0 colonias al 30% y 0 colonias para la clorhexidina 0,12%. Respecto del recuento de colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231), se realizó la prueba de U de Mann-Whitney, comparando los grupos de infusión de corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 10%, 20%, 30% y grupo control de clorhexidina 0,12%, con tiempo de 1 hora.

Al comparar todos los grupos de infusión de corteza de nogal al 10%, 20% y 30% con clorhexidina 0,12% se obtuvo un valor  $p = 1,000$  ( $p > 0,05$ ), igual que para los grupos de infusión de corteza de nogal al 10% con infusión de corteza de nogal al 30%, e infusión de corteza de nogal al 20% con infusión de corteza de nogal al 30%, se obtuvo un valor  $p = 1,000$  ( $p > 0,05$ ); por lo que la diferencia fue estadísticamente no significativa; entonces, se rechazó la regla tecnológica nula, se aceptó la regla tecnológica alternativa, y se infirió que se cumplió la regla tecnológica; lo que significó que, si se aplica la infusión de corteza de nogal al 10%, infusión de corteza de nogal al 20%, y clorhexidina 0,12%, con tiempo de 1 hora, su efecto será igual.

**Tabla 9.** Actividad antifúngica con infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) con tiempo de exposición de 8 horas.

Tiempo de exposición	N° de placa de Petri con agar Sabouraud	Recuento de colonias en placas de Petri			
		Infusión de nogal a diferentes concentraciones			C + Clorhexidina 0,12%
		10%	20%	30%	
8 horas	N° 1	0	0	0	0
	N° 2	0	0	0	0
	N° 3	0	0	0	0
	N° 4	0	0	0	0
	N° 5	0	0	0	0
	Promedio	0	0	0	0

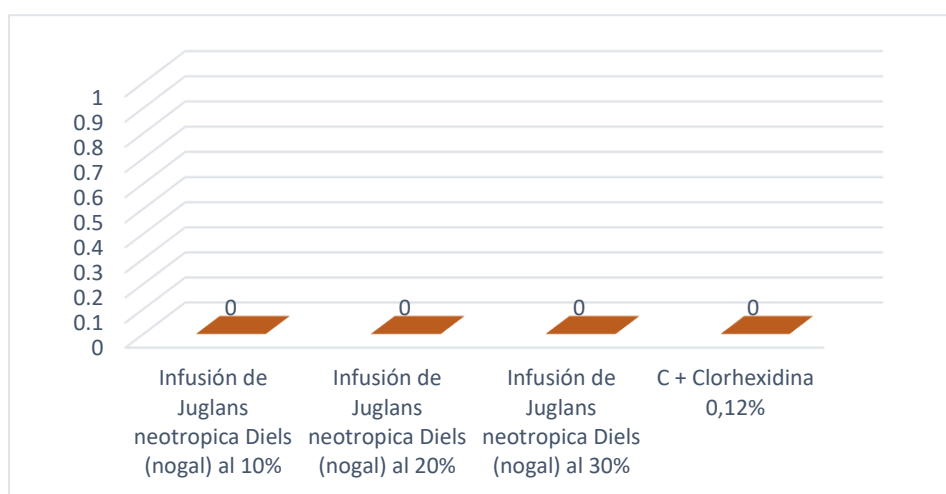
Fuente: Elaboración de los autores.

**Tabla 10.** Prueba estadística de U de Mann-Whitney para el tiempo de 8 horas.

Tiempo	Comparación	U de Mann-Whitney	p – value	Decisión
8 horas	N 10% vs C+	12,500	1,000	p > 0,05: No existe diferencia significativa.
	N 20% vs C+	12,500	1,000	p > 0,05: No existe diferencia significativa.
	N 30% vs C+	12,500	1,000	p > 0,05: No existe diferencia significativa.
	N 10% vs N 20%	12,500	1,000	p > 0,05: No existe diferencia significativa.
	N 10% vs N 30%	12,500	1,000	p > 0,05: No existe diferencia significativa.
	N 20% vs N 30%	12,500	1,000	p > 0,05: No existe diferencia significativa.

Fuente: Elaboración de los autores.

**Gráfico 5.** Promedio del recuento de colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) en placas de Petri a 8 horas de exposición.



Fuente: Elaboración de los autores.

**Discusión de la tabla 9, 10 y gráfico 5:** Se realizó el recuento de colonias en placas de Petri luego de 8 horas de exposición y se obtuvo como promedio de las cinco repeticiones: 0 colonias para la concentración de 10%, 0 colonias al 20%, 0 colonias al 30% y 0 colonias para la clorhexidina 0,12%.

Respecto del recuento de colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231), se realizó la prueba de U de Mann-Whitney, comparando los grupos de infusión de corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 10%, 20%, 30% y grupo control de clorhexidina 0,12%, con tiempo de 8 horas.

Al comparar todos los grupos de infusión de corteza de nogal al 10%, 20% y 30% con clorhexidina 0,12% se obtuvo un valor  $p = 1,000$  ( $p > 0,05$ ), igual que para los grupos de infusión de corteza de nogal al 10% con infusión de corteza de nogal al 30%, e infusión de corteza de nogal al 20% con infusión de corteza de nogal al 30%, se obtuvo un valor  $p = 1,000$  ( $p > 0,05$ ), por lo que la diferencia fue estadísticamente no significativa; entonces, se rechazó la regla tecnológica nula, se aceptó la regla tecnológica alternativa, y se infirió que se cumplió la regla tecnológica; lo que significó

que, si se aplica la infusión de corteza de nogal al 10%, infusión de corteza de nogal al 20%, infusión de corteza de nogal al 20% y clorhexidina 0,12%, con tiempo de 8 horas, su efecto será igual.

## V. CONCLUSIÓN

En base a la evidencia mostrada y la prueba U de Mann-Whitney que consideró a la diferencia encontrada en la presente investigación como una diferencia estadísticamente no significativa, se concluyó que: para obtener actividad antifúngica debe usarse infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231).

## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda a los estudiantes y egresados de la carrera profesional de estomatología y carreras afines, realizar más estudios de plantas medicinales como *Juglans neotropica* Diels (nogal), especialmente, en la infusión de la corteza; en grupos de experimentación mayores.
- Realizar investigaciones que evalúen la citotoxicidad de *Juglans neotropica* Diels (nogal), además ensayos clínicos para poder llegar a probar su uso.
- Se deben tomar en cuenta los tiempos y porcentajes mencionados anteriormente; pues, a mayor tiempo, las prótesis podrían presentar tinciones.

## VII. REFERENCIAS

1. Huamaní ME, Ruiz JL. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú [Tesis para título de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005.
2. Candidiasis systemic. Bestpractice BMJ® [Internet]. [citado 3 Set 2016].  
Disponible en: <http://bestpractice.bmj.com/best-practice/monograph/1062/basics/epidemiology.html>.
3. Figueras C, Díaz C, García J, Navarro M, Contreras J, Ruiz J. Recomendaciones de la Sociedad española de infectología pediátrica sobre diagnóstico y tratamiento de candidiasis invasiva. Rev. An Pediatr. 2011; 74(5): 337.
4. Ruiz JR. Actividad antifungica *in vitro* y concentración mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho plantas medicinales. [Tesis para grado de Magister en Microbiología]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.
5. Ruíz J, Roque M. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del Nororiente Peruano. Rev. Peruana Cienc Invest [Internet]. 2009 [citado 13 Set 2016]; 12(1): 41–7.  
Disponible en:  
[http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12\\_n1/pdf/a07v12n1.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12_n1/pdf/a07v12n1.pdf)
6. Sreelatha T, Kandhasamy S, Dinesh R. Actividad antifúngica de quinonas del nogal frente a *Candida albicans* [Internet]. 2014 [citado 13 Set 2016]; 24(1): 510–19..  
Disponible en:  
[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=quinoneantifungalagainstcandidaalbica](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=quinoneantifungalagainstcandidaalbica).



7. Vardhini SR. Actividad antifúngica de Juglonapor el método del cálculo. Biol Pharm Bull. [Internet]. 2014 [citado 22 Set 2016]; 34(6): 456–51. Disponible en: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23123467](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23123467).
8. Bustamante L, Huaccha M. Determinación de la actividad antimicótica *in vitro* del extracto etanólico de la corteza de *Juglans neotropica* Diels “Nogal” frente a *Candida albicans*. [Tesis para título de Químico Farmacéutico]. Cajamarca: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2016.
9. Liébana J. Microbiología oral. Barcelona: Mc Graw-Hill-Interamericana, 2002.
10. Aréstegui B. Los hongos patógenos para el ser humano. Rev. Iberoamericana Micología. 2002; 19: 5-9.
11. Ortega R, Tarragó M, Lugones H, Santana J. Candidiasis de la mucosa bucal: Revisión bibliográfica. Rev. Cubana Estomatol [Internet]. 2002 [citado 21 Dic 2016]; 39(2): 187-33. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75072002000200007&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000200007&lng=es).
12. Pardi G. Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. Acta Odontológica Venezolana. 2002; 1:3-8.
13. Negroni M. Microbiología estomatológica. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1999.
14. Farah CS, Lynch N, McCullough MJ. Oral fungal infections: an update for the general practitioner. Rev. Aust Dent. 2010; 55(1): 48–54.
15. Giannini PJ, Shetty KV. Diagnosis and management of oral candidiasis. Rev. Otolaryngol Clin N Am. 2011; 44: 231–40.

16. Moris DV, Melhem MSC, Martins MA, Mendes RP. Oral *Candida* spp colonization in human immunodeficiency virus-infected individuals. Rev. Venom Anim Toxins incl Trop Dis. 2008; 14(2): 224–57.
17. McCullough MJ, Savage NW. Oral candidosis and the therapeutic use of antifungal agents in dentistry. Rev. Aust Dent. 2005; 50(2): 36–9.
18. Weindl G, Wagener J, Schaller M. Epithelial cells and innate antifungal defense. J Dent Res. 2010; 89(7): 666–75.
19. Hull KM, Yeoh SC. Persistent chronic hyperplastic candidosis in a patient with diabetes mellitus: a case report. Rev. Dent Jour. 2010; 106(1): 20–3.
20. Sapp JP, Eversole LR, Wysocki, GP. Patología oral y maxilofacial contemporánea. Vol 2. 2a ed. Amsterdam: Elsevier España; 2005: 240–46.
21. Novorikawa E, Sacsquispe SJ, Varela L. Presencia de hifas y/o pseudohifas de *Candida* en la mucosa oral clínicamente normal en adultos mayores. 2005; 15(1): 124-28.
22. Soysa NS, Samaranayake LP, Ellepola AN. Antimicrobials as a contributory factor in oral candidosis a brief overview. Rev. Oral Dis. 2008; 14: 138–43.
23. Aguirre JM. Candidiasis orales. Rev. Iberoam Micol. 2002; 19: 17-21.
24. López J, Jané E, Chimenos E, Roselló X. Actualización de la candidiasis oral. Arch Odont. 1997; 13(5): 259-71.
25. Berkow R. Manual Merk de diagnóstico y terapia. 18a ed. Londres; 2006.
26. Santana JC. Atlas de patología del complejo bucal. La Habana: Científico- Técnica; 1985.
27. Ceccotti E. Micosis bucales: SIDA, cáncer y otras afecciones. Rev. Panamericana. 1993; 54: 162-64.
28. Ceballos A. Medicina bucal. Granada: Gráficas Anel; 1993.

29. Smitha R, Shashanka R. Isolation and Identification of *Candida* from the Oral Cavity. Rev. ISRN Dentistry. 2011; 3: 1-7.
30. Senet J. Risk factors and pathophysiology of candidiasis. Rev. Iberoam Micol 1997; 24: 6-13.
31. Pardi G, Cardozo E. Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. Acta Odontol Venez. 2002; 40(1): 251-59.
32. Jawetz E. Microbiología Médica. México: El Manual Moderno; 2001.
33. Poirier C, Chimenos E, Ferrer M. Importancia de los factores predisponentes en la candidiasis bucal. Rev. Med Oral. 1996; 2(1): 21-9.
34. Laskaris G. Patologías de la Cavidad Bucal en Niños y Adolescentes. Caracas: Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica; 2001.
35. Ceballos Y. Micosis bucales. Granada: Gráficas Anel; 1993.
36. Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM. Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. J Appl Oral Sci. Apr 2008; 16(2): 86-94.
37. Negroni M. Enfermedades micóticas. [Internet]. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1999. [citado 10 Set 2016]. Disponible en:  
[https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=Gxmui-vjZBgC&oi=fnd&pg=PA1&dq=M.+Microbiolog%C3%ADa+estomatol%C3%B3gica.&ots=QILzhEF6jR&sig=bz2tvrzT2Z\\_Bi\\_kBfQxQ0QoonH0#v=onepage&q=M.%20Microbiolog%C3%ADa%20estomatol%C3%B3gica.&f=false](https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=Gxmui-vjZBgC&oi=fnd&pg=PA1&dq=M.+Microbiolog%C3%ADa+estomatol%C3%B3gica.&ots=QILzhEF6jR&sig=bz2tvrzT2Z_Bi_kBfQxQ0QoonH0#v=onepage&q=M.%20Microbiolog%C3%ADa%20estomatol%C3%B3gica.&f=false)
38. Kauffman C. Candidiasis. Rev. Cecil Textbook of Medicine. 2007; 23(2): 59.
39. García V. Patología oral. Rev. Clin Dermatol. 2007; 5: 193-99.
40. Quindós G, Ribacoba L, Contreras I, Aguirre JM. Tratamiento de las candidiasis orofaríngeas. Rev. Iberoam Micol. 1996; 13: 11-15.

41. Quindós G. Nuevas perspectivas en la terapia antifúngica. Rev. Gac Med Bilbao. 2001; 98: 20-3.
42. Hosseinzadeh H, Zarei H, Taghiabadi E. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Juglans regia* L. leaves in mice. Rev. Iran Red Crescent Med. 2011; 13(1): 27-33.
43. Systema Naturae 2000. Classification-Family Juglandaceae [Internet]. [citado 28 Set 2016]. Disponible en: <http://sn2000.taxonomy.nl>
44. Daza A, Marcelo J, Pennington R, Pennington T, Reynel C. Árboles útiles del Ande Peruano. Rev. Tarea Grafica Educativa. 2006; 154-15.
45. Estrada W. Manual para la producción de Nogal. Guayaquil; 1997.
46. Nieto V, Rodríguez J. *Juglans neotropica* Diels Species Description. Rev. Kurú Forestal. Ago 2000: 528-29.
47. Manual para la producción de Nogal *Juglans neotropica* Diels. OIMT. 1997: 47.
48. Rojas F, Torres G. Árboles del Valle Central de Costa Rica: reproducción. Rev. Kurú Forestal. 2008; 5(13): 1-3.
49. Macbride JF. Juglandaceae, Flora of Perú Field Museum of Natural History. Rev. Botanical Series Collation. 2003; 13(2): 263-66.
50. *Juglans neotropica* Diels. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. [citado 25 Nov 2016]. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/16700014>
51. Centro de Investigación, Educación y Desarrollo (CIED) Nogal. [citado 17 Set 2016]. Disponible en <http://www.ciedPerú.org/productos/nogal.ht>
52. Rivera C, Urquiola A, Garcia Y, Roman Y, Bouza H. Fenología de *Juglans Jamaicensis* sub sp. Insularis (griseb.) H. Schaarschm. en el bosque semideciduo de la base de mogotes del valle de San Andres. Rev. CITMA. 2008; 10(1): 1-9.

53. White L. El recetario herbario: las mejores alternativas naturales a los medicamentos. Rev. Interweavepress. 2002; 3(2): 7-11.
54. Loureiro S. Guía de remedios naturales para niños. Ediciones Luc. Brasil. 2013; 2(1): 2-5.
55. Maya J, Ruiz S, Pacheco R, Valderrama S, Villegas M. Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. Asociación colombiana de infectología. 2011; 15(2): 98-107.
56. Dentaid. La clorhexidina una gran aliada en la consulta dental. Rev. estomatológica. 2008; 4(1): 40-7.
57. Navarro C, Pareja M, Maita L. Eficacia de la clorhexidina y del control mecánico en la reducción de gingivitis en niños de 10 a 12 años. Rev. Kiru. 2008; 4(1):10-15.
58. Binney A. The plaque removal effects of single rinsing and brushings. J Periodontol. 1993; 64: 181-83.
59. Renton E. A Comparison of Chlorhexidine, Cetylpyridinium Chloride, Triclosan, and C316 mouthrinse products for plaque inhibition. J Periodontol. 1996; 67: 486-89.
60. Santiago A, De los Santos I, Félix-Matos L. Efecto del PYOCLOR (Clorhexidina/Digluconato 0.12% - Xilitol 1%) post-extracción dental y colgajos con colocación de membrana. Serie de Casos. Rev. del Centro de Investigación en Biomateriales y Odontología. Oct 2015; 8(3): 67-74.
61. Battellino LJ, Lisseta RG, Yankilevich E, Francia CM. Efecto del xylitol sobre la formación de película adquirida bajo condiciones *in vitro*. Rev. Med Oral. 2003; 5(1): 13-21.

- 62.** Simoes R, Modesto A, Netto KR, Drake D. The Effect of 1% Chlorhexidine Varnish and 40% Xylitol Solution on Streptococcus Mutans and Plaque Accumulation in Children. *Rev. Pediatric Dentistry*. 2011; 33(7): 484-90.
- 63.** Bascones F. Clorhexidina en odontoestomatología, conceptos actuales y revisión de la literatura. *Avances en Odontoestomatología*. 1994; 10: 685-708.
- 64.** Joyston- Bechal. The effect of a mouthrinse containing Chlorhexidine and fluoride on plaque and gingival bleeding. *J Clin Periodontol*. 1993; 20: 49-53.
- 65.** Ringel AM, Patterson SS, Newton CW, Miller CH, Mulhern JM. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. *J Endodon*. 1992; 8: 200-4.
- 66.** Fathilah AR, Himratul-Aznita WH, Fatheen ARN, Suriani KR. The antifungal properties of chlorhexidine digluconate and cetylpyridinium chloride on oral *Candida*. *J Dent*. 2012; 40(7): 609-15.
- 67.** Lanzós I, Herrera D, Santos S, O'Connor A, Peña C, Lanzós E, Sanz M. Microbiological effects of an antiseptic mouthrinse in irradiated cancer patients. *Rev. Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. Nov 2011; 16(7): 1036-42.
- 68.** Bascones A. Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en Periodoncia*. 2006; 18(1).
- 69.** Torres M. La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en la estomatología. *Rev. Gaceta Médica Espirituan*. 2009; 11(1).
- 70.** Uso de la clorhexidina en CSM. Central de Servicios Médicos BSE. Mar 2008.
- 71.** Zantta FB, Antoniazzi RP, Rosing CK. Staining and calculus formation after 0,12% chlorhexidine rinses in plaque-free and plaque covered surfaces: a randomized trial. *Rev. K Appl Oral Sci*. 2010; 18(5): 515-21.

72. Calsina-Gomis G, Serrano-Granger J. ¿Existen realmente diferencias clínicas entre las distintas concentraciones de clorhexidina Comparación de colutorios? Rev. RCOE. 2005; 10(4): 457-64.
73. Solís C, Santos A, Nart J, Violant D. 0,2% chlorhexidine mouthwash with an antidiscoloration system versus 0.2% chlorhexidine mouthwash: a prospective clinical comparative study. J Periodontol. 2011; 82(1): 80-5.
74. Poveda M, Sánchez S, Medina E, Espinel M, Ríos Enrique, Fernández J. Gluconato de clorhexidina al 0,12% en la inhibición de la adherencia de *Streptococcus mutans* en restauraciones provisionales de polimetilmetacrilato *in vitro*. Rev. Odonto. Mex. Mar 2006; 10(1): 24-9.
75. Ruiz S, Monetto A. Acción de irrigantes en endodoncia sobre bacterias anaeróbica. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina, 1999.
76. Calderón M, Moromi H. Eficacia de diferentes agentes desinfectantes en la remoción de *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* adheridos a resina acrílica de termocurado. Rev. Odontol. San marquina. Oct 2014; 17(2): 72-5.
77. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Fellipe J. Estudo do efeito biológico do pH na atividade enzimática de bacterias anaeróbicas. Rev. Fac Odontol Bauru. 1994; 2: 29-36.
78. Nikolaus B, Wayman B, Encinase. The bactericidal effect of citric acid and sodium hypochlorite on anaerobic bacteria. J Endod. Jan 1998; 14(1): 31-4.
79. Ximénez LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. J Clin Periodontol. 2000; 27(10): 722-32.


80. Fujinaka H, Takeshita T, Sato H, Yamamoto T, Nakamura J, Hase T, Yamashita Y. Relationship of periodontal clinical parameters with bacterial composition in human dental plaque. *Rev. Microbiol.* 2013; 19: 371–83.
81. Owens J. A Short-term clinical study design to investigate the chemical plaque inhibitory properties of Mouthrinses when used as adjuncts to toothpastes: applied to Chlorhexidine. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 732-37.
82. Cervone F, Tronstad L, Hammond B. Antimicrobial effect of chlorhexidine in a controlled released delivery system. *Rev. Endod Dent Traumat.* 1990; 6: 33-6.
83. Ellingsen J, Rolla G, Eriksen H. Extrinsic dental stain caused by chlorhexidine and other denaturing agents. *J ClinPeriodontol.* 1982; 9: 317.
84. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. In adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol.* 1986; 57: 370-77.
85. Carranza F. *Periodontología clínica.* México: Mc Graw Hill; 2004.
86. Santos A. Control evidencial de la placa y la Gingivitis. *J ClinPeriodontol.* 2003; 30(5): 13-6.
87. Seif T. *Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental.* Cartagena: Panamericana; 1999.
88. Nordbo H, Sorensen R y Sonju T. Furfurals in chlorhexidine discoloured pellicles. *J Dent Res.* 1977; 85: 606-9.
89. Polit D, Hungler B. *Investigación científica en ciencias de la salud.* 6ta ed. Mexico DF: McGraw-Hill / Interamericana; 2000.
90. Sierra R. *Tesis doctorales y trabajos de investigación científica.* Paraninfo. Madrid; 1986.



- 91.** Liscano M. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) contra *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá; 2007.
- 92.** Sarti G, Miyazaqui S. Actividad antifúngica de extractos crudos de *Bacillus subtilis* contra fitopatógenos de soja (*Glycine max*) y efecto de su coinoculación con *Bradyrhizobium japonicu*. Rev. Scielo. Jun 2013; 47(4): 34-56.
- 93.** Martínez P, González F, Sanz A, Miravalles C, Díez J. Antagonismo *in vitro* de hongos endófitos frente a *Fusarium circinatum*. Inst. Universitario en Gestión Forestal Sostenible. Madrid; 2013: 1-9.
- 94.** Yepes A, Rodríguez M, Enrique P, Zafra H, Villegas S, Barboza Y, et al. Efecto antifúngico del extracto acuoso de semillas del chocho, *Lupinus mutabilis* sobre *Alternaria solani* y *Fusarium solani*. Rev. Biol. Jun 2009; 29(1): 1-7.

## ANEXOS

### Anexo 1. Instrumento de recolección de datos (Hoja de registro).

Tiempo de exposición	N° Placa de Petri agar Sabouraud	Recuento de colonias de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) en placa de Petri.				
		 Infusión de Nopal a diferentes concentraciones	C + Clorhexidina 0,12%	C -	CC +	
		10%	20%	30%		
10 minutos	N° 1					
	N° 2					
	N° 3					
	N° 4					
	N° 5					
	<b>Promedio</b>					
20 minutos	N° 1					
	N° 2					
	N° 3					
	N° 4					
	N° 5					
	<b>Promedio</b>					
30 minutos	N° 1					
	N° 2					
	N° 3					
	N° 4					
	N° 5					
	<b>Promedio</b>					
1 hora	N° 1					
	N° 2					
	N° 3					
	N° 4					
	N° 5					
	<b>Promedio</b>					
8 horas	N° 1					
	N° 2					
	N° 3					
	N° 4					
	N° 5					
	<b>Promedio</b>					
Control de esterilidad	<b>N° 6</b>					
Control de crecimiento	<b>N° 7</b>					

C+ : Clorhexidina 0,12%. C - : Control de esterilidad del medio. CC + : Cultivo puro a una concentración de escala MarFarland 0,5.

## Anexo 2. Imágenes.

**Imagen 1.** Elaboración de prótesis.



Elaboración de placa base.



Enfilado.



Procesado.



Acabado de las prótesis.

**Imagen 2.** Fase de esterilización.



Esterilización en autoclave.

**Imágen 3.** Preparación de la infusión de corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal).



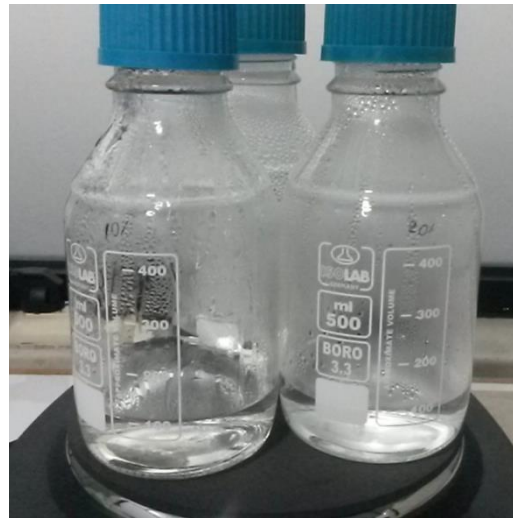
Lavado del nogal.



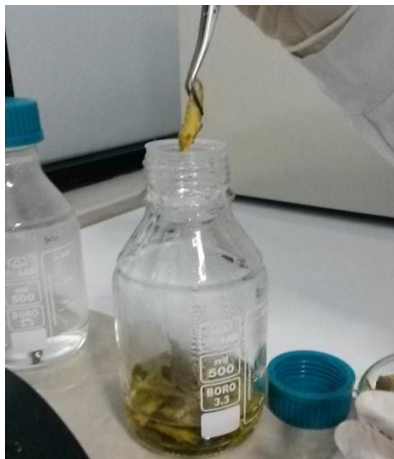
Pesado de la corteza de nogal en balanza electrónica.



Medición de agua destilada.



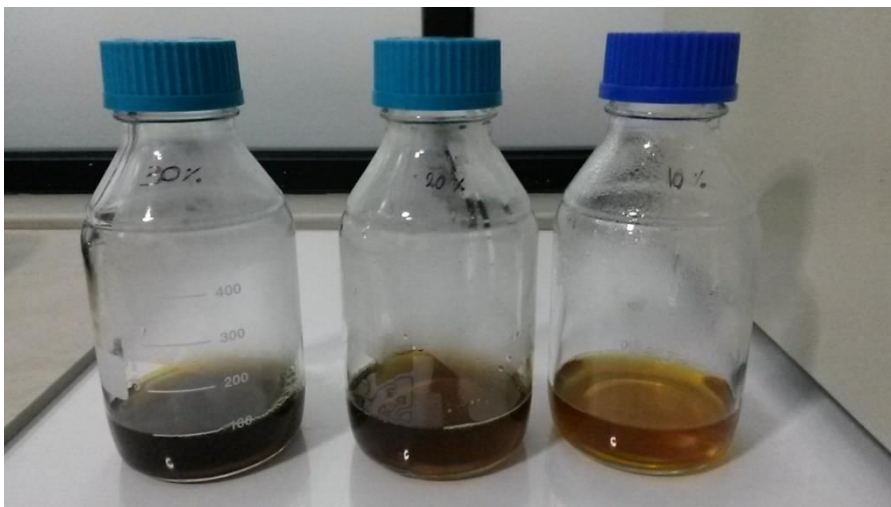
Ebullición del agua destilada.



Colocación de la corteza de nogal en el agua destilada.



Reposo de la corteza nogal por 10 minutos.



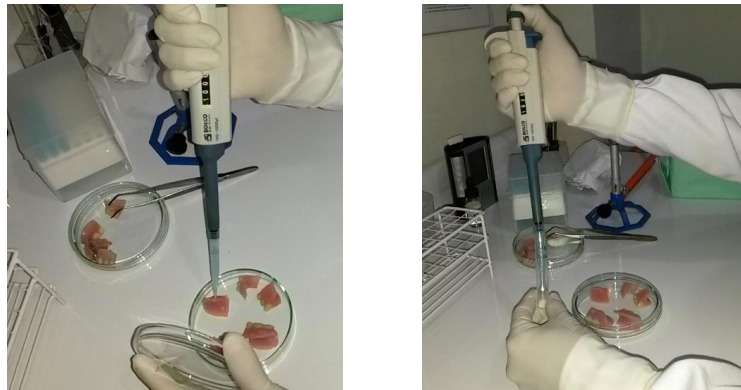
Infusión de la corteza del nogal en tres concentraciones.



Clorhexidina al 0,12%.

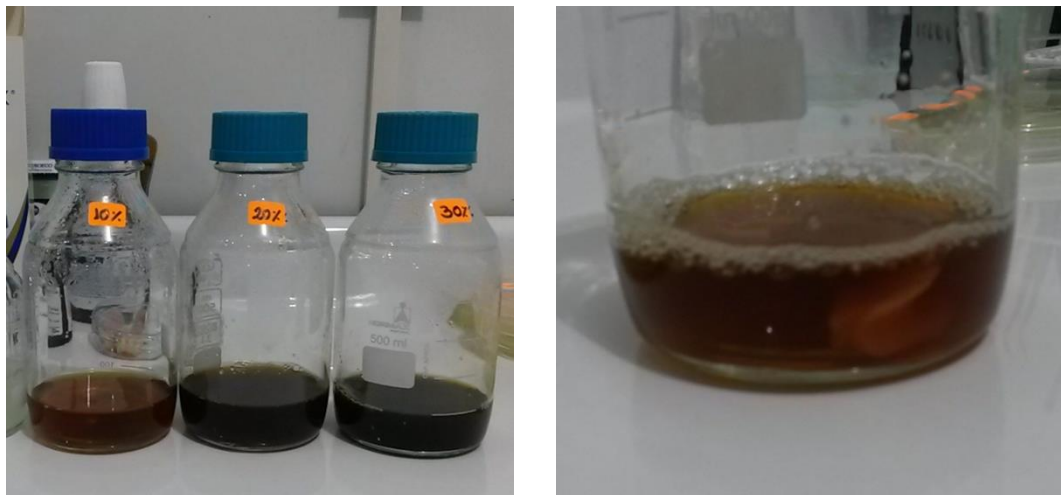


**Imágen 4.** Contaminación de las prótesis.



Contaminación directa de las prótesis con *Candida albicans*.

**Imágen 5.** Fase experimental.



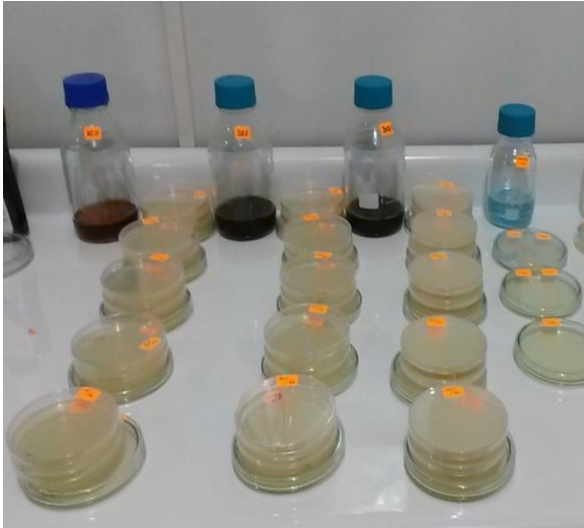
Prótesis contaminadas en las infusiones de la corteza de nogal.



Agar Sabouraud.



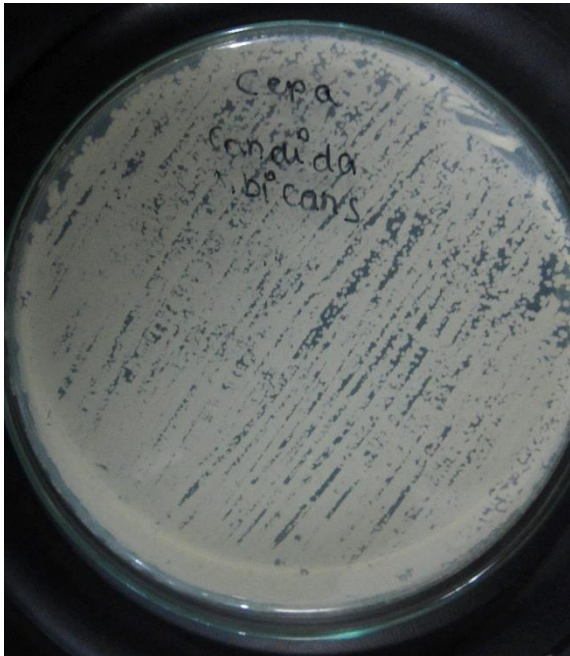
Colación de agar Sabouraud en placas de Petri.



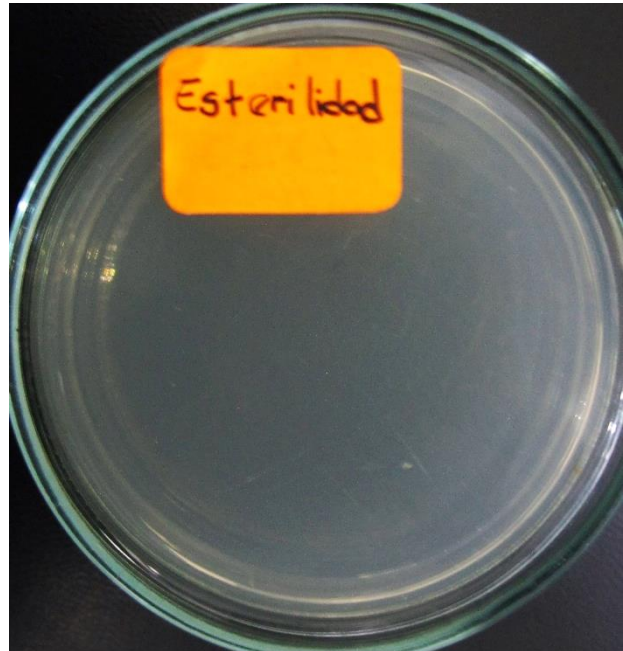
Rotulado de las placas de Petri.



Sembrado en las placas de Petri.



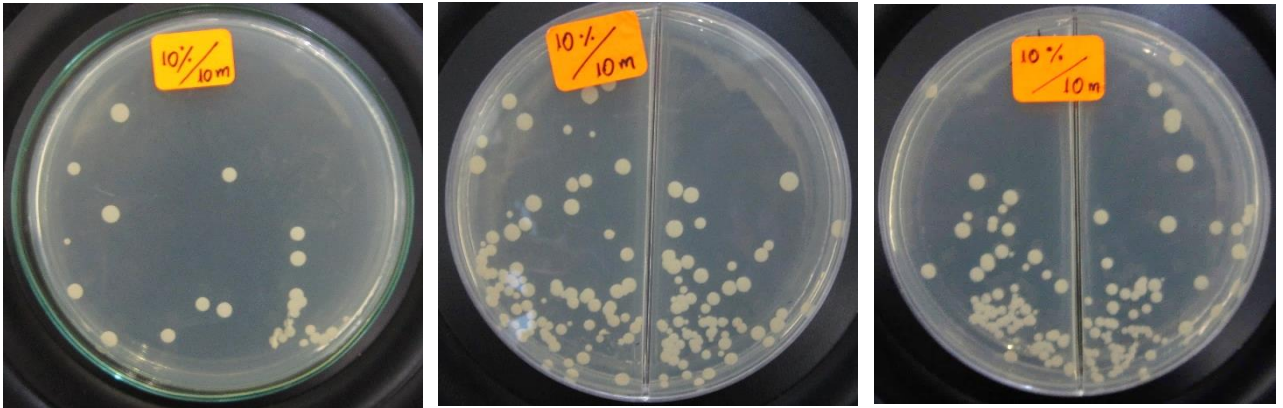
Cultivo de cepa de *Candida albicans* (ATCC 10231).



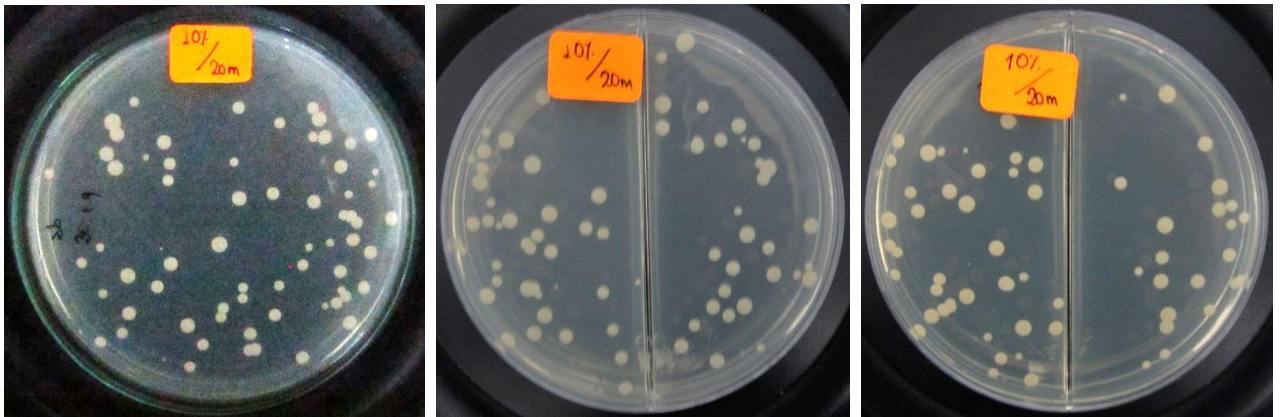
C -: Control de esterilidad del medio.



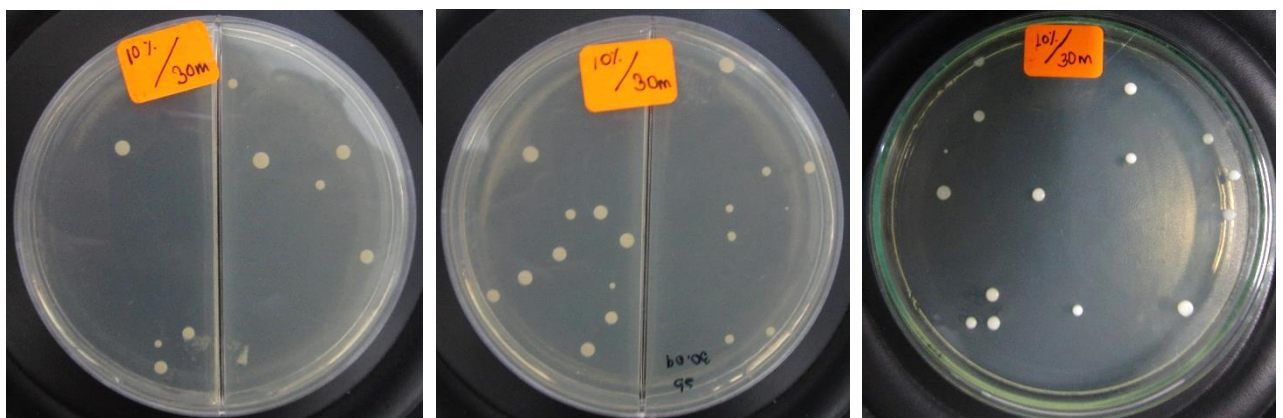
**Imágen 6.** Infusión de corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 10%.



Tiempo: 10 minutos.

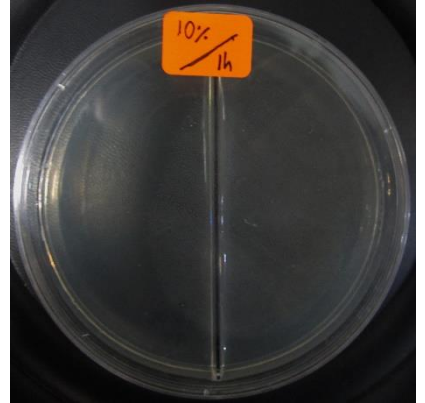
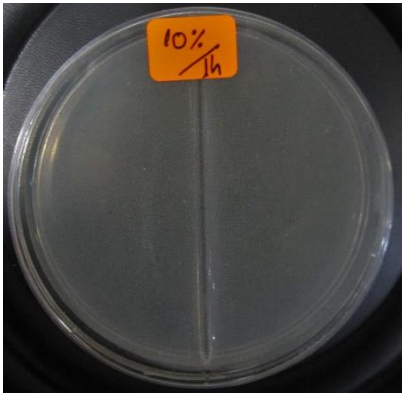


Tiempo: 20 minutos.

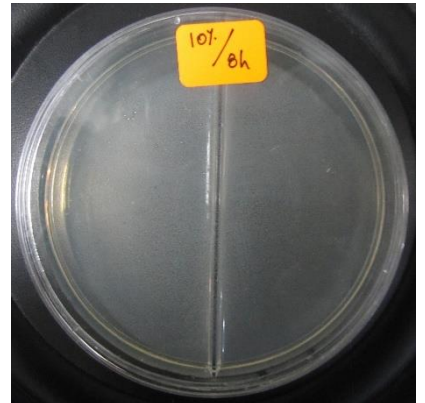
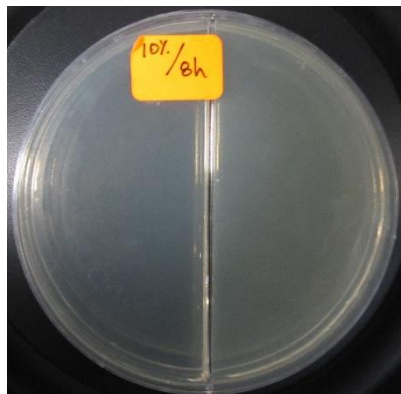
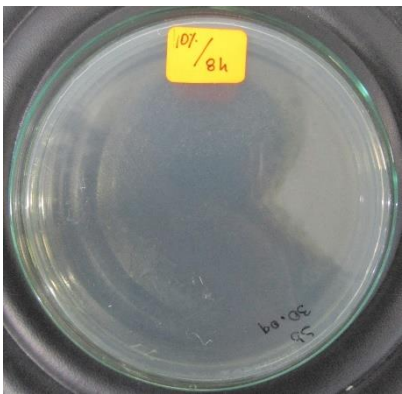


Tiempo: 30 minutos.



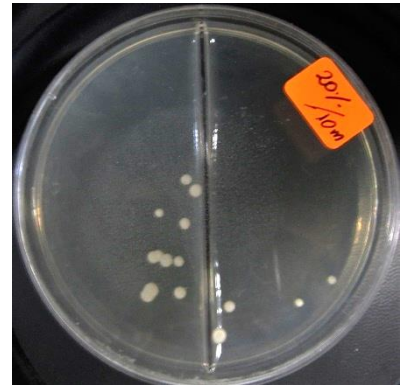
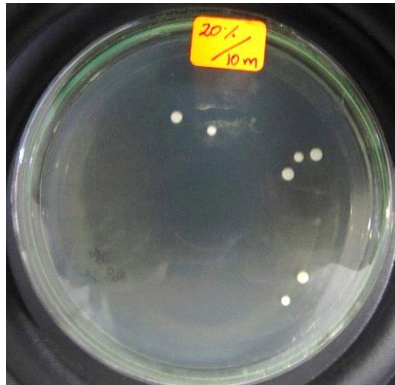
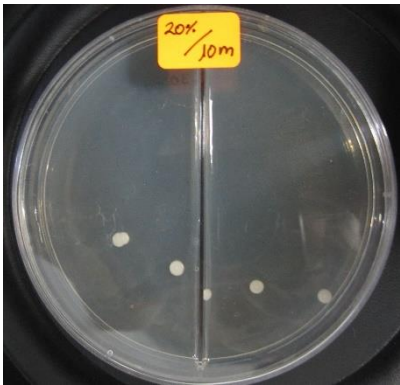


Tiempo: 1 hora.

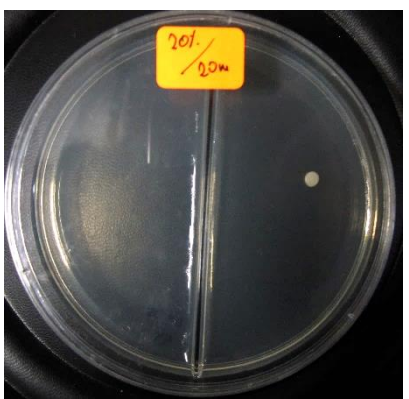
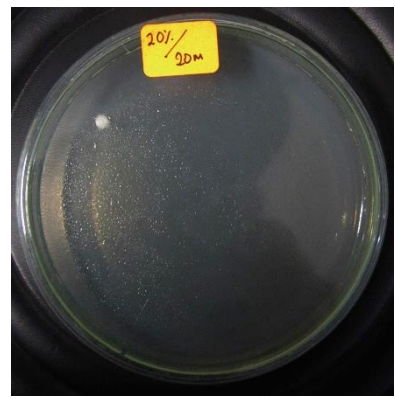
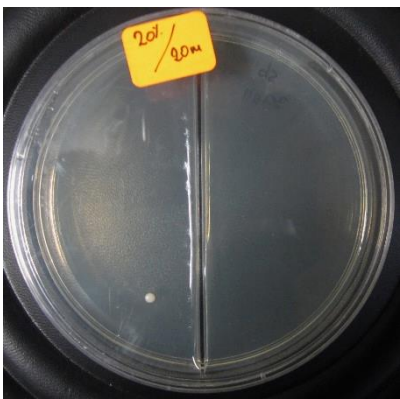


Tiempo: 8 horas.

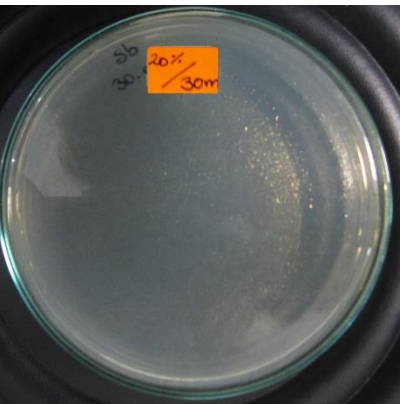
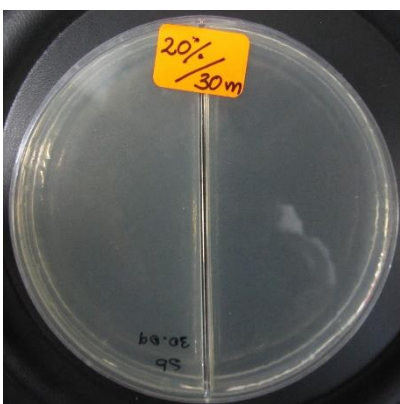
**Imágen 7.** Infusión de corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 20%.



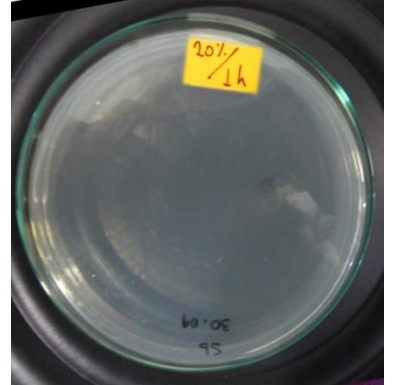
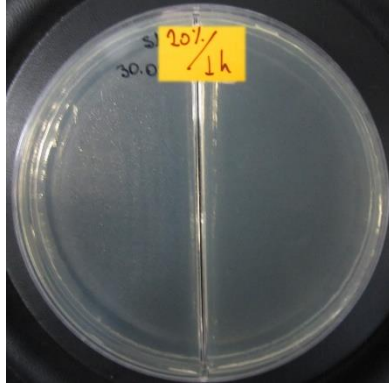
Tiempo: 10 minutos.



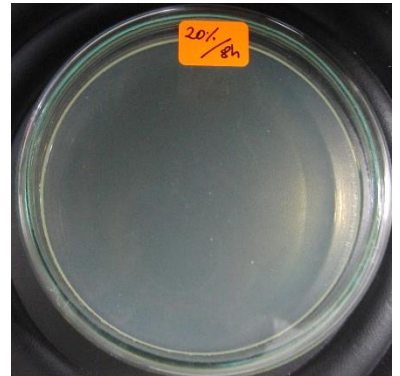
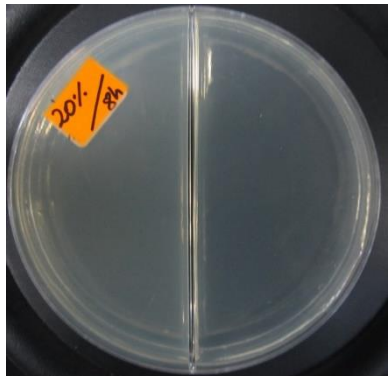
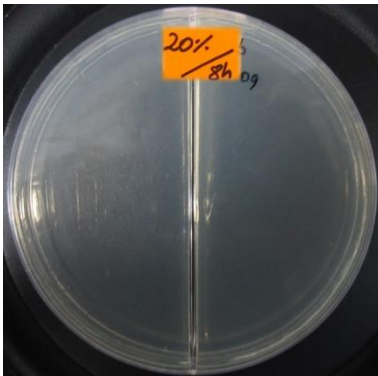
Tiempo: 20 minutos.



Tiempo: 30 minutos.



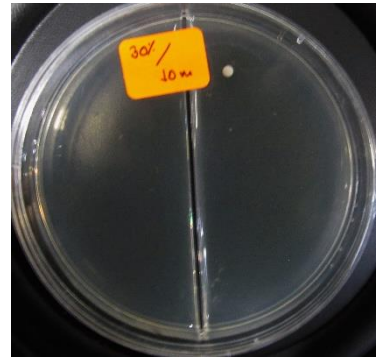
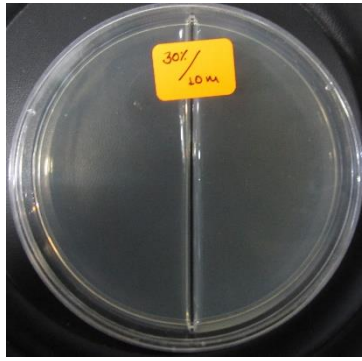
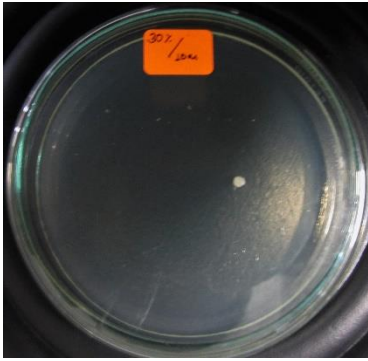
Tiempo: 1 hora.



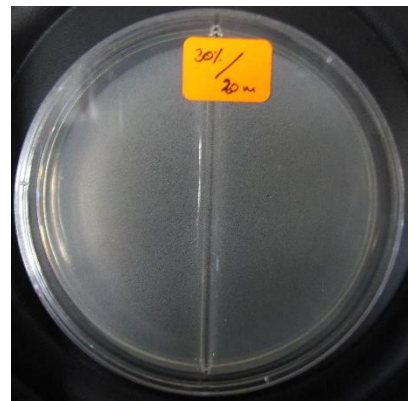
Tiempo: 8 horas.



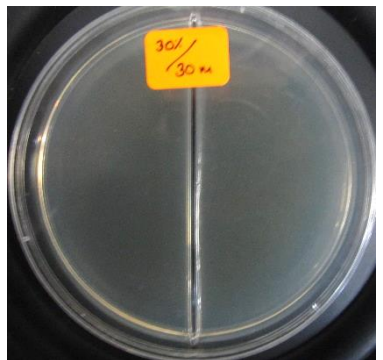
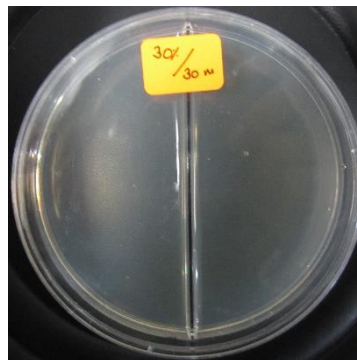
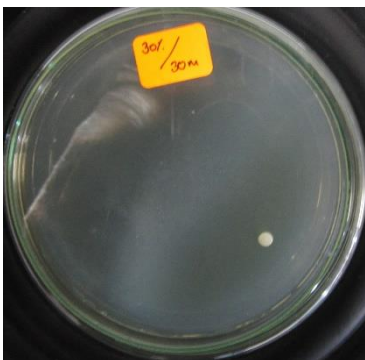
**Imágen 8.** Infusión de corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) al 30%.



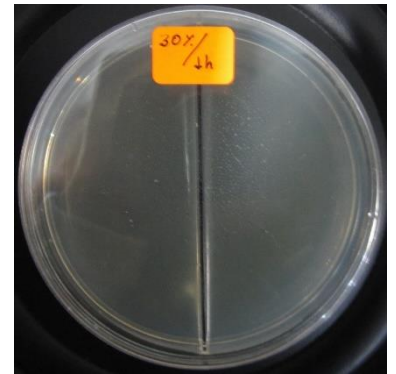
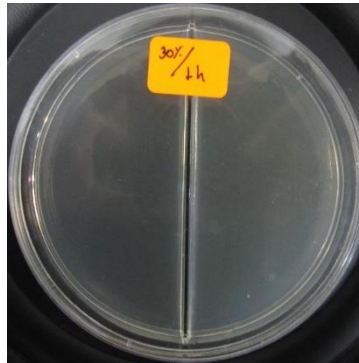
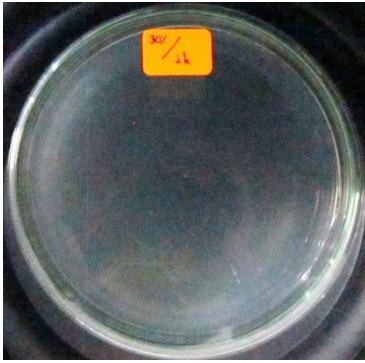
Tiempo: 10 minutos.



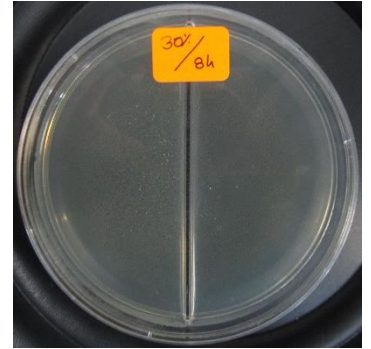
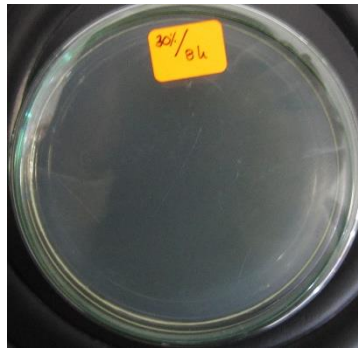
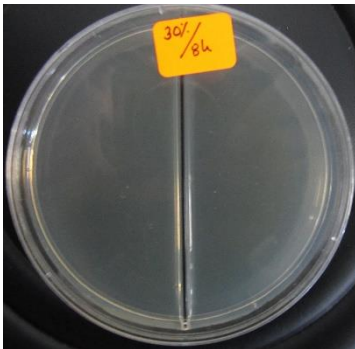
Tiempo: 20 minutos.



Tiempo: 30 minutos.

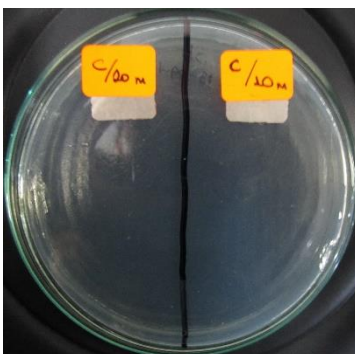


Tiempo: 1 hora.

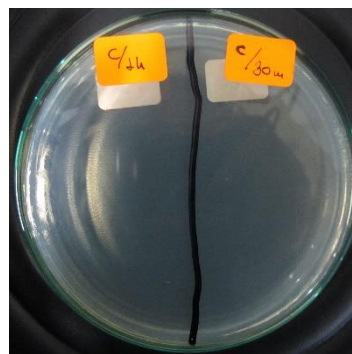


Tiempo: 8 horas.

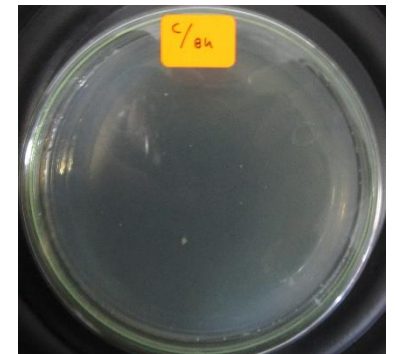
**Imágen 9.** Clorhexidina al 0,12%.



Tiempo: 10 minutos / 20 minutos.



Tiempo: 30 minutos / 1 hora.



Tiempo: 8 horas.