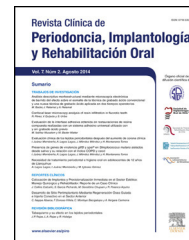




Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral

www.elsevier.es/piro



TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Ocurrencia de levaduras del género *Candida* y estomatitis protésica antes y después del tratamiento rehabilitador basado en prótesis removible[☆]



Ximena Lee Muñoz^{a,*}, Nataly Cajas Cajas^b, Leyla Gómez Carranza^c,
Cristian Vergara Núñez^d, Mariana Ivankovic Silva^e y Elizabeth Astorga Bustamante^f

^a Cirujano Dentista, Especialista en Rehabilitación Oral, Magister en Educación en Ciencias de la Salud, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Chile

^b Cirujano Dentista, Dentista General de Zona, Chile

^c Tecnólogo Médico, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Chile

^d Cirujano Dentista, Especialista en Rehabilitación Oral y Ortopedia y Ortodoncia dentomaxilofacial, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Chile

^e Cirujano Dentista, Odontóloga Atención Primaria de Salud, Chile

^f Cirujano Dentista, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Chile

Recibido el 9 de enero de 2014; aceptado el 6 de julio de 2014

Disponible en Internet el 1 de abril de 2015

PALABRAS CLAVE

Prótesis removible;
Estomatitis protésica;
Candida

Resumen El 63,2% de la población chilena mayor de 65 años utiliza prótesis removible. Cuando estas pierden funcionalidad pueden producirse lesiones en la mucosa oral, siendo la más prevalente la estomatitis protésica, proceso inflamatorio de la mucosa de soporte de diversa extensión y severidad, cuyo principal factor etiológico es la infección por *Candida* spp. El objetivo de esta investigación fue determinar la cantidad y las especies de levaduras del género *Candida* y su asociación con estomatitis protésica en portadores de prótesis removible antes y después del tratamiento rehabilitador. Se realizó un estudio descriptivo cuantitativo, n = 34, en ambos géneros, edad promedio de 69 años, portadores de prótesis removible no funcionales, con y sin estomatitis protésica. Para el recuento e identificación de levaduras del género *Candida* se tomaron muestras de saliva antes y después del tratamiento. Las variables fueron analizadas estadísticamente. Los resultados indicaron el diagnóstico de estomatitis protésica en el 55,9% de los sujetos, de los cuales tipo I = 29,4% y tipo II = 26,5%. Los recuentos de *Candida* spp. fueron mayores en aquellos con estomatitis protésica, tanto antes como después del tratamiento. Al

[☆] Adscrito al Proyecto de investigación PRI-ODO 2011 11-04: «Estudio cuantitativo de la ocurrencia de levaduras del género *Candida* en pacientes chilenos portadores y no portadores de prótesis, con o sin estomatitis protésica» Santiago, Chile, 2012.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ximendalee@gmail.com (X. Lee Muñoz).

instalar prótesis funcionales el recuento disminuyó significativamente, sin embargo permaneció alto en aquellos con estomatitis protésica diagnosticada previa al tratamiento rehabilitador. La especie identificada más frecuentemente fue *Candida albicans*.

© 2014 Sociedad de Periodoncia de Chile, Sociedad de Implantología Oral de Chile y Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral de Chile. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Removable prosthesis;
Denture stomatitis;
Candida spp

Occurrence of genus *Candida* yeast and prosthetic stomatitis before and after rehabilitation treatment based on removable prosthesis

Abstract Almost two-thirds (63.2%) of the Chilean population aged 65 and above use removable prosthesis. When they cease to be functional, injuries may occur in the oral mucosa, with denture stomatitis being the most prevalent. This is an inflammatory process of the supportive mucosa of varying extension and severity, with its main etiologic factor being infection by *Candida* spp. The aim of this investigation was to determine the quantity and species of yeast of the genus *Candida* and their association with denture stomatitis in carriers of removable prosthesis, before and after the rehabilitation treatment. A descriptive quantitative study was conducted on 34 patients, with a mean age of 69 years, and carriers of a non-functional removable prosthesis, with and without prosthetic stomatitis. Saliva samples were taken before and after the treatment for the counting and identification of genus *Candida* yeast. The variables were statistically analyzed. The results showed a diagnosis of prosthetic stomatitis in 55.9% of the subjects, of which 29.4% were Type I and 26.5% were Type II. The *Candida* spp count was higher in the subjects with prosthetic stomatitis both before and after the treatment. The count decreased significantly after installing a functional prosthesis. However, it remained high in those with prosthetic stomatitis. The most frequently identified species was *Candida albicans*. © 2014 Sociedad de Periodoncia de Chile, Sociedad de Implantología Oral de Chile y Sociedad de Prótesis y Rehabilitación Oral de Chile. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La salud oral en general se considera deficiente entre las personas adultas, debido a la elevada prevalencia de edentulismo, caries y enfermedad periodontal¹. Respecto del edentulismo, para rehabilitar al paciente generalmente se confeccionan prótesis removibles (PR). El uso de estas altera las condiciones orales, causando queratinización y lesiones microtraumáticas en la mucosa de las zonas edéntulas, cuya etiología puede ser infecciosa, mecánica y/o alérgica^{2,3}. Otros factores tales como la higiene deficiente, las irregularidades superficiales, los desajustes y la presión negativa en la zona de contacto prótesis-mucosa favorecen la formación del biofilm, permitiendo la acción de microorganismos en la mucosa.

La lesión de la mucosa oral más prevalente en portadores de PR es la estomatitis protésica (ESP), proceso inflamatorio que afecta la mucosa de soporte protésico de diversa extensión y severidad⁴. La prevalencia varía entre el 6,5% al 75% de acuerdo a la población en estudio⁵. En Chile, un estudio en adultos mayores (región metropolitana, 2003), evidenció que esta lesión afecta al 34% de los sujetos portadores de PR⁶.

El diagnóstico de ESP es fundamentalmente clínico, identificándose 3 estadios según la severidad: tipo I inflamación localizada puntiforme; tipo II mucosa lisa, atrófica,

eritematosa, con inflamación difusa y amplia en relación con la zona de contacto protésico; y tipo III lesión inflamatoria crónica con hiperplasia papilar⁷.

El principal factor etiológico de ESP es la presencia de levaduras del género *Candida* (LGC), que comienza a colonizar como comensal (20% a 70% de los sujetos sanos), pero que al producirse un desequilibrio hospedero-patógeno se transforman en oportunistas^{4,8}. Entre las LGC *Candida albicans* es la especie que comúnmente produce infecciones orales, comprendiendo hasta el 70% de los aislados⁴. Del porcentaje restante *Candida dubliniensis* está involucrada en casos de resistencia antifúngica, y presenta características fenotípicas similares a *Candida albicans*, por ello debe diferenciarse una especie de otra^{9,10}.

Frente a la instalación de *Candida* el uso de PR dificulta la llegada de anticuerpos salivales, condicionando la creación de un medio ácido y anaerobio que favorece su proliferación, adhesión y patogenicidad, activando fosfolipasas extracelulares y proteinasas ácidas de *Candida* spp.^{11,12} *Candida* también es favorecida por su capacidad para evadir mecanismos de defensa del hospedero, colonizando y persistiendo en el epitelio por medio de secreción de enzimas hidrolíticas y transición fenotípica de blastosporas a hifas o pseudohifas¹³.

Debido al diferente patrón y grado de susceptibilidad de las especies *Candida* spp. frente a antifúngicos, es aconsejable identificar con métodos microbiológicos las

especies aisladas de muestras clínicas⁴. Para ello se utilizan pruebas basadas en diversos criterios de identificación¹⁴. En 1994 Odds¹⁵ describió un sistema bioquímico que se basó en detectar reacciones enzimáticas especie-específicas mediante hidrólisis de un sustrato con propiedades cromogénicas, para identificar LGC en función de los colores que presente el desarrollo colonial.

Al aislar levaduras orales se podría diferenciar objetivamente aquellos sujetos portadores sanos de los que presentan infección. Epstein¹⁶ estableció una correlación numérica entre presencia de signos y síntomas de infección y recuento de *Candida albicans* > 400 UFC/ml de saliva. Torres¹⁷ concluyó que sujetos con diagnóstico de candidiasis oral tienen recuento promedio de 1×10^3 UFC/ml versus < 400 UFC/ml de *Candida* spp. en sujetos sanos. Salazar¹⁸ develó que sujetos sin signos clínicos de infección por *Candida* spp. presentan recuentos < 400 UFC/ml. Otro estudio demostró que sujetos con candidiasis presentan en promedio 41,933 UFC/ml *Candida* spp.¹⁹, sin embargo Hofling²⁰, estudiando sujetos sin signos de infección oral por LGC, evidenció recuentos > 400 UFC/ml. Pires²¹ analizó recuento y especies de *Candida* spp. y su asociación con ESP antes y 6 meses después del reemplazo protésico, concluyendo que el recuento en sujetos con ESP fue > 400 UFC/ml, 53,8% antes y 85,7% después. La prevalencia de ESP fue 50,6% y 18,2% en la primera y segunda evaluación. Por lo tanto, los resultados sugieren que la expresión clínica de ESP, no está relacionada directamente con la presencia y cantidad de LGC, sino más bien con calidad protésica además del factor infeccioso. Altos recuentos después del reemplazo protésico debe ser considerado como factor que predispone a la recurrencia de ESP.

Determinar el recuento salival de LGC en sujetos portadores de PR con y sin ESP permitiría establecer la cantidad de microorganismos que podrían marcar la diferencia entre salud y enfermedad. La importancia de ello radica en que un recuento alto detectado precozmente indicaría la necesidad de implementar acciones clínicas para prevenir o tratar la instalación de cuadros de ESP causados por LGC. De allí entonces que se plantea como objetivo general comparar el recuento de LGC en saliva de sujetos portadores de PR no funcionales antes y después del tratamiento rehabilitador y establecer su relación con ESP.

Materiales y métodos

Este estudio de tipo descriptivo cuantitativo comprendió 34 sujetos portadores de PR no funcionales, 21 mujeres y 13 hombres, entre 48-83 años, rehabilitados en la Facultad de Odontología, Universidad de Chile, que cumplían con los criterios de inclusión y aceptaron voluntariamente participar firmando el consentimiento informado. Cabe destacar que los sujetos cumplieron previamente con los criterios de selección de pacientes para la atención odontológica en la Clínica de prótesis totales, incluyéndose pacientes desdentados totales o parciales que conservaran menos de 7 dientes en la boca. Los criterios de inclusión fueron: adultos sanos o con enfermedad sistémica leve a moderada controlada (ASA I y II); desdentados parciales o totales portadores de PR no funcionales, con o sin ESP. Los criterios de exclusión fueron: no aceptar participar en el estudio, presencia

de enfermedades sistémicas descompensadas o graves (ASA III o superior) y haber consumido fármacos antibióticos, antifúngicos y/o esteroideos hasta 15 días previo a la toma de la muestra.

El examen y diagnóstico clínico fue realizado por un odontólogo, categorizándolos de acuerdo a la condición clínica inicial de la mucosa oral de acuerdo a la severidad en tipos I, II y III⁷. Los sujetos diagnosticados con ESP fueron tratados clínicamente durante el período en que se llevó a cabo el tratamiento rehabilitador. Las PR fueron evaluadas mediante examen directo, clasificándolas como no funcionales según la presencia de uno o más de estos criterios: daño o fractura, desgaste dentario, falta de retención y/o soporte, inestabilidad o desajuste protésicos.

Toma de muestras: cada voluntario debió suspender el uso de colutorios 15 días antes de la toma de muestras, tener al menos 2 h de ayuno y no haber fumado ni realizado procedimientos de higiene oral. Estas indicaciones fueron proporcionadas previamente por escrito. Esta etapa de estudio tuvo 2 fases; fase 1: toma de muestras de saliva no estimulada durante la etapa de examen clínico y antes del tratamiento rehabilitador y fase 2: toma de muestras de saliva no estimulada, 3 semanas después de terminado el tratamiento rehabilitador. El tiempo promedio transcurrido entre ambas fases fue de 5 meses. Para el procesamiento de las muestras se utilizó el análisis microbiológico clásico, ya que está enmarcado dentro de una actividad docente, y con congelamiento de las mismas con el fin de realizar en el futuro estudios más complejos.

Cada sujeto depositó 2 ml de saliva en un tubo de ensayo estéril el cual, rotulado y sellado, se trasladó refrigerado para su procesamiento en un plazo inferior a 4 h. El análisis microbiológico fue realizado en el laboratorio de microbiología siguiendo los protocolos de bioseguridad establecidos. Se realizó el recuento viable en placa de agar para obtener UFC/ml saliva de LGC. Cada muestra de saliva se diluyó 1/10 y 1/100 en *buffer* fosfato estéril pH 7,4, sembrando 100 μ l de cada dilución en agar sabouraud suplementado con cloramfenicol. Finalizado el tiempo de incubación se realizó el recuento de colonias. De cada muestra con cultivo positivo se obtuvo un aislado puro que fue criopreservado; para ello se sembró y cultivó una colonia en caldo Todd-Hewitt²². Este cultivo se envasó en criotubos con glicerol estéril congelando a -20°C . Para identificar especies de LGC los aislados obtenidos fueron sometidos a pruebas fenotípicas (microcultivo en agar maíz y prueba del tubo germinativo), ensayos bioquímicos-enzimáticos (siembra en agar cromogénico) y tolerancia a la temperatura.

Microcultivo en agar maíz: de cada aislado en agar sabouraud se sembró y cultivó en agar maíz por 48 h a 25°C para la búsqueda de clamidosporas terminales o subterminales a través de campo claro²³. Las muestras que presentaron clamidosporas se identificaron como *Candida albicans*/*Candida dubliniensis*. Las muestras que no las presentaron se identificaron como *Candida* spp. no *albicans*.

Prueba del tubo germinativo: de cada aislado se sembró una azada en plasma humano, incubando a 37°C por 2 h. Una gota de la siembra se observó microscópicamente entre lámina y laminilla, identificándose *Candida albicans*/*Candida dubliniensis* cuando se observó la formación de un tubo delgado de paredes rectas, paralelas y sin punto de constricción en el inicio de la blastospora. Las muestras

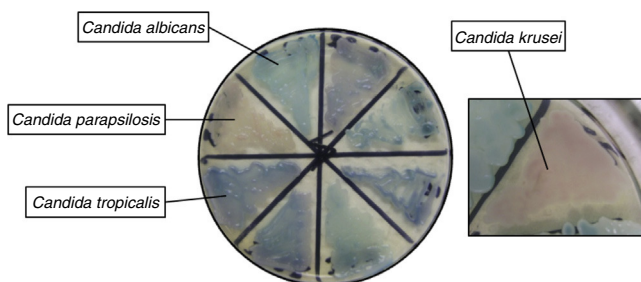


Figura 1 Especies identificadas en medio cromogénico Cromocandida®.

que no lo presentaron se identificaron como *Candida* spp. no *albicans*.

Para la identificación por criterios bioquímico-enzimáticos²³, cada aislado fue sembrado y cultivado en medio de cultivo cromogénico Cromocandida® (fig. 1). Las levaduras crecidas en este medio fueron identificadas de acuerdo a las características colorimétricas y morfológicas¹⁵ (tabla 1).

Prueba de termorresistencia: los aislados clasificados por las pruebas anteriores como *Candida albicans*/*Candida dubliniensis* se sembraron e incubaron en agar sabouraud a 45 °C por 48 h, utilizando como control *Candida albicans* ATCC 90029²⁴. Los aislados que presentaron crecimiento se consideraron *Candida albicans*, y los que no como *Candida dubliniensis*.

Para el análisis de datos estos fueron transferidos a una planilla Excel 2007® y procesados con el software Stata® versión 11. Las variables fueron relacionadas entre sí y analizadas con el test de correlación de Pearson, con corrección de Yates o con el test exacto de Fisher. Las variables con más de 2 grupos fueron analizadas con el test Kruskal Wallis. La comparación estadística antes y después del tratamiento se realizó con el test del signo. Se consideró estadísticamente significativo $p \leq 0,05$.

Resultados

Antes del tratamiento rehabilitador el 55,9% de los sujetos presentaban ESP, un 29,4% correspondió a tipo I y un 26,5% a tipo II. ESP fue mayor en mujeres (71,4%) que en hombres portadores de PR no funcionales (30,8%) ($p = 0,049$) (fig. 2).

El 23,1% de los hombres presentaron ESP tipo I y 7,7% tipo II; entre las mujeres el 33,3% tipo I y 38,1% tipo II ($p = 0,3$). Antes del tratamiento rehabilitador, en sujetos portadores de PR no funcionales se observó 47,1% de LGC, 57,9% en individuos con ESP y 33,3% con mucosa oral sana MOS ($p = 0,154$). El 60% de sujetos con ESP tipo I y 55,6% de los tipo II



Figura 2 Distribución según diagnóstico clínico inicial por género (n = 34).

presentaron *Candida* spp. ($p = 0,845$). Al portar PR nuevas y funcionales el 50% de los sujetos presentaron cultivos positivos para LGC. Asimismo, se observó *Candida* en el 26,7% de aquellos que inicialmente tenían mucosa oral sana (MOS) y en el 68,4% de los diagnosticados con ESP, con diferencia estadística entre ESP y presencia de LGC ($p = 0,038$). El 80% de los sujetos con ESP tipo I y 55,6% con tipo II presentaron cultivos positivos para *Candida* spp. ($p = 0,252$). La presencia de LGC disminuyó en individuos con MOS y aumentó en individuos con ESP ($p = 0,726$) después del tratamiento rehabilitador. Según el diagnóstico inicial, y antes del tratamiento rehabilitador, la mediana del recuento de LGC en ESP fue mayor (4×10^3 UFC/ml) que en MOS (1×10^3 UFC/ml) ($p = 0,7123$). La mediana del recuento según la severidad de ESP fue mayor en los tipo I ($1,2 \times 10^3$ UFC/ml) que en los tipo II (2×10^3 UFC/ml) ($p = 0,4780$). Después del tratamiento rehabilitador en todas las categorías clínicas disminuyó el recuento. La diferencia en la mediana se mantuvo en MOS (200 UFC/ml) y ESP (700 UFC/ml) ($p = 0,8253$). La mediana del recuento según la severidad de ESP también disminuyó de $1,2 \times 10^3$ UFC/ml (tipo I) a 550 UFC/ml (tipo II) ($p = 0,3465$).

Antes del tratamiento rehabilitador el 33,3% de los sujetos con MOS y 52,6% con ESP presentaron recuento > 400 UFC/ml ($p = 0,486$). El 50% de los sujetos con ESP tipo I y 55,6% con tipo II presentaron recuentos > 400 UFC/ml ($p = 0,338$). Después del tratamiento rehabilitador el 6,7% de individuos con MOS y el 42,1% de sujetos con ESP presentaron recuentos > 400 UFC/ml ($p = 0,2$). Recuentos > 400 UFC/ml se observaron en el 40% de los sujetos con ESP tipo I y en el 44,4% con ESP tipo II ($p = 0,279$). Después del tratamiento rehabilitador el recuento de LGC disminuyó en todos los grupos estudiados ($p = 0,0327$) (fig. 3).

Tabla 1 Identificación de cepas en medio Cromocandida® según color y características morfológicas

Cepa	Color	Características morfológicas
<i>Candida albicans</i>	Verde	Colonias lisas
<i>Candida glabrata</i>	Rosa-rojizo-púrpura	Colonias lisas
<i>Candida krusei</i>	Rosa pálido	Colonias grandes, planas y rugosas con amplios bordes blancos
<i>Candida parapsilosis</i>	Blanco-marfil	Colonias lisas
<i>Candida tropicalis</i>	Azul-violáceo	Colonias lisas con halo púrpura-marrón

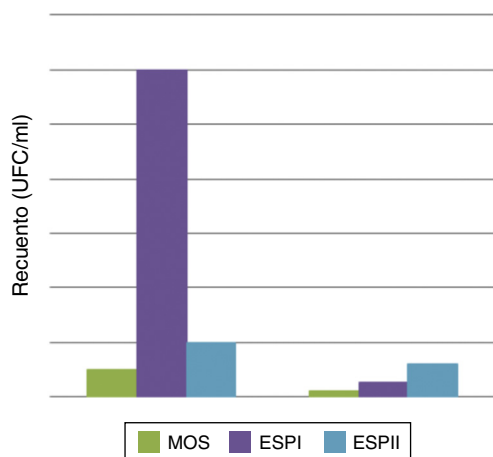


Figura 3 Comparación de medianas del recuento de *Candida* según diagnóstico clínico inicial antes (n = 16) y después del tratamiento rehabilitador (n = 17).

Antes del tratamiento protésico el 75% de los aislados fueron *Candida albicans* y el 25% *Candida spp. no albicans*. Según el diagnóstico clínico inicial el 80% de los aislados de sujetos con MOS y el 72,7% con ESP corresponden a *Candida albicans*. *Candida spp. no albicans* se observó principalmente en sujetos con ESP. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre presencia de la lesión y especies de LGC (p=0,755). Se observó *Candida albicans* en el 66,7% de aislados de individuos con ESP tipo I; el 80% de aislados de sujetos ESP tipo II correspondían a *Candida albicans* y *Candida spp. no albicans* en aquellos con menor severidad de ESP (p=0,621). Después del tratamiento rehabilitador, de todas las muestras estudiadas el 82,4% correspondían a *Candida albicans* y el 17,6% a *Candida spp. no albicans*. *Candida albicans* se aisló en el 100% de individuos con MOS y en el 76,9% con ESP. *Candida spp. no albicans* se observó en el 23,1% de aislados de individuos con ESP (p=0,290). El 62,5% de los aislados de sujetos con ESP tipo I correspondieron a *Candida albicans* y el 37,5% a *Candida spp. no albicans*, 100% de aislados de sujetos con ESP tipo II fueron *Candida albicans* (p=0,118). Después del tratamiento rehabilitador aumentó el recuento de *Candida albicans* y disminuyó el de *Candida spp. no albicans* (p=0,5).

Las especies clasificadas como *Candida spp. no albicans* fueron identificadas como *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida parapsilosis*, no detectándose *Candida glabrata* ni *Candida dubliniensis* (tabla 2).

Discusión

Esta investigación develó frecuencia de 55,9% de ESP en sujetos portadores de PR no funcionales, coincidiendo con la alta prevalencia descrita a nivel mundial de hasta el 75%⁵. Este resultado es concordante con Freitas²⁵, cuya prevalencia en adultos brasileños portadores de prótesis totales fue del 58,2%, y mayor al demostrado por Espinoza⁶, que evidenció una prevalencia del 34% en adultos mayores chilenos portadores de PR, cuyo estado protésico no fue evaluado. En este estudio fueron incluidos solo portadores de PR no funcionales, porque se sabe que es un factor de riesgo para el desarrollo de ESP^{26,27}.

La ESP tipo I fue más frecuente (29,4%) que la de tipo II (26,5%), sin presencia de tipo III, concordando con lo descrito por Abaci²⁸ cuya frecuencia fue: tipo I = 22,2% y tipo II = 15,6%, sin presencia de tipo III; Pires²¹ evidenció que ESP tipo I afecta al 27,3% de los sujetos, 18,2% tipo II y 5,2% tipo III. Se ha sugerido que ESP tipo I se asocia al uso de PR deficientes y que las ESP tipo II y III con higiene deficiente e infección por *Candida spp.*²⁷.

En esta investigación la ESP fue más frecuente en mujeres (71,4%) que en hombres (30,8%), similar a lo reportado por Pires²¹ (mujeres = 59,2%; hombres = 35,7%), todos portadores de PR que acudían a recambio protésico, desvelando asociación estadísticamente significativa entre género y presencia de ESP. Las razones de una prevalencia mayor de ESP en mujeres no están claras, sugiriéndose que el cambio hormonal, relacionado con el periodo posmenopáusico, podría favorecer la proliferación de *Candida spp.* y la presencia de osteoporosis incrementaría el riesgo de reabsorción del reborde residual, generando mayor desajuste protésico, teniendo en cuenta que los principales factores etiológicos de ESP corresponden al ajuste deficiente y presencia de *Candida spp.*²⁸⁻³⁰. Por lo tanto, son importantes los controles protésicos periódicos para mujeres posmenopáusicas, para detectar desajustes, realizar rebasados o reemplazo protésico y efectuar recuento de *Candida spp.* Lo anterior no implica que los hombres no acudan a controles protésicos periódicamente, ya que existen otros factores etiológicos asociados al desarrollo de ESP.

Candida spp. fue aislada en el 47,1% de los portadores de PR no funcionales y en 50% de los mismos sujetos cuando portaron prótesis nuevas y funcionales. Los resultados de este estudio concuerdan con lo reportado por Williams¹³, destacando que 50% de los individuos presentan *Candida spp.* como microorganismos comensales. Pires²¹ obtuvo mayor prevalencia, detectando un 84,4% de individuos con LGC en la primera evaluación y 79,2% en la segunda, 6 meses después de finalizado el tratamiento.

Tabla 2 Distribución porcentual de especies de *Candida* identificadas antes (n = 16) y después del tratamiento rehabilitador (n = 17)

Especie	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida spp. no albicans</i>		
		<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
Antes del tratamiento rehabilitador	75%	12,5%	6,3%	6,3%
Después del tratamiento rehabilitador	82,4%	5,9%	5,9%	5,9%

La presencia en saliva de LGC fue mayor en sujetos con ESP que con MOS, tanto antes (ESP 57,9%; MOS 33,3%) como después (ESP 68,4%; MOS 26,7%) del tratamiento, similar a lo evidenciado por Pires²¹, que asoció mayor frecuencia de estos hongos en sujetos con ESP que con MOS, de hecho el 100% con ESP tenían *Candida* spp. en ambas evaluaciones, antes y 6 meses después de recibir PR nuevas.

Como *Candida* spp. forma parte de la microbiota normal de muchos individuos, su presencia no es sinónimo de enfermedad, por ello es importante diferenciar portadores sanos de individuos con enfermedad infecciosa por LGC. En esta investigación, los individuos con MOS y portadores de PR no funcionales presentaron alto recuento de LGC (4×10^3 UFC/ml saliva), especialmente en portadores de ESP. En cambio Budtz-Jorgensen¹¹ evidenció un recuento 100 veces mayor en portadores de prótesis con ESP que en individuos con MOS. Las PR actuarían como reservorio permitiendo que los hongos se transformen de comensales a patógenos oportunistas³¹⁻³⁴. Antes del tratamiento rehabilitador el 33,3% de sujetos con MOS y el 52,6% con ESP presentaban recuentos > 400 UFC/ml, concordando con lo evidenciado por Pires, quien observó que antes del tratamiento rehabilitador el 39,5% de los individuos con MOS y el 53,8% con ESP tenían recuento > 400 UFC/ml. Recuento > 400 UFC/ml se presentó con mayor frecuencia en sujetos con ESP tipo II (55,6%) que en tipo I (50%), similar a lo reportado por Pires en su primera evaluación: ESP tipo I (47,6%) y ESP tipo II (57,1%). Además, en ese estudio se incluyeron sujetos con ESP tipo III, quienes presentaron mayor frecuencia (75%) de recuentos > 400 UFC/ml de saliva. Con el reemplazo protésico la frecuencia de recuentos > 400 UFC/ml disminuyó, presentándose en 6,7% de aquellos con MOS y 42,1% con ESP, disímil a lo reportado por Pires²¹ a los 6 meses de instaladas las PR, donde el 41,3% de los sujetos con MOS y el 85,7% de aquellos con ESP presentaron recuentos salivales > 400 UFC/ml, cifras que aumentaron probablemente por el mayor tiempo de uso protésico previo a la toma de muestra. El 40% de los sujetos con ESP tipo I y el 44,4% tipo II presentaban recuentos > 400 UFC/ml, sin diferencia estadística.

Considerando la relación entre cantidad de LGC y desarrollo de ESP, se observa que además de provocar la lesión las levaduras agravan el cuadro clínico: sujetos con mayor severidad de ESP presentaron frecuentemente recuentos > 400 UFC/ml, de ahí la importancia en controlar el crecimiento de LGC en estos sujetos. Si bien los recuentos disminuyeron en sujetos con PR, continúa elevado en sujetos con ESP, principalmente tipo II. Según esto, el reemplazo protésico y la mejoría clínica no siempre es seguida por la disminución del recuento de LGC. En este estudio sujetos portadores de PR no funcionales con MOS tenían recuentos de LGC más altos que en el estudio de Epstein¹⁶, quien definió que un recuento > 400 UFC/ml de LGC determinaba enfermedad. Por lo tanto, podemos considerar al recuento > 400 UFC/ml como predictor de la aparición de ESP o factor predisponente de recurrencia en personas con recuentos altos iniciales y diagnóstico de ESP.

La disminución significativa en el recuento de *Candida* spp. en todos los grupos estudiados, principalmente en ESP tipo I después de instaladas las PR nuevas, demuestra asociación entre recuento de LGC y desarrollo de ESP cuando el estado protésico no es funcional. *Candida albicans* fue la especie más frecuente antes (75%) y después (82,4%)

del tratamiento rehabilitador, similar a lo evidenciado por Abaci²⁸, quien observó que el 82,2% de los aislados de sujetos portadores de PR correspondían a *Candida albicans*. Al instalar PR nuevas las especies de levaduras en saliva cambian, solo se observó *Candida* spp. no *albicans* en sujetos con ESP tipo I. *Candida albicans* se aisló de sujetos con ESP tipo II y MOS. Probablemente esto se deba a que durante el tratamiento rehabilitador el sujeto es tratado clínicamente por ESP de acuerdo a la severidad mediante ajuste oclusal, rebasados, aplicación de acondicionador de tejidos, o prescribiéndose antifúngicos tópicos o sistémicos para cuadros severos o recurrentes asociados a ESP tipo II o III. Es importante realizar un diagnóstico microbiológico precoz, que permita detectar presencia y recuento de *Candida*, lo que posibilita tratar la ESP o prevenir su instalación en sujetos susceptibles controlando el factor etiológico infeccioso.

Candida spp. no *albicans* detectadas en sujetos portadores de PR antes del tratamiento rehabilitador fueron *Candida tropicalis* (12,5%), *Candida krusei* (6,3%) y *Candida parapsilosis* (6,3%). Después del tratamiento rehabilitador la frecuencia fue de 5,9% cada una de las *Candida* spp. no *albicans*. Estos porcentajes son similares a la prevalencia reportada por Aguirre⁴. Aunque la presencia de *Candida* spp. no *albicans* fue menor, el hecho de que la tuvieran sujetos con ESP es importante, puesto que la identificación de LGC permite un tratamiento adecuado al patrón y grado de susceptibilidad de las diferentes especies. Por otra parte, las PR modifican el microambiente oral permitiendo que LGC se transformen en patógenos oportunistas, que sumado al deficiente estado protésico conduce a ESP²⁷. Cuando la lesión ha sido diagnosticada el tratamiento odontológico debe enfocarse en los factores etiológicos, enfatizando la importancia del examen microbiológico para indicar correctamente antifúngicos sin generar resistencia a fármacos de uso convencional. El objetivo del tratamiento de ESP no debe ser tan solo la búsqueda de una MOS, sino recuperar y mantener el equilibrio de la microbiota fúngica oral.

Como conclusión de este estudio, determinar el recuento salival de LGC en sujetos portadores de PR con y sin ESP, permite establecer la cantidad de microorganismos que pueden marcar la diferencia entre salud y enfermedad. La importancia de ello radica en que un recuento > 400 UFC/ml detectado precozmente indica la necesidad de implementar acciones preventivas o de tratamiento específico de ESP causada por LGC.

Financiación

Los autores declaran no tener ninguna vinculación comercial ni financiera con cualquiera de los productos utilizados para la realización de esta investigación. La presente investigación fue realizada mediante autofinanciación de la Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores de la presente investigación agradecen a los Departamentos de Prótesis y Patología y Medicina Oral, de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Bibliografía

- Petersen P, Yamamoto T. Improving the oral health of older people: The approach of the WHO Global Oral Health Programme Community. *Dent Oral Epidemiol.* 2005;33:81–92.
- Silva R, Albuquerque Z. Materiais e métodos de higienização para próteses removíveis. *Int J Dent Recife.* 2008;7:125–32.
- Huunonen S, Haikola B, Oikarinen K, Derholm A, Remes-Lyly T, Sipilä K. Residual ridge resorption, lower denture stability and subjective complaints among edentulous individuals. *J Oral Rehab.* 2012;39:384–90.
- Aguirre J. Candidiasis orales. *Rev Iberoam Micol.* 2002;19:17–21.
- Emami E, Taraf H, Grandmont P, et al. The Association of Denture Stomatitis and Partial Removable Dental Prostheses: A Systematic Review. *Int J Prosthodont.* 2012;25:113–9.
- Espinoza I, Rojas R, Aranda W, Gamonal J. Prevalence of oral mucosal lesions in elderly people in Santiago, Chile. *J Oral Pathol Med.* 2003;32:571–5.
- Ayuso R, Torrent J, Lopez J. Estomatitis protésica: puesta al día. *RCOE.* 2004;4:657–62.
- Rodríguez J, Miranda J, Morejón H, Santana J. Candidiasis de la mucosa oral. Revisión bibliográfica. *Rev Cubana Estomatol.* 2002;39:7.
- Sullivan D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: Characteristics and identification-minireview. *J Clin Microbiol.* 1998;36:329–34.
- Quesada C, Murillo L, Ureña M, Vargas E. *Candida dubliniensis*: caracterización, diagnóstico, importancia en pacientes inmunocomprometidos y diferenciación de *C. albicans*, revisión bibliográfica. *Rev Méd Costa Rica Centroamerica.* 2007;64:43–8.
- Budtz-Jørgensen E. Ecology of *Candida*-associated denture stomatitis. *Microb Ecol Health Dis.* 2000;12:170–85.
- Brevis P, Cancino J, Cantín M. Estomatitis subprótesis: estudio clínico y microbiológico de *Candida*. *Int J Odontostomat.* 2008;2:101–8.
- Williams D, Kuriyama T, Silva S, Malic S, Lewis M. *Candida* biofilms and oral candidosis: Treatment and prevention. *Periodontology* 2000. 2011;55:250–65.
- Díaz M, Silva V, Hermsilla G. Curso internacional de micología médica—manual práctico. 2003;10:53–73.
- Odds F, Bernaerts R. ChromAgar *Candida* a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol.* 1994;32:1923–9.
- Epstein J, Pearsall N, Truelove E. Quantitative relationships between *Candida albicans* in saliva and the clinical status of human subjects. *J Clin Microbiol.* 1980;12:475–6.
- Torres S, Peixoto C, Caldas D, et al. Clinical aspects of *Candida* species carriage in saliva of xerostomic subjects. *Med Mycol.* 2003;41:411–5.
- Salazar M, Sacsquispe S. Presencia de hifas de *Candida* en adultos con mucosa oral clínicamente saludable. *Rev Estomatol Hered.* 2005;15:54–9.
- Mohammad A, Giannini P, Preshaw P, Alliger H. Clinical and microbiological efficacy of chlorine dioxide in the management of chronic atrophic candidiasis: An open study. *Int Dent J.* 2004;54:154–8.
- Höfling J, Moreira D, Spolidorio D, Rosa E, Pereira C. Salivary counts of *Candida* species and biotypes in Brazilian children aged 6–8 year old having a socio-economic background. *Act Odont.* 1999;37:4.
- Pires F, Santos E, Bonan P, de Almeida O, Lopes M. Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil.* 2002;29:1115–9.
- García M, Uruburu F. La conservación de cepas microbianas. *Bol Inf Soc Esp Microb.* 2000;30:12–6.
- Pemán J, Martín E, Rubio M. Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. *Rev Iberoam Micol.* 2007;2(11):1–20.
- Pinjon E, Sullivan D, Salkin I, Shanley D, Coleman D. Simple, inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol.* 1998;36:2093–5.
- Freitas J, Gomez R, de Abreu M, Ferreira E. Relationship between the use of full dentures and mucosal alterations among elderly Brazilians. *J Oral Rehabil.* 2008;35:370–4.
- Figueiral M, Azul A, Pinto E, Fonseca P, Branco F, Scully C. Denture-related stomatitis: Identification of aetiological and predisposing factors—a large cohort. *J Oral Rehabil.* 2007;34:448–55.
- Gendreau L, Loewy Z. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont.* 2011;20:251–60.
- Abaci O, Haliki A, Ozturk B, Toksavul S, Ulusoy M, Boyacioglu H. Determining *Candida* spp. incidence in denture wearers. *Mycopathologia.* 2000;169:365–72.
- Sanfilippo F, Bianchi A. Osteoporosis: The effect on maxillary bone resorption and therapeutic possibilities by means of implantprostheses—a literature review and clinical considerations. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003;23:447–57.
- Golecka M, Mierzwinska E, Bychawska M. Influence of hormone supplementation therapy on the incidence of denture stomatitis and on chemiluminescent activity of polymorphonuclear granulocytes in blood of menopausal-aged women. *Eur J Med Res.* 2010;15:46–9.
- Zomorodian K, Nejabat N, Rajaei N, et al. Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. *Med Mycol.* 2010;49:208–11.
- Forbes B, Sahn D, Weissfeld A. *Bailey & Scott: diagnóstico microbiológico.* Editorial Médica Panamericana, 12° ed. 2009;50(5):696–704.
- Pasligh J, Radecke C, Fleischhacker M, Ruhnke M. Comparison of phenotypic methods for the identification of *Candida dubliniensis*. *J Microbiol Immunol Infect.* 2010;43:147–54.
- Estrada D, Dávalos A, Flores L, Mendoza R, Sánchez L. Comparación entre métodos convencionales, ChromAgar *Candida*® y el método de la PCR para la identificación de especies de *Candida* en aislamientos clínicos. *Rev Iberoam Micol.* 2011;28:36–42.