



ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO

**“EFECTO ANTIMICÓTICO DEL ACEITE DE BIXA ORELLANAL
(ACHIOTE) EN CÁNDIDA ALBICANS AISLADOS DE ESTOMATITIS
SUB-PROTÉSICA DE LA CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL 2017”**

MODALIDAD PARA OPTAR EL GRADO:

DOCTOR EN ODONTOLOGÍA

AUTOR:

Mg. LUCÍA FEBRUCIA POMA CASTILLO

ASESOR:

DRA. MERCEDES ROSA DOMINGA DONAYRE FERNANDEZ

JURADO:

DRA. ELIZABETH PAUCAR RODRÍGUEZ

DR. ROMAN MENDOZA LUPUCHE

DR. LUIS ANDRÉS GHEZZI HERNÁNDEZ

LIMA – PERÚ

2018

DEDICATORIA:

A mi hijo, mis padres y todos los docentes comprometidos con la enseñanza en el Perú, por sus encumbrados esfuerzos en forjar mejores profesionales

AGRADECIMIENTO:

A la Dra. Donayre Fernández, Mercedes por su asesoría permanente durante la realización de este trabajo, al Dr. Mario Carhuapoma por su ayuda con la obtención del aceite de Bixa Orellana (achiote), al Dr. Martín Añaños por sus aportes al presente trabajo.

INDICE

RESUMEN.....	9
SUMMARY	12
SOMMARIO.....	13
INTRODUCCIÓN	14
CAPÍTULO I.....	17
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.1 Antecedentes bibliografía y contextual.....	17
1.2 Planteamiento del problema.....	25
1.3. Formulación del problema	28
1.4 Objetivos	28
1.5 Justificación e importancia	29
1.6 Alcances y limitaciones	30
CAPÍTULO II	32
MARCO TEÓRICO.....	32
2.1 Teorías generales relacionadas con el tema.....	32
2.1.1 La estomatitis	32
2.1.2 Plantas medicinales	33
2.2 Achiote: nombre científico bixa orellana l.	35
2.2.1 Características botánicas.	37
2.2.2 Composición química.....	38
2.2.3 Estudios farmacológicos.	40
2.2.4. Investigaciones de toxicología	44
2.2.5. Estudios clínicos.....	46
2.2.6. Alternativas de terapia en estomatología	47
2.3. Cándida albicans.....	51
2.3.1 estomatitis sub-protésica	52
2.4 Bases teóricas especializadas sobre el tema	53
2.5 Marco conceptual	56
2.6 Hipótesis general	56

CAPÍTULO III.....	58
MÉTODO.....	58
3.1. Tipo de investigación.....	58
3.2. Diseño de investigación.....	59
3.3. Estrategia de prueba de hipótesis.....	59
3.4. Variables.....	59
3.5. Operacionalización de las variables.....	61
3.6. Población.....	62
3.7. Muestra.....	62
3.8. Procedimiento de la investigación.....	63
3.9. Instrumento de recolección de datos.....	66
3.10. Procedimientos de recolección de datos.....	67
3.11. Procesamiento y análisis de datos.....	68
CAPÍTULO IV.....	69
PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	69
4.1. Presentación de tablas y contrastación de hipótesis.....	69
4.2. Análisis e interpretación de datos.....	86
CAPÍTULO V.....	89
DISCUSIÓN.....	89
5.1 discusión.....	89
5.2 conclusiones.....	92
5.3 recomendaciones.....	93
5.4 referencias bibliográficas.....	94
ANEXOS.....	102
Anexo 1. Matriz de consistencia.....	103
Anexo 2: análisis de bixa orellana.....	104
Anexo 3: base de datos resultados.....	105
Anexo 4: control a las 24, 48 y 72 horas del extracto aceite de bixa orellana (achiote) al 5% vs <i>Candida albicans</i>	106
Anexo 5: control a las 24, 48 y 72 horas del extracto aceite de bixa orellana (achiote) al 10% vs <i>Candida albicans</i>	107
Anexo 6: control a las 24, 48 y 72 horas del extracto aceite de bixa orellana (achiote) al 20% vs <i>Candida albicans</i>	108

Anexo 7: control a las 24, 48 y 72 horas del extracto aceite de bixa orellana (achiote) al 40% vs <i>Candida albicans</i>	109
Anexo 8: control a las 24, 48 y 72 horas del extracto aceite de bixa orellana (achiote) al 60% vs <i>Candida albicans</i>	110
Anexo 9: control a las 24 y 72 horas del extracto aceite de bixa orellana (achiote) al 100% vs <i>Candida albicans</i>	111
Anexo 10: definición de términos	112

Índice de Tablas

Tabla 1. Operacionalización de variables	61
Tabla 2. Ficha de recolección de datos	66
Tabla 3. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 5% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	70
Tabla 4. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 10% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	71
Tabla 5. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 20% ante la cándida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	72
Tabla 6. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 40% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	73
Tabla 7. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 60% ante la cándida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	74
Tabla 8. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 100% ante la cándida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	75
Tabla 9. Efecto antimicótico in vitro de la Nistatina al 100.000 UI / ml ante el cándida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.	76

- Tabla 10. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 24 horas. 77
- Tabla 11. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 48 horas. 78
- Tabla 12. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y la Nistatina a las 72 horas..... 79
- Tabla 13. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) a las 24, 48, 72 horas frente a la Nistatina. 82
- Tabla 14. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 24 horas. 83
- Tabla 15. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 48 horas. 84
- Tabla 16. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 72 horas. 85

Índice de Figuras

Figura 1. Bixa Orellana L.....	37
Figura 2. Estructura química de los principales pigmentos de la Bixa Orellana	38
Figura 3. Candidiasis pseudomembranosa. Las placas blancas se desprenden al raspado.....	52
Figura 4. Estomatitis protética con sobreinfección candidiásica.	55
Figura 5. Extractos en la estufa.	64
Figura 6. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 5% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	70
Figura 7. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 10% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	71
Figura 8. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 20% ante la cándida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	72
Figura 9. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 40% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	73
Figura 10. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 60% ante la cándida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	74
Figura 11. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 100% ante la cándida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.....	75
Figura 12. Efecto antimicótico in vitro de la Nistatina al 100.000 UI / ml ante el cándida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.	76
Figura 13. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de cándida albicans para diferentes concentraciones de extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 24 horas.	77

- Figura 14. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 48 horas. 78
- Figura 15. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y la Nistatina a las 72 horas..... 79
- Figura 16. Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* a las 24 horas, para las diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote)..... 80
- Figura 17. Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* a las 48 horas, para las diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote)..... 80
- Figura 18. Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* a las 72 horas para las diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote)..... 81
- Figura 19. Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* a las 24, 48 y 72 horas para las diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) frente a la Nistatina..... 82
- Figura 20. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 24 horas. 83
- Figura 21. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 48 horas. 84
- Figura 22. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 72 horas. 85

RESUMEN

El presente estudio es de tipo experimental, investigación que tuvo como propósito determinar el efecto anti fúngico del aceite de Bixa Orellana L (achiote), en *Cándida Albicans* (ATCC 90028), que se aisló de la mucosa palatina de pacientes portadores de prótesis completa con diagnóstico de estomatitis sub-protésica, atendidos en la clínica estomatológica de la Universidad Nacional Federico Villarreal, el procedimiento para la investigación, se utilizó el aceite de achiote, en concentraciones de 5%,10%,20%,40%,60% y 100%, para luego ser comparado con la Nistatina al 100.000 UI / ml, la muestra estuvo conformada por 36 placas Petri, de 6mm de diámetro, donde se vertieron aproximadamente 20 cepas de *Cándida Albicans*, y sobre ellas se colocaron muestras de extracto de aceite de (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml, correspondiente a 18 grupos experimentales y 18 grupos de control con Nistatina al 100.000 UI / ml.

El procedimiento de laboratorio, se realizó a una temperatura de 37°C, con placas Petri, con un correcto procedimiento de esterilización, pasado esta fase se midió los halos de inhibición, en los tiempos programados de 24, 48, y 72 horas, apoyados con una regla de vernier en función al tiempo. Para evaluar y analizar los resultados, se utilizaron las pruebas de Friedman y U Mann Whitney, mediante las cuales se demostraron que la Nistatina al 100.000 UI / ml, posee un efecto inhibidor mayor que el extracto de Bixa Orellana (achiote), con un nivel de significancia de ($p < 0.05$), similar en sus diferentes concentraciones de 5%,10%,20%,40%,60% y 100%, frente a la *Cándida Albicans*.

Palabras clave: aceite de Bixa Orellana (annatto), Nistatina, *Cándida Albicans*, estomatitis sub-protética.

SUMMARY

The present study is experimental, research which purpose was to determine the effect of fungal anti oil from Bixa Orellana (annatto), in *Cándida Albicans* (ATCC 90028), which was isolated from the palatal mucosa of patients with complete denture stomatitis diagnosed with sub-prosthetic, attended at the dental clinic of the Universidad Nacional Federico Villarreal, the procedure for the investigation, was to use annatto oil, at concentrations of 5%, 10%, 20%, 40%, 60% and 100%, to then be compared with Nystatin 100,000 IU / ml, the sample was comprised of 36 Petri plates, 6mm in diameter, which were dumped about 20 strains of *Cándida albicans*, and on them were placed (annatto) and Nystatin extract samples to the 100,000 IU / ml, corresponding to 18 experimental and 18 groups of Nystatin 100.000 UI to control / ml.

Was the procedure of laboratory at a temperature of 37° C, with Petri dishes of control to verify the correct procedure and sterilization which it could work the medium to use *Cándida Albicans* in different concentrations of the Bixa Orellana (annatto) oil extract, once this phase proceeded to execute the measurement of the inhibitory halos supported with a veneer depending on the time ruler. The evidence of Friedman and Mann Whitney U, which showed was used to make the analysis of the results than to the 100,000 IU Nystatin / ml has significantly mayor inhibitory effect that extract oil from Bixa Orellana (annatto) ($p < 0.05$) similar to their different concentrations of 5%, 10%, 20%, 40%, 60% and 100%, compared to *Cándida Albicans* at 24, 48 and 72 hours.

Key words: oil of Bixa Orellana (annatto), Nystatin, *Cándida albicans*, stomatitis sub-prosthetic.

SOMMARIO

O presente estudo é experimental, pesquisa a qual propósito era determinar o efeito de fungos anti óleo de Bixa Orellana (Urucum), em *Cándida Albicans* (ATCC 90028), que foi isolada da mucosa palatal de pacientes com prótese total Estomatite diagnosticado com sub protética, participaram na clínica dentária da Universidad Nacional Federico Villarreal, o procedimento para a investigação, foi usar o óleo de urucum, em concentrações de 5%, 10%, 20%, 40%, 60% e 100%, para Então ser comparado com Nistatina 100.000 IU/ml, a amostra foi composta de 36 placas de Petri, 6mm de diâmetro, que foram despejados cerca de 20 cepas de *Cándida albicans*, e nelas foram colocado (Urucum) e Nistatina extrair amostras para a 100.000 UI/ml, correspondente a 18 experimental e 18 grupos de Nistatina 100.000 UI para controle / ml.

Foi o procedimento do laboratório à temperatura de 37° C, com pratos de Petri de controle para verificar o procedimento correto e esterilização que pode funcionar a médio e a usar com micose *Cándida Albicans* em diferentes concentrações do Extrato de óleo de Bixa Orellana, uma vez que esta fase passou a executar a medição dos halos inibitórios suportado com um vernier dependendo da régua do tempo. A prova de Friedman e Mann Whitney U, que mostrou foi usada para fazer a análise dos resultados do que para a Nistatina 100.000 de IU / ml óleo de Bixa Orellana ($p < 0,05$) semelhante à sua diferentes concentrações de 5%, 10%, 20%, 40%, 60% e 100%, comparado a *Càndida Albicans* em 24, 48 e 72 horas.

Palavras-chave: óleo de Bixa Orellana (Urucum), Nistatina, *Cándida albicans*, estomatite protética sub.

INTRODUCCIÓN

En la búsqueda por encontrar alternativos de tratamientos con plantas medicinales, esta investigación propone determinar el efecto antimicótico del extracto de las hojas de *Bixa Orellana* L. (achiote), sobre *Cándida albicans*, el cual es un microorganismo que normalmente se encuentra en cavidad bucal, aparato digestivo y genitales, pero cuando la defensa baja del individuo, se prolifera produciendo infecciones, denominada candidiasis.

La *Cándida albicans*, se encuentra en la cavidad bucal en porcentajes que varían entre 25% y 50% en personas sanas, estos pueden ser adultos o niños. Este patógeno oportunista posee la capacidad de subsistir como huésped, adhiriéndose a células del hospedero, la transformación en la morfología y la secreción de enzimas degradativas, forman parte de los elementos que conforman el nivel de un microorganismo para ocasionar una enfermedad. (Guamán R. (2018)

El uso de prótesis dental es asociado a la presencia de candidiasis o moniliasis, es una de las contaminaciones más frecuentes en la boca, sobretodo en pacientes portadores de prótesis, la candidiasis se hace persistente en el huésped y en la prótesis por diferentes factores, ya sea por falta de higiene, factores

sistémicos, inmunosupresión por diferentes patologías y algunas veces por mal manejo del técnico, lo cual podría dar lugar a un cuadro de estomatitis subprotésicas severa. (Ferreira, Silva, Ferreira & Vale, 2016).

La aparición de *Candida albicans* es de 40% y 60% en portadores de prótesis dental, siendo regularmente ubicadas en la mucosa del paladar bajo la prótesis. La formación de Cándidas que aparecen en la parte interna de las prótesis, se asocian directamente con la mucosa del paladar e induce a que esta, modifique su estructura clínica. (Castillo, Tello, Sánchez & Gómez, 2015).

La mayoría de los pacientes desconoce la manera adecuada de mantener y cuidar sus prótesis. Es importante la limpieza diaria para evitar la acumulación de placa, cálculo y pigmentaciones. Ya que estos depósitos contribuyen a que se generen irritaciones e infecciones como candidiasis y estomatitis subprotésica en la mucosa adyacente. El método mecánico mediante el uso de cepillos con jabón o dentífricos es el más popular para remover la placa de las dentaduras, sin embargo, existen evidencias que utilizando sólo este método no es suficiente para eliminar la placa bacteriana de las bases de las prótesis por lo que hay que combinarlo con el uso de desinfectantes. (Guamán R. 2018)

El tratamiento, para este padecimiento se basa en la eliminación de los elementos locales, por ello, se sugiere quitarse las prótesis por tiempos intermitentes, realizar la higiene correspondiente y cumplir con el tratamiento anti fúngico indicado por el especialista, en casos de estomatitis sub protésica.

En la fitoterapia, existen diversos vegetales utilizados en la farmacopea como elementos de tratamiento para diversas enfermedades, entre ellos los frutos del arbusto tropical *Bixa Orellana* L, cuya composición química es esencialmente

los carotenos denominados (bixina, norbixina). Debido a su tenacidad ante la actividad de los factores químicos.

Dentro de la posología, la Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que la dosis recomendada debe ser de 0-0,065 mg/kg de peso corporal.

El annatto, es un tinte inocuo para el individuo, al cual se le atribuye algunas características terapéuticas para tratamientos, antitumorales, antiinflamatorias, astringentes, analgésico, desinfectante, bactericidas, antioxidante, cicatrizante etc. (Coelho, Zucoloto & López, 2013).

El presente estudio de investigación, comprobó que la Bixa Orellana es una sustancia natural, que puede ser usado como un medio alternativo, para el tratamiento de estomatitis subprotésica, considerando que usaremos una sustancia de origen vegetal, de alta accesibilidad y así se podría contribuir con la industria de los medicamentos de nuestro país.

Capítulo I: Planteamiento del problema: se desarrolló el problema de investigación previa identificación de sus elementos y circunstancias concretas en las que aparece el problema.

Capítulo II: Marco teórico: se desarrolló las bases teóricas de las variables evaluadas con una revisión de la literatura pertinente al objeto de estudio.

Capítulo III: Método: se desarrolló el tipo de estudio, ámbito, la población, la técnica e instrumento de recolección de datos, el plan y procesamiento de datos.

Capítulo IV: Presentación de Resultados: se desarrolló en base a los objetivos y siguiendo una secuencia lógica según los objetivos específicos.

Capítulo V: Discusión: se relacionó los resultados de la investigación con otros estudios similares seleccionados en los antecedentes.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 ANTECEDENTES BIBLIOGRAFÍA Y CONTEXTUAL

Guamán R. (2018) Realizó una investigación cuyo objetivo fue determinar el efecto anti fúngico del extracto metanólico de la hoja de Bixa orellana a concentraciones, de 25%, 75% y 100% sobre láminas de acrílico inoculadas con *Cándida albicans* ATCC 10231, a través de un estudio in vitro. El presente investigación fue de tipo experimental, transversal, comparativa e in vitro, aplicada sobre una muestra no probabilística de 25 láminas de resina acrílica contaminadas con *Cándida albicans*, las cuales se dividieron en grupos y se sumergieron al extracto metanólico de las hojas de Bixa orellana en concentraciones de 100%, 75% y 25% por un periodo de 25 minutos, para posteriormente ser colocadas en cajas Petri e incubadas a 37 °C por 24 y 48 horas. Resultados, la concentración de 25% de extracto metanólico de Hoja de Bixa orellana arroja una media de 1,20 UFC/ml de *Cándida albicans* a las 24 horas de inoculación y el control negativo tuvo una media de 123,80 UFC/ml, en cambio a las concentraciones de 75% y 100% no existió

crecimiento, este comportamiento fue similar para el control positivo. Para las 48 horas de inoculación, se determinó que al 75% y 100% de extracto y el control negativo reportó valores de 0 UFC/ml del hongo, mientras que al 25% del extracto se formaron 2,20 UFC/ml y con el control negativo fue incontable el crecimiento del hongo. Conclusiones las concentraciones de 75% y 100% del extracto metanólico de la hoja de *Bixa orellana* presenta menor cantidad de unidades formadoras de la cepa *Cándida albicans* ATCC 10231 (0 UFC/ml) tanto a 24 y 48 horas de incubación, en contraste con la concentración de 25% que mostró crecimiento del hongo. Estas muestras presentaron igual acción antifúngica que la clorhexidina, por lo tanto, son eficaces en la eliminación y/o reducción de la *Cándida albicans*.

Ferreira, Silva, Ferreira & Vale, (2016), presentaron un trabajo de investigación cuyo objetivo fue asociar el uso de prótesis totales y la prevalencia de *Cándida* en ancianos institucionalizados entre 60 o más años de edad, en una ciudad del Nordeste de Brasil; este estudio, se llevó a cabo del perfil de salud y cuantificación de *Cándida* por aislamiento con agar Sabouraud. A partir de 181 ancianos institucionalizados, sólo 17 (66-84 años) cumplieron los criterios de inclusión. 47,1 % eran totalmente dependientes y 58,8 % necesitó ayuda con la higiene. Los resultados mostraron una alta prevalencia de *Cándida* (64,5%) en las prótesis totales de los ancianos institucionalizados y esto es un reflejo de la deficiente higiene oral.

Asimismo, Quintanilla, (2016), presentó un trabajo de investigación, que tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de aceite de orégano, carvacrol, sobre cepas de *Cándida albicans*. Se

preparó el extracto de aceite de orégano, carvacrol, al 0,1 % in vitro, empleando el método de Kirby Bauer (difusión en disco) y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Para la evaluación, se expuso a *Cándida albicans* a cuatro concentraciones del extracto de aceite de orégano; asimismo, se consideró un grupo control con fluconazol y otro con inóculo microbiano, para luego realizar diez repeticiones en cada caso. Se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antifúngico de las diferentes concentraciones de extracto de aceite de orégano sobre el crecimiento de *Cándida albicans* ($p < 0.05$) y fue sensible a las cuatro concentraciones al comparar los halos de inhibición según la escala de Duraffourd. La CMI para la acción antifúngica fue de 100 %, (1000 mg/ml). Se concluyó que el carvacrol, como extracto de aceite de orégano, sí tiene efecto inhibitorio in vitro contra *Cándida albicans*.

Castillo, Tello, Sánchez y Aranda (2015), realizaron un estudio sobre la susceptibilidad in Vitro de *Cándida albicans* y no *albicans*, aisladas de prótesis dentales de pacientes con estomatitis sub protésica, empleando tres sustancias. Su objetivo fue determinar la susceptibilidad anti fúngica in vitro que presenta la *Cándida* y especies, a tres sustancias utilizadas para la desinfección de prótesis (hipoclorito de sodio, ácido acético y solución de superoxidación), para lo cual obtuvieron aislados clínicos de *Cándida* de pacientes portadores de prótesis con diagnóstico de estomatitis sub protésica, para su posterior estudio de susceptibilidad in vitro en diferentes sustancias. El hipoclorito de sodio al 0,5% mostró in vitro una mayor inhibición para las cepas de *Cándida albicans* y *Cándida no albicans*. El ácido acético y la

solución de superoxidación no mostraron inhibición in vitro frente a ambas cepas. Se llega a la conclusión que el hipoclorito de sodio al 0,5% tiene un efecto inhibitorio in vitro sobre las cepas de *C. albicans* y *Cándida no albicans*.

García, Gutiérrez, Quintana y Gutiérrez (2014), realizaron trabajos de investigación bibliográfica sobre *Bixa orellana* L. Este es un producto natural de fácil obtener en nuestro medio por encontrarse ampliamente distribuido en nuestro territorio, y apoyándose en sus ya conocidas propiedades de tención en alimentos, surge la idea de uso estomatológico como sustancia reveladora de placa dento bacteriana. Tuvieron como objetivo ampliar conocimientos sobre las propiedades y uso de *Bixa Orellana* L en los seres humanos. Revisaron artículos originales y artículo de revisión mediante PubMed, Google, revistas internacionales y nacionales reconocidas. Entre sus conclusiones demostraron que la *Bixa* no provoca alteraciones patológicas en el ser humano y tiene importantes propiedades: antifúngicas, antipiréticas, antibacterianas, anti-inflamatorias y entre otras. Con esta propuesta pretenden incrementar las actividades de promoción y prevención de la salud estomatológica.

Velazco, Ortiz, Arellano y Bustillos (2013), realizaron este estudio con el objetivo de demostrar la adherencia de *Cándida albicans* a la ultraestructura de resinas acrílicas de termocurado (PMMA) utilizadas en la confección de las bases de dentaduras totales. Utilizaron dos muestras de PMMA la primera proveniente de bases de dentaduras en uso, para lo cual se seleccionaron veinte pacientes totalmente edéntulos portadores de dentaduras

y diagnosticados con estomatitis sub protésica (ESP) y de este grupo se seleccionó uno al azar; la segunda muestra proveniente de PMMA recién elaborado bajo el protocolo tradicional de termo curado. Al observar y comparar ambas muestras en siembra, se demostró la presencia de hifas, pseudohifas y clamidosporas, en la primera muestra, incluso hifas penetrando hacia los defectos de la estructura inherentes del proceso de elaboración. En la segunda muestra hubo una marcada diferenciación topográfica. En conclusión la evidencia microscópica demostró la adherencia candidiásica en la muestra proveniente de la dentadura en uso.

Ayuso, Torrent y López (2013), definen a la estomatitis como un estado crónico de la membrana bucal debido al roce con una prótesis que se extrae. La investigación comprende disímiles elementos predisuestos y el más preponderante de ellos es la manifestación de *Cándida albicans*. En este tratado se escribió la guía al paciente enfermo y los problemas de los métodos existentes para erradicar de las prótesis y de la membrana bucal los restos de hifas. Se concluyó que las prácticas de limpieza bucal y las orientaciones profesionales en los pacientes enfermos son fundamentales para prevenir la manifestación de las hifas. Una vez implementada, se entrenará al enfermo con técnicas de limpieza para eliminar la infección por hongos, por lo cual, se deberá tomar las precauciones de las restricciones de los tratamientos frente a las acumulaciones de *Cándida* en las prótesis, en ciertos sucesos se podrá hacer cambio de la prótesis por otra.

Lee, Cajas, Gómez y Astorga (2012), realizaron trabajos de investigación de levaduras de tipo *Cándida albicans* y estomatitis sub

protésica antes y después del tratamiento de Rehabilitación Oral. El 63.2% de la población chilena mayor de 65 años utilizan prótesis removible; cuando estas pierden funcionalidad pueden producir lesiones en la mucosa oral, siendo la más prevalente la estomatitis sub protésica, proceso inflamatorio de la mucosa de soporte de diversa extensión y severidad, cuyo principal factor etiológico, es la infección por *Cándida albicans*. El objetivo de esta investigación fue determinar la cantidad de *Cándida albicans* y su asociación con estomatitis sub protésica en portadores de prótesis removibles antes y después del tratamiento. 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 sub protésica. Para el recuento e identificación de levaduras del género *cándida* se tomaron muestras de saliva antes y después del tratamiento. Las variables fueron analizadas estadísticamente. Los resultados mostraron estomatitis sub protésica con 55,9% de sujetos, con tipo I, = 29,4% y de tipo II = 26,5%. Los recuentos de *cándida albicans* fueron mayores en aquellos pacientes con estomatitis sub protésica tanto antes como después del tratamiento. Al instalar la prótesis funcionales el recuento aminoró significativamente, sin embargo, permaneció alto en aquellos pacientes con estomatitis sub protésica, diagnosticada previa al tratamiento. La especie identificada más frecuentemente fue *Cándida albicans*.

Silva, Cardentey y Suárez (2012), investigaron sobre la inflamación de la mucosa bucal subprotésica mayores a quince años que pertenecen al Centro de salud "Raúl Sánchez. Su propósito fue determinar la conducta de la

inflamación de la mucosa bucal estomatitis subprotésica. Se efectuó una investigación basada en la observación, transversal y descriptiva en los pacientes que utilizan prótesis completa del Centro de Salud "Raúl Sánchez" en la municipalidad Pinar del Río, que se desarrolló entre los años del 2008 y 2010. La población estuvo conformado por 232 enfermos escogidos a partir de un muestreo por conglomeración trietápica. Para la evaluación de la estadística de la data se utilizó mediciones de resumen para variables no cuantitativas (porcentajes precisos y por duraciones de confiabilidad) y se realizó, en las casuísticas ineludibles, el test no paramétrico de chi cuadrado con el objetivo de conocer si impera reciprocidad entre ciertas variables. Se consiguió un grado de significatividad de $p < 0,05$. El grupo de edad más afectado fue de 61 años y de sexo femenino, con grado II y la localización más frecuente fue la parte media y posterior del paladar. Prevalció como hábito nocivo el uso continuo de las prótesis, seguido la higiene bucal deficiente. Concluyeron que las bases acrílicas fueron las que produjeron la afección con mayor frecuencia. A medida que aumentó el tiempo de uso, así como el desajuste de la prótesis se incrementó el riesgo de padecer la enfermedad.

Nápoles, Díaz, Puig y Espeso (2012), presentaron un trabajo de investigación sobre la candidiasis en pacientes con inflamación de la membrana bucal subprotésica. El objetivo fue determinar la prevalencia de la candidiasis en pacientes con estomatitis subprotésica. El método fue un estudio observacional, descriptivo y transversal en la clínica Estomatológica Docente de La Vigía a partir de enero a marzo del año 2008 en treinta

enfermos con edades superiores a 20 años, de ambos sexos, con estomatitis subprotésica (diez por cada grado clínico de la lesión), portadores de prótesis removibles. Entre sus resultados en la conducta microbiológica de los pacientes con estomatitis subprotésica a floró que no todos los pacientes afectados manifestaron candidiasis, solamente se comprobó la existencia de este padecimiento en 21 pacientes que equivalen al 70% de la muestra. De acuerdo al nivel de la contusión, este padecimiento se ostentó en 4 enfermos de primer grado que competen a un 19.04%, 7 pacientes de segundo grado que corresponden a un 33,33 % y en el 100% del grado III con disparidad representativa entre el equilibrio de enfermos con candidiasis del primer y segundo grados en relación al tercer grado ($p < 0.05$). En la investigación predominaron los pacientes con grado III. Concluyeron que no todos los pacientes con estomatitis subprotésica presentaron *Candida albicans* se incrementó la candidiasis en grados avanzados de la estomatitis subprotésica. La totalidad de las prótesis en pacientes con lesiones de grado II y III presentaron *Candida albicans*.

Huamaní y Ruiz (2005), investigaron la actividad antifúngica in vitro de doce extractos etanólicos correspondientes a diez plantas medicinales peruanas; *Annona cherimolia* Mill. (Hojas), *Annona muricata* L. (corteza y hojas), *Bidens pilosa* L. (partes aéreas), *Hypericum laricifolium* L. (partes aéreas), *Juglans neotropica* Diels (corteza), *Piper* spp. (Hojas), *Plantago major* L. (hojas), *Psidium guajava* L. (hojas), *Schinus molle* L. (corteza y hojas) y *Spartium junceum* L. (planta entera). Las especies fueron recolectadas en el departamento de Amazonas, excepto *Schinus molle* L. (Apurímac) y *Annona*

muricata L. (Lima). La actividad anti fúngica se evaluó mediante los métodos de difusión en agar y dilución en agar para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los microorganismos de prueba utilizados fueron las levaduras *Cándida albicans* ATCC 10231 y *Cándida albicans* cepa clínica, así como, el hongo filamentoso *Aspergillus Níger* ATCC 16404; las cepas fueron proporcionadas por la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. De doce extractos investigados, seis presentaron actividad anti fúngica consistente con un diámetro de halos de inhibición #18mm (Prueba de Difusión en agar) frente a *Cándida albicans* ATCC 10231. Ningún extracto mostró actividad consistente frente a la cepa clínica de *Cándida albicans* y *Aspergillus Níger* ATCC 16404. La CMI de los extractos que presentaron actividad consistente frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, fue de 250 µg/ml para *Hypericum laricifolium* L., *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* L. y *Schinus molle* L. (un extracto de corteza y uno de hojas) y de 500µg/ml para *Piper* spp. No se determinó la CMI de los extractos (*Juglans neotropica* Diels y *Psidium guajava* L.) que presentaron halos frente al *Aspergillus Níger* ATCC 16404 por considerarlos sin actividad significativa (<18mm.). Los anti fúngicos como Nistatina y Fluconazol fueron incluidos en el estudio como controles positivos.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infección por *Cándida albicans*, es una de las contaminaciones micóticas que se da con mucha frecuencia en la población portadora de prótesis,

generalmente en el adulto mayor, provocando con mucha frecuencia cuadros de inflamación de la mucosa oral, diagnosticada como mucositis sub protésica, en sus diferentes grados y formas, de presentación clínica, alteraciones que se presentan por diferentes causas como higiene inadecuado, enfermedades sistémicas, inmunosupresión, nutrición, prótesis desadaptadas, manejo incorrecto de laboratorio, falta de control e incumplimiento de las indicaciones del odontólogo, etc.

En los últimos años, después de un periodo en que la industria farmacéutica se dedicó exclusivamente a la fabricación de síntesis, dejando atrás las antiguas medicinas que tenía como base los extractos de plantas medicinales, hay un cambio cualitativo en los programas industriales con dedicación a la búsqueda de nuevos medicamentos de origen herbolario.

El avance de la fitoterapia como disciplina médica es cada vez mayor, esto se evidencia en que las plantas medicinales representan casi el 25% del total de las prescripciones médicas en países industrializados; en los países en desarrollo, la participación medicinal alcanza 80%. (Huamaní & Ruiz, 2005).

Rodríguez, Soares, Oliveira, Gesteira y Costa (2007). El hallazgo del continente de América posibilitó la unión de diversas civilizaciones y la adquisición de las nociones de medicinas que los colonizadores tenían; esto promovió la investigación y la indagación de la botánica en medicina de las poblaciones nativas en Europa debido a que indagaban principalmente artículos nativos, que hasta tiempos pasados de América eran conseguidos del Este. De esta manera, las nociones propias de Europa estuvieron fortificados por los curanderos nativos, los cuales transmitieron amplias nociones debido al uso

curativo de las vegetaciones, fauna y piedras inorgánicas de América, los cuales fueron hechos para preparar bebidas, cocimientos, cataplasmas, pomadas y aceites que beneficiaban la concentración y las nociones de los patrimonios de la naturaleza para la cura de padecimientos.

La fabricación de los fármacos está cimentada en esta noción para la substracción y preparación de medicinas nuevas.

Rodríguez y colaboradores (2007). No obstante, los inconvenientes de la salud y el alto precio de las medicinas sintéticas nos permitieron buscar nuevas alternativas de tratamiento como son las plantas medicinales.

Por todo lo expuesto, se plantea la siguiente interrogante:

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es el efecto antimicótico del aceite de Bixa Orellana L. (achiote) comparado con la Nistatina sobre *Candida albicans*, aislados de estomatitis subprotésica, de pacientes portadores de prótesis, de la clínica estomatológica de la Universidad Nacional Federico Villarreal?

PROBLEMAS ESPECÍFICOS.

- a. ¿Cuál es el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre *Candida albicans*, aislados de estomatitis subprotésica, de pacientes portadores de prótesis total en 24 horas?
- b. ¿Cuál es el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre *Candida albicans*, aislados de estomatitis subprotésica, de pacientes portadores de prótesis total en 48 horas?
- c. ¿Cuál es el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre *Candida albicans*, aislados de estomatitis subprotésica, de pacientes portadores de prótesis total en 72 horas?

1.4 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Identificar el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre *Candida albicans*, aislados de estomatitis subprotésica, de pacientes portadores de prótesis de la clínica estomatológica de la Universidad Nacional Federico Villarreal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Describir el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre *Cándida albicans*, aislados de estomatitis subprotésica, de pacientes portadores de prótesis total en 24 horas.
- b. Describir el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre *Cándida albicans*, aislados de estomatitis subprotésica, de pacientes portadores de prótesis total en 48 horas.
- c. Describir el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre *Cándida albicans*, aislados de estomatitis subprotésica, de pacientes portadores de prótesis total en las 72 horas.

1.5 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

El presente trabajo está diseñado para determinar el efecto antimicótico del aceite de Bixa Orellana L (achiote) sobre las hifas de *Cándida albicans* ATCC 90028, en vitro. Miosis más frecuente y responsables de la inflamación de la mucosa bucal en sus diferentes grados y formas clínicas en pacientes portadores de prótesis, generalmente en pacientes adultos mayores por diferentes causas como higiene inadecuada, enfermedades sistémicas, inmunosupresión, nutrición, prótesis desadaptadas, manejo incorrecto de laboratorio, falta de control e incumplimiento de las indicaciones del odontólogo etc.

Rodríguez y colaboradores (2007). Las dificultades en la salud bucal y el alto precio de las medicinas sintéticas han obligado en el empleo de medicinas naturales en países en vías de desarrollo, de esta manera, las

nociones de la medicina tradicional ocupa un rol importante debido, a que es un tratamiento alternativo en el futuro que consigna efectividad, seguridad y escasos precios, teniendo en cuenta que deben emplearse de manera apropiada.

Es por ello que el presente trabajo se justifica teóricamente a razón que se revisaron abundante literaturas al respecto de la *Cándida albicans*, estomatitis, características y tratamiento.

Desde el punto de vista metodológico, se justifica, ya que se utilizaron productos naturales de origen vegetal en forma de aceite que se han obtenido de las hojas de achiote para solucionar los problemas de estomatitis sub-protésica en pacientes portadores de prótesis. Es decir se experimentó, y se obtuvo un resultado de acuerdo a la hipótesis planteada.

En cuanto a su justificación social o práctica, los resultados obtenidos serán de mucha importancia, los cuales se convertirán como elementos de juicio para futuras investigaciones, así como, se podría generalizar el tratamiento en una muestra mayor.

1.6 ALCANCES Y LIMITACIONES

Este trabajo de investigación tuvo como objeto determinar la efectividad del aceite de achiote sobre la *Cándida albicans* en pacientes portadores de prótesis. Es una planta que abunda en la región amazónica, según artículos revisados mencionan que nuestros antepasados utilizaron por tener propiedades muy beneficiosas como antioxidantes, cicatrizantes, antiinflamatorias, antimicrobianas

y entre otras muchas, para uso de tratamientos alternativos y así preservar la salud de la población.

Se recopiló datos de los principios activos de productos naturales, relacionados a la efectividad y eficacia en la disminución de procesos inflamatorios y anti fúngicas, sin embargo el estudio detallado bajo el criterio de la investigación es relativamente escasa, lo cual constituye una de las principales limitaciones; asimismo, los escasos recursos financieros de la investigadora.

La dificultad fue la coordinación del uso del laboratorio debido al cruce de horarios con los alumnos del nivel de pre grado de las carreras de Ciencias de la Salud.

La preparación del extracto del aceite de Bixa Orellana (achiote) en diferentes concentraciones, debido a la forma de recolección y conservación representa un punto crítico debido a cambios biológicos que experimentan las muestras.

La compra de materiales e insumos representó un gasto económico considerable debido a que el laboratorio donde se realizó la experimentación no contaba con todo lo requerido, en función a que atravesaban por un periodo de re implementación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 TEORÍAS GENERALES RELACIONADAS CON EL TEMA

2.1.1 LA ESTOMATTIS

Es una inflamación de la mucosa bucal del paciente portador de prótesis, es un vocablo que se refiere a modificaciones inflamatorias de la mucosa, limitados a la membrana que protege a la prótesis dentaria y perturba con una elevada predominancia en individuos que portan prótesis de resina plástica. (Rodríguez, Miranda, Morejón & Santana, 2005).

Rodríguez y colaboradores. (2005) Caracterizan por pequeñas unidades inflamadas, hasta heridas con eritemas que esbozan la silueta de la plataforma de la prótesis y en fases más avanzadas, surgen proyecciones de papilas que originan una apariencia en forma de verrugas en la zona del paladar, este cambio clínico, ha ocasionado categorizaciones.

El origen de este padecimiento es por múltiples causas: una higiene defectuosa es la causa más frecuente de estomatitis protésica, también hay otros

factores, como la irritación mecánica por irregularidades en el ajuste de la prótesis, factores químicos por restos de monómeros de las prótesis y raras veces reacciones alérgicas. (Grunert & Crepaz 2008)

García del Prado, Gutiérrez, Quintana y Gutiérrez (2014). Para el tratamiento de la estomatitis protésica debe tenerse en cuenta la extracción de la prótesis, eliminación de los elementos locales y el uso de medicinas anti fúngicas. Por último, se han probado otros tratamientos con el ozono, la miel de abeja, el áloe y el láser con óptimos efectos.

Los componentes de medicinas alternativas estudiadas explican que la actividad de la homeopatía es aséptica, fungicida y cicatrizante. Debido a estas características se podría tomar en cuenta su uso para el tratamiento de la estomatitis protésica con menos costo.

2.1.2 PLANTAS MEDICINALES

Una planta medicinal es un tipo de vegetación que posee sustancias que podrían ser usadas con fines curativos debido a que sus principios activos, hacen que tengan iniciativa para la síntesis de otras medicinas. En los últimos años, después de un periodo en que la industria farmacéutica se dedicó exclusivamente a la fabricación de medicamentos, dejando atrás las antiguas medicinas que tenía como base los extractos de plantas medicinales, hay un cambio cualitativo en los programas industriales con dedicación a la búsqueda de nuevos medicamentos de origen herbario. Estos cambios se han sustentado, por una parte, en una filosofía de la vuelta a la naturaleza que impregna el modo de vivir de los países industrializados y por otro, en necesidad de salud pública.

El avance de la fitoterapia como disciplina médica es cada vez mayor, el 25% del total de las prescripciones médicas son en países industrializados y en países en desarrollo la participación de las plantas medicinales alcanza 80%. (Huamaní & Ruiz 2005).

García, Blanco, Rodríguez y Reyes (2004). El descubrimiento de América ayudó a la unión de varias culturas y la adquisición de las nociones de medicinas que las colonizadoras tenían; esto promovió a la investigación e indagación de la botánica en medicina, de las poblaciones nativas en Europa debido a que indagaban principalmente artículos nativos, que hasta tiempos pasados, al descubrimiento de América, eran conseguidos del Este.

Ciertas plantas fueron usadas en la praxis de la medicina. De esta manera, las plantas medicinales de Europa estuvieron fortificados por los curanderos nativos, los cuales transmitieron amplias nociones debido al uso curativo de las vegetaciones, fauna y piedras inorgánicas de América, los cuales fueron hechos para preparar bebidas, cocimientos, cataplasmas, pomadas y oleos que beneficiaban la concentración y las nociones de los patrimonios de la naturaleza para el tratamiento de ese tiempo. (García et al., 2004).

Actualmente, el interés por plantas medicinales ha aumentado debido al aumento del costo de vida, que lleva la gente, a la búsqueda de las plantas para el tratamiento de enfermedades, mejorando su calidad de vida y promoviendo el rescate del conocimiento popular. El interés de los científicos favorece propagación de este tan valioso bien, que es parte de la cultura popular. (Chessi, 2006).

Los farmacéuticos, se han propuesto en estas nociones para la extracción y fabricación de medicinas innovadoras. No obstante, los inconvenientes de la salud y

el alto precio de las medicinas sintéticas nos permiten buscar nuevas alternativas de tratamiento, especialmente como la herbolaria ocupa un sitio importante debido a la efectividad, seguridad y escasos precios, siempre y cuando sean utilizados de manera apropiada. (Chessi, 2006).

Kossman y Vicente (2011). Indican que no debemos olvidar que los remedios a base de plantas medicinales presentan una inmensa ventaja con respecto a los tratamientos químicos. En las plantas, los principios activos se hallan siempre biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias, que van a potenciarse entre sí, de forma que en general no se acumulen en el organismo y sus efectos indeseables están limitados.

2.2 ACHIOTE: NOMBRE CIENTÍFICO BIXA ORELLANA L.

Kossman y Vicente (2011). La Bixa Orellana L (achiote) está formado por das partes y atañe a bixa, al momento de latinizar portugués bija; Orellana, gracias a las exploraciones españolas de Francisco de Orellana (1490-1546).

Bixa Orellana, usualmente denominado achiote, es una planta que es oriunda del centro y Sur del Continente Americano, y del Caribe. Del achiote, se desarrollan tallos de color marrón y semillas con cáscara tierna y larga con espinas, que conforman un corazón, cada vaina envuelve casi cincuenta frutos. Chamanes en la selva han empleado las hojas y frutos del achiote con el fin de poseer diversos objetivos de la medicina hace más de cien años. (Kossman & Vicente, 2011)

Lee, Cajas, Gómez, Vergara y Astorga (2012). Su tenacidad respecto a la actividad química, pero no a las secuelas de la luz solar, se utiliza con preferencia para tinturar comestibles y refrescos. Es un tinte no dañino para el ser humano,

motivo por el cual se sugiere el reemplazo de las tinturas artificiales para brindar color a los quesos, grasa, mantequilla, manteca, cereales, frutos del mar ahumados, ceras, harinas, golosinas, refrescos y como sazonador para la cocina, que fue utilizada ampliamente por las Aztecas; los conquistadores provenientes de España, lo utilizaron como sazonador o aderezo para la cocina debido a sus características similares al azafrán.

Asimismo, se utilizó para colorear troncos, lienzos, marfiles, barnices, limpiadores, etc. Las poblaciones nativas del Centro y Sur de América lo emplearon como tinte para el cuerpo y cara para sus protocolos de la religión. Los nativos de la Amazonía, continúan con su uso para cuidar su piel de los picotazos de bichos, frente a las inclemencias climáticas. En laboratorios se ha utilizado para bálsamos y cremas para sustituir al azafrán. (Lee et al, 2012)

Leigh, Steele y Wormley (2006). A nivel mundial, ha vuelto la fascinación en las industrias por la Bixa Orellana, como un tinte orgánico, debido a las reglamentaciones inflexibles sobre la utilización de los tintes sintéticos en la elaboración de comestibles. La Organización mundial de la Salud ha observado que los niveles tóxicos son nulos (Nº. E 160b).

Además, la bija, tiene múltiples propiedades curativas entre las cuales se nombran: antitumorales (con predominancia en el cáncer de boca), como estimulante, que no causa inflamaciones, es bactericida, antioxidante, cicatrizante y contiene flavonoides y vitaminas A, B, C motivo por el cual, se ha tomado en cuenta para tratar las lesiones de la mucosa bucal, producidos por candida albicans, estomatitis subprotésica. (Fenlon, Sherrif & Walter, 1998)

2.2.1 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS.

Linossier, Vargas, Villegas y Chimenos (2004). La *Bixa Orellana* L. es un tipo de planta arbórea de las regiones tropicales de América (fig. 1). Se relaciona con el género *Bixaceae*, y asimismo, se presenta con las denominaciones: Orellana americana, *B. tinctoria*, *B. urucurana*, *Bixa acuminata*, *B. purpurea*, *B. platycarpa*, Orellana, *B. americana*, *B. upatensis* y *B. odorata*. Sus denominaciones habituales son: *changerica*, achiote, urucum, annatto, bijol, axiote, Orellana, urucú, achiotec, achiotl, rocú, etc.



Figura 1. Bixa Orellana L.

B. Orellana es una planta, que mide de dos a seis metros de altura, copa pequeña y amplia; tallo plumoso y ramificado que crece en zonas tropicales. Las hojas son sencillas, enormes, verde claro, de orillas lisas. Las flores se acomodan en manojos, son blancas a rosadas de acuerdo a las diversidades. El fruto es una receptáculo rojizo de dos a seis centímetros de longitud, con filamentos de grosor

considerable y con espinas, que varían entre verde oscuro a violáceo, de acuerdo a las diversidades, y cuando maduran, el color cambia de castaño a rojo sombrío. En cada capsula existen semillas que varían (de diez a cincuenta, respecto a la dimensión de la capsula). La semilla es reducida, de cinco milímetros de longitud, con una membrana que recubre la substancia pegajosa de color rojo penetrante. (Lourido & Martínez, 2013)

Mazurat y Mazurat (2003). La tintura se encuentra en la extensión de la semilla, que cubre como una resina y óleo, está compuesto primordialmente por bixina de estructura trans y cis, con huellas de norbixina, éster de dimetil bixina y otros apocarotenoides.

2.2.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA

La *Bixa Orellana* es abundante en carotenos, esencialmente en apocarotenos como la norbixina, bixina e isobixina (fig. 2); además, se encuentran la orellina, zeaxantina, betacaroteno, luteína, criptoxantina, etc. Asimismo, las semillas albergan aceites como el ácido linoleico, y en menos cuantía el alfa-linolénico y oleico; aminoácidos como la leucina, glutamato y aspartato; presenta elevadas cantidades de fósforo, cantidad mínima de calcio y altas concentraciones de zinc e hierro. (Silva, Alvarado, Hidalgo, Cerruti & Dávila, 2008)

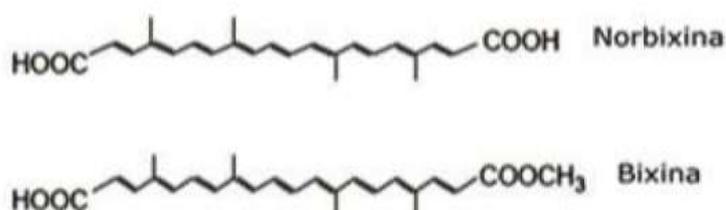


Figura 2. Estructura química de los principales pigmentos de la *Bixa Orellana*

Los extractos de bija, son oleos alcalinos que se obtienen al extraer la capa que cubre las semillas, a través de distintos procesos. Estos extractos se presentan en polvo, pasta, en suspensión o en solución. Los extractos liposolubles de achiote se obtienen mediante la extracción de la cubierta externa de semilla por medio de:

- La extracción directa con oleos o grasas comestibles.
- La incorporación en los aceites o grasas comestibles del extracto obtenido a disolventes orgánicos (isopropanol, acetona, metanol, diclorometano, hexano, etanol, tricloroetileno), posterior a ello, se elimina el diluyente.

El achiote, es una de las materias primas más atractivas para la substracción de tinturas. La bixina es una tintura de mayor cantidad que tiene la semilla y simboliza el 80% de la totalidad de carotenos existentes. De la bixina, se puede conseguir otras tinturas como la norbixina, que es soluble en aceites, la salmuera de norbixina que es soluble en agua y variedad de bienes que derivan de la degradación por temperaturas para presentar solubilidad en aceites y el tono amarillo inalterable es excelente para la pigmentación de las pastas.

La salmuera de norbixina se consigue a través de la substracción alcalina, mediante el hidróxido de sodio o potasio, de las tinturas de dicha semilla. Esta substracción convierte a la bixina en salmuera, cuya solubilidad es en soluciones alcalinas. La salmuera de norbixina se deposita en modo de norbixina a través de la neutralización de la solución, con un pH igual a siete, siendo nada hidrosoluble. También, de la salmuera de norbixina, se puede incrementar la hidrosolubilidad

de la bixina y la norbixina empleando emulsiones como el glicol propilénico y los polisorbatos, etc. (Tovar, Albornoz, Guerras & Lazarde, 2004)

El extracto liposoluble de achiote, debe contener al menos un 0.2 % de carotenoides, conocidos como bixinas, en cambio, el extracto hidrosoluble de bija debe contener como mínimo un 0.2 % de carotenoides, conocidos como norbixinas. La porción liposoluble es insoluble en agua y poco soluble en etanol, mientras que la porción hidrosoluble es soluble en agua y poco soluble en etanol. (Tovar et al., 2004).

2.2.3 ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS.

Con respecto a sus innumerables propiedades curativas, de Bixa Orellana L (achiote) se ha hecho múltiples investigaciones para determinar su actividad biológica.

Proceso de cicatrización: Se utilizó un extracto alcohólico de *Bixa Orellana* en dermis deterioradas de conejos en Nueva Zelanda y se consiguió una cicatrización completa de la contusión después de tres días del uso del producto. (Velazco, Ortiz, Arellano, Bustillos & González, 2013)

Velazco et al, (2013) En un ensayo clínico, se utilizó una pomada hecha de bija, al cinco y diez por ciento, en ratas y conejos, se les aplicó en heridas quirúrgicas o accidentales, se comprobó un alto poder de cicatrización.

Acción antioxidante: Se analizó el efecto de la norbixina en la respuesta al daño del ADN producido por rayos UV, agua oxigenada y anión superóxido en células de *Escherichia coli*, y se concretó que la norbixina era idónea para

proteger a la célula ante a estos agentes. La norbixina incrementó la estabilidad de la célula como mínimo en diez veces.

Diversos ensayos manifestaron que la bixina actuaba como antioxidante interceptando los radicales libres causados por el daño cromosómico inducido por el agente clastogénico cisplatino. (Velazco et al, 2013)

Acción antimicrobiana y antiparasitarias: Los resultados de muchas investigaciones, demostraron que la bija, posee efectos que inhiben el *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, y *Staphylococcus aureus* a concentraciones de 0.31, 0.08, y 0.16 % (v/v) respectivamente. Si la proporción del soluto respecto al solvente es de 0.63% (v/v), inhibirá el crecimiento de los *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus casei* subsp. *Casei*, *Streptococcus thermophilus* y *Paenibacillus polymyxa*, y la proporción del soluto respecto al solvente para inhibir el *Enterococcus durans* y *Listeria monocytogenes* fueron a 2,5 y 1.25 % (v/v), de manera respectiva. No se halló acción de la bija frente a las levaduras, el *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus plantarum* y ciertos gérmenes gram negativos. Otras investigaciones demostraron la acción de la bija frente al *Cryptococcus neoformans*, con un CMI de 0,078 mg/ml. Finalmente, se descubrió la acción frente a la *Neisseria gonorrhoe*, (Velazco et al, 2013)

La Leishmania, la *T. faecalis*, *Trichomona vaginalis* y múltiples hongos patógenos.

De forma general, la actividad fue superior ante los gérmenes gram positivos aunque se demostró también contra gramnegativos. (Velazco et al, (2013). Se toma en cuenta que la 9'-cis norbixina y las trans norbixina son las responsables de sus propiedades antimicrobianas, asimismo, se considera que esta

planta puede ser una fuente potencial para obtener nuevos agentes antimicrobianos.

Acción hipoglicemiante: investigaciones ejecutadas en animales, admitieron manifestar el imperio de la bija en eventos en donde se disminuye la glucemia mediante el aumento de cantidades de insulinas en plasma, de esta manera, se manifiesta un aumento en la unión de la insulina a sus receptores por un incremento de la afinidad entre ambos. (Wilson, 1999)

Acción hipolipemiente, vasorelajante y hipatoprotectora: Varios tratados, recomiendan el uso del extracto de bija en el tratamiento del síndrome metabólico debido a estas propiedades de la planta. Probablemente esas propiedades se las confieran las elevadas concentraciones de flavonoides, vitaminas y quelantes que contiene. (Lourido & Martínez, 2010)

Wilson (1999). En relación con las propiedades hipocolesterolemias se realizaron ensayos de laboratorio, los efectos se corroboraron a los diez días del consumo, ya que había pacientes con concentraciones de lípido en sangre por debajo de los normales. Los resultados confirmaron que los pigmentos pueden acelerar el metabolismo de las grasas, al ser responsables de la reducción de los triglicéridos y el colesterol, por algún mecanismo, solo reduce la fracción mala.

Acción antimutagénica y antigénotóxica: Se ha expuesto que en entornos normales la norbixina, no posee factores que dañen al ADN, ni destruyan células que residen en los tejidos conectivos para curar heridas. Un tratado analizó la propiedad para no dañar el ADN de la norbixina frente a los agentes mutagénicos oxidantes en *Salmonella typhimurium* y detectó una inhibición máxima a un 87%, contra la mutagenicidad inducida por peróxido de hidrógeno, sin no obstante, se

reconoce que a pesar que la data manifiesta que la norbixina salvaguarda ante la degeneración de la oxidación de las células, podría poseer secuelas en favor a la oxidación de ADN bajo ciertas circunstancias. (Pérez, Reyes, Montejo, Duvergel & Sosa, 2004)

A diferencia de otros innovadores se consiguieron efectos muy positivos para prevenir los daños al ADN en siembras de linfocitos humanos con la utilización del jugo de bixina. Por otro lado, los hallazgos de la investigación hechas en roedores, Wistar recomendó un potencial resultado para la prevención ante la quimio por parte de la bija mediante la peculiaridad de la reproducción de las células criptales, que no incluye la fase inicial de la producción de cáncer en el colon. (Pérez et al, 2004)

Otras investigaciones detallan las ventajas de la bija para la prevención de las mutaciones que originan cáncer debido a las mezclas resinosas de las abejas y ciertos hongos digeribles. (Pérez et al, 2004)

Ahora bien, se han expuesto las ventajas de no producción de cáncer a partir de la bija, teniendo en cuenta pruebas que señalan la transcendental operación de la bixina en el decremento de la peroxidación lipídica (proceso inducido por la formación de radicales libres) y la proliferación de células tumorales. Gram parte de estos estudios clasifican al achiote como un suplemento nutricional anti tumoral. (Pérez et al, 2004)

Acción como antiagregante plaquetario: la Bixa Orellana inhibió la agregación inducida por la trombina de plaquetas humanas lavadas. (Lourido & Martínez, 2010)

Acción inmunomoduladora: La bixina a comparación de otros pigmentos que se mezclan con el agua, incrementa la obtención de IgM a dosis mínimas como 1mmol/L. los autores concluyen que este colorante puede regular la producción de inmunoglobulinas. (Lourido & Martínez, 2010)

Antunes, Pascoal, Bianchi y Dias (2005). *Acción como revelador de placa dentobacteriana:* Una investigación hecha en canes de raza Beagle demostró las potencialidades de la bija para la tinción de la placa dentobacteriana, con resultados muy similares a la tinción lograda con el revelador convencional PLACDENT, cuya composición es sintética, el revelador elaborado a base de achiote, denominado BIXADENT es una composición natural.

2.2.4. INVESTIGACIONES DE TOXICOLOGÍA

Antunes *et al* (2005). Las investigaciones sobre niveles tóxicos agudos efectuados para extracto de bija han mostrado baja toxicidad. Una investigación hecha en roedores, a las cuales se les dispuso una cantidad de dos mil mg/kg/día de bija, manifestó que era inofensivo. Por otro lado, un ensayo sobre resistencia en la piel de conejos elaborado con un jugo de *Bixa Orellana*, no demostró variaciones específicas, lo cual fue demostrado a través de investigaciones histológicas cutáneas y del cuero cabelludo.

Otros científicos utilizaron en su investigación un jugo alcoholizado de *Bixa Orellana* en dermis deterioradas en conejos de Nueva Zelanda y dedujeron que el artículo no es un irritador de la piel primario.

Por otro lado, se llevó a cabo una investigación de irritación en la membrana bucal por el jugo de bija, efectuado en Hámsteres, no manifestando cambios en la

membrana bucal de los roedores evaluados; en la prueba, el indicador de erosión aguda fue de 0,0 y no se demostró otros caracteres médicos en los roedores. (Antunes *et al*, 2005)

Las investigaciones poco crónicas de niveles de tóxicos bucales a partir del jugo de bija suministrados por trece semanas en roedores, no exhibieron símbolos de niveles de toxicidad. (Antunes *et al*, 2005)

Capacidad para originar daños al material genético y fenómenos que desarrollan cáncer: En una investigación hecha en roedores se señaló que el jugo de bija en bajas cantidades de 0.3 por ciento, 200 mg/kg/día, necesitó la capacidad modificadora para los factores que originan cáncer en el hígado. En otro ensayo, elaborado en roedores, alcanzó que la bija no tiene el potencial de causar daños al material genético ni posee factores que favorecen al cáncer debido a las elevadas dosis utilizadas (1 000 mg/L). (Antunes *et al*, 2005)

Toxicidad del embrión y de la madre: La bija no provocó ni acrecentó el suceso de anormalidades externas, relacionadas a las vísceras ni al esqueleto, en la descendencia de los roedores evaluados; por lo que se determinó que no hay toxicidad para el embrión ni para la madre.

En la *Nutrition Meetings Report Series* de la Organización mundial de la Alimentación y Agricultura se hace hincapié a ensayos de niveles de tóxicos agudos para el jugo de bija, utilizado en roedores, investigaciones hechas sobre la piel de conejos, no hallaron pruebas de niveles de toxicidad.

2.2.5. ESTUDIOS CLÍNICOS

Existe poca literatura que se refiere a investigaciones que utilizan jugos de bija para tratar las dolencias en los individuos.

Pérez *et al.* (2004) investigaron sobre los efectos del fármaco en el organismo, desplegó un proceso para detectar y determinar la acción de la norbixina y bixina en el plasma del individuo y se examinó la impregnación de una cantidad de 1 mililitro de jugo de bija usado como tintura de comestibles comerciales (dieciséis miligramos de cis bixina en aceite de soya). Se revelaron que los dos colorantes poseen cuantiosas diferenciaciones entre una persona y otra, en distintas circunstancias del día y una limpieza del plasma completa por la bixina a las ocho horas y por la norbixina, a las veinticuatro horas de la ingesta, sin descubrimiento de secuelas desfavorables entre las personas evaluadas. Esto se dio en los seres humanos y roedores. Las tinturas de la bija son llevadas del intestino a la sangre y la limpieza de la sangre es muy repentina.

Se llevó a cabo una prueba de laboratorio en individuos en el año 2007, en donde se utilizó el jugo de bija en el agrandamiento de la próstata, las personas analizadas no revelaron alguna ventaja referente a los tratamientos con placebos, pero no se identificó secuelas dañinas durante las pruebas.

Pires, Santos, Bonan y Almeida (2002). La Organización Mundial de la Salud ha evaluado que es admisible la ingesta en el día a día de la bija, referido como bixina en un rango de 0 a 0,065 mg/kg de peso por cuerpo. En Estados Unidos, el 50% de los jugos de bija, aproximadamente veinte toneladas son empleados para adicionarse a los requesones. Se tasa una ingesta media de 0.38

mg por individuo en el día a día, lo cual hace referencia a un 10% de la ingesta diaria sugerida.

En Reino Unido, Francia, y Alemania; la ingesta aproximada es diez veces menor que Estados Unidos, con 1% de la cantidad diaria sugerida, no obstante, el 70% se ingiere como tinturas ya sea la bixina o la norbixina que se agregan a los quesos a comparación de los Estados Unidos, en donde la tintura ingerida que proviene de los requesones equivale al 5%.

2.2.6. ALTERNATIVAS DE TERAPIA EN ESTOMATOLOGÍA

Los recursos para las terapias de acuerdo a los estomatólogos son insuficientes en los artículos que tienen el agente para cicatrizar, son no oxidantes, no producen inflamaciones y no son generadores de microbios, por lo cual, no existe un producto que contemple todas las características en conjunto.

Castello, Phatak, Chandra y Sharon (2002). Son varios los padecimientos bucales que se determinan de manera clínica por la manifestación de úlceras y desprendimientos de capas epiteliales, lo que origina la presencia de contagios secundarios que empeoran el diagnóstico, entre estas se tienen a las tres diversidades de inflamación de la mucosa oral con afta recurrentes, las úlceras traumáticas, las contusiones por chamuscos, el herpes oral y la inflamación que destruyen los tejidos de los dientes, etc. La cura de estas en la mayoría de los casos, es un auténtico desafío para el estomatólogo, por no tener alternativas de terapias eficientes.

Ahora bien, el aumento de los estudios que intentan comprobar la injerencia del desequilibrio de las células por la disminución de los oxidantes en

la patogenia de diversos padecimientos, entre ellos el EAR, forja que el estomatólogo empiece a destinar su cuidado hacia los tratamientos antioxidantes como una alternativa permitida.

Castello *et al* (2002). La bija, fruto natural, sin toxicidad y con características que cicatriza, no oxida, previene de las inflamaciones y no genera microbios, etc. No obstante, frente a la totalidad de los efectos expuestos en este estudio, antes de iniciar a utilizar enjuagues con bija en los servicios de estomatología, es definitivamente necesario la descripción y realización de pruebas en los laboratorios fiscalizados, con el propósito de demostrar la eficacia de la terapia en las distintas enfermedades.

Por último, todo producto tendrá que ser analizado por los representantes que regulan de forma adecuada en el país y que en última etapa son las responsables de autorizar su utilización.

Ventajas sobre nutrición

Castello *et al* (2002). Respecto al estudio de Phyllis Balch denominado "Prescription for Nutritional Healing", el achiote incluye aminoácidos, fósforo, calcio, hierro y, vitaminas B2 y B3. El achiote además compone betacarotenos y vitamina C, como fuentes de antioxidantes que favorecen a la prevención de los deterioros provocados de los radicales libres hacia las células y el ADN. Asimismo, el achiote presenta ácido elágico, la cianidina fitoquímica, saponinas, ácido salicílico, y taninos. Los alimentos derivados de las plantas son compuestos que se hallan de forma natural en las plantas que ayudan a la prevención para dar tratamiento a los padecimientos en las personas.

Las evidencias de la utilización ancestral han sido una etapa previa para avalar la eficacia y la salubridad del Achiote, sirviendo de apoyo para las pruebas de laboratorio y como declaración de las particularidades para las terapias.

Componentes químicos.

En el Achiote se han reconocido 35 elementos, entre los cuales se encuentran el acetato de occidentalol (9.7%), ishwarane (9.1%), acetato de farnesilo (11.6%), espatulenol (9.6%), bixina y norbixina, los cuales forman los mayores componentes. La cuantía de bixina y norbixina cambia de manera significativa; las valías habituales son de 2 a 5%, pero la cantidad conseguiría estar alrededor del 7% en relación al peso de las semillas no húmedas. La bixina es la forma cis del monometil éster del ácido carotenoide carboxílico, que se halla en la pulpa que encierra las semillas, que puede alcanzar hasta un tres por ciento respecto a su peso. (Galindo, Westhoff & Rankin, 2003).

Configuración de la Bixina y la Norbixina

Otros componentes del achiote son: el ácido tomentósico, la acetona, la trans bixina, los carotenoides, apocarotenoides, la orelina, la achiotina y un metil éster (Morrison E. y col., 1991; Schneider W., 1965). Aparte de estos elementos, el achiote posee en su composición: el terebintinous y ácidos grasos.

Galindo *et al.* (2003). En las hojas se hallan: los sesquiterpenos, el ishwarano como aceite esencial, el Bixaganeno y ciertos flavonoides como: bisulfato de apigenina, glucósido de apigenina, flavonas, 8-bisulfato de hipolaetina, 7-bisulfato de apigenina, hipoaletina, 7- bisulfato de luteolina, antocianidinas, cosmosiina, y sesquiterpenlactonas (Ramírez T., 2001); ciertos carotenoides como la orelina, β -

caroteno, la bixina, la zeaxantina, metilbixina, la norbixina, el ácido tomentósico, la criptoxantina y la luteína; vitaminas A, B, y C; así como proteínas; calcio; azúcares; celulosa; fierro y fósforo; grasas; los diterpenos como: el geranil, alcaloides (vestigios), ácido gálico (benzenoide), farnesilacetona, geraniol, formato y ácido alfitólico.

Galindo *et al.* (2003). En las semillas se ubican: carotenoides formulados como vitamina A, concentración de 1 000 -2 000 U.I./g de la semilla seca, entre ellos sobresalen: criptoxantina, metilbixina bixina, luteína, betabixina, zeaxantina, norbixina, orelina y β -caroteno; asimismo, abarcan achiotina, bixinato de sodio, pectinas, ishwarane - esencia floral de las semillas, taninos, ácido tomentósico, proteínas y un hidrocarburo sesquiterpénico, Las semillas igualmente comprenden: elevada dosis de fósforo sílica, baja cantidad de calcio potasa y; una elevada cantidad de proteínas, que involucra niveles proporcionados de lisina y triptófano; pero escasas cantidades de metionina, fenilalanina, isoleucina, treonina y leucina.

Galindo *et al.* (2003). En estomatología se puede aprovechar sus grandes propiedades de Bixa Orellana de cicatrizante, antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana en las enfermedades de la boca que se describen por la manifestación de úlceras y desprendimiento del epitelio.

La cantidad por día admitida y sugerida por la Organización Mundial de la Salud es de 0 a 0,065 mg/kg de peso. El annato es un pigmento que posee exiguo niveles de tóxicos para el individuo, existiendo insuficientes sucesos de incidentes de alergia.

2.3. CÁNDIDA ÁLBICANS

Es un hongo diploide asexual (forma de levadura) y saprófito, de la familia de los Sacaromicetos. Habitualmente se encuentra en la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal y en la vagina. Tiene una función relevante en la digestión de los azúcares, mediante un proceso de fermentación. Cuando la infección por hongos se relaciona con la prótesis que se extraen podrían dar lugar a la formación de inflamación de la membrana bucal subprotésica, fundamentalmente en dispositivos no ajustados y con varios años de utilización. (Fleischer *et al.*, 2003)

Fleischer *et al.* (2003). Dice esta micosis es parte de la cavidad oral, pero ante algunos elementos que predisponen tienen la capacidad de desplegarse y provocar el contagio; primordialmente el tipo *Cándida Albicans*. A pesar, que ciertos investigadores cuestionen que la *Cándida Albicans* es el única responsable de esta contusión, existen otros tipos de hongos, familias de la *Cándida* que podrían estar involucradas como factores de etiologías.

Moreira, Bernal, Urbizo y Molina (1989). Los cultivos de *Cándidas* que están en la parte inferior de los dispositivos de prótesis y que se relacionan de manera directa con la mucosa del paladar originan que se modifique su particularidad clínica en tres niveles primordiales.

Moreira *et al* (1989). El tratamiento para esta dolencia se sugiere supresión de los componentes específicos, extraer las prótesis por espacios prolongados, empleando enjuagues bucales y un tratamiento antimicótico. Al emplear otros métodos mayormente nocivos como el aloe, la miel de abeja, el ozono, el mango y el láser se consiguen efectos placenteros en un lapso más corto, de esta manera, se evita, el uso de fármacos habituales. (Leigh, Steele. & Wormley, 2006)

En la bibliografía revisada, se encontró una prevalencia de 46.86 % a un 70% en los que utilizan prótesis completas, que están relacionados a la continuidad de dispositivos bucales no ajustados, que no poseen una buena funcionalidad, que luchan con prácticas de limpieza que no favorecen para un ambiente orgánico que está en continuo contacto con la mucosa. (Bernal & Moreira, 2005)



Figura 3. Candidiasis pseudomembranosa. Las placas blancas se desprenden al raspado.

2.3.1 ESTOMATITIS SUB-PROTÉSICA

La estomatitis su protésica es un vocablo que se refiere a las modificaciones de la inflamación de la mucosa bucal, limitados a la membrana que recubre una prótesis dentaria, afectando con elevada prevalencia a individuos que portan prótesis de resina plástica que extraen. (Academia Americana de Medicina Oral, 1996).

Se determina por pequeños lesiones con coloración enrojecida confinada, hasta distensiones que enrojecen la mucosa que determinan el límite de la

plataforma de la prótesis y en etapas más avanzadas, se observa en forma de verrugas toda la extensión de la mucosa palatina, este cambio clínico ha causado categorizaciones clínicas específicas. (Chimenos, 2011)

El origen de este padecimiento se debe a varias causas, como higiene inadecuado, enfermedades sistémicas, inmunosupresión, nutrición, prótesis desadaptadas, manejo incorrecto de laboratorio, falta de control e incumplimiento de las indicaciones del rehabilitador oral etc. (Ortega, 2006)

El tratamiento para esta micosis debe tomar en cuenta la extracción de la prótesis, la supresión de elementos internos, el uso de medicinas que beneficien al tratamiento clínico, por lo que se sugiere limpiar la prótesis, emplear enjuagues orales y tratamiento anti fungicidas. Asimismo, se han realizado otras pruebas con el láser, el mango, la miel de abeja, el ozono y la sábila, consiguiéndose efectos placenteros. (Wilson, 1999)

2.4 BASES TEÓRICAS ESPECIALIZADAS SOBRE EL TEMA

Barbachan, Rados, Santana y Domínguez (2005). La cavidad bucal es abierto, de forma categóricas y ecológicas; estas medidas se catalogan como: físicos, de nutrición, que inhiben y que se adhieren con las bacterias, especificada por la aparición de un dispositivo por el cual, los microorganismos tienen el potencial de sumergir a los tejidos de la cavidad bucal y aparatos protésicos.

Las prótesis dentarias completas o removibles se fabrican habitualmente de resina acrílica de acuerdo a los polimetilmetacrilatos (PMMA), el cual plantea un área consistente que se halla en relación directa con la membrana bucal del paciente, en las áreas de las prótesis confeccionadas con PMMA, después de su

instalación en la cavidad oral, muestran una película orgánica que están constituidas por proteínas que se encuentran en la saliva, que operaran como intermediarios en la adherencia de la placa por bacterias a la plataforma de la prótesis. Las resinas de material acrílico poseen las características de capturar placa bacteriana de acuerdo a las particularidades de porosidad y rigidez innatas, y en su mayoría se deterioran por el manejo del elastómero en cualquiera de sus métodos de polimerización.

Estas particularidades superficiales del material, podrían ayudar a la cohesión y propagación de bacterias, entre ellas, se da en pacientes que portan prótesis y son atacadas por *Cándida albicans*, una levadura minúscula, infecciosa y oportunista, originador de métodos contagiosos que ocurren en la cavidad oral, entre ellas, se halla la inflamación de la membrana bucal por subprótesis. (Campo & Serrano, 2000)

Carreira y Almagro (2000). El diagnóstico de los tejidos de la ESP se determina por la parte epitelial que es considerablemente delgado y el tejido conjuntivo que manifiesta inflamación en exceso; que mayormente se ubica en la superficie del paladar, preponderantemente en mujeres que representan un sistema continuo de dolor.

El método de adherencia de las bacterias a la superficie de la prótesis en una primera etapa es no específico y cambiante; una hipótesis que puede describir este fenómeno está referido a que esta adherencia está regida por la energía de la zona de contacto entre las bacterias y el espacio que recubre la prótesis, donde actúan anomalías de electricidad estática y de fobia al agua; en una segunda etapa, la

actividad de la adherencia está regido por la interacción entre los que se adhieren y los aceptantes específicamente.



Figura 4. Estomatitis protética con sobreinfección candidiásica.

La relación física de *Cándida albicans* con el anfitrión son a nivel del área de las células, y los componentes proteicos de las paredes celulares de este hongo, implican esta cohesión, se han elegido como adherentes, el dispositivo que es registrado en el anfitrión por el microorganismo que se conoce como receptor.

La *Cándida albicans* se incrusta a células del epitelio, células endoteliales, elementos solubles, elementos de la matriz extra celular y materiales inertes que están instituidos en el organismo del anfitrión (prótesis), la gran colección de las que se adhieren están desplegados por los hongos y manifiestan la diversidad de lugares en el anfitrión que podrían ser irrumpidos. De acuerdo a la Asociación Dental Americana (ADA), la Organización Internacional de Estandarización (ISO) y la Academia de Prótesis Dentales para que una resina pueda ser utilizada

oralmente en el diseño de prótesis debe cumplir con ciertas características primordiales como no ser permeable. (Mulet y Díaz, 2006).

2.5 MARCO CONCEPTUAL

Bixa Orellana (achiote). Es una planta oriunda de la parte sur y central de América y del Caribe. Del achiote brotan troncos de tonalidad rojiza y anaranjado, vainas con espinas, con aspecto de un corazón, cada vaina posee alrededor de cincuenta granos. Las hordas que se ubican en la selva han usado frutos y hojas del achiote para diversas intenciones en la medicina desde tiempos remotos. (Dervis, 2009)

La candidiasis o candidosis oral. Es la enfermedad infecciosa ocasionada por el crecimiento de las colonias de *Cándida* y la penetración de las mismas en los tejidos orales cuando las barreras físicas y las defensas del huésped se encuentran alteradas. Es la infección micótica de afectación oral más frecuente. (Fleischer, *et al*, 2003)

La estomatitis subprotésica. Es un vocablo que se refiere a variabilidades respecto a la inflamación bucal, que hace pérdida de la membrana que protege a una prótesis dentaria, afectando con una elevada predominancia.(Chimenos, 2011)

2.6 HIPÓTESIS GENERAL

Hipótesis general

Ho: El efecto antimicótico del aceite de achiote sobre *cándida albicans* aislados de estomatitis subprotésica es menor que del aceite de Nistatina.

H1: El efecto antimicótico del aceite de achiote sobre *cándida albicans* aislados de estomatitis subprotésica es mayor que del aceite de Nistatina.

Hipótesis específicas

H1: El efecto antimicótico del aceite de achiote sobre *Candida albicans* aislados de estomatitis subprotésica es mayor que el aceite de Nistatina dentro de las 24 horas

H2: El efecto antimicótico del aceite de achiote sobre *Candida albicans* aislados de estomatitis subprotésica es mayor que el aceite de Nistatina dentro de las 48 horas.

H3: El efecto antimicótico del aceite de achiote sobre *Candida albicans* aislados de estomatitis subprotésica es mayor que el aceite de Nistatina dentro de las 72 horas.

CAPÍTULO III

MÉTODO

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Experimental

Es experimental porque posee intervención del investigador, existe manipulación de variables es planeado. (Hernández, Sampieri y Batista, 2014).

Prospectivo

Es prospectivo porque los datos necesarios para el estudio son recogidos a propósito de la investigación, es el investigador quien realiza las mediciones, teniendo control del sesgo de medición. (Hernández et al, 2014).

Longitudinal

Es longitudinal porque la variable de estudio es medida en más de una ocasión, son comparaciones antes y después. (Kelinger, 2009)

Analítico

Es analítico porque tiene por lo menos dos variables de interés, pone a prueba su hipótesis, su análisis estadístico es bivariado. (Kelinger, 2009)

3.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Nivel de investigación: Descriptivo explicativo

Tipo de diseño: Cuasi experimental

Método de selección: Muestreo no probabilístico intencional. (Sotelo y Sotelo, 2015)

3.3 ESTRATEGIA DE PRUEBA DE HIPÓTESIS

Se encontró la medida de los halos de inhibición del aceite de Orellana “achote” en cada concentración al 5%, 10%, 20%, 40%, 60% y 100% respectivamente en comparación con la Nistatina al 100.000 UI / ml frente a la *Cándida albicans*.

Posteriormente se procedió a su comparación en función al tiempo de 24, 48 y 72 horas para analizar el efecto antimicótico respectivo de las diversas concentraciones del aceite de Orellana.

Los datos recogidos se procedieron a analizar en dispositivo electrónico (laptop), mediante el paquete estadístico SPSS versión 23. Los resultados posteriormente se mostraron mediante tablas y figuras respetando al estilo APA. (Sotelo y Sotelo, 2013)

3.4 VARIABLES

Variables independientes

Aceite de Bixa Orellana (achiote) a diferentes concentraciones

Nistatina al 100.000 UI / ml

Variable dependiente

Efecto antimicótico in vitro sobre cepas de *Cándida albicans* ATCC 90028

Variable interviniente

Tiempo de exposición

3.5. Operacionalización de las variables

Tabla 1. Operacionalización de variables

Variable	Dimensión	Tipo	Indicador	Instrumento	Técnica	Escala	Valores
Variable Independiente: aceite de Bixa Orellana (achiote)	Efecto antimicótico del aceite de Bixa Orellana (Achiote).	Numérica, cuantitativa, independiente	Dosis Frecuencia Tiempo	Ficha recolección datos	Observación	Nominal	Presenta No presenta
Variable Dependiente: Estomatítisis subprotésica (cándida albicans)	Estomatítisis subprotésica (cándida albicans)	Numérica, cuantitativa, independiente	- Tipo I - Tipo II - Tipo III	Ficha clínica	Examen Clínico Frotéis	Ordinal	5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 100%
Variable interviniente Tiempo exposición		Catagórica, Cuantitativa, Control	Tiempo de acción antimicóticos en horas		Observación	Ordinal	24 horas 48 horas 72 horas

ESCALA DE DURAFFOURD:

Es una escala de medición que se emplea para indicar en forma cualitativa los resultados del efecto antimicótico a través de las mediciones de halos de inhibición in vitro:

Nula (-): para un diámetro inferior a 8 mm

Sensibilidad limite (sensible = positivo): para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm

Medio (muy sensible=positivo, positivo): para un diámetro entre 14 y 20 mm

Sumamente sensible (positivo, positivo, positivo): para un diámetro superior a 20 mm

3.6 POBLACIÓN

El total de placas Petri usados como muestra se determinó por el número de concentraciones que se usaron en el experimento, siendo igual a 6 (5%, 10%, 20%, 40%, 60% y 100% del extracto de aceite de Orellana y Nistatina al 100.000 UI / ml).

Por lo que el total de placas Petri sería: 3 x 6=18 placas Petri

3.7 MUESTRA

El tamaño de muestra estaría dado por la fórmula para comparar medias:

$$n = \frac{2(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 (DE)^2}{d^2}$$

Donde:

n= número de repeticiones en cada concentración

α = Probabilidad de cometer el error tipo I

β = Probabilidad de cometer el error tipo II

Z= Valor estándar de la distribución normal se asume un nivel de confianza igual al 5%

DE= Distribución estándar

d= Diferencia entre promedios para rechazar la igualdad de medias

Considerando el nivel de confianza al 5% se obtiene $Z= 1.64$, la potencia de prueba será igual a 80%, se considera $\beta=0.20$ y $Z\beta =0.84$. Para $(DE/d)^2=0.50$. Se obtiene:

$$n=2(1.64+0.84)^2(0.5)^2=3$$

Entonces se requiere una muestra de 3 repeticiones para cada concentración utilizada.

3.8. PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

a. Obtención del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote)

Con la colaboración de especialista la Bixa Orellana (achiote) se obtuvo del distrito de Chanchamayo, ubicado en el departamento de Junín provincia de Chanchamayo. Se realizó la identificación exacta de la especie obtenida como la planta de Bixa Orellana (achiote). Se procedió a la obtención del extracto de aceite en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica Centro de Control Analítico CENPROFARMA - CCA.

Se obtuvo aproximadamente 0.5 kg de las hojas de la planta de Bixa Orellana (achiote), luego se ingresó al horno a una temperatura de 48°C por 8 horas teniendo como objetivo la eliminación de la humedad de las vainas de la planta.



Figura 5. Extractos en la estufa.

Llevar las hojas secas a molienda hasta que estén completamente pulverizadas. Se pesó 250g de las hojas pulverizadas y se maceraron en un frasco en la oscuridad por un periodo de 5 días con 3 litros de etanol a 96°, posteriormente se realizó la filtración del macerado con papel filtro y se colocó en placas a la estufa para la evaporación del etanol a 48°C, por cada 10 ml de la muestra se obtuvo cerca de 0.9gr. de extracto de aceite de Bixa Orellana, luego de 5 días de evaporación, se terminó depositando en viales estériles.

b. Reactivación de la cepa fúngica

Para poder realizar la reactivación de la *Cándida Albicans* se empleó en este trabajo como medio caldo Agar Sabouraud con Dextrosa

Se empleó una temperatura adecuada a la cepa de 37°C para su incubación siendo revisada las características del caldo, luego se procedió por un lapso de 24 horas a la siembra y se realizó el reconocimiento de las cepas con la tinción Gram para la evaluación de las cepas en grado de pureza.

c. Preparación de los medios de cultivo

Se emplearon 36 placas Petri determinadas con fórmula habiendo pasado por un respectivo proceso de esterilizado para evitar contaminación, el cultivo seleccionado fue Mueller Hinton Agar para el total de placas Petri (100mm x 15mm) a razón de un espesor de 6 mm por placa.

Se llevó a cabo la rotulación sobre las placas para su identificación del aceite de Bixa Orellana (achiote) al 5%,10%, 20%, 40%, 60%,100% y la Nistatina al 100.000 UI / ml

d. Prueba de Sensibilidad

Método de difusión en agar por pozos.

Se procedió a la ejecución de la elaboración de pozos con un tubo de ensayo alcanzando unos 6 mm de diámetro en los cuales se realizó el sembrado de la *Cándida Albicans* en suspensión, sobre los cuales se colocaron, el aceite de Bixa Orellana (achiote), al 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 100% y la Nistatina al 100.000 UI / ml el método utilizado fue el de Kirby-Bauer.

Preparación del Inóculo

Se debió hacer la estandarización del inóculo considerando la turbidez y el sembrado en placas Petri para lo que se recurrió al hisopado en el contenido de las placas con Agar Sabouraud con Dextrosa de forma uniforme para todas las 36 placas con rotaciones y direccionando para que toda su superficie quedase cubierta.

Inoculación del principio activo

Sobre los pozos elaboradoras, se depositó un aproximado de 20 UL buscando que tuviesen el mismo nivel en todas con la ayuda de una micropipeta calibrada. La temperatura usada fue de 37°C, donde luego con la ayuda de una regla de vernier se ejecutó la medición de los halos a las 24, 48 y 72 horas respectivamente habiendo comprobado que el medio este correctamente estéril.

3.10. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Durante el procedimiento de recolección de datos, se siguieron los siguientes pasos: se tuvo que realizar la selección del respectivo instrumento validado, la técnica de recolección que fue la observación y su respectivo registro de medición, la elaboración de dichos registros donde se anotaron las mediciones resultantes de la experimentación.

En el caso del instrumento cumplió con dos características necesarias, la confiabilidad y validez, refiriéndose a la primera como el grado en que la aplicación repetida del mismo arroja resultados iguales y la validez al grado en que dicho instrumento mide con el nivel de confiabilidad los datos obtenidos en la investigación.

Para construir el instrumento de medición de los halos de inhibición se tuvo que: listar las variables, variable independiente: Aceite de Bixa Orellana (Achiote) a diferentes concentraciones, Nistatina al 100.000 UI / ml, variable dependiente: efecto inhibidor de la *Cándida albicans*, variable interviniente: tiempo de exposición y fue elaborado con las concentraciones y tiempos y medidas de halos según la escala de Duraffourd, se revisó su definición conceptual y comprensión de su significado, se revisó como se han definido operacionalmente, se eligió el instrumento de medición que favoreció la comparación y se adaptó al contexto de la investigación, se indicó el nivel de medición y como se codificaron los datos obtenidos.

Para esta investigación se elaboró un instrumento de medición que se muestra en la parte de anexos (Anexo N 2) el cual se aplicó a 36 placas Petri en un muestreo no probabilístico intencional.

3.11. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

La base de datos fue ingresada a partir de los resultados obtenidos con la ficha de medición de halos de inhibición, para el control a las 24, 48 y 72 horas de Aceite de Bixa Orellana (Achiote) a diferentes concentraciones frente a la *Cándida albicans* vs la Nistatina a 100.000 UI / ml, en el programa SPSS versión 23. Se elaboraron tablas y cuadros, relacionando a la efectividad de las concentraciones de la planta sobre la *Cándida albicans* comparado con la Nistatina al 100.000 UI / ml de acuerdo a los objetivos planteados. (Wayne, 2014)

En el análisis de la estadística con su respectiva tabulación en los datos obtenidos, se utilizó el programa SPSS versión 23, ya que los datos analizados en los respectivos grupos llegaron a presentar valores medios diferentes con una muestra que no corresponde a una distribución normal se utilizó pruebas no paramétricas por el comportamiento de dichos resultados.

Se evaluó las mediciones mediante las pruebas no paramétricas de Friedman para comparación de rangos y U Mann Whitney para grupos independientes. (Wayne, 2014)

Ambas pruebas fueron trabajadas con un nivel de significancia de 0.05. La interpretación de los datos se realizó basada en los resultados estadísticos. (Sotelo y Sotelo, 2013).

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

4.1 PRESENTACIÓN DE TABLAS Y CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

A continuación se presentan los resultados obtenidos a través de tablas y figuras en la investigación cuyo objetivo general fue identificar el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre *Candida albicans*, aislados de estomatitis sub protésica de pacientes portadores de prótesis de la clínica estomatológica de la Universidad Nacional Federico Villarreal, así como describir el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre *Candida albicans*, aislados de estomatitis sub protésica, de pacientes portadores de prótesis total en 24 horas, en 48 horas y en 72 horas. Se inicia esta presentación de resultados con la estadística descriptiva y luego con la estadística inferencial donde se mostrará la contrastación de hipótesis tanto general como específica.

Estadística descriptiva

Tabla 3. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 5% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

	Concentración de achiote al 5%		
	24hr	48hr	72hr
Promedio	11	11	11
Mínimo	11	11	11
Máximo	11	11	11
Desviación estándar	0	0	0

Figura 6. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 5% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

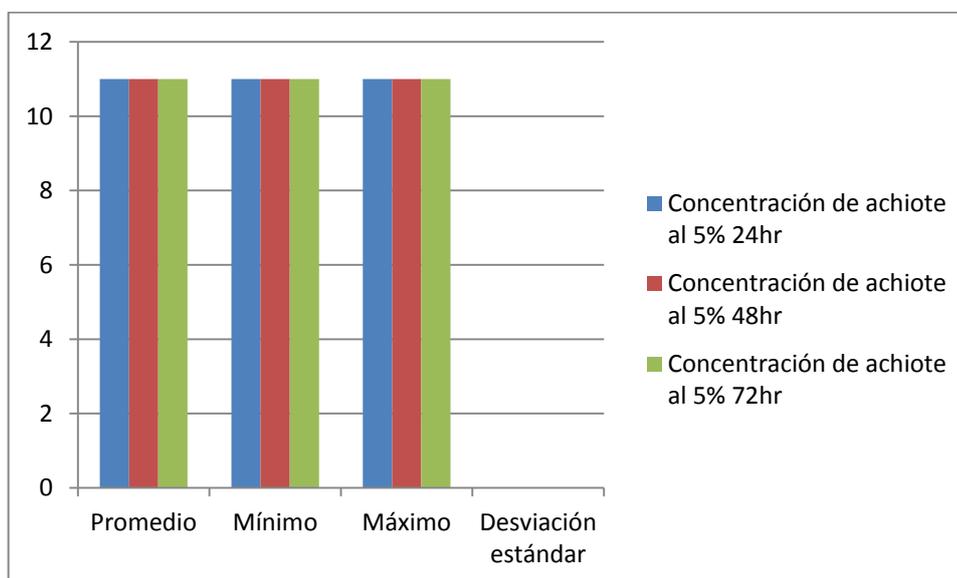


Tabla 4. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 10% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

	Concentración de achiote al 10%		
	24hr	48hr	72hr
Promedio	11	11.03	11
Mínimo	11	11	11
Máximo	11	12	11
Desviación estándar	0	0.19	0

Figura 7. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 10% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

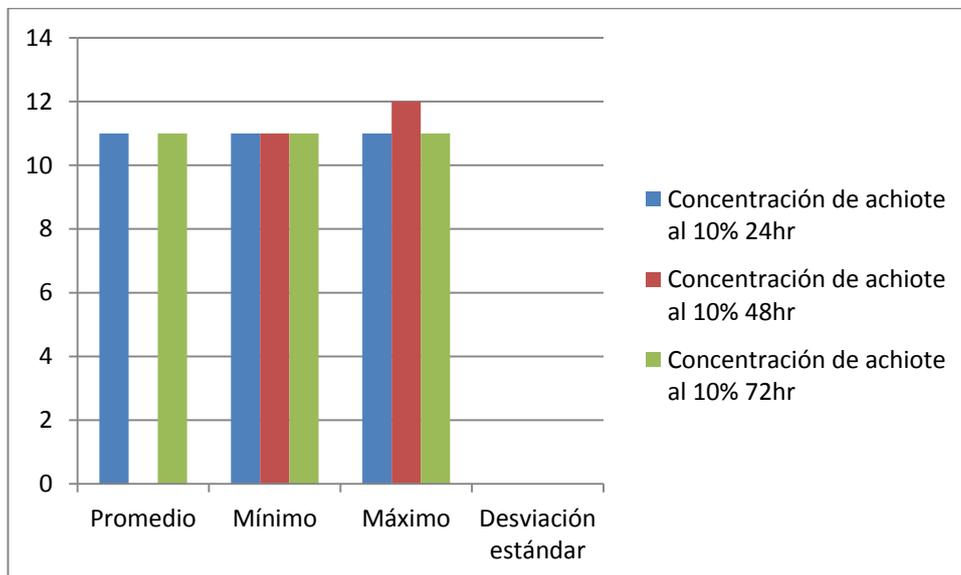


Tabla 5. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 20% ante la candida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

	Concentración de achiote al 20%		
	24hr	48hr	72hr
Promedio	13.1	11.55	11.48
Mínimo	12	11	11
Máximo	15	14	13
Desviación estándar	1.35	0.74	0.69

Figura 8. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 20% ante la candida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

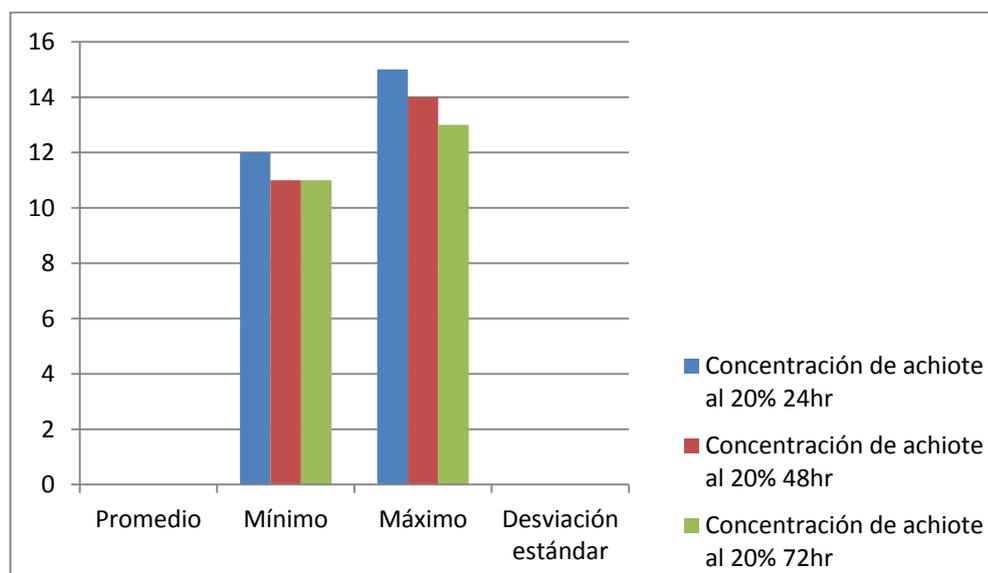


Tabla 6. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 40% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

	Concentración de achiote al 40%		
	24hr	48hr	72hr
Promedio	17.28	17.28	17
Mínimo	16	16	16
Máximo	20	19	18
Desviación estándar	0.84	0.75	0.65

Figura 9. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 40% ante la Cándida Albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

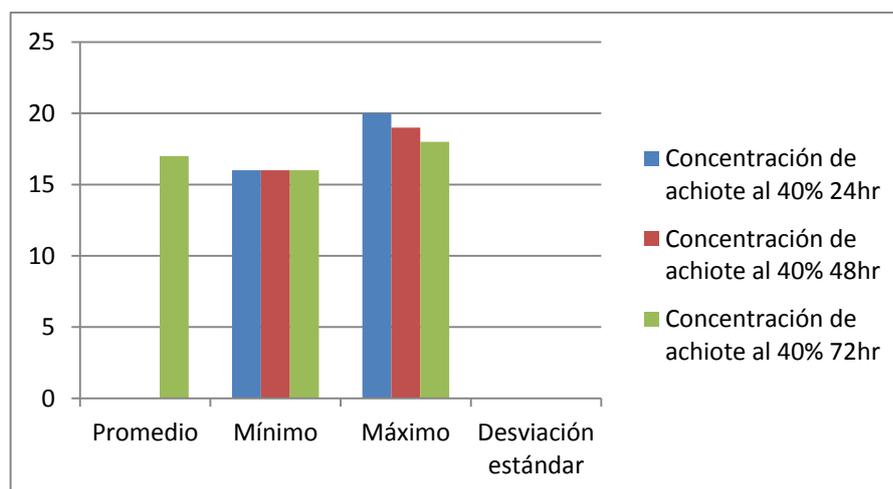


Tabla 7. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 60% ante la candida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

	Concentración de achiote al 60%		
	24hr	48hr	72hr
Promedio	19.14	18.86	18.52
Mínimo	15	18	18
Máximo	21	21	20
Desviación estándar	1.06	0.74	0.63

Figura 10. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 60% ante la candida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

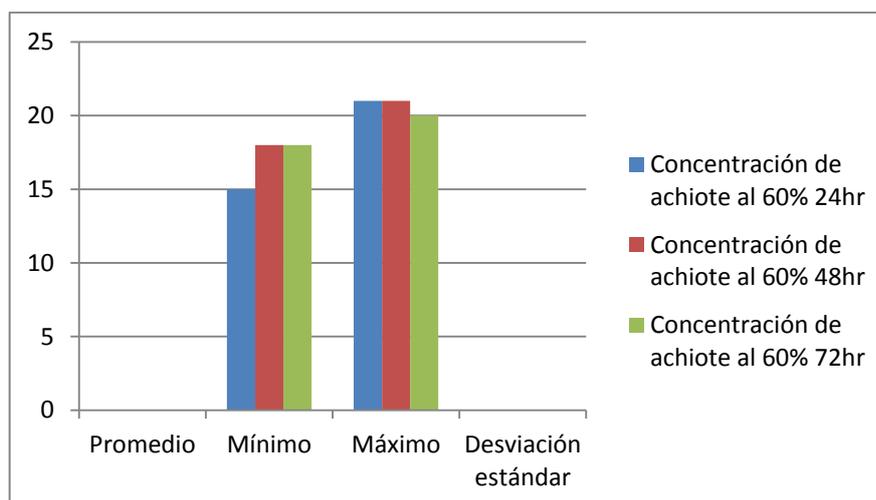
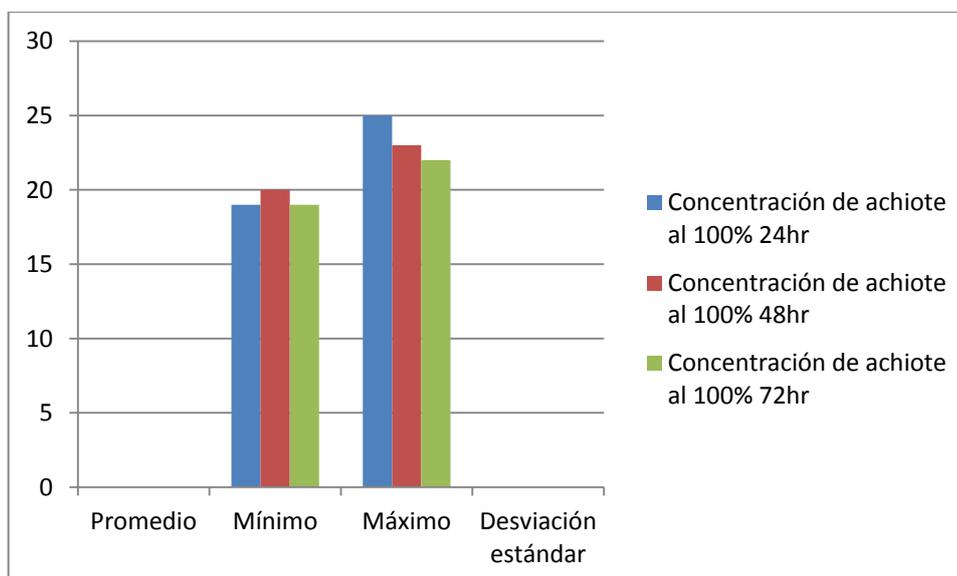


Tabla 8. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 100% ante la candida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.

	Concentración de achiote al 100%		
	24hr	48hr	72hr
Promedio	21.48	20.83	20.17
Mínimo	19	20	19
Máximo	25	23	22
Desviación estándar	1.3	0.85	0.81

Figura 11. Efecto antimicótico in vitro del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) al 100% ante la candida albicans a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.



*Tabla 9. Efecto antimicótico in vitro de la Nistatina al 100.000 UI / ml ante el *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.*

	Nistatina		
	24hr	48hr	72hr
Promedio	26	26	26
Mínimo	26	26	26
Máximo	26	26	26
Desviación estándar	0	0	0

*Figura 12. Efecto antimicótico in vitro de la Nistatina al 100.000 UI / ml ante el *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas de incubación, a través de la medición de los halos de inhibición.*

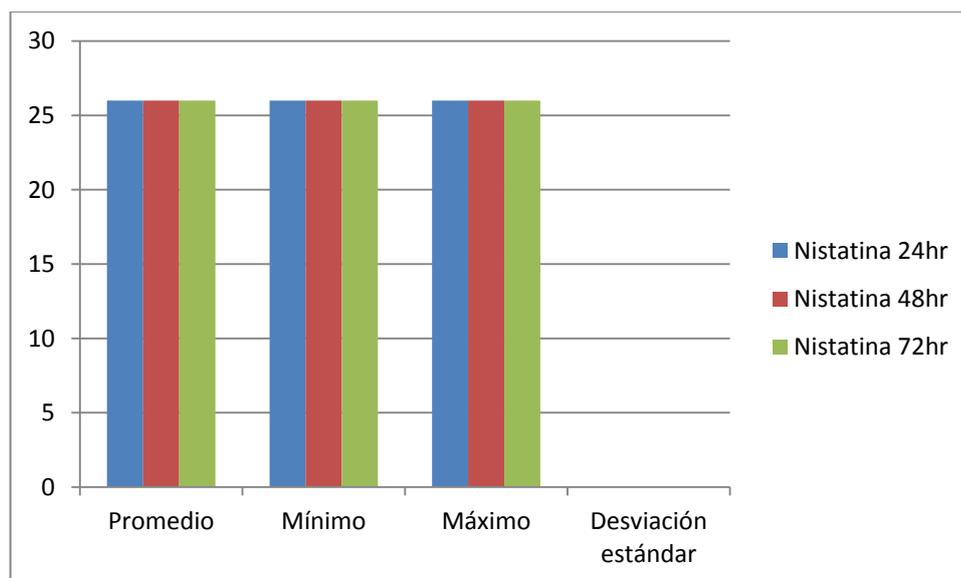


Tabla 10. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) y la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 24 horas.

	24h						Nistatina
	Concentración de Achiote						
	5%	10%	20%	40%	60%	100%	
Promedio	11	11	13.1	17.28	19.14	21.48	26
Mínimo	11	11	12	16	15	19	26
Máximo	11	11	15	20	21	25	26
Desviación estándar	0	0	1.345	0.841	1.06	1.299	0

Figura 13. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) y la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 24 horas.

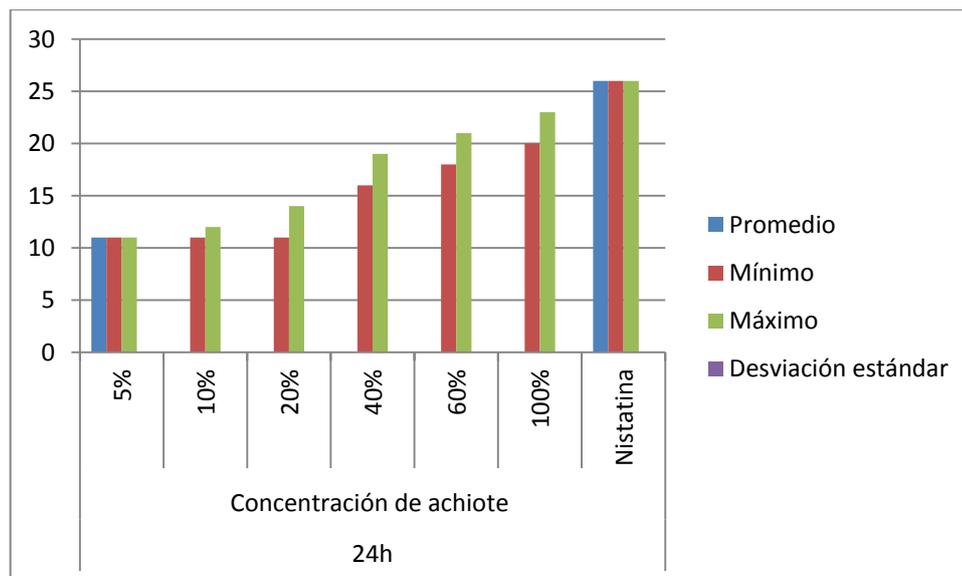


Tabla 11. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) y la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 48 horas.

	48h						Nistatina
	Concentración de achiote						
	5%	10%	20%	40%	60%	100%	
Promedio	11	11.03	11.55	17.28	18.86	20.83	26
Mínimo	11	11	11	16	18	20	26
Máximo	11	12	14	19	21	23	26
Desviación estándar	0	0.186	0.736	0.751	0.743	0.848	0

Figura 14. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) y la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 48 horas.

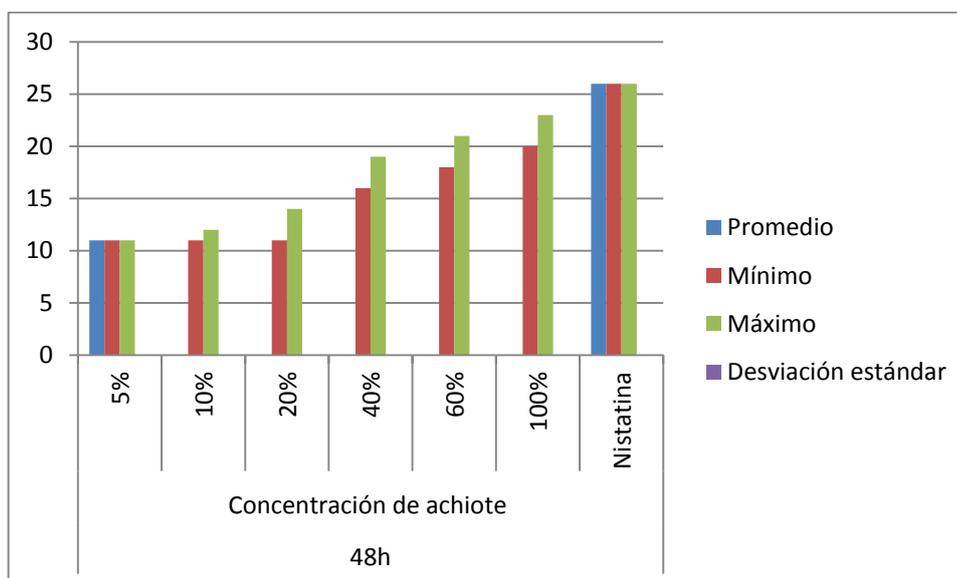


Tabla 12. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) y la Nistatina a las 72 horas.

	72h						Nistatina al 100.000 UI / ml
	Concentración de achiote						
	5%	10%	20%	40%	60%	100%	
Promedio	11	11	11.48	17.07	18.52	20.17	26
Mínimo	11	11	11	16	18	19	26
Máximo	11	11	13	18	20	22	26
Desviación estándar	0	0	0.688	0.651	0.634	0.805	0

Figura 15. Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones de extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) y la Nistatina a las 72 horas.

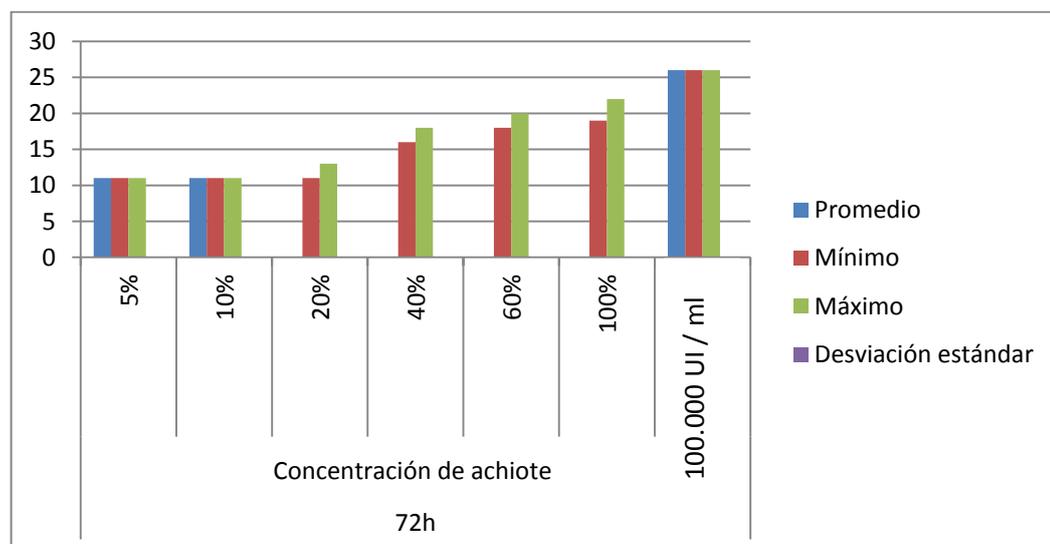


Figura 16. Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* a las 24 horas, para las diferentes concentraciones del extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote)

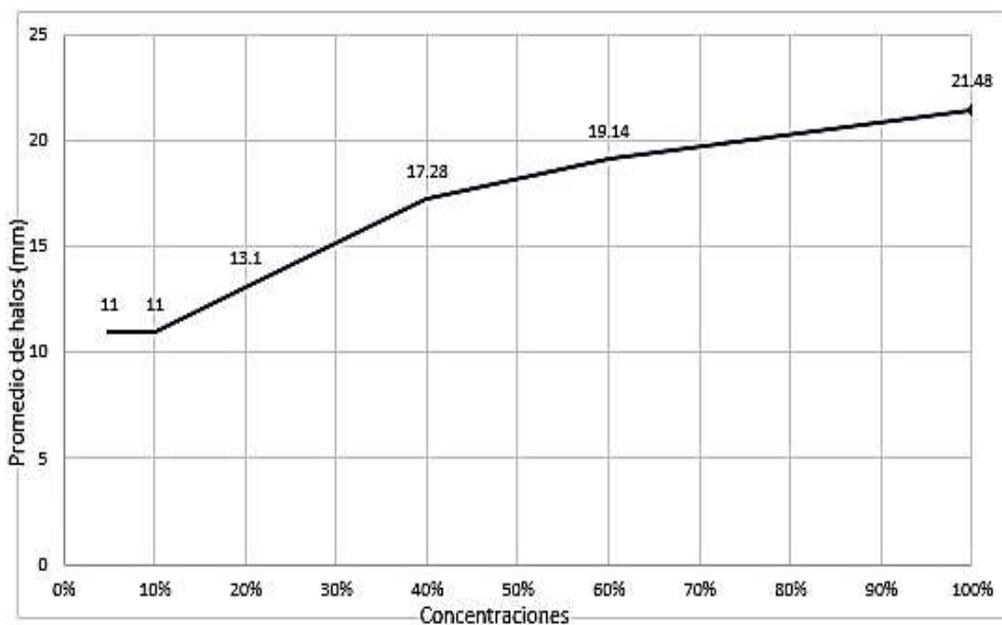


Figura 17. Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* a las 48 horas, para las diferentes concentraciones del extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote)

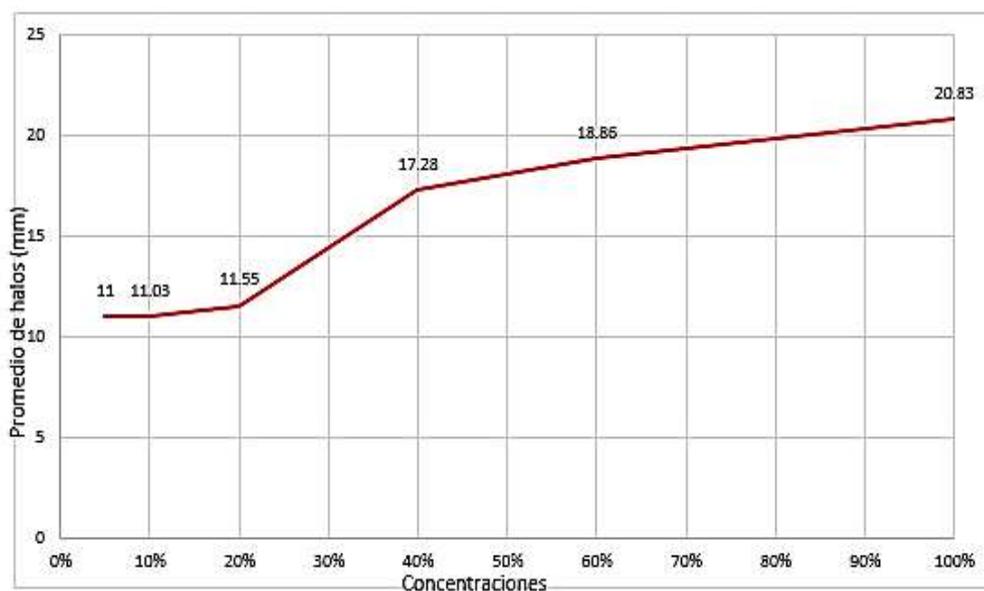
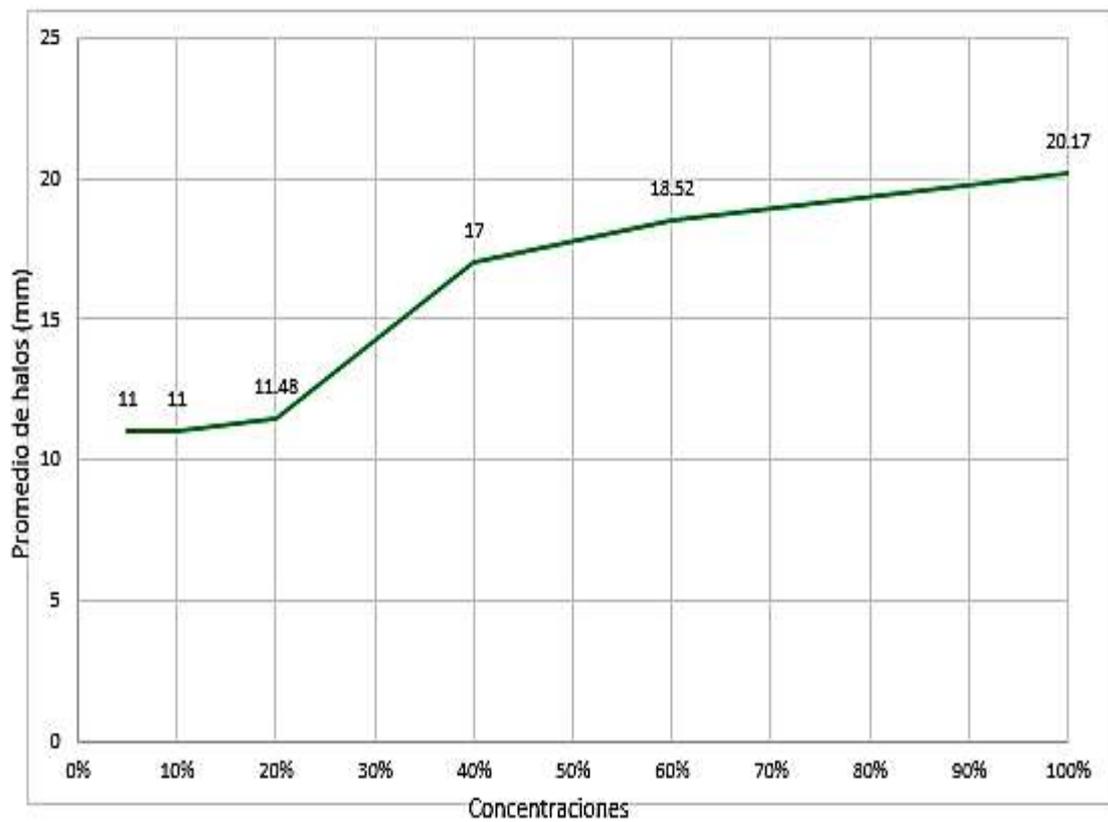


Figura 18. Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* a las 72 horas para las diferentes concentraciones del extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote)



Estadística Inferencial

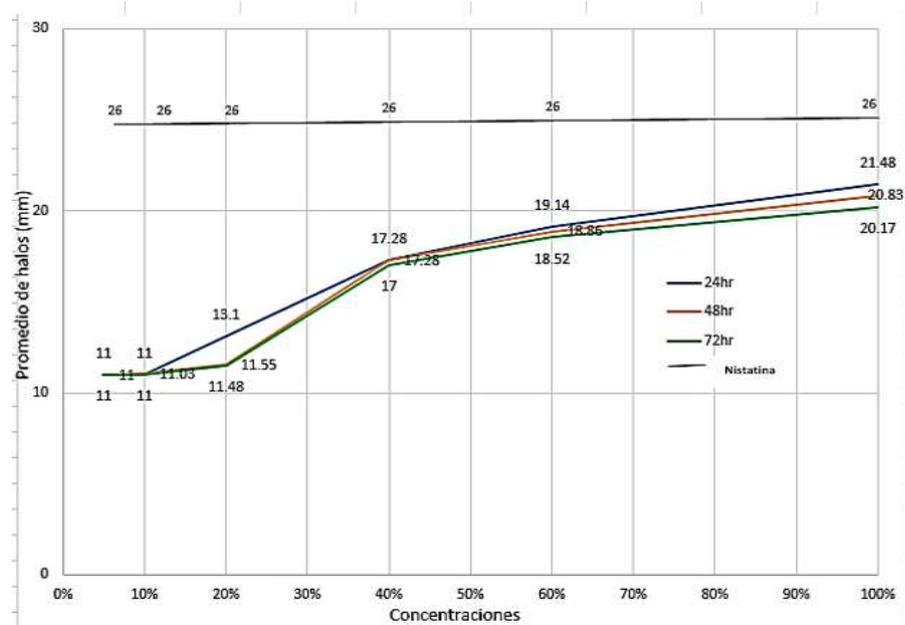
Contrastación de hipótesis general

Tabla 13. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) a las 24, 48, 72 horas frente a la Nistatina.

Concentración	Rangos promedios de los halos					
	5%	10%	20%	40%	60%	100%
24 horas	2	1.98	2.83	2.12	2.48	2.57
48 horas	2	2	1.60	2.07	2.00	2.12
72 horas	2	1.98	1.57	1.81	1.52	1.31
Nistatina 100.000 UI / ml	44	44	44	44	44	44
*Prueba Friedman	—	2	38	2.696	20.37	30.422
P valor	—	0.34	0.000	0.26	0.000	0.000

* Se utiliza esta prueba estadística por no cumplir con los supuestos de normalidad

Figura 19. Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* a las 24, 48 y 72 horas para las diferentes concentraciones del extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) frente a la Nistatina.



Contrastación de hipótesis específicas

Tabla 14. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 24 horas.

Concentración	Rangos promedios de los halos 24 horas					
	5%	10%	20%	40%	60%	100%
Achiote	15	15	15	15	15	15
Nistatina 100.000 UI / ml	44	44	44	44	44	44
*U Mann Whitney	0	0	0	0	0	0
P valor	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

* Se utiliza esta prueba estadística por no cumplir con los supuestos de normalidad

Figura 20. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 24 horas.

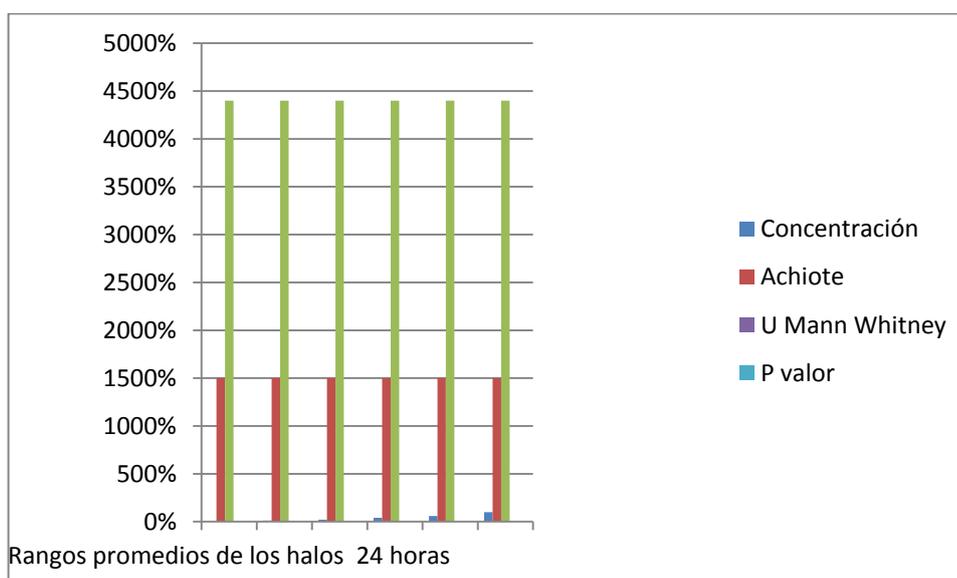


Tabla 15. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 48 horas.

Concentración	Rangos promedios de los halos 48 horas					
	5%	10%	20%	40%	60%	100%
Achiote	15	15	15	15	15	15
Nistatina al 100.000 UI / ml	44	44	44	44	44	44
*U Mann Whitney	0	0	0	0	0	0
P valor	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

* Se utiliza esta prueba estadística por no cumplir con los supuestos de normalidad

Figura 21. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 48 horas.

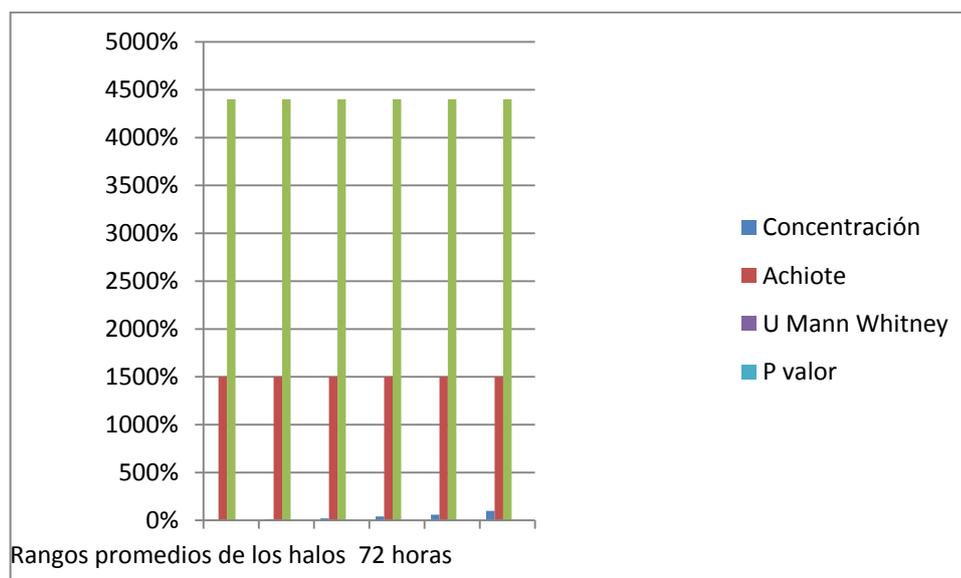


Tabla 16. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 72 horas.

Concentración	Rangos promedios de los halos 72 horas					
	5%	10%	20%	40%	60%	100%
Achiote	15	15	15	15	15	15
Nistatina al 100.000 UI / ml	44	44	44	44	44	44
*U Mann Whitney	0	0	0	0	0	0
P valor	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

* Se utiliza esta prueba estadística por no cumplir con los supuestos de normalidad

Figura 22. Rango promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* para diferentes concentraciones del extracto aceite de *Bixa Orellana* (achiote) y Nistatina al 100.000 UI / ml a las 72 horas.



4.2 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS

La longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida Albicans* para la concentración de 5 % de extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) a las 24, 48 y 72 horas, se observa que no presenta variación (Tabla N° 3) (Figura 6)

De forma similar, la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida Albicans* para la concentración de 10 % de achiote a 24, 48 y 72 horas, se observa que no presenta mayor variación a diferencia de la concentración al 10% (Tabla N° 4) (Figura 7)

Se observa que los halos de inhibición al 20% de concentración del achiote disminuyen de tamaño a las 24 horas (13.1 ± 1.35), 48 horas (11.55 ± 0.74) y 72 horas (11.48 ± 0.69). El crecimiento de los halos muestra una tendencia a disminuir pero no significativa al 20% de la concentración del achiote entre las 24, 48 y 72 horas (Tabla N°5) (Figura 8)

El crecimiento de los halos muestra una tendencia a disminuir pero no significativa al 40% de la concentración del achiote entre las 24, 48 y 72 horas (Tabla N°6) (Figura 9)

A la concentración de 60% del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote), los halos de inhibición muestran cierta tendencia no significativa a disminuir a las 24, 48 y 72 horas. (Tabla N°7) (Figura 10)

A concentración de 100% del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote), los halos de inhibición muestran una tendencia algo más notoria a disminuir a las 24, 48 y 72 horas, pero las diferencias no son significativas. (Tabla N°8) (Figura 11)

El promedio de halos medidos de la Nistatina, se mantiene constante a las 24, 48 y 72 horas. (Tabla N° 9) (Figura 12)

Se observa una tendencia de aumento del tamaño de los halos de inhibición a las 24, horas a medida que aumente la concentración de extracto aceite de Bixa Orellana (achiote), de igual forma se mantiene dicha tendencia de aumento de tamaño del halo a las 48 y 72 horas (Tabla N°10) (Figura 13)

Se observa una tendencia de aumento del tamaño de los halos de inhibición a las 48, horas a medida que aumente la concentración del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote), de igual forma se mantiene dicha tendencia de aumento de tamaño del halo a las 72 horas (Tabla N°11) (Figura 14)

Se observa una tendencia de aumento del tamaño de los halos de inhibición a las 72 horas a medida que aumente la concentración del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote), de igual forma se mantiene dicha tendencia de aumento de tamaño del halo a las 72 horas (Tabla N°12) (Figura 15)

Se observa una tendencia de aumento del tamaño de los halos de inhibición a las 24 horas, a medida que aumente la concentración del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote), de igual forma se mantiene dicha tendencia de aumento de tamaño del halo a las 48 y 72 horas (Figura N°16)

Se observa una tendencia de aumento del tamaño de los halos de inhibición a las 48 horas, a medida que aumente la concentración del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote), de igual forma se mantiene dicha tendencia de aumento de tamaño del halo a las 72 horas (Figura N° 17, 18)

Al comparar el halo en el periodo de tiempos 24, 48 y 72 horas con las concentraciones de 5%, 10% del extracto aceite de Bixa Orellana (achiote) mediante la Prueba de Friedman, se observa que no hay diferencia significativas

($p > 0.05$). Pero se encontraron diferencias significativas entre los tiempos (24, 48 y 72 horas) al 20%, 60% y 100% de concentración del extracto aceite de achiote

Hay una tendencia no significativa que los halos aumenten su tamaño al aumentar la concentración del extracto pero no supera al halo de concentración de la Nistatina al 100.000 UI / ml, tanto a las 24, 48 y 72 horas (Tabla 13) (Figura 19)

De manera similar, se observa que el tamaño del halo en la Nistatina al 100.000 UI / ml es significativamente mayor al del achiote para cada una de las distintas concentraciones del extracto aceite de achiote a las 24 horas ($p < 0.05$) (Tabla 14) (Figura 20)

De manera similar, se observa que el tamaño del halo en la Nistatina al 100.000 UI / ml es significativamente mayor al del achiote para cada una de las distintas concentraciones del extracto a las 48 horas ($p < 0.05$) (Tabla 15) (Figura 21)

De manera similar, se observa que el tamaño del halo en la Nistatina al 100.000 UI / ml es significativamente mayor al del achiote para cada una de las distintas concentraciones del extracto a las 72 horas ($p < 0.05$) (Tabla 16) (Figura 22)

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

5.1 DISCUSIÓN

La presente investigación, determinó el efecto antimicótico del extracto de aceite de Bexa Orellana L (achiote) frente a *Cándida Albicans*, utilizando el método de Kirby Bauer o de difusión en disco. Se determinó que el extracto de achiote tuvo efecto inhibitorio en vitro. De acuerdo a las pruebas de Friedman y U Mann Whitney, los que mostraron que la Nistatina al 100.000UI/ml posee significativamente mayor efecto inhibitor que el extracto de aceite de Bixa Orellana (achiote) ($p < 0.05$) similar a sus diferentes concentraciones de 5%, 10%, 20%, 40%, 60% y 100%, frente a la *cándida albicans* a las 24, 48 y 72 horas mediante la medición de los halos de susceptibilidad según la escala de Duraffourd.

Guamán, B. (2018) realizó un trabajo de investigación sobre efecto anti fúngico del extracto metanólico de las hojas de achiote sobre láminas de acrílico contaminadas de *cándida albicans*. Estudio in vitro. Esta información concuerda con los resultados del presente estudio, donde el extracto metanólico a mayores

concentraciones (75% y 100%) de las hojas de Bixa Orellana mostraron un alto efecto anti fúngico a los 24 horas y 48 horas igual que la clorhexidina 0,12%, por lo tanto, son eficaces en la reducción de la *Cándida albicans*.

En otros estudios, determinaron la actividad anti fúngica contra *cándida albicans* ATCC10231 se evaluó mediante los métodos de difusión en agar y dilución en agar para la determinación de la CMI. De doce extractos investigados, seis presentaron, actividad anti fúngica consistente, con un diámetro de halos de inhibición >18mm en concentración al 100% (100mg/ml). De esta se puede deducir que tanto el promedio de los halos de inhibición como la CMI fueron similar a los resultados del estudio.

En el trabajo de Quintanilla, J. (2016). Determinó que existe diferencia estadísticamente significativa en el efecto anti fúngico en los diferentes concentraciones de extracto de aceite de orégano sobre el crecimiento de *cándida albicans* y fue sensible los cuatro concentraciones al comparar los halos de inhibición según la escala de Duraffourd.

Con la finalidad de probar el efecto antimicótico en los tratamientos en pacientes con estomatitis subprtésica sobre la cepa de *Cándida Albicans* se han realizado trabajos de investigación, de Ferreira et al (2016); Castillo *et al*; (2015) y García *et al* (2014).

Por otro lado, se cuentan con los trabajos: Velazco *et al*. (2013) Al observar y comparar ambas muestras en SEM se demostró la presencia de hifas, pseudohifas y clamidosporas en la primera muestra, incluso hifas penetrando hacia defectos de la estructura inherentes al proceso de elaboración. En la segunda muestra hubo una marcada diferenciación topográfica.

La evidencia microscópica demostró la adherencia candidiásica en la dentadura en uso. Lourido y Martínez (2013). Existen evidencias de la utilidad de estos extractos para el tratamiento de desórdenes estomatológicos, pero estas deben aún ser validadas desde el punto de vista clínico con ensayos realizados de acuerdo con las buenas prácticas clínicas, antes de cualquier aplicación en los servicios estomatológicos cubanos.

Asimismo Ayuso *et al.* (2013). Los hábitos de higiene oral en pacientes portadores de prótesis son los métodos principales para evitar la aparición de la patología. Una vez detectada, la infección podemos controlar al paciente con medidas higiénicas y agentes anti fúngicos.

Cabe mencionar a Lee *et al.* (2012) 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 *Cándida spp* fueron mayores en aquellos con estomatitis protésica, tanto antes como después del tratamiento. Al instalar prótesis funcionales el recuento disminuyó significativamente, sin embargo permaneció alto en aquellos con estomatitis protésica diagnosticada previa al tratamiento del rehabilitador. La especie identificada más frecuentemente fue *Cándida albicans*.

Silva *et al.* (2012). la localización más frecuente de la hifa fue la parte media y posterior del paladar. Prevalció como hábito nocivo el uso continuo de las prótesis, seguido de la higiene bucal deficiente. Las bases acrílicas fueron las que produjeron la afección con mayor frecuencia. Se incrementó el riesgo de padecer la enfermedad. Al respecto Nápoles *et al.* (2012) no todos los pacientes con estomatitis subprótesisca presentan *cándida albicans*. Se incrementó la candidiasis en los grados avanzados de la estomatitis subprotésica.

5.2 CONCLUSIONES

Primera conclusión

La Nistatina al 100.000 UI/ ml posee un mayor efecto inhibitor en el cultivo fúngico de la *Cándida Albicans* en placas Petri frente Bixa Orellana (achiote) al 5%, 10%, 20%, 40%, 60% y 100% a las 24 horas, 48 horas y 72 horas respectivamente.

Segunda conclusión

El efecto inhibitor del extracto de aceite de la planta Bixa Orellana (achiote) al 5%, 10%, 20%,40%,60% y 100% es menor que la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 24 horas.

Tercera conclusión

El efecto inhibitor del extracto de aceite de la planta Bixa Orellana (achiote) al 5%, 10%, 20%, 40%, 60% y 100% es menor que la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 48 horas.

Cuarta conclusión

El efecto inhibitor del extracto de aceite de la planta Bixa Orellana (achiote) al 5%, 10%, 20%, 40%, 60% y 100% es menor que la Nistatina al 100.000 UI / ml a las 72 horas.

5.3 RECOMENDACIONES

Primera recomendación

- Se sugiere continuar el uso de la Nistatina al 100.000 UI / ml en los tratamientos de Candidiasis en boca por sus comprobadas propiedades antimicóticas en este estudio.

Segunda recomendación

- Ejecutar más estudios in vitro que permitan medir el efecto de la planta Bixa Orellana (achiote) sobre las diversas sepsas fúngicas asociadas a la cavidad oral.

Tercera recomendación

- Evaluar el efecto inhibitor del extracto de la planta Bixa Orellana (achiote) frente a otras bacterias presentes en los tratamientos de la cavidad bucal para poder avalar su uso como antimicótico realizando más investigaciones

Cuarta recomendación

- Promover la investigación científica sobre plantas medicinales que aporten nuevos conocimientos a la odontología y se amplíe el tratamiento y eliminación de la Cándida Albicans protésica.

5.4 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Academia Americana de Medicina Oral. (1996). Guía clínica para el tratamiento de condiciones orales comunes. Estomatitis por prótesis. *Rev Fac Odontol Univ*, 16(41), 83-85.
- Antunes, L., Pascoal, L., Bianchi, L. y Dias, F. (2005). Evaluation of the clastogenicity and anticlastogenicity of the carotenoid bixin in human lymphocyte cultures. *Mutat Res*, 8(2), 113-119.
- Ayuso, R., Torrent, J. y López, J. (2013). *Estomatitis protésica: puesta al día*. RCOE [Internet]. Dic [citado 2017 Mayo 17]; 9(6): 645-652. Recuperado de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1138-123X2004000600004&lng=es.
- Barbachan, J., Rados, PV., Santana, M. y Domínguez. MG. (2005). Estudio clínico da estomatite protética: avaleação preliminar. *Rev Fac Odontol Porto Alegre*, 36(1), 27-31.
- Bernal, A. y Moreira, E. (2005). La respuesta inflamatoria celular en la estomatitis subprótesis. *Rev Cubana Estomatol*, 22(2):161-7.
- Bernal, A. (2008). Estomatitis subprótesis. Parada de reflexión. *Rev Fed Odontol Colombia*, 12(8), 21-29.
- Biltencourt, C., Felicissimo, MP., Pireaux, J. y Houssiau, L. (2005). Characterization of termal modifications of bixin from *Bixa Orellana* fruit. *J Agric Food Chem.*, 53 (16), 61-95.

- Campo, J. y Serrano, C. (2000). Candidiasis oral: clínica y tratamiento. *Gaceta Dental*, 12(10), 76-84. Recuperado de <http://www.amc.sld.cu/amc/2003/v7supl1/674.htm>
- Carreira, V. y Almagro, Z. (2000). Efectividad del oleozón en el tratamiento de la estomatitis subprótesis. *Rev Cubana Estomatol.*, 7(3),140-145.
- Castello, M., Phatak, A., Chandra, N. y Sharon, M. (2002). Antimicrobial activity of crude extracts from plants parts and corresponding calli of *Bixa Orellana* L. *Indian J Exp Biol.*, 40(12), 1378-81.
- Castillo, D., Tello, M., Sánchez, L. y Gómez, B. (2015). Susceptibilidad in vitro de *Cándida albicans* y no *albicans* Aisladas de Prótesis Dentales de Pacientes con Estomatitis Protésica a Tres Sustancias de Desinfección. *Int. J. Odontostomat.*, 9(3), 373-377. Recuperado de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2015000300004&lng=es.
- Coelho, C., Zucoloto, S. y López, R. (2013). Denture-induced fibrous inflammatory hyperplasia: a retrospective study in a school of dentistry. *Int J Prosthodont.*, 13(2), 148-51.
- Chessi, E. (2006). *Hierbas que curan*. Barcelona: Ediciones Dalman Socías.
- Chimeno, E. (2011). *Candidiasis oral en el anciano*. Ciudad de México: Ercillas.
- Dervis, E. (2009). Clinical assessment of common patient's complaints with complete dentures. *EurJ Prosthodont Restor Dent.* 10(3): 113-7.
- Ferreira, F., Silva, A., Ferreira, J. y Vale, C. (2016). *Cándida* spp. in Complete Dentures of Institutionalized Elderly Individuals. *Int. J. Odontostomat.*, 10(2), 283-286. Recuperado de

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2016000200015&lng=es.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2016000200015>.

Fleischer, T., Ameade, E. y Mensah, M. (2003). Antimicrobial activity of the leaves and seeds of *Bixa Orellana*. *Fitoter.* 74 (12), 136-8.

Galindo, V., Westhoff, D. y Rankin, S. (2003). Antimicrobial properties of commercial annatto extracts against selected pathogenic, lactic acid, and spoilage microorganisms. *J Food Prot*, 66(6):1074-8.

García del Prado, G., Gutiérrez, M., Quintana, M. y Gutiérrez, J. (2014). La *Bixa Orellana* L como posible sustancia reveladora de placa dentobacteriana: a potential substance for detection of dentobacterial plaque. *Rev Cubana Estomatol* 20 (2), 23-31. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072009000200008&lng=es.

García, E., Blanco, A., Rodríguez, L. y Reyes, D. (2004). Queilitis: Revisión bibliográfica. *Rev Cubana Estomatol*, 41(2), 45-51. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072004000200009&lng=es.

Guamán Ramírez, Bertha Guadalupe. (2018) Efecto Antifúngico del Extracto Metanólico de las Hojas de Achiote (*Bixa Orellana*) Sobre Láminas de Acrílico Contaminadas de *Cándida Albicans*. Estudio In Vitro. Universidad Central del Ecuador Facultad de Odontología. pg. 2 a 86.

González, Y., Porta, T., Méndez, R. y Blanco, F. (1998). Estudio de la irritación dérmica primaria en piel dañada de conejos tras la exposición a un extracto

alcohólico de *Bixa Orellana* L. *Rev Cubana Estomatol.*, 12(9), 67-73.

Recuperado de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-7507200400020.

Grunert, I., y Crepas, M (2008). *Prótesis Total. Estético – Funcional - Individual*.

Barcelona: Editorial Quintessence S. L.

Hernández, R., Sampieri, C. y Batista, L (2014). *Metodología de la investigación*

(6ta. Ed.). México: Editorial Mc Graw-Hill.

Huamaní, M. y Ruiz J, (2005). Determinación de la actividad anti fúngica contra

Cándida Albicans y *Aspergillus Niger* de diez plantas medicinales peruanas.

Kelinger, F. (2009). *Metodología de la investigación*. Recuperado de

[//metodologiaanahuac.blogspot.com/2009/02/tres-caracteristicas-segun-fred.html](http://metodologiaanahuac.blogspot.com/2009/02/tres-caracteristicas-segun-fred.html)

Kossman, I. y Vicente, C. (2011). *Salud y plantas medicinales*. Buenos Aires:

Editorial Fernandez.

Lee, X., Cajas, N., Gómez, L., Vergara, C. y Astorga, E. (2012). Ocurrencia de

levaduras del género *Cándida* y estomatitis protésica antes y después del tratamiento rehabilitador basado en prótesis removible. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral*, 8(1), 31-37. Recuperado de

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-01072015000100005&lng=es.

Leigh, JE., Steele, C. y Wormley, F. (2006). Salivary cytokine profiles in the immunocompetent individual with *Cándida*-associated denture stomatitis.

Oral Microbiol Immunol. 17(5), 311-4.

- Fenlon, M., Sherrif, M. Walter, J. (1998). Factors associated with the presence of denture related stomatitis in complete denture wearers: a preliminary investigation. *Eur J Prosthodont Restor Dent*. 6(4), 145-7.
- Linossier, A., Vargas, A., Villegas, R. y Chimenos, E. (2004). Relación cuantitativa entre el nivel de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* en niños con síndrome de Down. *Medicina Oral*, 7(9), 284-92.
- Lourido, C. y Martínez, G. (2013). La Bixa Orellana L. en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. *Rev Cubana Farm*, 44(2), 231-244. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152010000200012&lng=es.
- Mazurat, N. y Mazurat, RD. (2003). Discuss before fabricating: communicating the realities of partial denture therapy. Part II: clinical outcomes. *J Can Dent Assoc*. 69(2), 96-100.
- Moreira, E., Bernal, A., Urbizo, J. y Molina, J. (1989). Estomatitis subprótesis: estudio epidemiológico en 6302 pacientes portadores de prótesis dental removible. *Rev Cubana Estomatol*, 26(12), 71-80.
- Mulet, S. y Díaz, S. (2006). Salud bucal en pacientes portadores de prótesis. Etapa diagnóstica. *Arch Med Camagüey*, 10(5), 23-34. Recuperado de <http://www.amc.sld.cu/amc/2006/v10n5-2006/2065.htm>
- Nápoles, I., Díaz, S., Puig, E. y Espeso, N. (2012). *La candidiasis en pacientes con estomatitis subprótesis*. AMC [Internet]. Dic [citado 2017 Mayo 17] ;12(6): Recuperado de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552008000600003&lng=es.

Ortega, E, (2006). *Odontoestomatología geriátrica: la atención odontológica integral del paciente de edad avanzada*. Madrid: Coordinación Editorial IM&C.

Otero, E., Peñamaría, M., Rodríguez, M., Martín, B. y Blanco, A. (2015). Candidiasis oral en el paciente mayor. *Av Odontoestomatol*, 31(3), 135-148. Recuperado de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852015000300004&lng=es.

Pérez, D. y Iannacone, J. (2013). Efectividad de Extractos Botánicos de Diez Plantas Sobre la Mortalidad y Repelencia de Larvas de *Rhynchophorus palmarum* L., Insecto Plaga del Pijuayo *Bactris gasipaes* Kunth en la Amazonía del Perú. *Agricultura Técnica*, 66(1), 21-30. <https://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072006000100003>

Pérez, F., Reyes, I., Montejo, E., Duvergel, J. y Sosa, W. (2004). *Pomada de Bixa Orellana en el tratamiento de heridas quirúrgicas y accidentales*. VET-UY. Agro y veterinaria 2004. Recuperado de <http://www.vet-uy.com/articulos/laboratorio/050/009/lab009.htm>

Pires, F.R., Santos, E.B., Bonan, P. y Almeida, O. (2002). Denture stomatitis and salivary *Cándida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil.*, 29(11), 1115-9.

- Quintanilla, J. (2016). Efecto Antibacteriano in vitro del Carvacrol (aceite de orégano) sobre *Cándida Albicans*. Revista de Investigación de la Universidad Norber Wiener, N°5.
- Rodríguez, S., Soares, V., Oliveira, T., Gesteira, A. y Costa M. (2007). Isolation and purification of RNA from tissues rich in poliphenols, polysaccharides, and pigments of annatto (*Bixa Orellana* L.). *Mol Biotechnol.*, 37(3), 220-4.
- Rodríguez, J., Miranda, J., Morejón., H. y Santana, J. (2005). Candidiasis de la mucosa bucal: Revisión bibliográfica. *Rev Cubana Estomatol*, 39(2): 187-233. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000200007&lng=es.
- Silva, C., Cardentey, J., Silva., A. y Crespo, C. (2012). Estomatitis subprótesis en pacientes mayores de 15 años pertenecientes al Policlínico "Raúl Sánchez". *Rev Ciencias Médicas*, 16 (5), 14-24. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942012000500004&lng=es.
- Silva, H., Alvarado, R., Hidalgo, J., Cerruti, T. y Dávila, W. (2008). Instituto de Medicina Tradicional (IMET)-Instituto Peruano de Seguridad Social (IPSS). *Bixa Orellana* L. Monografías de Plantas Medicinales N° 02. Iquitos: IMET-IPSS.
- Sotelo, C. y Sotelo, W. (2013). *Estadística básica y aplicación del SPSS*. Lima, Perú: Juan Gutemberg Editores e Impresores.
- Sotelo, C. y Sotelo, W. (2015). *Metodología de investigación para educación superior*. Lima, Perú: Juan Gutemberg Editores e Impresores.

- Toledo de Oliveira, T., Nagem, T., Rocha da Costa, M. y Marciano da Costa, L. (2004). Biological properties of natural dyes. *Ars Pharmaceut.*, 45(1), 5-20.
- Tovar, V., Albornoz, E., Guerras, M y Lazarde, J. (2004). Prevalencia de la candidiasis bucal en pacientes VIH/SIDA. Estudio retrospectivo. *Acta Odontol Venez*, 42 (2), 887- 91.
- Velazco, G., Ortiz, R., Arellano, L., Bustillos, L. y González, A. (2013). Evidencia microscópica de la presencia de *Cándida albicans* en bases protésicas retiradas de la cavidad bucal. *Rev Cubana Estomatol*, 46 (2), 67-71. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072009000200007&lng=es.
- Wayne, D.W. (2014). Bioestadística: *Base para el análisis de las ciencias de la salud*. (4ª ed.). Caracas: Limusa.
- Wilson, J. (1999). The aetiology, diagnosis and management of denture stomatitis. *Brit Dent J*, 18(8), 380-4. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-3194201200050023&lng=es.

ANEXOS

ANEXO 1. MATRIZ DE CONSISTENCIA

Problema general	Objetivo general	Hipótesis	Metodología
¿Cuál es el efecto antimicótico del aceite de Bixa Orellana L. (achiote) comparado con la Nistatina sobre <i>Candida albicans</i> , aislados de estomatitis sub-protésica, de pacientes portadores de prótesis, de la clínica estomatológica de la Universidad Nacional Federico Villarreal?	Identificar el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre <i>Candida albicans</i> , aislados de estomatitis sub protésica, de pacientes portadores de prótesis de la clínica estomatológica de la Universidad Nacional Federico Villarreal.	Ho: El efecto antimicótico del aceite de achiote sobre <i>Candida albicans</i> aislados de estomatitis subprotésica es menor que del aceite de Nistatina. H1: El efecto antimicótico del aceite de achiote sobre <i>Candida albicans</i> aislados de estomatitis subprotésica es mayor que del aceite de Nistatina.	.Tipo experimental Longitudinal La muestra estuvo conformada por 36 placas Petri, de 6mm de diámetro, donde se vertieron aproximadamente 20 cepas de <i>Candida albicans</i> . Procesamiento de datos : SPSS 23
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específicas	Análisis estadístico: pruebas no paramétricas de Friedman para comparación de rangos y U Mann Whitney
<p>a. ¿Cuál es el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre <i>Candida albicans</i>, aislados de estomatitis sub protésica, de pacientes portadores de prótesis total en 24 horas?</p> <p>b. ¿Cuál es el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre <i>Candida albicans</i>, aislados de estomatitis sub protésica, de pacientes portadores de prótesis total en 48 horas?</p> <p>c. ¿Cuál es el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre <i>Candida albicans</i>, aislados de estomatitis sub protésica, de pacientes portadores de prótesis total en 72 horas?</p>	<p>a. Describir el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre <i>Candida albicans</i>, aislados de estomatitis sub protésica, de pacientes portadores de prótesis total en 24 horas.</p> <p>b. Describir el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre <i>Candida albicans</i>, aislados de estomatitis sub protésica, de pacientes portadores de prótesis total en 48 horas.</p> <p>c. Describir el efecto antimicótico del aceite Bixa Orellana L. (achiote) comparado con Nistatina sobre <i>Candida albicans</i>, aislados de estomatitis sub protésica, de pacientes portadores de prótesis total en las 72 horas.</p>	<p>Hipótesis específicas</p> <p>H1: El efecto antimicótico del aceite de achiote sobre <i>Candida albicans</i> aislados de estomatitis subprotésica es mayor que el aceite de Nistatina dentro de las 24 horas</p> <p>H2: El efecto antimicótico del aceite de achiote sobre <i>Candida albicans</i> aislados de estomatitis subprotésica es mayor que el aceite de Nistatina dentro de las 48 horas.</p> <p>H3: El efecto antimicótico del aceite de achiote sobre <i>Candida albicans</i> aislados de estomatitis subprotésica es mayor que el aceite de Nistatina dentro de las 72 horas.</p>	

ANEXO 2: ANÁLISIS DE BIXA ORELLANA

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA - CCA

		TÉCNICA ANALÍTICA
EXTRACTO ETANÓLICO DE ACHIOTE		
ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
_____ ANALISTA	_____ RESPONSABLE DE ÁREA	_____ RESPONSABLE DE ÁREA

1. Procedimiento:

- Lavar las hojas de achiote y secar a temperatura ambiente.



Fig 1. Hojas de Achiote lavadas.

- Llevar las hojas a estufa a temperatura de 48°C por 8 horas.
- Llevar las hojas secas a molienda hasta que estén completamente pulverizadas.
- Se pesó 250g de las hojas pulverizadas y se maceraron en un frasco en la oscuridad por un periodo de 5 días con 3 L de etanol a 96°.
- Luego se filtró el macerado con papel filtro y se colocó en placas a la estufa para la evaporación del etanol.



Fig 2. Extractos en la estufa.

ANEXO 3: BASE DE DATOS RESULTADOS

No P	CONCENTRACION DEL EXTRACTO ACEITE DE BIXA ORELLANA (ACHIOTE) %																		CONTROL		
	5%			10%			20%			40%			60%			100%			NISTATINA 100.000 UI / ml.		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
1	11	11	11	11	11	11	12	14	13	17	18	18	20	18	18	21	21	20	26	26	26
2	11	11	11	11	12	11	14	13	13	17	17	18	19	20	19	20	22	21	26	26	26
3	11	11	11	11	11	11	12	12	13	17	18	17	19	19	19	21	21	21	26	26	26
4	11	11	11	11	11	11	12	11	12	17	16	16	19	18	18	21	21	20	26	26	26
5	11	11	11	11	11	11	12	11	12	17	17	17	18	20	20	22	23	21	26	26	26
6	11	11	11	11	11	11	12	11	11	18	18	17	19	19	18	22	21	21	26	26	26
7	11	11	11	11	11	11	15	11	11	19	18	18	20	19	19	24	20	20	26	26	26
8	11	11	11	11	11	11	12	11	11	18	17	17	19	18	18	20	20	19	26	26	26
9	11	11	11	11	11	11	15	12	11	20	18	18	21	19	18	25	21	21	26	26	26
10	11	11	11	11	11	11	15	12	11	16	18	17	20	19	19	22	20	19	26	26	26
11	11	11	11	11	11	11	15	12	12	17	17	17	20	21	20	22	22	21	26	26	26
12	11	11	11	11	11	11	14	12	12	16	18	17	15	19	19	22	22	22	26	26	26
13	11	11	11	11	11	11	13	12	12	17	18	18	20	19	19	25	22	21	26	26	26
14	11	11	11	11	11	11	15	12	12	18	17	17	20	19	19	21	20	20	26	26	26
15	11	11	11	11	11	11	15	12	12	18	17	17	19	18	18	21	21	20	26	26	26
16	11	11	11	11	11	11	15	12	12	18	16	16	19	18	18	21	21	20	26	26	26
17	11	11	11	11	11	11	14	11	11	16	19	18	21	20	19	22	22	21	26	26	26
18	11	11	11	11	11	11	15	11	11	17	18	18	19	19	19	21	21	20	26	26	26
19	11	11	11	11	11	11	13	12	11	17	16	16	18	19	18	19	21	20	26	26	26
20	11	11	11	11	11	11	12	11	11	17	17	16	19	18	18	21	21	20	26	26	26
21	11	11	11	11	11	11	12	11	11	17	18	17	19	18	18	21	20	20	26	26	26
22	11	11	11	11	11	11	12	12	11	17	17	17	19	19	18	21	20	19	26	26	26
23	11	11	11	11	11	11	12	11	11	17	17	17	19	18	18	22	20	19	26	26	26
24	11	11	11	11	11	11	12	11	11	17	17	16	19	19	18	21	20	21	26	26	26
25	11	11	11	11	11	11	12	11	11	18	17	17	19	19	19	21	20	20	26	26	26
26	11	11	11	11	11	11	12	11	11	17	16	17	19	18	18	21	20	19	26	26	26
27	11	11	11	11	11	11	12	11	11	17	17	17	19	19	18	21	21	20	26	26	26
28	11	11	11	11	11	11	12	11	11	17	17	17	19	19	19	21	20	19	26	26	26
29	11	11	11	11	11	11	12	11	11	17	17	17	19	19	18	21	20	20	26	26	26

ANEXO 4: CONTROL A LAS 24, 48 Y 72 HORAS DEL EXTRACTO ACEITE DE BIXA ORELLANA (ACHIOTE) AL 5% VS CÁNDIDA ALBICANS

Concentración del extracto de aceite de Bixa Orellana (achiote) al 5%		Medición de los halos de inhibición en mm			Observaciones					
		24h	48h	72h	Sensible			Resistente		
					24h	48h	72h	24h	48h	72h
Número de repeticiones	1	11	11	11	x	x	x			
	2	11	11	11	x	x	x			
	3	11	11	11	x	x	x			
	4	11	11	11	x	x	x			
	5	11	11	11	x	x	x			
	6	11	11	11	x	x	x			
	7	11	11	11	x	x	x			
	8	11	11	11	x	x	x			
	9	11	11	11	x	x	x			
	10	11	11	11	x	x	x			
	11	11	11	11	x	x	x			
	12	11	11	11	x	x	x			
	13	11	11	11	x	x	x			
	14	11	11	11	x	x	x			
	15	11	11	11	x	x	x			
	16	11	11	11	x	x	x			
	17	11	11	11	x	x	x			
	18	11	11	11	x	x	x			
	19	11	11	11	x	x	x			
	20	11	11	11	x	x	x			
	21	11	11	11	x	x	x			
	22	11	11	11	x	x	x			
	23	11	11	11	x	x	x			
	24	11	11	11	x	x	x			
	25	11	11	11	x	x	x			
	26	11	11	11	x	x	x			
	27	11	11	11	x	x	x			
	28	11	11	11	x	x	x			
	29	11	11	11	x	x	x			
Nistatina 100.000 UI / ml	1	26	26	26	x	x	x			

N= NÚMERO DE REPETICIONES SEGÚN FÓRMULA

ANEXO 5: CONTROL A LAS 24, 48 Y 72 HORAS DEL EXTRACTO ACEITE DE BIXA ORELLANA (ACHIOTE) AL 10% VS CÁNDIDA ALBICANS

Concentración del extracto de aceite de Bixa Orellana (achiote) al 10%	Medición de los halos de inhibición en mm			Observaciones						
	24h	48h	72h	Sensible			Resistente			
				24h	48h	72h	24h	48h	72h	
Número de repeticiones	1	11	11	11	x	x	x			
	2	11	12	11	x	x	x			
	3	11	11	11	x	x	x			
	4	11	11	11	x	x	x			
	5	11	11	11	x	x	x			
	6	11	11	11	x	x	x			
	7	11	11	11	x	x	x			
	8	11	11	11	x	x	x			
	9	11	11	11	x	x	x			
	10	11	11	11	x	x	x			
	11	11	11	11	x	x	x			
	12	11	11	11	x	x	x			
	13	11	11	11	x	x	x			
	14	11	11	11	x	x	x			
	15	11	11	11	x	x	x			
	16	11	11	11	x	x	x			
	17	11	11	11	x	x	x			
	18	11	11	11	x	x	x			
	19	11	11	11	x	x	x			
	20	11	11	11	x	x	x			
	21	11	11	11	x	x	x			
	22	11	11	11	x	x	x			
	23	11	11	11	x	x	x			
	24	11	11	11	x	x	x			
	25	11	11	11	x	x	x			
	26	11	11	11	x	x	x			
	27	11	11	11	x	x	x			
	28	11	11	11	x	x	x			
	29	11	11	11	x	x	x			
Nistatina 100.000 UI / ml	1	26	26	26	x	x	x			

N= NÚMERO DE REPETICIONES SEGÚN FÓRMULA

ANEXO 6: CONTROL A LAS 24, 48 Y 72 HORAS DEL EXTRACTO ACEITE DE BIXA ORELLANA (ACHIOTE) AL 20% VS CÁNDIDA ALBICANS

Concentración del extracto de aceite de Bixa Orellana (achiote) al 20%	Medición de los halos de inhibición en mm			Observaciones						
	24h	48h	72h	Sensible			Resistente			
				24h	48h	72h	24h	48h	72h	
Número de repeticiones	1	12	14	13	x	x	x			
	2	14	13	13	x	x	x			
	3	12	12	13	x	x	x			
	4	12	11	12	x	x	x			
	5	12	11	12	x	x	x			
	6	12	11	11	x	x	x			
	7	15	11	11	x	x	x			
	8	12	11	11	x	x	x			
	9	15	12	11	x	x	x			
	10	15	12	11	x	x	x			
	11	15	12	12	x	x	x			
	12	14	12	12	x	x	x			
	13	13	12	12	x	x	x			
	14	15	12	12	x	x	x			
	15	15	12	12	x	x	x			
	16	15	12	12	x	x	x			
	17	14	11	11	x	x	x			
	18	15	11	11	x	x	x			
	19	13	12	11	x	x	x			
	20	12	11	11	x	x	x			
	21	12	11	11	x	x	x			
	22	12	12	11	x	x	x			
	23	12	11	11	x	x	x			
	24	12	11	11	x	x	x			
	25	12	11	11	x	x	x			
	26	12	11	11	x	x	x			
	27	12	11	11	x	x	x			
	28	12	11	11	x	x	x			
	29	12	11	11	x	x	x			
Nistatina al 100.000 UI / ml	1	26	26	26	x	x	x			

N= NÚMERO DE REPETICIONES SEGÚN FÓRMULA

ANEXO 7: CONTROL A LAS 24, 48 Y 72 HORAS DEL EXTRACTO ACEITE DE BIXA ORELLANA (ACHIOTE) AL 40% VS CÁNDIDA ALBICANS

Concentración del extracto de Aceite de Bixa Orellana (Achiote) al 40%	Medición de los halos de inhibición en mm			Observaciones						
	24h	48h	72h	Sensible			Resistente			
				24h	48h	72h	24h	48h	72h	
Número de repeticiones	1	17	18	18	x	x	x			
	2	17	17	18	x	x	x			
	3	17	18	17	x	x	x			
	4	17	16	16	x	x	x			
	5	17	17	17	x	x	x			
	6	18	18	17	x	x	x			
	7	19	18	18	x	x	x			
	8	18	17	17	x	x	x			
	9	20	18	18	x	x	x			
	10	16	18	17	x	x	x			
	11	17	17	17	x	x	x			
	12	16	18	17	x	x	x			
	13	17	18	18	x	x	x			
	14	18	17	17	x	x	x			
	15	18	17	17	x	x	x			
	16	18	16	16	x	x	x			
	17	16	19	18	x	x	x			
	18	17	18	18	x	x	x			
	19	17	16	16	x	x	x			
	20	17	17	16	x	x	x			
	21	17	18	17	x	x	x			
	22	17	17	17	x	x	x			
	23	17	17	17	x	x	x			
	24	17	17	16	x	x	x			
	25	18	17	17	x	x	x			
	26	17	16	17	x	x	x			
	27	17	17	17	x	x	x			
	28	17	17	17	x	x	x			
	29	17	17	17	x	x	x			
Nistatina al 100.000 UI / ml	1	26	26	26	x	x	x			

N= NÚMERO DE REPETICIONES SEGÚN FÓRMULA

ANEXO 8: CONTROL A LAS 24, 48 Y 72 HORAS DEL EXTRACTO ACEITE DE BIXA ORELLANA (ACHIOTE) AL 60% VS CÁNDIDA ALBICANS

Concentración del extracto de aceite de Bixa Orellana (achiote) al 60%	Medición de los halos de inhibición en mm			Observaciones						
	24h	48h	72h	Sensible			Resistente			
				24h	48h	72h	24h	48h	72h	
Número de repeticiones	1	20	18	18	x	x	x			
	2	19	20	19	x	x	x			
	3	19	19	19	x	x	x			
	4	19	18	18	x	x	x			
	5	18	20	20	x	x	x			
	6	19	19	18	x	x	x			
	7	20	19	19	x	x	x			
	8	19	18	18	x	x	x			
	9	21	19	18	x	x	x			
	10	20	19	19	x	x	x			
	11	20	21	20	x	x	x			
	12	15	19	19	x	x	x			
	13	20	19	19	x	x	x			
	14	20	19	19	x	x	x			
	15	19	18	18	x	x	x			
	16	19	18	18	x	x	x			
	17	21	20	19	x	x	x			
	18	19	19	19	x	x	x			
	19	18	19	18	x	x	x			
	20	19	18	18	x	x	x			
	21	19	18	18	x	x	x			
	22	19	19	18	x	x	x			
	23	19	18	18	x	x	x			
	24	19	19	18	x	x	x			
	25	19	19	19	x	x	x			
	26	19	18	18	x	x	x			
	27	19	19	18	x	x	x			
	28	19	19	19	x	x	x			
	29	19	19	18	x	x	x			
Nistatina 100.000 UI / ml	1	26	26	26	x	x	x			

N= NÚMERO DE REPETICIONES SEGÚN FÓRMULA

ANEXO 9: CONTROL A LAS 24 Y 72 HORAS DEL EXTRACTO ACEITE DE BIXA ORELLANA (ACHIOTE) AL 100% VS CÁNDIDA ALBICANS

Concentración del extracto de aceite de Bixa Orellana (achiote) al 100%	Medición de los halos de inhibición en mm			Observaciones						
	24h	48h	72h	Sensible			Resistente			
				24h	48h	72h	24h	48h	72h	
Número de repeticiones	1	21	21	20	x	x	x			
	2	20	22	21	x	x	x			
	3	21	21	21	x	x	x			
	4	21	21	20	x	x	x			
	5	22	23	21	x	x	x			
	6	22	21	21	x	x	x			
	7	24	20	20	x	x	x			
	8	20	20	19	x	x	x			
	9	25	21	21	x	x	x			
	10	22	20	19	x	x	x			
	11	22	22	21	x	x	x			
	12	22	22	22	x	x	x			
	13	25	22	21	x	x	x			
	14	21	20	20	x	x	x			
	15	21	21	20	x	x	x			
	16	21	21	20	x	x	x			
	17	22	22	21	x	x	x			
	18	21	21	20	x	x	x			
	19	19	21	20	x	x	x			
	20	21	21	20	x	x	x			
	21	21	20	20	x	x	x			
	22	22	20	19	x	x	x			
	23	21	20	19	x	x	x			
	24	21	20	21	x	x	x			
	25	21	20	20	x	x	x			
	26	21	20	19	x	x	x			
	27	21	21	20	x	x	x			
	28	21	20	19	x	x	x			
	29	21	20	20	x	x	x			
Nistatina al 100.000 UI / ml	1	26	26	26	x	x	x			

N= NÚMERO DE REPETICIONES SEGÚN FÓRMULA

ANEXO 10: DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

Bixa Orellana (achiote). Es un arbusto que es nativo de América del Sur y Central, así como el Caribe. Del achiote crecen ramas de color rojizo-naranja, vainas espinosas, en forma de corazón, cada vaina contiene aproximadamente 50 semillas. Tribus de la selva tropical han utilizado semillas de achiote y hojas para una variedad de propósitos medicinales desde hace siglos.

La candidiasis o candidosis oral. Es la enfermedad infecciosa ocasionada por el crecimiento de las colonias de *Cándida* y la penetración de las mismas en los tejidos orales cuando las barreras físicas y las defensas del huésped se encuentran alteradas. Es la infección micótica de afectación oral más frecuente.

La estomatitis subprotésica. Es un término que hace referencia a cambios inflamatorios intrabucales, restringidos a la mucosa que cubre una prótesis dental, afecta con una alta prevalencia