

# UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

## FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

### ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“EFICACIA *IN VITRO* DE COLUTORIOS PREVENTIVOS  
CONTRA LA MUCOSITIS DE PACIENTES ONCOLÓGICOS  
DURANTE Y DESPUÉS DE LA QUIMIOTERAPIA EN EL  
HOSPITAL CARLOS ALBERTO SEGUÍN ESCOBEDO.  
AREQUIPA 2013”**

**Tesis Presentado por la bachiller  
CÁCERES PEDRAZA, LINNE INÉS**

**Para obtener el Título Profesional de  
QUÍMICO-FARMACÉUTICO**

**Asesor:**

**Dr. FERNANDO TORRES VELA**

**AREQUIPA – PERÚ**

**2015**

## DEDICATORIAS

*El presente trabajo está dedicado con todo amor, aprecio y agradecimiento a Mi padre Mario Cáceres Castro quien con sus enseñanzas, empuje y apoyo incondicional me enseñó a ver los imposibles como posibles y a los obstáculos como retos. GRACIAS MAESTRO.*

*A mi Madre Alejandrina Pedraza Villegas y Hermanita Marisol Cáceres Pedraza quienes desde el cielo me acompañaron, gracias por las enseñanzas y ese amor que solo una madre y el apoyo que solo una hermana puede dar; Amor y fortaleza que me sirvieron para enfrentar los retos y poder cumplir mi promesa y a mi suegro Abelardo Wharton Rosas quien antes de partir confió en mi promesa. DESCANSEN EN PAZ.*

*A mi esposo Edwin William Wharton Cardenas quien fue mi compañero y amigo en esta caminata, quien con su amor, comprensión y apoyo hasta el fin de este camino, la vida nos llevara por mas caminos pero esta vez estaremos siempre juntos. Te AMO.*

*A los motivos y pequeñas grandes razones de vida y lucha, William Max Wharton Cáceres, Anita Alexandra Wharton Cáceres, niños que llegaron a mi vida para enseñarme que la vida y la dicha va por encima de lo material y que mi vida tiene sentido con la sonrisa que cada mañana me regalan. GRACIAS SEÑOR.*

*A mi compañerito de lucha, mi hijo mayor William Dwigth Wharton Cáceres, siempre a mi lado dándome la fuerza y ánimos para seguir y no detenerme, mi pequeño maestro valiente. EL SEÑOR SIEMPRE SEA TU GUIA.*

*A mis hermanos Mario, Elvis y José Cáceres Pedraza quienes me bendicen todo el tiempo con su apoyo y aliento, demostrando que aunque estemos lejos siempre estamos unidos por el amor que nuestros padres sembraron en nosotros. GRACIAS HERMANITOS.*

*A mi suegra Ana Cárdenas Vda de Wharton quien con sus enseñanzas y apoyo siempre estuvo allí dispuesta a brindarme su mano y aliento. GRACIAS.*

*A las personas y amistades que me brindaron la mano. DIOS LOS BENDIGA*

*A DIOS quien con su fidelidad y amor, pude disfrutar de su paz en medio de muchas tempestades. SIN TI NO LO HUBIESE LOGRADO SEÑOR.*

## AGRADECIMIENTOS

*Un infinito agradecimiento a nuestro fundador Padre William Daniel Morryst Chirsty (Q.E.D.) quien con su templanza y amor por el prójimo inspiro a encontrar una misión cristiana dentro de la labor profesional, LA CIENCIA NO TIENE RESULTADOS MAGICOS SI NO LO HACES CON AMOR A DIOS ,frase que nunca olvidare.*

*Mi más profundo y sincero agradecimiento a los Docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica Q.F. Briceño Ortega, Alberto, Q.F. Gutiérrez Aranibar, Roxana J. Q.F. Guillen Núñez, María Elena, Q.F. Cárdenas García, Jaime, Q.F. Torres Vela, Fernando Antero, Q.F. Cáceres Zárate, César, Q.F. Corzo Salas, Angélica, Q.F. Alejandro Pino Figueroa, Q.F. Dávila del Carpio, Gonzalo, Q.F. López Valencia, Jenny Candelaria, Q.F. Villanueva Salas, Q.F. Jave Márquez, Jesús, Q.F. Medina Pomareda, Carlos, Q.F. Ramírez Orellana, Juan, Ing. Salinas Sánchez, Armando Antonio, Q.F. Velasco Lozano, Gaby, Q.F. Zambrano Salas, Jesús María, Ing. Zaravia Sánchez, Cifrido, Luis Acosta (Q.E.D.), Q.F. Elena de Gonzales (Q.E.D.) quienes siempre fueron los mejores precedentes de capacidad y constante preparación, inculcaron a través de sus enseñanzas la búsqueda incansable de nuevos retos profesionales y el aprecio a la carrera, entendiendo la responsabilidad de nuestra participación en el desarrollo de nuestra profesión en la sociedad.*

*A la Universidad Católica Santa María como institución y a todos aquellos que conforman el grupo institucional, quienes hacen posible que lleguen a sus aulas jóvenes deseosos de ser parte de una generación de éxito, y finalmente logran plasmar sus sueños en concretos pasos de crecimiento y realización.*

## ÍNDICE

<b>DEDICATORIAS .....</b>	<b>II</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>III</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>VIII</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>X</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>XII</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>1</b>
<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>2</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>3</b>
<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>3</b>
1.1. MUCOSITIS.....	3
1.1.1. PREVENCIÓN DE LA MUCOSITIS.....	4
1.1.2. TRATAMIENTO DE LA MUCOSITIS.....	5
1.1.2.1 HIGIENE ORAL.....	5
1.1.2.2 DIETA.....	5
1.1.2.3 MEDIDAS FARMACOLÓGICAS.....	6
1.2. ESTREPTOCOCOS.....	8
1.2.1. MORFOLOGÍA.....	8
1.2.2. CULTIVO.....	9
1.2.3. ESTRUCTURA ANTIGÉNICA.....	9
1.2.4. CLASIFICACIÓN DE LOS ESTREPTOCOCOS.....	11
1.3. CANDIDA ALBICANS.....	12
1.3.1. PATOGENIA.....	13
1.3.2. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	13
1.3.2.1 CANDIDIASIS CUTANEOMUCOSAS.....	13
1.3.2.2 CANDIDIASIS MUCOCUTÁNEA CRÓNICA.....	16
1.3.2.3 CANDIDIASIS SISTÉMICA.....	16
1.3.3. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO.....	18
1.3.3.1 EXAMEN MICOLÓGICO.....	18
1.3.3.2 DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO.....	18
1.3.3.3 EXAMEN ANATOMOPATOLÓGICO.....	19
1.3.4. TRATAMIENTO Y PROFILAXIS.....	19
1.4. FORMAS LÍQUIDAS ORALES DE APLICACIÓN TÓPICA.....	19

1.4.1. COLUTORIOS.....	19
1.4.1.1    COMPONENTES DE LOS COLUTORIOS.....	20
1.4.1.2    EJEMPLO DE UN COLUTORIO:.....	20
1.4.2. SOLUCIONES PARA GARGARISMOS.....	20
1.4.2.1    COMPONENTES DE LOS GARGARISMOS:.....	21
1.4.2.2    EJEMPLO DE GARGARISMO:.....	21
1.4.3. SOLUCIONES PARA ENJUAGUES.....	21
1.5.    SULFAMETOXAZOL Y TRIMETOPRIMA .....	22
1.5.1. FARMACODINAMIA.....	22
1.5.2. FARMACOCINÉTICA.....	22
1.5.3. INDICACIONES.....	23
1.5.4. DOSIFICACIÓN.....	23
1.5.5. REACCIONES ADVERSAS.....	24
1.5.6. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS.....	24
1.5.7. INTERACCIONES.....	24
1.5.8. CONTRAINDICACIONES.....	24
1.6.    NISTATINA.....	25
1.6.1. FARMACODINAMIA.....	25
1.6.2. FARMACOCINÉTICA.....	25
1.6.3. INDICACIONES.....	25
1.6.4. DOSIFICACIÓN.....	25
1.6.5. REACCIONES ADVERSAS.....	25
1.6.6. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS.....	26
1.6.7. INTERACCIONES.....	26
1.6.8. CONTRAINDICACIONES.....	26
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>27</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
2.1.    TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	27
2.2.    MATERIALES.....	27
2.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	27
2.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO.....	28
2.2.2.1    EQUIPOS.....	28
2.2.2.2    MATERIAL DE VIDRIO .....	28
2.2.2.3    MEDIOS DE CULTIVO Y ENRIQUECIMIENTO .....	28
2.2.2.4    MATERIALES PARA LA FORMA FARMACÉUTICA .....	29
2.2.2.5    OTROS ACCESORIOS.....	29

2.2.3. REACTIVOS.....	29
2.2.4. MEDIOS DE CULTIVO .....	30
2.3. MÉTODOS .....	30
2.3.1. MÉTODOS FARMACOTÉCNICOS .....	30
2.3.1.1 COLUTORIO AL 100% .....	30
2.3.1.2 COLUTORIO AL 50% .....	31
2.3.1.3 COLUTORIO CONTROL .....	31
2.3.1.4 FORMULA PATRÓN .....	31
2.3.1.5 MÉTODO PATRÓN .....	32
2.3.1.6 ACONDICIONAMIENTO .....	32
2.3.1.7 CONTROLES .....	33
2.3.2. MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS .....	33
2.3.2.1 RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES .....	33
2.3.2.2 IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN LAS MUESTRAS.....	35
2.3.2.3 DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA .....	37
2.3.2.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA.....	40
2.3.2.5 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN BACTERICIDA MÍNIMA (CBM) .....	43
2.3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	45
2.3.3.1 PROMEDIO O MEDIA .....	45
2.3.3.2 VARIANZA.....	45
2.3.3.3 DESVIACIÓN ESTÁNDAR .....	45
2.3.3.4 ANOVA.....	45
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>46</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>46</b>
3.1. OBTENCIÓN DE COLUTORIOS PREVENTIVOS CONTRA LA MUCOSITIS.....	46
3.2. EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DEL COLUTORIO .....	48
3.2.1. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA ANTES DE LA QUIMIOTERAPIA.....	48
3.2.1.1 RECUENTO DE MICROORGANISMOS.....	48
3.2.1.2 DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD.....	49
3.2.1.3 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA.....	56
3.2.1.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN BACTERICIDA MÍNIMA.....	58
3.2.2. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DESPUÉS DE LA QUIMIOTERAPIA.....	59
3.2.2.1 RECUENTO DE MICROORGANISMOS.....	60
3.2.2.2 DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD.....	61
3.2.2.3 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA.....	66
3.2.2.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN BACTERICIDA MÍNIMA.....	68

CONCLUSIONES.....	71
SUGERENCIAS.....	73
BIBLIOGRAFÍA .....	74
ANEXOS.....	78
ANEXO N°1: MEDIOS DE CULTIVO .....	79
ANEXO N°2: MEDIO DE CONTRASTE .....	80
ANEXO N°3: DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES DEL COLUTORIO.....	81



## RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo principal evaluar la eficacia *in vitro* de colutorios preventivos contra la mucositis de pacientes oncológicos durante y después de la quimioterapia en el Hospital Carlos Alberto Seguí Escobedo, para ello se trabajó con muestras bucofaríngeas provenientes de siete pacientes oncológicos.

Para iniciar la investigación en primer lugar se coordinó con el director de la Institución de Salud para que brinde los permisos respectivos y con ello se de viabilidad al presente estudio. Con el asentimiento de la dirección del hospital se ejecutó el estudio.

Posteriormente se formuló un colutorio a dos concentraciones que se denominó al 100% y 50%, conteniendo nistatina 1.2 y 0.6g por 100ml de colutorio y cotrimoxazol expresado en sulfametoxazol a 240mg y 120mg por cada 100ml de colutorio para ambas concentraciones respectivamente. A estos colutorios además se les añadió excipientes que mejoren su palatabilidad.

Se procedió al recojo de muestras de la cavidad bucofaríngea mediante enjuague con agua destilada estéril, que fueron depositadas en caldo peptonado estéril para los estudios de identificación y evaluación posteriores. Este proceso se realizó antes y después de que los pacientes reciban su tratamiento antineoplásico.

A partir de las muestras de la cavidad bucofaríngea se procedió a la siembra de los microorganismos presentes, para determinar su número así como la identificación de los mismos. En las muestras provenientes antes del tratamiento antineoplásico fue posible el conteo de microorganismos, a

diferencia de las muestras después del tratamiento antineoplásico, en donde el número de colonias fue abundante. Se identificó como microorganismos patógenos a cepas de *Streptococcus* y *Candida albicans*.

Para la evaluación de la eficacia antimicrobiana de los colutorios en primer lugar se realizó la determinación de la sensibilidad en muestras provenientes de pacientes antes y después de su tratamiento antineoplásico, en ambos casos el colutorio al 100 y 50% mostro eficacia ya que los microorganismos fueron sensibles, con halos mayores a 16 mm.

Antes del tratamiento quimioterápico la concentración mínima inhibitoria (CMI) del colutorio con nistatina y cotrimoxazol fue de 24000 UI/ml y 0.48mg/ml respectivamente, por otra parte la concentración fungicida mínima (CFM) para la nistatina fue también de 24000 UI/ml, no observándose concentración bactericida mínima (CBM) para el cotrimoxazol. Después de recibir el tratamiento antineoplásico la CMI fue de 0.48mg/ml y de 36000 UI/ml para el antibacteriano y antimicótico respectivamente; la CFM para la nistatina fue de 36000 UI/ml, tampoco se observó CBM para el cotrimoxazol.

## ABSTRACT

This research has as main objective to evaluate the in vitro efficacy of preventative mucositis mouthwash cancer patients during and after chemotherapy in Hospital Carlos Alberto Seguin Escobedo, for it we worked with oropharyngeal cancer samples from seven patients.

To start the first research was coordinated with the director of the Institute of Health to provide the respective permits and thereby the present feasibility study. With the consent of the hospital management study was carried out.

Subsequently, a mouthwash at two concentrations was called 100% and 50%, containing 1.2 nystatin and 0.6g per 100ml mouthwash and expressed cotrimoxazole 240mg and 120mg sulfamethoxazole per 100 ml of mouthwash for both concentrations was formulated respectively. These rinses were further added excipients that will improve their palatability.

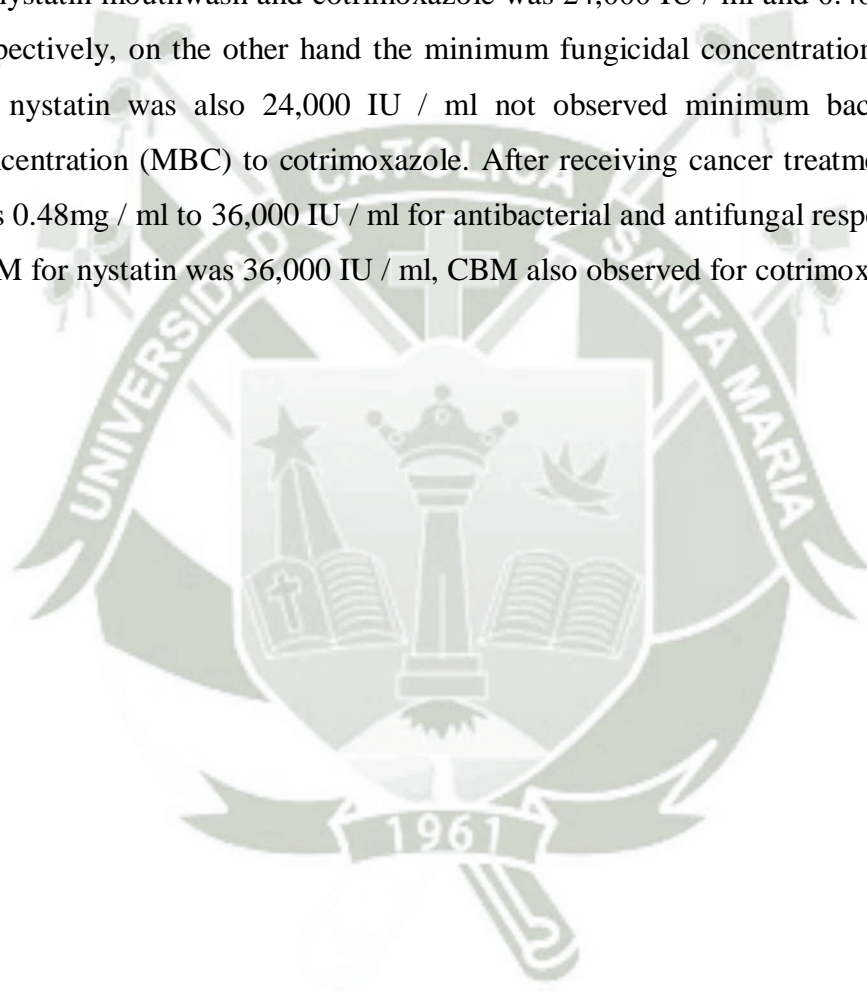
We proceeded to gather samples of oropharyngeal cavity by rinsing with sterile distilled water, which were deposited in sterile studies of identification and subsequent assessment peptone broth. This process was performed before and after patients receive their cancer treatment.

From samples of oropharyngeal cavity he proceeded to the planting of the microorganisms present, to determine the number and identification of the same. In samples from before cancer treatment possible counting microorganisms, unlike the samples after the cancer treatment, where the

number of colonies was abundant. It was identified as pathogens *Streptococcus* and *Candida albicans* microorganisms.

For the evaluation of the antimicrobial efficacy of the mouthwash first determining sensitivity mouthwash 100 and 50 was performed on samples from patients before and after cancer treatment, both% showed effectiveness as microorganisms were sensitive, with greater than 16 mm halos.

Before chemotherapy the minimum inhibitory concentration (MIC) of nystatin mouthwash and cotrimoxazole was 24,000 IU / ml and 0.48mg / ml respectively, on the other hand the minimum fungicidal concentration (MFC) for nystatin was also 24,000 IU / ml not observed minimum bactericidal concentration (MBC) to cotrimoxazole. After receiving cancer treatment CMI was 0.48mg / ml to 36,000 IU / ml for antibacterial and antifungal respectively; CFM for nystatin was 36,000 IU / ml, CBM also observed for cotrimoxazole.



## INTRODUCCIÓN

En los servicios de Oncología de algunos hospitales como por ejemplo el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irrigoyen se utiliza el uso empírico de un colutorio elaborado mezclando una solución de nistatina, una suspensión oral de cotrimoxazol, un gel de lidocaína todo completado a un litro con agua destilada y es entregado a cada paciente oncológico en frascos. Como es de suponer esta forma de preparación que incluye a un gel tópico no guarda ninguna relación con la preparación de preparaciones líquidas orales incluso a nivel magistral, por lo que resulta importante elaborar un colutorio siguiendo los procedimientos estandarizados de formulación magistral por un lado, y por otro la evaluación de su eficacia a fin de elaborar con la cantidad mínima eficaz de insumos activos.

La presente tesis que se presenta formulo y evaluó un colutorio con componentes mínimo eficaces bajo un estudio *in vitro* con resultados positivos que habilita a estudios clínicos posteriores lo que contribuye mucho sobre la eficacia real conocida como medicina basada en la evidencia. De este modo los pacientes oncológicos que reciben quimioterapia y que tiene como rémora inevitable la mucositis dispondrán de un colutorio validado científicamente, además, los departamentos de formulación magistral de los hospitales de nuestro país contarán con una nueva fórmula magistral para ser administrada en este tipo de pacientes.

Los estados de inmunodepresión se caracterizan por alteraciones en la inmunidad fagocítica, humoral o celular que condicionan un elevado riesgo de presentar complicaciones infecciosas o procesos oportunistas tales como

enfermedades linfoproliferativas o neoplasias. Los defectos en estas líneas de defensa pueden aparecer de forma aislada o combinada en forma de inmunodeficiencia primaria o secundaria a enfermedades malignas y tratamiento antineoplásico, infecciones sistémicas (p. ej. por el virus de la inmunodeficiencia humana-VIH) o administración de inmunosupresores. En las últimas décadas se ha producido un significativo aumento en el número de pacientes inmunodeprimidos como consecuencia de trastornos adquiridos de la inmunidad, debido fundamentalmente al empleo de fármacos inmunosupresores, tanto en el tratamiento antineoplásico como en la profilaxis del rechazo en los trasplantes, que alteran uno o más componentes del sistema inmune. Las complicaciones infecciosas producen una elevada morbilidad y mortalidad en el huésped inmunocomprometido, desplazando en muchas ocasiones a la enfermedad de base como causa de muerte, aunque los progresos realizados en los últimos años en lo referente a la profilaxis y el tratamiento de estas complicaciones está permitiendo una reducción en las tasas de mortalidad.

A través de un colutorio evaluado se podrá disminuir estas complicaciones y mejorar incluso el estilo de vida del paciente ya que la mucositis contribuye con la disfagia, que desalienta el consumo de alimento y a la larga la recuperación del paciente se torna difícil, es por ello que mediante el presente trabajo de investigación se pretende también disminuir estas infecciones oportunistas de la cavidad orofaríngea en pacientes inmunodeprimidos.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la eficacia *in vitro* de colutorios preventivos contra la mucositis de pacientes oncológicos antes y después de la quimioterapia en el Hospital Carlos Alberto Seguí Escobedo de Arequipa.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener muestras de la mucosa orofaríngea de pacientes oncológicos durante y después de la quimioterapia en el Hospital Carlos Alberto Seguí Escobedo de Arequipa.
- Identificar microorganismos patógenos causantes de mucositis en muestras de la mucosa orofaríngea de pacientes oncológicos durante y después de la quimioterapia en el Hospital Carlos Alberto Seguí Escobedo de Arequipa.
- Formular una forma farmacéutica líquida de aplicación tópica oral (colutorio) con activos antimicóticos, antibacterianos y anestésicos.
- Determinar la sensibilidad de microorganismos causantes de mucositis frente a formulaciones de colutorios a distintas concentraciones de activos antimicótico y antibacteriano.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria y concentración bactericida mínima de formulaciones de colutorios a distintas concentraciones de activos antimicótico y antibacteriano.

## HIPÓTESIS

Dado que según personal y enfermos oncológicos existen resultados positivos del uso preventivo empírico de colutorios con nistatina, cotrimoxazol y xilocaína en pacientes con mucositis infecciosa del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, es probable que mediante un estudio in vitro se observe una eficacia antimicrobiana sobre muestras orofaríngeas de un colutorio formulado con estos activos en pacientes oncológicos del Hospital Carlos Alberto Segúin Escobedo.



## CAPÍTULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1.1. MUCOSITIS

Complicación producida por algunas terapias contra el cáncer en la que el revestimiento del aparato digestivo se inflama. Se observa a menudo en las llagas de la boca. <sup>(7)</sup>

La gravedad de la mucositis es dosis dependiente y se relaciona con el tipo de tratamiento. Las manifestaciones clínicas más precoces aparecen a los 5-7 días tras finalizar el tratamiento y consisten en un eritema difuso de superficie mucosa del paladar blando, cara ventral de la lengua y suelo de la boca. Posteriormente se acompaña de placas blanquecinas de descamación, sobreelevadas y aisladas, levemente dolorosas al contacto presural. Más adelante se objetiva el desarrollo de

pseudomembranas extensas, contiguas, muy dolorosas y con disfagia asociada. Esta membrana es susceptible de sobreinfecciones por bacterias, virus u hongos, lo que puede exacerbar la mucositis y favorecer el desarrollo de infecciones sistémicas. Otra complicación de estos pacientes es la posibilidad de hemorragias, especialmente si se acompaña de trombocitopenia. <sup>(7)</sup>

La duración de una mucositis postquimioterapia va de unos días a dos o tres semanas, mientras que la debida a radioterapia puede prolongarse hasta seis semanas.

Pese a la existencia de varios sistemas de graduación de la mucositis, el más utilizado es el propuesto por el National Cancer Institute (NCI) que se basa en una escala numérica del 0 al 4.

Grado 0	No mucositis
Grado 1	Eritema, dolor moderado y úlceras no dolorosas
Grado 2	Eritema con edema y úlceras dolorosas pero que permiten la ingesta oral
Grado 3	No es posible la ingesta oral
Grado 4	Requiere soporte enteral o parenteral

### 1.1.1. PREVENCIÓN DE LA MUCOSITIS

Existen tres razones que obligan a extremar la prevención de la mucositis en el paciente oncológico: <sup>(7)</sup>

- Podrían alterarse la distribución y excreción de un determinado quimioterápico por las mucosas: el objetivo sería reducir la exposición del citotóxico a las mucosas afectas.
- Podría modificarse la capacidad proliferativa de las células epiteliales de la mucosa: resulta extremadamente útil, pues se ha visto que la proliferación de la capa basal se correlaciona con la susceptibilidad de la mucosa a la quimioterapia.

c. La reducción de la infecciones y de las complicaciones inflamatorias podrían reducir teóricamente la mucositis debido a que la presencia de microorganismos puede contribuir indirectamente al proceso inflamatorio.

Se han propuesto varios agentes para la prevención de la mucositis (alopurinol, beta-carotenos, corticoides, crioterapia oral, G-CSF, GM-CSF, polimixina B, Anfotericina B, nitrato de plata y sucralfato); la inmensa mayoría no ha demostrado su eficacia en comparación con el placebo, pero en otros existen datos contradictorios o insuficientes, respecto a su papel profiláctico de esta complicación.

### **1.1.2. TRATAMIENTO DE LA MUCOSITIS**

El tratamiento de la mucositis oral incluye medidas generales, como la higiene oral y la modificación de la dieta, anestésicos locales, tópicos y analgésicos sistémicos, además de otros productos actualmente en experimentación. <sup>(7)</sup>

#### **1.1.2.1 Higiene oral**

Los pacientes deben cepillarse los dientes suavemente dos o tres veces al día con un cepillo de cerda blanda y un dentífrico fluorado. Deben hacerse colutorios cada 4 horas con una solución de suero salino diluido y bicarbonato sódico (media cucharadita de sal y otra media de bicarbonato sódico en un vaso de agua caliente). Se ha visto que este procedimiento suele ser calmante, aunque no ha sido evaluado formalmente. Estas recomendaciones no han sido validadas en ensayos clínicos, pero de manera intuitiva parece razonable recomendarlos. <sup>(7)</sup>

#### **1.1.2.2 Dieta**

Debe limitarse a comidas que apenas requieran masticación. Hay que evitar los alimentos que irriten química o mecánicamente las mucosas, incluidos los ácidos, picantes, salados, o ásperos o secos. <sup>(7)</sup>

### 1.1.2.3 Medidas farmacológicas

Se han utilizado muchos productos para el tratamiento del dolor inducido por la mucositis, sin embargo son pocos los que se han mostrado eficaces.

#### 1.1.2.3.1 Anestésicos tópicos

Los anestésicos locales, como cocaína, lidocaína viscosa y clorhidrato de diclonina, proporcionan alguna anestesia pero su efecto apenas dura unas horas. Además, la cocaína tiene un alto poder de adicción. Se ha visto que estos agentes alteran la percepción del gusto, lo que puede suponer una interferencia de ingestión de los alimentos. Otros analgésicos efectivos en la práctica clínica, que sin embargo no cuentan con estudios son Kaopectate, difenhidramina, Orobace y Oratect Gel. <sup>(5,7)</sup>

#### 1.1.2.3.2 Analgésicos sistémicos

Pueden resultar útiles cuando fracasan los anestésicos locales. No es raro el empleo de analgesia de tercer escalón en pacientes con mucositis postquimioterapia o postradioterapia. La vía de administración de opioides es preferentemente la subcutánea o la intravenosa, evitando los nuevos preparados de liberación rápida transmucosa. <sup>(7)</sup>

#### 1.1.2.3.3 Sucralfato

Es una sal de aluminio de sacarosa de ocrasulfato utilizada con resultados satisfactorios en el tratamiento de úlceras gastrointestinales. El mecanismo de acción consistiría en la formación de una unión iónica con las proteínas presentes en un área ulcerada, lo que generaría una barrera protectora. Dos ensayos clínicos demostraron una reducción significativa del edema, el eritema, la erosión y la ulceración en 23 pacientes evaluables de los 40 tratados con cisplatino y 5-FU en infusión continua. Se ha realizado un estudio de fase III que comparó el efecto del sucralfato frente a una solución con Benadryl Maalox y lidocaína en el tratamiento de la mucositis por quimioterapia. Se observó un alivio del dolor similar con dos tratamientos, pero mayor disminución de la gravedad de la mucositis con el sucralfato respecto a la solución anteriormente descrita. El efecto beneficioso del sucralfato se extiende a la

radioterapia. Un estudio que evaluaba el efecto de este antiácido en pacientes con tumores de cabeza y cuello tratados con radioterapia demostró una reducción significativa del dolor de la gravedad de la mucositis respecto al placebo. Sin embargo, hay estudios con resultados negativos. Uno comparó el efecto del sucralfato frente a enjuagues con sales de sodio en la duración de la mucositis inducida por radioterapia en pacientes con tumores de cabeza y cuello y no se observó diferencias significativas entre ambos. <sup>(5,7)</sup>

#### 1.1.2.3.4 Esteroides

Se han ensayado los colutorios de betametasona en el tratamiento de la mucositis postquimiorradioterapia con reducción en el número de úlceras y mejoría del dolor. Un estudio randomizado evaluó la eficacia de la prednisona en la reducción del período de mucositis inducida por la radioterapia de tumores de cabeza y cuello. La administración de 40mg/día de prednisona durante la radioterapia consiguió disminuir de forma significativa la duración de la mucositis oral respecto al brazo en tratamiento con placebo. <sup>(5,7)</sup>

#### 1.1.2.3.5 Vitaminas

La vitamina E es una agente natural antioxidante que estabiliza las membranas de las células epiteliales y se ha visto eficaz en el tratamiento de la gingivitis herpética. Su utilidad se ha confirmado en ensayos aleatorizados en pacientes con mucositis postquimioterapia, donde se ha demostrado que la administración de vitamina E a este tipo de pacientes reducía significativamente la duración de las lesiones. Un estudio reciente ha demostrado que la administración de vitamina E durante el tratamiento con radioterapia, produce una reducción de la duración de la gravedad de la mucositis inducida por ésta. <sup>(5,7)</sup>

Respecto a los  $\beta$ -carotenos, son un precursor de la vitamina A útil en la regresión de la leucoplasia oral. Se han realizado estudios con esta sustancia en el tratamiento de la mucositis inducida por quimioterapia y se ha observado una reducción del dolor y del tiempo de duración de esta complicación.

#### 1.1.2.3.6 Nitrato de plata

Se ha empleado fundamentalmente en las mucositis postradioterapia. Estudios de profilaxis de mucositis en pacientes tratados con esta sustancia han demostrado una reducción significativa de la gravedad de la mucositis cuando se administraba tópicamente sobre la mucosa irradiada. <sup>(5, 7)</sup>

## 1.2. ESTREPTOCOCOS

### 1.2.1.MORFOLOGÍA

Los estreptococos son bacterias grampositivas, de formas esférica u ovoide que miden menos de 2µm de diámetro. Se agrupan en pares o en cadenas, cuyas longitudes varían según las especies y están condicionadas por factores ambientales. Son inmóviles y no forman esporas. <sup>(32)</sup>

Algunas especies elaboran cápsulas, constituidas por polisacáridos como en el caso de los neumococos o por ácido hialurónico como en algunas cepas de los grupos A, B y C. <sup>(16, 32)</sup>

Estas estructuras impiden la fagocitosis y se observan con mayor facilidad en cultivos muy jóvenes.

No son productores de catalasa y son oxidasa negativa. Con excepción del *Streptococcus pneumoniae*, no son solubles en bilis y la mayoría de las especies no licúan la gelatina.

La especie *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) es similar a las otras especies del género *Streptococcus* en lo que se refiere a su metabolismo fermentativo y en que el ácido láctico es el producto final predominante; pero se presentan como diplococos grampositivos lanceolados y agrupados en cadenas, fundamentalmente cortas.

### 1.2.2.CULTIVO

Los requerimientos nutricionales varían con las distintas especies. La mayoría, y principalmente las patógenas al hombre, son exigentes en sus requerimientos y necesitan péptidos, purinas, pirimidina y vitaminas. Con el fin de obtener un mejor crecimiento de las cepas de estas especies de estreptococos, los medios de cultivo se enriquecen con sangre o con líquidos hísticos diversos. La mayoría de las especies son anaerobias facultativas y obtienen la energía, sobre todo, por utilización de azúcares. Algunas especies requieren la adición de un 5 a 10% de dióxido de carbono para crecer e incrementar su hemólisis y otras son anaerobias estrictas. <sup>(16, 32)</sup>

La temperatura óptima de crecimiento es alrededor de 37°C, aunque las temperaturas máximas y mínimas varían según la especie.

### 1.2.3.ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Es variada y compleja. Su estudio resulta de gran importancia para la microbiología clínica, pues pocas veces el hombre se enfrenta a bacterias con estructura antigénica tan compleja y con producción de diversas sustancias extracelulares. <sup>(16, 32)</sup>

Con el conocimiento de estas estructuras se comprenden eventos relativos a su patogenicidad y nos permite una mejor interpretación de los resultados de laboratorio de microbiología clínica.

En una presentación estereoquímica de una célula de la especie tipo (*Streptococcus pyogenes*) encontramos a la cápsula constituida por ácido hialurónico, como la estructura más externa.

Hacia el interior de la célula se halla la pared bacteriana, cuya composición es la típica de las bacterias gram positivas, constituida básicamente, por peptidoglucano, ácido teicoico, una gran variedad de hidratos de carbono y de antígenos proteicos de superficie. Está cubierta de protusiones de tipo piloso o fimbrias formadas por los antígenos proteínicos M, T y R, y por ácido lipoteicoico.

Las proteínas R y T son marcadores epidemiológicos muy útiles, pero se desconoce su función biológica. El ácido lipoteicoico facilita la adherencia de los estreptococos a las mucosas. La proteína del grupo M es un destacado factor de virulencia y se ha logrado identificar 80 serotipos antigénicos. <sup>(16,32)</sup>

El factor de opacidad del suero (FO o SOF) es una enzima específica de tipo, asociada antigénicamente a ciertos serotipos de proteínas M, que produce opacidad en los sueros de distintas especies de mamíferos. Actualmente se reconocen alrededor de 27 tipos que producen el factor de opacidad.

El polisacárido C es otro constituyente esencial de la pared estreptocócica, cuya estructura antigénica es determinante de los grupos serológicos.

Más internamente se encuentra la membrana citoplasmática, este último con un complejo conjunto de nucleoproteínas, algunas dotadas de actividad enzimática. Los antígenos de estas estructuras no son utilizados en la actualidad en la clasificación ordinaria de los estreptococos. <sup>(16,32)</sup>

Los *Streptococcus pneumoniae* tienen sus peculiaridades en cuanto a su estructura antigénica. El polisacárido capsular es inmunológicamente diferente para cada uno de los 84 tipos existentes. Su porción somática contiene una proteína que es característica de cada tipo y un carbohidrato que es común para todos los neumococos.



**Figura N°1: Amigdalitis estreptocócica (*Streptococcus pyogenes*) con eritema intenso en la faringe y presencia de exudado amarillo-cremoso**

#### 1.2.4. CLASIFICACIÓN DE LOS ESTREPTOCOCOS

Por razones esencialmente prácticas y con vista a facilitar el diagnóstico desde el enfoque de la microbiología clínica, Rotta y Fachlam propusieron que los gérmenes del género *Streptococcus* se dividan en dos categorías: <sup>(16,32)</sup>

- a. Los estreptococos  $\beta$ -hemolíticos, los cuales, salvo excepciones, son clasificados en grupos según el sistema de Lancefield.
- b. Los estreptococos  $\alpha$ -hemolíticos y no hemolíticos, que pueden pertenecer a grupos de Lancefield o no.

En la actualidad, en el campo de la microbiología médica se tiende a señalar la clasificación de aquellos estreptococos de interés médico, con un análisis de las propiedades antes señaladas: <sup>(16,32)</sup>

- *Streptococcus pyogenes*: son  $\beta$ -hemolíticos y poseen antígenos del grupo A. Son susceptibles a la bacitracina y producen hidrólisis de 1-pirrolidonil-2-naftilamida. Tienen dos tipos serológicos.
- *Streptococcus agalactiae*: son  $\beta$ -hemolíticos, con una zona de hemólisis muy estrecha y, en algunas ocasiones, con una hemólisis de doble zona. Hidrolizan el hipurato de sodio, dan respuesta positiva a la prueba de CAMP y la mayoría de cepas son resistentes a la bacitracina.
- *Streptococcus bovis*: son  $\alpha$ -hemolíticos o no son hemolíticos. A veces se clasifican como viridans. Proliferan en presencia de bilis, hidrolizan la esculina, no crecen en el NaCl al 6.5%, generalmente CAMP positivos y fermentan lactosa.
- *Streptococcus* grupo C y G: son  $\beta$ -hemolíticos con una zona de  $\beta$ -hemólisis más grande que la del grupo A. Se puede realizar el diagnóstico presuntivo probando su sensibilidad frente a discos con cotrimoxazol, su resistencia a la bacitracina y la no hidrólisis de hipurato; la prueba de CAMP resulta negativa, no fermentan el sorbitol. Se identifican por reacciones con inmunosueros específicos.
- *Streptococcus pneumoniae*: son  $\alpha$ -hemolíticos son sensibles a la optoquina y son solubles en bilis y en sales biliares.

- *Streptococcus viridans*: son  $\alpha$ -hemolíticos (de aquí su nombre viridans). La optoquina no inhibe su crecimiento y las colonias no son solubles en bilis ni sales biliares. No hidrolizan esculina ni hipurato, son CAMP negativos, no crecen en caldo con NaCl al 6.5%. Algunas cepas son sensibles a la bacitracina. <sup>(16, 32)</sup>
- *Streptococcus nutricionalmente variantes*: suelen ser  $\alpha$ -hemolíticos y algunos no hemolíticos. Se han conocido como estreptococos deficientes nutricionalmente, estreptococos dependientes de piridoxal, estreptococos satélites y con otras denominaciones. Requieren cisteína o las formas activas de la vitamina B6 (piridoxal o piridoxamina). Pueden sembrarse estrías de estafilococos sobre la placa de agar sangre para lograr el crecimiento de estos estreptococos en forma de satelitismo.
- *Streptococcus anaerobios*: producen hemolisinas de modo variable. Proliferan solamente bajo condiciones anaerobias. <sup>(16, 32)</sup>

### 1.3. CANDIDA ALBICANS

El género *Candida* pertenece a la clase *Deuteromycetes* o *Fungi imperfecti* (hongos imperfectos), familia *Cryptococcaceae*. Destacan como patógenos del hombre las siguientes especies de *Candida*: *C.albicans*, *C.guilliermondii*, *C.krusei*, *C.parapsilosis*, *C.stellatoidea*, *C.tropicalis*, *C.pseudotropicalis*, *C.lusitaniae* y *C.rugosa*; siendo la primera la que se aísla con más frecuencia. La especie *C.albicans* tiene células de morfología oval, usualmente acompañadas por estructuras tubulares (pseudohifas) con estrechamiento en los tabiques de los que salen ramificaciones.

Las especies de *Candida* son parásitos humanos o animales en los que viven en estados saprofito; la cavidad bucal y el resto del tracto gastrointestinal. Un tratamiento energético con antibióticos, por ejemplo, conlleva en ocasiones la destrucción de la flora bacteriana comensal, por lo que *Candida* puede multiplicarse intensamente en este nicho ecológico. <sup>(16, 32)</sup>

### 1.3.1.PATOGENIA

La forma más común de candidiasis es la infección de la piel y de las mucosas. En los tejidos afectados, el hongo se detecta en su forma levaduriforme y micelial. El carácter invasivo de este último viene dado por la mayor facilidad de las hifas para penetrar en los tejidos y su mayor resistencia a la fagocitosis. <sup>(16, 32)</sup>

El fenómeno de la adherencia, fase previa a la colonización e invasión, parece de suma importancia, habiéndose demostrado la capacidad de adherencia de *C.albicans* a las células epiteliales de la boca y de la vagina, a las células endoteliales y coágulos sanguíneos. Una vez que el microorganismo invade los tejidos o penetra en el torrente circulatorio, los polinucleares, monocitos, macrófagos y eosinófilos actúan como mecanismo de defensa. Por lo que se refiere a la respuesta inmune de base humoral, la IgG y otros componentes del suero ejercen una acción opsonizante sobre *C.albicans*.

Los factores predisponentes más importantes para la infección por hongos oportunistas son la implantación de prótesis; sobre todo válvulas cardíacas, las intervenciones quirúrgicas abdominales y las quemaduras graves. <sup>(16, 32)</sup>

### 1.3.2.MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las infecciones por *C.albicans* se pueden dividir en tres grupos. En el primero la localización es exclusivamente cutaneomucosa. El segundo está constituido por la candidiasis sistémica. El tercer grupo comprende a los pacientes con candidiasis cutáneomucosa crónica, variedad infrecuente de candidiasis. <sup>(16, 32)</sup>

#### 1.3.2.1 Candidiasis cutaneomucosas

- *Intertrigo*: El intertrigo candidiasico afecta a los pliegues genitocrural, submamario, axilar, interglúteo, auricular y espacios interdigitales de manos y pies. La erupción es vesiculopustulosa.
- *Oniquia y paroniquia*: Se trata de una erupción ungueal con tendencia a la cronicidad que puede afectar a varios dedos. El área afectada aparece

tumefacta, con retracción del pliegue ungueal posterior a la lúnula y las uñas se tornan frágiles, gruesas y con surcos transversales.

- *Erosión interdigital:* La erosión interdigital se origina en relación con la paroniquia. El tercer espacio interdigital es el que se afecta con más frecuencia. La lesión típica es de color rojo brillante, con un borde característico en el que se aprecian escamas.
- *Candidiasis oral:* La candidiasis oral o muguet constituye la manifestación clínica más común de la infección por *C.albicans*. La mucosa vaginal en el embarazo, así como la oral en el recién nacido, tienen un pH anormalmente bajo, considerado un factor predisponente para el crecimiento del hongo. El aislamiento de *C.albicans* en la boca de un lactante, incluso en ausencia de lesiones aftosas, tiene valor diagnóstico y, en estos casos, es de prever la presentación clínica de la infección en un espacio corto de tiempo. Suele adquirirse por contagio desde la vagina materna, pero también puede proceder de biberones infectados y de la piel de personas del entorno. Las lesiones consisten en manchas blanquecinas en las mucosas bucal, lingual y gingival. Las lesiones contiguas coalescen para formar grandes áreas de aspecto cremoso en el paladar, amígdalas y faringe.
- *Candidiasis esofágica:* En el niño suele ser consecuencia de la extensión de una candidiasis oral, mientras que en el adulto se suele presentar asociada al tratamiento con antibióticos, corticoides, fármacos antituberculosos, radiaciones, etc., así como en los enfermos diabéticos y en pacientes con sida. Las lesiones esofágicas cursan con formación de pseudomembranas blanquecinas, adheridas a la mucosa, acompañadas de signos inflamatorios y, en ocasiones, las lesiones ulceran. Los pacientes refieren sensación dolorosa al deglutir y dolor subesternal.
- *Vaginitis y vulvovaginitis:* El embarazo, la diabetes y la terapia antibiótica o con corticoides predisponen a esta infección, que se caracteriza por exudación blanca o amarillenta. El prurito suele ser intenso y el área genital aparece inflamada, enrojecida y tumefacta.

- *Balanopostitis*: Se presenta en pacientes diabéticos o en varones contagiados por su pareja. Comienza en el surco balanoprepucial y se manifiesta por la aparición de un eritema vesicular en el pene, a veces ulcerado, que evoluciona originando placas similares al muguet, con afectación del glande y del prepucio.
- *Otras candidiasis cutaneomucosas*: La queilitis o boqueras es una lesión bilateral de la comisura de los labios. Se trata de múltiples fisuras, a veces recubiertas de costras, situadas en los ángulos de la boca.

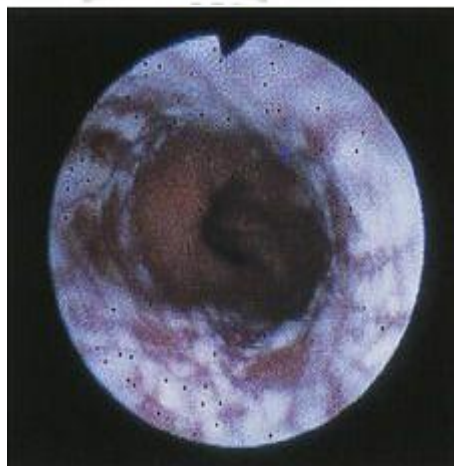
La glositis candidiasica (principalmente en los ancianos) se caracteriza por una lengua lisa, roja y reluciente, con las papilas atrofiadas. <sup>(16, 32)</sup>

La foliculitis de la barba es la invasión por parte del hongo de los folículos pilosos de la barba, dando origen a una foliculitis pustuloeritematosa.

Puede dar una otitis aguda, con afectación preferente del oído medio, acompañado de clínica habitual.

La candidiasis perianal o escrotal se produce asociado o independiente a una candidiasis genital; puede tratarse de un eritema inespecífico, hasta una necrosis superficial y denudación de los márgenes del ano.

La dermatitis de pañal puede ser causada, aparte de otros microorganismos, por *Candida*, debido a las condiciones de humedad, maceración, etc. Se caracteriza por pústulas subcórneas de borde irregular festoneado y lesiones satélites de menor tamaño. <sup>(16, 32)</sup>



**Figura N°2: Esofagitis por Candida. Vista endoscópica mostrando extensas áreas de exudado blanquecino.**

### **1.3.2.2 Candidiasis mucocutánea crónica**

Es infrecuente y se caracteriza por el desarrollo, casi siempre en la infancia, de una infección crónica diseminada que afecta la piel, las uñas y las mucosas.

Las lesiones cutáneas son indoloras, tienden a localizarse en las extremidades superiores, respetando el tronco. Las lesiones son rojizas, elevadas, descamativas y de contorno sinuoso. La hinchazón crónica del pliegue ungueal con engrosamiento de la uña y fragmentación del lecho conduce a intensas lesiones distróficas. Puede presentarse asociada a un síndrome de inmunodeficiencia, como el síndrome de DiGeorge (ausencia congénita de timo y paratiroides), algunas gammaglobulinemias y en el déficit combinado de células T y B con defecto predominante de células T.

### **1.3.2.3 Candidiasis sistémica**

Es la presencia del microorganismo en el torrente circulatorio (fungemia), con o en ausencia de invasión hística. Si además la fungemia coexiste con manifestaciones de infección orgánica, se trata de una infección diseminada o profunda. <sup>(16, 32)</sup>

En la presentación de una candidiasis sistémica influye cualquier circunstancia que comprometa la inmunocompetencia del huésped. Por otra parte, el cáncer, la insuficiencia renal y la diabetes facilitan, asimismo, la diseminación de una micosis. El tratamiento antibiótico intensivo es uno de los factores favorecedores más destacado. Todo ello favorece la colonización e invasión de la mucosa digestiva por *Candida*, que se adhiere a los receptores de las células epiteliales, donde se constituye el punto de partida de la diseminación hematógena. Las intervenciones quirúrgicas mayores del tracto digestivo alteran la barrera digestiva. Otro factor de riesgo es la presencia de cuerpos extraños, como catéteres y sondas. <sup>(16, 32)</sup>

Las candidemias de origen endógeno están originadas por *C.albicans*; mientras que en las exógenas se han aislado otras especies.

El cuadro clínico de una fungemia no difiere en gran manera del de una septicemia bacteriana y la sintomatología restante de la candidiasis sistémica depende de los órganos afectados. <sup>(16, 32)</sup>

- *Endocarditis*: Los síntomas y signos se asemejan a los de la endocarditis bacteriana. Los factores predisponentes son: lesiones valvulares, implantación de válvulas, catéteres intravenosos, las enfermedades consuntivas y los consumidores de drogas por vía parenteral (CDVP). Aunque *C.albicans* es la principal especie observada; en los CDVP, *C.parapsilosis* y *C.tropicalis* son las más aisladas.
- *Candidiasis pulmonar*: Puede producirse a partir de un muguet oral o de una diseminación hematógena; da lugar a infiltrados nodulares múltiples diseminados o con una distribución simétrica subpleural.
- *Candidiasis renal*: El riñón es uno de los órganos afectados secundariamente con mayor frecuencia en las candidiasis diseminadas a través de la vía hematógena. La implantación de un catéter de Foley puede dar lugar por vía ascendente a una cistitis, con presencia de *Candida* en la orina, hecho que no implica infección del tracto renal superior.
- *Candidiasis del SNC*: Infección del parénquima cerebral y de las meninges, donde origina una encefalitis difusa con formación de microabscesos corticales. El examen del líquido cefalorraquídeo (LCR) tienen una pleocitosis con linfocitos, hiperalbuminorraquia e hipoglucorraquia.
- *Candidiasis ocular*: Las estructuras oculares pueden afectarse en su totalidad, si bien en la iniciación se trata de una coriorretinitis. Las lesiones consisten en nódulos retinianos, blanquecinos, de aspecto piloso, que sobresalen en el vítreo. En la actualidad, la infección ocular micótica está adquiriendo una enorme trascendencia en los CDVP.

### 1.3.3.MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

#### 1.3.3.1 Examen micológico

Las muestras pueden ser; secreciones respiratorias (esputo, lavado broncoalveolar, etc), exudados (piel, corneales, ungueales, etc.), orina, sangre, heces, LCR y peritoneal. Todas las muestras biópsicas deben desmenuzarse.

Siempre que sea posible debe realizarse un examen en fresco, o bien directamente con lugol o con hidróxido potásico. <sup>(16, 32)</sup>

La siembra se realiza en el medio Sabouraud-galactosidasa-agar, los medios que contienen actidiona inhiben el crecimiento de algunas especies. La incubación se realiza a 30°C o a 37°C; al cabo de 24-48 horas se pueden observar las colonias características de color blanco. La prueba de filamentación precoz consiste en realizar una suspensión de la colonia en suero humano, seguida de incubación a 37°C durante 2 horas; el examen al microscopio evidencia la presencia de filamentos (tubos germinativos), debidos a la germinación de las levaduras, útiles para la identificación de *C.albicans*.

Actualmente se dispone de sistemas comercializados como: Vitek, Minivitek y Api 20 Aux en los que se estudia la fermentación de azúcares y pruebas bioquímicas. <sup>(16, 32)</sup>

#### 1.3.3.2 Diagnóstico inmunológico

Las especies de *Candida* tienen una gran variedad de antígenos localizados en la pared celular, de los que el peptidoglucomanano es el más importante. Para la detección de estos anticuerpos se disponen de diferentes métodos de inmunoanálisis; los que detectan anticuerpos precipitantes; doble inmunodifusión de Ouchterlony, inmunolectroforesis y contrainmunolectroforesis; otros inmunoanálisis: ELISA indirecto, Elisa sándwich y el inmunoblotting. <sup>(16, 32)</sup>

### 1.3.3.3 Examen anatomopatológico

Las secreciones procedentes de biopsias se tiñen con hematoxilina-eosina y otras se tiñen con hematoxilina-eosina y otras tinciones como: PAS, plata-metenammina de Gomori, etc. <sup>(16, 32)</sup>

### 1.3.4. TRATAMIENTO Y PROFILAXIS

En las candidiasis limitadas a piel o mucosas se instaura una terapia antifúngica tópica y oral, según se crea conveniente: nistatina, clotrimazol, miconazol, econazol, ketoconazol, fluconazol, anfotericina B, etc. <sup>(16, 32)</sup>

En el tratamiento de las candidiasis sistémicas se usa la anfotericina B, por vía intravenosa, sola o asociada a flucitosina oral o bien fluconazol en monoterapia, oral o intravenosa, administradas durante un tiempo largo (no inferior a 6 meses).

En los pacientes neutropénicos y en los receptores de órganos se ha ensayado la quimioprofilaxis por vía oral con nistatina, miconazol, fluconazol, etc. La quimioprofilaxis con antifúngicos tiene mayor valor en los pacientes infectados por el VIH, en los que se utiliza fluconazol para prevenir la candidiasis oral y esofágica.

## 1.4. FORMAS LÍQUIDAS ORALES DE APLICACIÓN TÓPICA

Comprenden las formas líquidas, generalmente soluciones, que no se ingieren sino que están destinadas para ser aplicadas en la cavidad bucal. <sup>(34)</sup>

### 1.4.1. COLUTORIOS

Concepto: Son soluciones acuosas de cierta viscosidad que contienen sustancias destinadas a tratar alguna afección a nivel de la cavidad bucal. Sólo en situaciones excepcionales se formulan como suspensiones o como preparaciones extemporáneas. <sup>(34)</sup>

#### 1.4.1.1 COMPONENTES DE LOS COLUTORIOS

Suelen llevar codisolventes como la glicerina, el sorbitol, el alcohol y tensoactivos que facilitan la solubilización de los componentes de la formulación. <sup>(34)</sup>

La viscosidad se consigue con gelificantes naturales o de síntesis, que hacen que la formulación quede adherida el mayor tiempo posible a la zona de aplicación.

Los edulcorantes deben ser no cariógenos, dada la proximidad de la dentadura, y el pH final ha de estar próximo a la neutralidad debido a que la acidez deteriora el esmalte dental y la alcalinidad daña a los tejidos gingivales. <sup>(34)</sup>

#### 1.4.1.2 EJEMPLO DE UN COLUTORIO:

##### COLUTORIO DE CLORHIDRATO DE LIDOCAÍNA:

Clorhidrato de lidocaína	1g
Carboximetilcelulosa sódica	2g
Agua purificada	100g

Se envasan en frascos pequeños (10-15ml) cuyo tapón lleva incorporado un pincel, espátula o paleta flexible que facilita su aplicación en encías, mucosa bucal o garganta, y que debe ser lavado después de su utilización y antes de ser introducido nuevamente en el frasco.

Se utilizan para reducir la concentración bacteriana (antibióticos, antisépticos, quimioterápicos), para aliviar el dolor o la inflamación (anestésicos, analgésicos, antiinflamatorios), etc. <sup>(34)</sup>

#### 1.4.2.SOLUCIONES PARA GARGARISMOS

Son soluciones acuosas no viscosas que contienen sustancias destinadas a bañar la cavidad bucal y la zona orofaríngea en el tratamiento de laringitis, faringitis, amigdalitis, etc. <sup>(34)</sup>

Se aplican, sin diluir o previa dilución, con la cabeza inclinada hacia atrás con objeto de facilitar el contacto con las amígdalas, la región de la epiglotis y la mucosa faríngea, haciendo pasar aire a través de la solución, que se retiene en la lengua y el paladar.

#### 1.4.2.1 COMPONENTES DE LOS GARGARISMOS:

Se formulan igual que los colutorios, pero sin agente viscosizante. Los vehículos deben ser neutros o alcalinos para no dañar las piezas dentales. Pueden llevar agentes colorantes, aromatizantes y edulcorantes. <sup>(34)</sup>

#### 1.4.2.2 EJEMPLO DE GARGARISMO:

Gargarismo Antiséptico y analgésico

Timol	0,5g
Alcohol	50ml
Glicerina	50ml
Cocimiento de coca c.s.p.	500ml

A veces se formulan como formas sólidas, polvos o comprimidos, que tienen que disolverse en agua antes de su utilización.

#### 1.4.3.SOLUCIONES PARA ENJUAGUES

Los enjuagues o buches son soluciones acuosas no viscosas que contienen sustancias destinadas a refrescar, desodorizar o realizar la antisepsia de la cavidad bucal. En ocasiones se diluyen los colutorios para utilizarlos como enjuagues. Su elaboración se lleva de igual modo que los gargarismos. <sup>(34)</sup>

Un enjuague puede tener dos objetivos: terapéutico y cosmético. Los enjuagues o lavados terapéuticos pueden tener por finalidad reducir la formación de placas, la gingivitis, las caries dentales, etc. Los enjuagues cosméticos pueden estar

destinados a combatir la halitosis mediante el uso de agentes antimicrobianos y aromatizantes.

## **1.5. SULFAMETOXAZOL Y TRIMETOPRIMA**

### **1.5.1.FARMACODINAMIA**

Es una sulfamida antiséptica bacteriostática de amplio espectro. El sulfametoxazol es análogo estructural del ácido aminobenzoico (PABA) e inhibe de manera competitiva una enzima bacteriana, la dihidropteroato sintetasa, que es responsable de la incorporación del PABA al ácido dihidrofólico. Por consiguiente bloquea la síntesis del ácido dihidrofólico y disminuye la cantidad de ácido tetrahidrofólico metabólicamente activo, cofactor en la síntesis de purinas, timidina y DNA. Las bacterias sensibles son aquellas que han de sintetizar ácido fólico. La acción de la sulfamida es antagonizada por el PABA y sus derivados (procaína y tetracaína) y por la presencia de pus o detritos celulares, componentes necesarios para el crecimiento bacteriano. La trimetoprima es una base débil lipófila bacteriostática, estructuralmente relacionada con la pirimetamina; se une a la enzima bacteriana dihidrofolato reductasa inhibiéndola. De esta manera bloquea en forma selectiva la conversión del ácido dihidrofólico a su forma funcional, ácido tetrahidrofólico. Esto agota el folato, lo que interfiere en la producción del ácido nucleico y proteínas bacterianas. La trimetoprima ejerce su efecto en un estado de la biosíntesis de folato inmediatamente posterior al estado en el que actúa el sulfametoxazol. Se produce una acción sinérgica entre ambos por la inhibición de la producción de tetrahidrofolato en dos pasos secuenciales de su biosíntesis. <sup>(19)</sup>

### **1.5.2.FARMACOCINÉTICA**

Se distribuye ampliamente en tejidos y líquidos y atraviesa la placenta con facilidad. Su unión a las proteínas es variable, compitiendo con la bilirrubina por la unión a la albúmina. Sólo tiene actividad antibacteriana el medicamento libre, no unido. Se metaboliza en el hígado, sobre todo por acetilación a metabolitos inactivos que retienen la toxicidad del producto original. Se elimina por vía renal por filtración

glomerular con secreción tubular y reabsorción del producto activo y de los metabolitos. <sup>(19, 24)</sup>

### 1.5.3.INDICACIONES.

Tratamiento de la bronquitis y exacerbaciones agudas de bronquitis crónica en adultos, causada por *H. influenzae* o *Streptococcus pneumoniae*. Enterocolitis causada por *Shigella flexneri* y *S. sonnei*. Otitis media aguda en niños causada por *H. influenzae* o *S. pneumoniae*. Neumonía por *Pneumocystis carinii*. Infecciones bacterianas del tracto urinario causadas por *E. coli*, especies de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris* y *Morganella morganii*. <sup>(19, 24)</sup>

### 1.5.4.DOSIFICACIÓN.

El tratamiento debe realizarse durante 10 a 14 días en las exacerbaciones agudas de bronquitis crónica, durante 7 a 10 días en infecciones del tracto urinario, durante 10 días en la otitis media aguda en niños y durante 14 días en la neumonía por *Pneumocystis carinii*. Dosis usual para adultos: como antibacteriano sistémico: 800mg de sulfametoxazol y 160mg de trimetoprima/12 horas; como antiprotozo: 25mg de sulfametoxazol y 5mg de trimetoprima/kg/6 horas; dosis máxima: hasta 3,2g de sulfametoxazol y 640mg de trimetoprima/por día. Dosis pediátricas usuales: como antibacteriano: lactantes y niños con peso menor que 40kg: 20mg de sulfametoxazol y 4mg de trimetoprima/kg/12 horas; niños con 40kg o más: dosis de adulto; como antiprotozo: lactantes y niños con menos de 32kg: 25mg de sulfametoxazol y 5mg de trimetoprima/kg/6 horas; niños con 32kg o más: dosis de adulto. Forma inyectable: como antibacteriano sistémico: infusión IV, 10mg a 12,5mg de sulfametoxazol y 2mg a 2,5mg de trimetoprima/kg/6 horas; 13,3mg a 16,7mg de sulfametoxazol y 2,7mg a 3,3mg de trimetoprima/kg/8 horas; o 20mg a 25mg de sulfametoxazol y 4mg a 5mg de trimetoprima/kg/12 horas; como antiprotozo: 25mg de sulfametoxazol y 5mg de trimetoprima/6 horas. <sup>(19, 24)</sup>

### **1.5.5.REACCIONES ADVERSAS.**

Son de incidencia más frecuente: fotosensibilidad, rash cutáneo y prurito. En raras ocasiones: dolor articular y muscular, fiebre, hemorragias o hematomas no habituales, cansancio o debilidad no habituales. Requerirán atención médica, de persistir, los siguientes signos y síntomas: cefalea, mareos, diarrea, anorexia, náuseas y vómitos. <sup>(19, 24)</sup>

### **1.5.6.PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS.**

Deberá mantenerse una ingestión adecuada de líquidos. Es importante no omitir las dosis y completar el ciclo del tratamiento. Los efectos neutropénicos de la trimetoprima pueden dar lugar a mayor incidencia de infecciones microbianas, retraso en la cicatrización y hemorragia gingival. Aunque el fármaco está indicado en el tratamiento de la otitis media en niños no deberá prescribirse para la profilaxis o el tratamiento prolongado. <sup>(19, 24)</sup>

### **1.5.7.INTERACCIONES.**

El uso simultáneo con rifampicina puede aumentar la eliminación y disminuir la vida media del sulfametoxazol más trimetoprima. Agentes depresores de la médula ósea pueden aumentar los efectos leucopénicos o trombocitopénicos. Los medicamentos fotosensibilizadores pueden producir efectos aditivos de fotosensibilidad al usarse de manera concomitante. El probenecid disminuye la secreción tubular renal de las sulfamidas, dando lugar a concentraciones séricas totales mayores y más prolongadas. <sup>(19, 24)</sup>

### **1.5.8.CONTRAINDICACIONES.**

Está contraindicado en lactantes ya que puede producirles querníctero. La relación riesgo-beneficio se evaluará en pacientes con disfunción hepática o renal, porfiria y deficiencias de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. <sup>(19, 24)</sup>

## **1.6. NISTATINA**

### **1.6.1.FARMACODINAMIA**

Su mecanismo de acción consiste en su unión a los esteroides en la membrana celular fúngica, que ocasiona la incapacidad de la membrana para funcionar como barrera selectiva, con la pérdida de constituyentes celulares esenciales. <sup>(19, 31)</sup>

### **1.6.2.FARMACOCINÉTICA**

No se absorbe en el tracto gastrointestinal y se excreta casi totalmente con las heces como fármaco inalterado. No se absorbe cuando se aplica en forma tópica sobre piel o membranas mucosas intactas. <sup>(19, 31)</sup>

### **1.6.3.INDICACIONES.**

Vía oral: tratamiento de la candidiasis orofaríngea. Vía tópica: tratamiento de la candidiasis mucocutánea. Vía vaginal: tratamiento de la candidiasis vulvovaginal. <sup>(19, 31)</sup>

### **1.6.4.DOSIFICACIÓN.**

La dosis usual para niños y adultos por vía oral es 400.000UI a 600.000UI cuatro veces al día; para prematuros y lactantes de bajo peso, 100.000UI cuatro veces al día, y para lactantes mayores 200.000UI cuatro veces al día. Vía tópica: aplicar sobre la piel dos a tres veces al día. Vía vaginal: 100.000UI una o dos veces al día durante 2 semanas. <sup>(19, 31)</sup>

### **1.6.5.REACCIONES ADVERSAS.**

Vía oral: diarrea, náuseas, vómitos, gastralgia. Vía tópica: irritación de la piel. Vía vaginal: irritación vaginal.

### **1.6.6.PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS.**

Cuando se utiliza suspensión oral se recomienda mantenerla y removerla dentro de la boca el mayor tiempo posible antes de tragarla. Para bloquear las recidivas se debe continuar el tratamiento durante 48h después de que los síntomas hayan desaparecido y los cultivos vuelvan a ser normales. Si se utiliza la vía tópica deben evitarse las curas oclusivas, porque proporcionan las condiciones necesarias para el crecimiento de las levaduras y la liberación de endotoxinas irritantes (los pañales ajustados pueden constituir una cura oclusiva). Para prevenir la candidiasis oral en neonatos se sugiere administrar los óvulos a las embarazadas con candidiasis durante 3 a 6 semanas antes del parto. <sup>(19, 31)</sup>

### **1.6.7.INTERACCIONES.**

Por ser un fármaco que no se absorbe no presenta interacciones con otros.

### **1.6.8.CONTRAINDICACIONES.**

No se han descrito.

## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación es de tipo experimental, ya que ante el estímulo consistente en colutorios (variable independiente) se manipulará la variable efecto antimicrobiano (variable dependiente).

#### 2.2. MATERIALES

##### 2.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Se trabajó con siete (07) muestras orofaríngeas provenientes de pacientes cuyas edades oscilaban entre los 40 y 60 años y que reciben quimioterapia en el Hospital Carlos Alberto Segúin Escobedo de la ciudad de Arequipa, con los siguientes criterios de inclusión:

- Pacientes adultos de ambos sexos
- Estadificación de la neoplasia: Grado 2
- Sin comorbilidad inmunosupresora.

## 2.2.2.MATERIAL DE LABORATORIO

### 2.2.2.1 Equipos

- Autoclave
- Balanza analítica
- Cocina eléctrica
- Contómetro
- Estufa
- Frigorífico
- Mechero Bunsen
- Micropipéta
- Microscopio óptico

### 2.2.2.2 Material de vidrio

- Fiolas
- Matraces
- Pipetas
- Placas Petri
- Probetas de 50 y 100ml
- Slants
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitados

### 2.2.2.3 Medios de cultivo y enriquecimiento

- Agar Saboraud
- Caldo peptonado
- Agar sangre

#### 2.2.2.4 Materiales para la forma farmacéutica

- Agua destilada
- Carboximetilcelulosa
- Cotrimoxazol
- Esencia de menta sin colorantes
- Glicerina
- Lidocaína
- Nistatina

#### 2.2.2.5 Otros accesorios

- Algodón estéril
- Asa de Kohle
- Cámara fotográfica
- Espátulas
- Frascos de vidrio
- Gasa estéril
- Gradilla para tubos de ensayo
- Guantes quirúrgicos estériles.
- Hisopos estériles
- Lápiz marcador
- Malla de asbesto

#### 2.2.3.REACTIVOS

- Agua destilada (Delta)
- Alcohol etílico. Delta (USP)

#### 2.2.4.MEDIOS DE CULTIVO

- Agar Mac Conkey
- Agar Mueller Hinton
- Caldo peptonado
- Manitol Salado

### 2.3. MÉTODOS

#### 2.3.1.MÉTODOS FARMACOTÉCNICOS

Los métodos farmacotécnicos incluye la preparación de un colutorio a dos concentraciones distintas – al 100% y 50% - para evaluar la sensibilidad de las bacterias a estos preparados, el colutorio al 100% se refiere a que tiene al total de principios activos antimicrobianos (sulfametoxazol, trimetoprim y nistatina), el del 50% por su parte solo reúne a la mitad de la concentración respecto del primero, el resto de los excipientes se mantuvo a la misma concentración en ambas formulaciones. A continuación se muestran están formulaciones.

##### 2.3.1.1 Colutorio al 100%

Componente	Cantidad
Carboximetil celulosa	400 mg
Sulfametoxazol	240 mg
Trimetroprim	48mg
Lidocaína	60 mg
Nistatina	1200000 UI
Glicerina	5 ml
Esencia de menta	0.5 ml
Agua csp.	100 ml

### 2.3.1.2 Colutorio al 50%

Componente	Cantidad
Carboximetil celulosa	400 mg
Sulfametoxazol	120 mg
Trimetroprim	24 mg
Lidocaína	60 mg
Nistatina	600000UI
Glicerina	5 ml
Esencia de menta	0.5 ml
Agua csp.	100 ml

### 2.3.1.3 Colutorio control

Componente	Cantidad
Carboximetil celulosa	400 mg
Lidocaína	60 mg
Glicerina	5 ml
Esencia de menta	0.5 ml
Agua csp.	100 ml

Debido a la baja solubilidad del sulfametoxazol y la nistatina en el agua es que el colutorio a formular siguió según el procedimiento general de suspensiones:

### 2.3.1.4 Formula patrón

Principio activo	x%
Humectante	c.s
Viscosizante, si procede	c.s
Agente floculante, si procede	c.s
Medio dispersante	c.s
(Agua purificada, etc)	

En función de cada formulación otros componentes que pueden formar parte de la formulación son: corrector de sabor, aroma, antioxidantes, conservantes, reguladores de pH, etc.

#### 2.3.1.5 Método patrón

- Pesar todos los componentes de la fórmula.
- Calentar, si procede, la cantidad de agua purificada especificada en la formulación.
- Añadir lentamente y bajo agitación, los conservantes, si procede, agitar hasta su completa disolución.
- Atemperar la solución obtenida en el punto anterior, hasta 25-30°C. Alcanzada esta temperatura, añadir lentamente bajo agitación el agente humectante y el/los principios/s activo/s.
- Añadir a la fase anterior, el agente floculante, si procede.
- Adicionar lentamente, bajo agitación, los viscosizantes, si procede. Debe obtener una dispersión de aspecto homogéneo, sin presencia de productos aglomerados.
- Incorporar el resto de los componentes de la suspensión y enrasar la preparación.
- Homogeneizar la suspensión obtenida mediante agitación
- Proceder a la limpieza del material y equipo según se especifique en los procedimientos de limpieza correspondientes.

#### 2.3.1.6 Acondicionamiento

Proceder al acondicionamiento de la suspensión, según las especificaciones particulares de cada formulación.

El tipo de envase utilizado debe ser adecuado y compatible con la suspensión que contiene.

### 2.3.1.7 Controles

#### **Fórmula magistral:**

- Evaluación de los caracteres organolépticos.

#### **Fórmula magistral tipificada y preparados oficinales:**

- Evaluación de los caracteres organolépticos.
- Verificación del peso y volumen.

#### **Si se elaboran lotes, además, se realizarán los siguientes:**

- Determinación de la velocidad de sedimentación.
- Determinación de la viscosidad
- Determinación de la densidad relativa.
- Determinación del pH, según procedimiento.
- Control microbiológico.



Figura N°3: Colutorios elaborados a distintas concentraciones (50 y 100%) así como el colutorio base (control)

## 2.3.2.MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS

### 2.3.2.1 Recolección de las muestras orofaríngeas de pacientes

La recolección de las muestras orofaríngeas de pacientes oncológicos del Hospital Carlos Alberto Segúin Escobedo se realizó en el mes de diciembre de 2013,

antes de iniciar su quimioterapia, durante el tratamiento quimioterápico (a los 7 días) y, post quimioterapia (7 días después de la quimioterapia).



**Figura N°4: Envases estériles y rotulados para la recolección de la muestra**

#### 2.3.2.1.1 Recolección de *Streptococcus*

- Previamente se prepara los materiales para la recolección (hisopos, tubos, placas, medios de enriquecimiento y cultivo), debidamente estériles y empaçados.
- Se muestrea mediante frotamiento con el hisopo sobre la superficie de zonas orofaríngeas que habitualmente desarrollan o presentan problemas de mucositis.
- Estos hisopos inmediatamente se colocan en tubos que contienen caldo peptonado.
- Posteriormente se realiza la siembra retirando el hisopo y presionándolo ligeramente contra la pared del tubo. Con el hisopo se realiza una línea hasta la mitad de la placa desde la pared de la misma. Y se procede al agotamiento de la muestra mediante estrías con el asa de Kolle en agar sangre.
- Cultivar la placa en la estufa por un periodo de 24 horas a 37°C. <sup>(17)</sup>

#### 2.3.2.1.2 Recolección de *Candida albicans*

- Previamente se prepara los materiales para la recolección (hisopos, tubos, placas, medios de enriquecimiento y cultivo), debidamente estériles y empacados.
- Se muestrea mediante frotamiento con el hisopo sobre la superficie de zonas orofaríngeas que habitualmente desarrollan o ya presentan problemas de mucositis.
- Estos hisopos inmediatamente se colocan en tubos que contienen caldo peptonado.
- Posteriormente se realiza la siembra retirando el hisopo y presionándolo ligeramente contra la pared del tubo. Con el hisopo se realiza una línea hasta la mitad de la placa desde la pared de la misma. Y se procede al agotamiento de la muestra mediante estrías con el asa de Kolle en agar Sabouraud.
- Cultivar la placa a temperatura ambiente durante 48 horas. <sup>(17)</sup>

#### 2.3.2.2 **Identificación de microorganismos presentes en las muestras**

##### 2.3.2.2.1 Identificación de *Streptococcus*

Se utilizó el siguiente método de identificación

##### 2.3.2.2.1.1 Prueba de la catalasa

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua, químicamente la catalasa es una hemoproteína de estructura similar a la de la hemoglobina, excepto que los cuatro átomos de hierro de la molécula están en estado oxidado ( $Fe^{+3}$ ).

El peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo o aeróbico de los hidratos de carbono.

### **Procedimiento**

- Con un asa de Kolle en punta colocar en el centro de la lámina portaobjetos la colonia a investigar.
- Posteriormente agregar 1 a 2 gotas de peróxido de hidrógeno al 30%.
- Suspender el organismo y observar si hay aparición de burbujas debido al desprendimiento de oxígeno.

#### 2.3.2.2.1.2 Prueba de la coagulasa

La coagulasa se halla presente en dos formas: libre y ligada, cada una de ellas posee diferentes propiedades que requieren el uso de técnicas separadas.

La coagulasa fija (portaobjeto): Conocida como factor de aglutinación está unida a la pared celular bacteriana y no está presente en los filtrados de cultivo. Los hilos de fibrina formados entre las células bacterianas en el plasma (fibrinógeno) provoca aglutinación; la cual se indica por la aparición de agregados viables en el portaobjeto.

La coagulasa libre (tubo): Es una sustancia semejante a la trombina que se halla presente en los cultivos de filtrados. Cuando una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezclan con partes iguales de plasma, se forma un coagulo visible como consecuencia de los factores de coagulación.

### **Procedimiento**

- Con un asa de Kolle en punta colocar en el centro de la placa una colonia a investigar.
- Agregar 1 a 2 gotas de plasma.
- Suspender el organismo e inclinar el portaobjeto hacia uno y otro lado y observar si hay la aparición de grumos.

#### 2.3.2.2.2 Identificación de *Candida albicans*

Se utilizó el siguiente método de identificación

#### 2.3.2.2.2.1 Montaje con KOH al 10%

Se basa en un examen microscópico en busca de hifas u otras estructuras micóticas colocándolos previamente en KOH al 10%.<sup>(17)</sup>

#### **Procedimiento**

- Colocar una gota de KOH al 10% que contiene glicerina en un portaobjeto mezclándolo con una pequeña porción de la muestra.
- Pasar suavemente el portaobjeto a través de una llama baja de un mechero para facilitar el aclaramiento.
- Colocar una lámina cubreobjeto y dejar reposar por treinta minutos.

#### 2.3.2.3 Determinación de la sensibilidad Antimicrobiana

La sensibilidad antimicrobiana es una prueba inicial que tiene como finalidad determinar si los organismos (previamente identificados) son sensibles a dos concentraciones de colutorio arbitrariamente elegidas. Esta prueba se realizó en la presencia de dos controles, uno solo con los excipientes del colutorio y otro sin tratamiento alguno. Haciendo un total de cuatro observaciones por placa (dos correspondientes a los colutorios y otros dos a los controles). Esta prueba se realizó por quintuplicado.

#### 2.3.2.3.1 Método: Excavación cilindro-Placa cultivo

Este método se basa en que la sustancia a investigar depositada en la excavación toma contacto con la superficie del agar de tal manera que difunde hacia el medio circundante, a medida que aumenta la distancia a la excavación hay una reducción logarítmica de la concentración de la sustancia hasta alcanzar un punto en el que el desarrollo microbiano de la superficie del agar ya no es inhibido, la actividad de la sustancia se evalúa midiendo el halo de inhibición formado.<sup>(17)</sup>

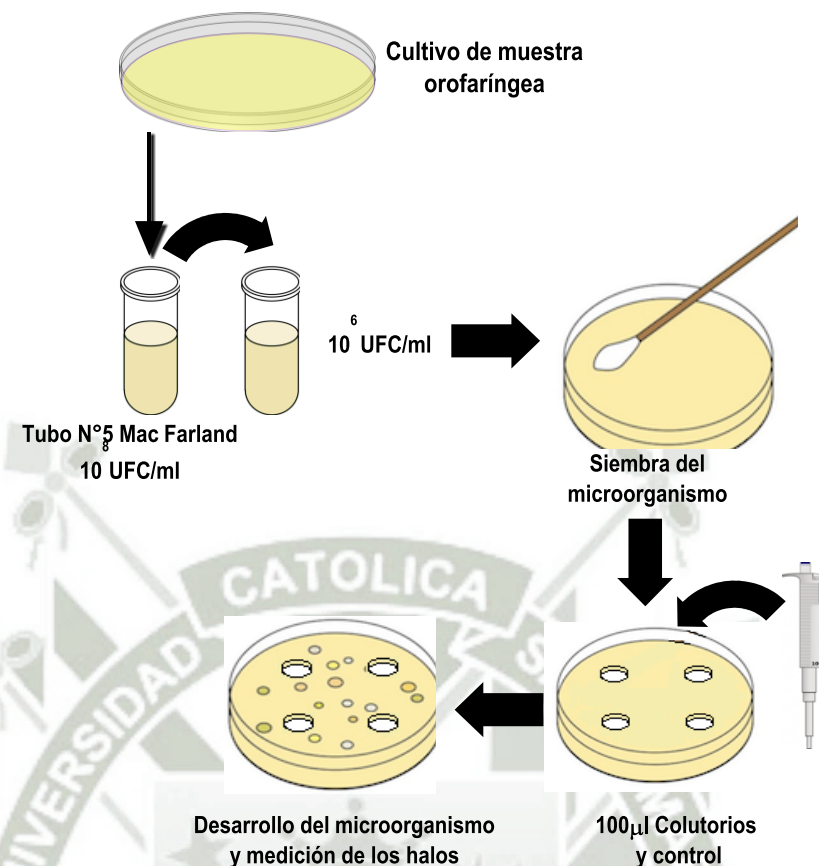


Figura N° 5: Método de excavación placa cilindro para la determinación de la sensibilidad

#### 2.3.2.3.1.1 Procedimiento

##### Preparación del inóculo

- Se preparó cantidad suficiente de caldo peptonado estéril.
- Se seleccionaron con una asa de Kohle 3-4 colonias del microorganismo bajo estudio (*Staphylococcus* y *Candida albicans*) provenientes de las secreciones orofaríngeas.
- La muestra del microorganismo se sumerge en 5 ml caldo peptonado estéril.

- La turbidez del tubo con el microorganismo debe ser equivalente a la turbidez del tubo N°5 de la Escala de Mac Farland, colocando ambos tubos contra un fondo blanco con líneas negras como contraste.
- El tubo N° 5 equivale a una concentración de  $10^8$  UFC/ml, luego hacer una dilución tomando 0.1ml de este inóculo y se le agrega 9.9ml de caldo peptonado dando una solución resultante con una concentración de  $10^6$  UFC/ml.

### **Preparación de los colutorios para analizar**

- Se preparó dos colutorios para el examen de sensibilidad, el primero a una concentración de 400mg para el sulfametoxazol y el segundo a la mitad de esta dosis. El resto de excipientes se mantuvo en las mismas concentraciones.

### **Preparación del medio de cultivo**

- Se preparó para cada placa 20ml de agar sangre para *Staphylococcus* y 20 ml de agar Saboraud para *Candida albicans*.
- Una vez que el agar estuvo a una temperatura de  $40^{\circ}\text{C}$ , se le agregó 0.2ml del inóculo  $10^6$  UFC/ml.
- Se realizó el plaqueo con un mechero cerca para garantizar ambiente estéril.
- Cuando el agar adquirió la consistencia sólida se procede a realizar 4 excavaciones por placa (dos para los colutorios, una para la base del colutorio y otra control).
- En cada excavación se colocó 100 $\mu\text{L}$  de sustancia problema (colutorios y controles).
- Se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas para la bacteria y 48 para el caso del hongo, después de este tiempo se procedió a medir los halos de inhibición.

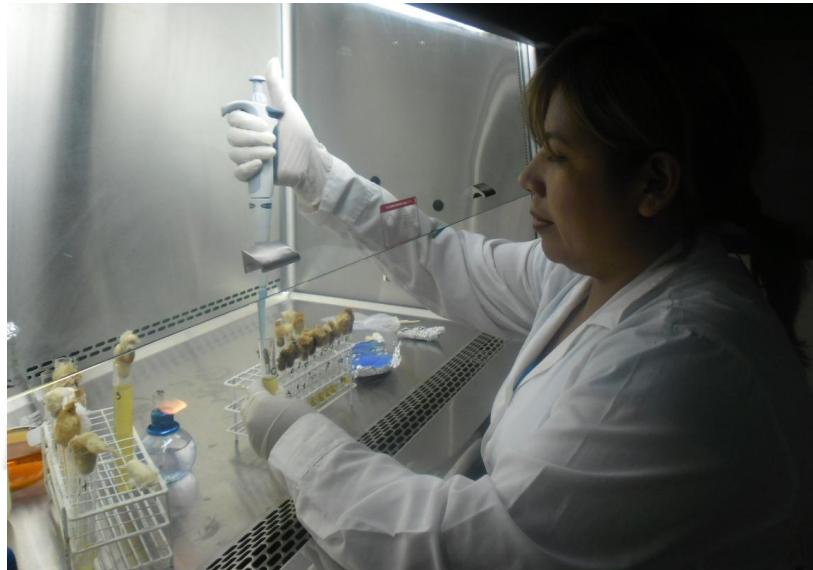


Figura N°6: preparación de las disoluciones para la determinación de la sensibilidad a los colutorios

#### 2.3.2.4 Determinación de la Concentración Mínima inhibitoria

Según la sensibilidad encontrada para los colutorios en el procedimiento anterior, se procede a la determinación de la concentración mínima inhibitoria para la concentración del colutorio que los microorganismos se mostraron sensibles.

##### 2.3.2.4.1 Método: Dilución tubo

#### **Procedimiento**

- El inóculo debe ser preparado a partir de 4-5 colonias de las placas madre con *Streptococcus* y *Candida*, luego se inoculan en 5ml de caldo peptonado estéril, enjuagando bien en el medio de enriquecimiento, a fin de agotar todo el material adherido en el asa.
- Ajustar la turbidez conforme al tubo N°5 de la Escala de Mac Farland, la misma que equivale a una concentración de  $10^8$  UFC/ml, luego realizar una dilución al 1/100 de éste inóculo (0.2ml del inóculo en 19,8ml en caldo peptonado). Así se obtiene un inóculo de aproximadamente  $10^6$  UFC/ml.

- A parte preparar caldo peptonado estéril y añadir a cada tubo conforme el cuadro de diluciones para el colutorio.

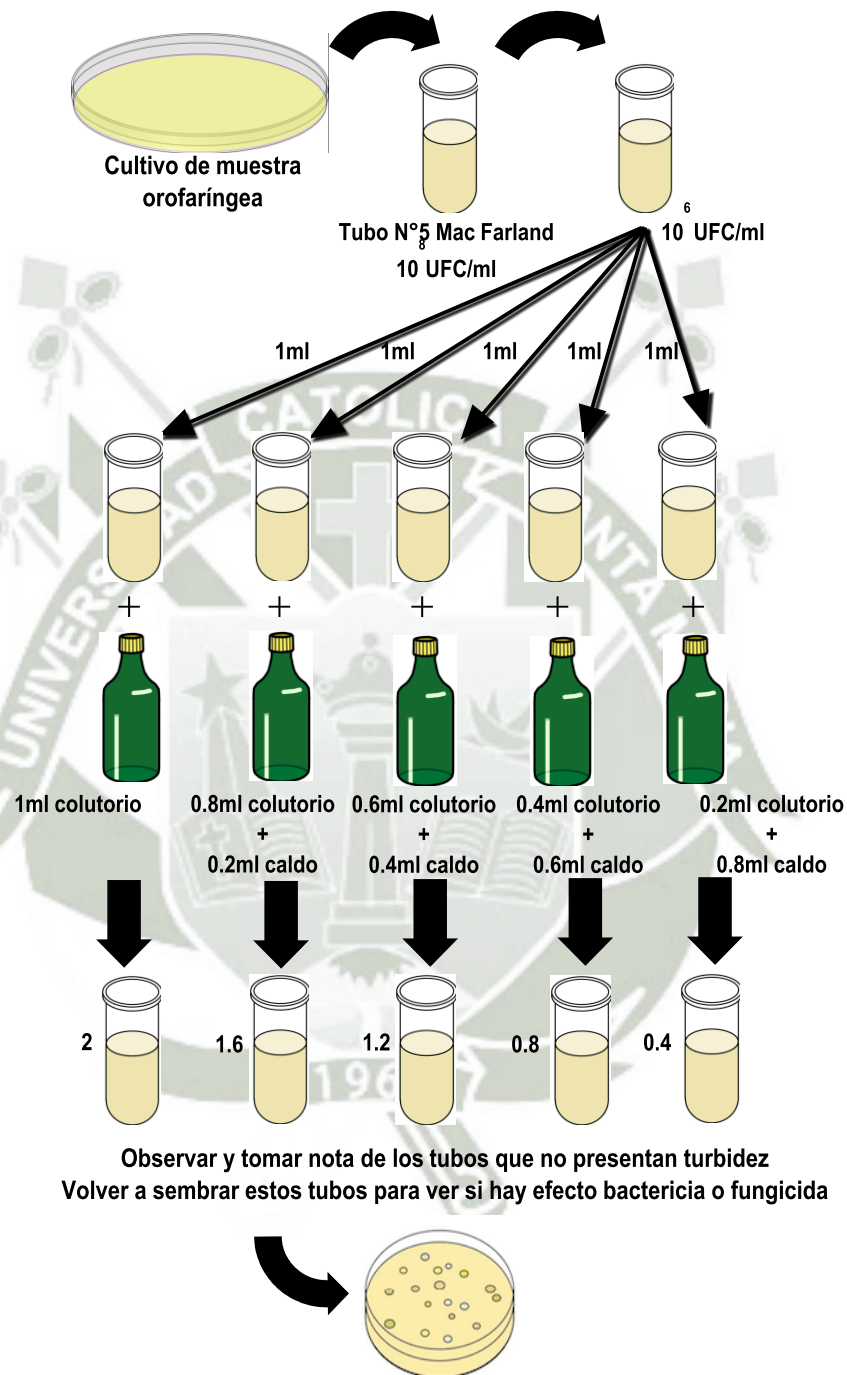


Figura N° 7: Método de dilución en tubo para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de los colutorios

**CUADRO N° 1: Diluciones del sulfametoxazol presente en el colutorio Formula 100% para la determinación de la concentración mínima inhibitoria**

Descripción	Tubos					
	5	4	3	2	1	C
<b>Colutorio Fórmula 100% (ml)</b>	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0
<b>Conc. SMX (mg/ml)</b>	2.4	1.92	1.44	0.96	0.48	--
<b>Caldo peptonado</b>	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
<b>Volumen inicial</b>	1	1	1	1	1	1
<b>Inóculo 10<sup>6</sup> UFC/ml</b>	1	1	1	1	1	1
<b>Volumen final</b>	2	2	2	2	2	2
<b>Concentración final (mg/ml)</b>	1.2	0.96	0.72	0.48	0.24	--

*Fuente: Elaboración Propia*

**CUADRO N° 2: Diluciones de la nistatina presente en el colutorio Formula 100% para la determinación de la concentración mínima inhibitoria**

Descripción	Tubos					
	5	4	3	2	1	C
<b>Colutorio Fórmula 100% (ml)</b>	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0
<b>Conc. Nistatina (UI/ml)</b>	120000	96000	72000	48000	24000	--
<b>Caldo peptonado</b>	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
<b>Volumen inicial</b>	1	1	1	1	1	1
<b>Inóculo 10<sup>6</sup> UFC/ml</b>	1	1	1	1	1	1
<b>Volumen final</b>	2	2	2	2	2	2
<b>Concentración final (mg/ml)</b>	60000	48000	36000	24000	12000	--

*Fuente: Elaboración Propia*

- Luego añadir 1ml del inóculo y mezclar.
- Proceder a incubar los tubos a 37°C durante 24 horas. Transcurrido este periodo observar la turbidez de los tubos. Los tubos turbios indican que el

desarrollo bacteriano no ha sido inhibido, por el contrario los tubos claros evidencian inhibición del crecimiento de microorganismos.

### 2.3.2.5 Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (CBM)

Consiste en realizar un resembrado de las concentraciones del colutorio en donde no hubo crecimiento de microorganismos, en medios de cultivo adecuados con la finalidad de observar si hay presencia de microorganismos viables, de este modo se halla la concentración bactericida (o fungicida) mínima.

#### 2.3.2.5.1 Método: Dilución en caldo.

##### **Preparación del inóculo**

- Con la ayuda de un asa de Kolle estéril tocar la superficie de 4 a 5 colonias de microorganismos (bacteria y hongo).
- Luego introducir el asa de Kolle en caldo peptonado, enjuagar bien en el líquido para agotar todo el material y luego se retira el asa.
- Ajustar la turbidez conforme al tubo N°5 de la Escala de Mac Farland, la misma que equivale a una concentración de  $10^8$  UFC/ml, luego realizar una dilución al 1/100 de éste inóculo (0.2ml del inóculo en 19,8ml en caldo peptonado). Así obtendremos un inóculo de aproximadamente  $10^6$  UFC/ml.

##### **Preparación de diluciones colutorio**

- El colutorio se diluye a distintas concentraciones a partir de la concentración sensible.
- Adicionar 1ml del inóculo a cada tubo.
- Luego se incuba por un tiempo de 24 horas a temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$ .
- Finalmente se realiza un subcultivo de las diluciones que no mostraron turbidez, para determinar la concentración bactericida; incubando durante

24 horas a 37°C en Agar Tripticasa soya (TSA) para los microorganismos bacterianos y Agar Saboraud para el microorganismo fúngico.

**CUADRO N° 3: Diluciones del sulfametoxazol presente en el colutorio Formula 100% para la determinación de la concentración bactericida mínima**

Descripción	Tubos					
	5	4	3	2	1	C
<b>Colutorio Fórmula 100% (ml)</b>	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0
<b>Conc. SMX (mg/ml)</b>	2.4	1.92	1.44	0.96	0.48	--
<b>Caldo peptonado</b>	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
<b>Volumen inicial</b>	1	1	1	1	1	1
<b>Inóculo 10<sup>6</sup> UFC/ml</b>	1	1	1	1	1	1
<b>Volumen final</b>	2	2	2	2	2	2
<b>Concentración final (mg/ml)</b>	1.2	0.96	0.72	0.48	0.24	--

*Fuente: Elaboración Propia*

**CUADRO N° 4: Diluciones de la nistatina presente en el colutorio Formula 100% para la determinación de la concentración fungicida mínima**

Descripción	Tubos					
	5	4	3	2	1	C
<b>Colutorio Fórmula 100% (ml)</b>	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0
<b>Conc. Nistatina (mg/ml)</b>	12000	96000	72000	48000	24000	--
<b>Caldo peptonado</b>	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
<b>Volumen inicial</b>	1	1	1	1	1	1
<b>Inóculo 10<sup>6</sup> UFC/ml</b>	1	1	1	1	1	1
<b>Volumen final</b>	2	2	2	2	2	2
<b>Concentración final (mg/ml)</b>	60000	48000	36000	24000	12000	--

*Fuente: Elaboración Propia*

### 2.3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

#### 2.3.3.1 Promedio o media

La media se obtiene sumando todos los valores en una población o muestra y dividiendo entre los valores sumados. <sup>(11)</sup>

#### 2.3.3.2 Varianza

Cuando los valores de un conjunto de observaciones se encuentran ubicados cerca de su media, la dispersión es menor que cuando están esparcidos. En consecuencia, se puede pensar intuitivamente que es posible medir la dispersión en función del esparcimiento de los valores alrededor de su media. Esta medición se efectúa mediante lo que se conoce como *varianza*. Para calcular la varianza de una muestra de valores, se resta la media de cada uno de los valores individuales, las diferencias se elevan al cuadrado y después se suman entre sí. Esta suma de desviaciones elevadas al cuadrado de los valores con respecto a la media se divide entre el tamaño de la muestra, menos 1, para obtener la varianza de la muestra. Si se asigna la letra  $s^2$  para simbolizar la varianza de la muestra. <sup>(11)</sup>

#### 2.3.3.3 Desviación estándar

La varianza representa unidades al cuadrado, por lo que no es una medida adecuada de dispersión si se pretende expresar este concepto en términos de las unidades originales. Para obtener la medida de dispersión en unidades originales, simplemente se obtiene la raíz cuadrada de la varianza. <sup>(11)</sup>

#### 2.3.3.4 ANOVA

El análisis de varianza es utilizado en el presente estudio para estimar y probar hipótesis respecto a las medias de las poblaciones, sin embargo, es necesario precisar que las conclusiones respecto a las medias dependen de la magnitud de las varianzas observadas. <sup>(11)</sup>

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. OBTENCIÓN DE COLUTORIOS PREVENTIVOS CONTRA LA MUCOSITIS

Para la obtención de colutorios preventivos contra la mucositis conteniendo cotrimoxazol y nistatina se procedió conforme al procedimiento de elaboración de soluciones, obteniéndose dos colutorios cuyas concentraciones se denominó al 100% y al 50%, este último con una concentración 0.5 veces menor al primero. La organolépsia de los colutorios es como sigue

**CUADRO N° 1: Caracteres organolépticos de los colutorios preventivos contra la mucositis**

<b>Organolepsia</b>	<b>Colutorio al 100%</b>	<b>Colutorio al 50%</b>
Sabor	Mentolado débil	Mentolado débil
Aspecto	Semifluido	Semifluido
Olor	Mentolado	Mentolado
Color	Amarillo lechoso	Amarillo lechoso

*Fuente: Elaboración Propia*

La descripción de las formulaciones elaboradas a continuación:

**CUADRO N° 2: Colutorios elaborados para la prevención de la mucositis**

<b>Componente</b>	<b>100%</b>	<b>50%</b>	<b>Control</b>
Carboximetil celulosa	400 mg	400 mg	400 mg
Sulfametoxazol	240 mg	120 mg	---
Trimetoprim	48mg	24 mg	---
Lidocaína	60 mg	60 mg	60 mg
Nistatina	1200000 UI	600000 UI	---
Glicerina	5 ml	5 ml	5ml
Esencia de menta	0.5 ml	0.5 ml	0.5ml
Agua csp.	100 ml	100 ml	100ml

*Fuente: Elaboración Propia*

El procedimiento para su elaboración fue el siguiente:

- Con la ayuda del mortero se procedió a mezclar la carboximetil celulosa en presencia de la glicerina.
- La mezcla anterior se incorporó en 50% de agua destilada, y se agitó hasta completa disolución.
- En la otra parte de agua destilada se disuelve la nistatina y la lidocaína, mediante agitación.
- Esta última mezcla se incorpora a la anterior mediante agitación.
- En un mortero se tritura el comprimido de cotrimoxazol, posteriormente se pesa la cantidad necesaria y se incorpora a la mezcla final.
- Se añade la esencia de menta y se completa con agua destilada hasta el volumen final.
- Se finaliza con el envasado.

### 3.2. EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DEL COLUTORIO

La presentación de los resultados de la evaluación microbiológica del colutorio *in vitro* fue segmentado en dos fases a saber: la evaluación microbiológica antes de la quimioterapia y la evaluación después de la quimioterapia.

#### 3.2.1. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA ANTES DE LA QUIMIOTERAPIA

La evaluación microbiológica del colutorio preventivo con cotrimoxazol y nistatina, se realizó antes de la administración del tratamiento antineoplásico. Para ello en primer lugar se realizó un recuento de microorganismos y su identificación, ello con la finalidad de determinar la carga microbiana que tiene cada paciente y establecer mediante la identificación la presencia de *Streptococcus* y *Candida albicans*. Posteriormente se evaluó la sensibilidad, la concentración mínima inhibitoria y la bactericida y fungicida mínima.

##### 3.2.1.1 Recuento de microorganismos

**CUADRO N° 3: Recuento en placa de *Streptococcus* presentes en muestras orofaríngeas de pacientes oncológicos pre tratamiento antineoplásico**

	Recuento en placa				
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
Paciente 1	350	55	10	5	1
Paciente 2	325	40	15	15	2
Paciente 3	387	80	10	0	0
Paciente 4	317	60	25	9	3
Paciente 5	360	65	14	5	2
Paciente 6	280	50	21	10	0
Paciente 7	302	70	26	7	1
<b>Promedio</b>	332	60	17	7	1

Fuente: Elaboración Propia

El cuadro muestra el recuento en placa de las secreciones de los siete pacientes oncológicos, para el conteo se realizó diluciones en seriadas, se consideró la dilución  $10^{-2}$  ya que se encuentra entre 30 y 300 colonias. Fue necesario hallar el promedio de los conteos para tener un único valor representativo de los siete pacientes. En conclusión los paciente oncológicos en promedio presentaban 6000 UFC/ml de *Streptococcus* esto debido a una probable reacción inmunodepresiva ocasionado como consecuencia de la radio y quimioterapia.

### 3.2.1.2 Determinación de la sensibilidad

**CUADRO N° 4: Promedio de los halos de inhibición para la prueba de sensibilidad de *Streptococcus* sp. a los colutorios (100 y 50%)**

Paciente	Promedio de los halos (mm) de inhibición			
	Colutorio 100% (2.4mg/ml)	Colutorio 50% (1.2mg/ml)	Colutorio vehículo	Control
Paciente 1	25(S)	20(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 2	30.3(S)	22.7(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 3	24.3(S)	14.3(I)	Sin halo	Sin halo
Paciente 4	29(S)	19(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 5	27.3(S)	23.7(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 6	22.3(S)	19.7(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 7	33.3(S)	27.3(S)	Sin halo	Sin halo

(S): Sensible  $\geq 16$  mm; (I): Intermedio 11-15 mm

Fuente: Elaboración Propia

El cuadro muestra que tanto para el colutorio al 100% y al 50% tuvieron sensibilidad ya que los halos de inhibición de crecimiento de *Streptococcus* fueron mayores de 16mm, exceptuando a una sola placa para el colutorio al 50%, en donde el halo de sensibilidad fue solo de 14.3mm. En todos los casos de cada paciente se

hicieron por triplicado cada siembra por lo tanto el cuadro analizado muestra los promedios de estos tres valores.

Para tener una visión global de estos resultados se consideró hallar valores estadísticos de todas las lecturas que permitan apreciar en su totalidad estos halos de inhibición:

**CUADRO N° 5: Análisis estadístico para la prueba de sensibilidad de *Streptococcus* sp. a los colutorios (100 y 50%)**

Concentración	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Varianza	Rango
2.4mg/ml (100%)	21	27,76	28,00	4,426	19,590	15
1.2mg/ml (50%)	21	20,76	20,00	4,549	20,690	16
Total	42	24,26	24,50	5,674	32,198	23

*Fuente: Elaboración Propia*

El cuadro N°5, muestra que el promedio del colutorio al 100% es superior al halo presentado por el colutorio al 50%, ya que presentan halos de 27.76 mm y 20.76 mm respectivamente.

Al ver esta diferencia en cuanto promedios fue necesaria la realización de un análisis de varianza que permita observar si los grupos presentan diferencias con respecto a los halos de inhibición.

**CUADRO N° 6: Análisis de varianza para la prueba de sensibilidad de *Streptococcus* sp. a los colutorios (100 y 50%)**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	514,500	1	514,500	25,546	,000
Intra-grupos	805,619	40	20,140		
Total	1320,119	41			

*Fuente: Elaboración Propia*

El análisis de varianza que se muestra en el cuadro N°4 que se calculó con un nivel de confianza del 95% arroja una significancia similar a 0, al ser este valor inferior al nivel aceptado se afirma que la sensibilidad para el colutorio al 100% es estadísticamente diferente en cuanto al colutorio del 50%. Y al presentar este último una concentración que en promedio es sensible (al ser mayores a 16mm) para la bacteria *Streptococcus* se establece esta concentración como punto de partida para la determinación de la concentración mínima inhibitoria.

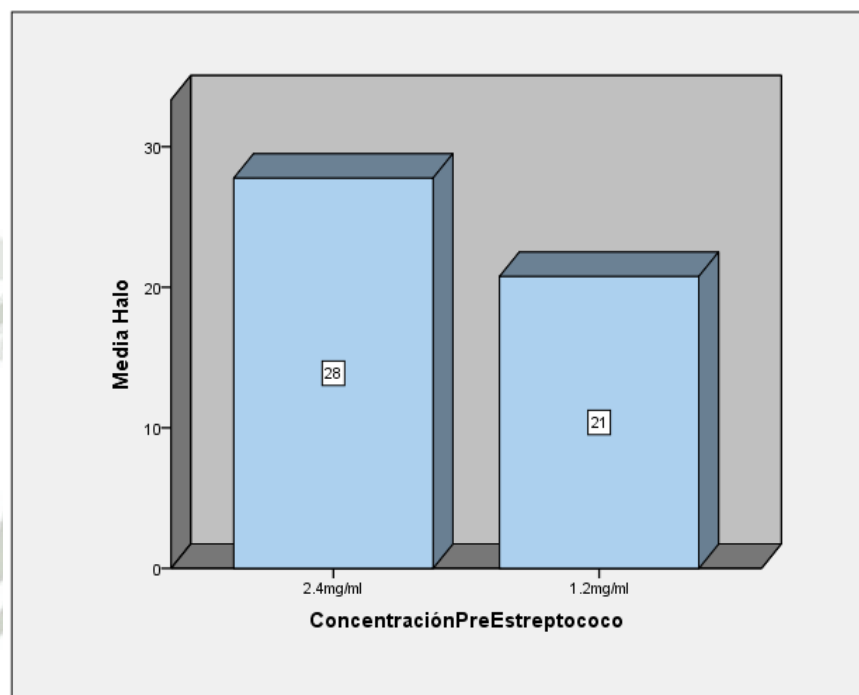


Figura N° 8: Promedio de los halos de inhibición de la dos concentraciones de colutorios frente a *Streptococcus*

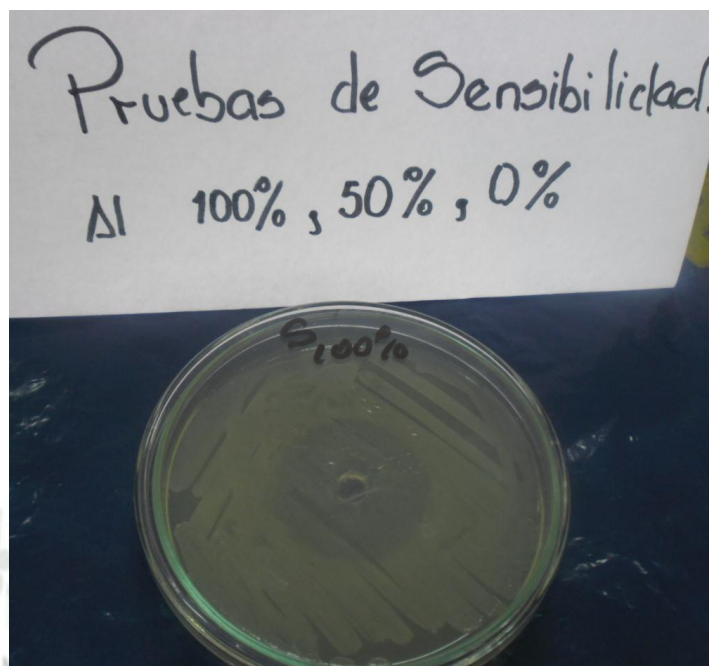


Figura N° 8: Placa para la prueba de sensibilidad de *Streptococcus* al colutorio al 100%

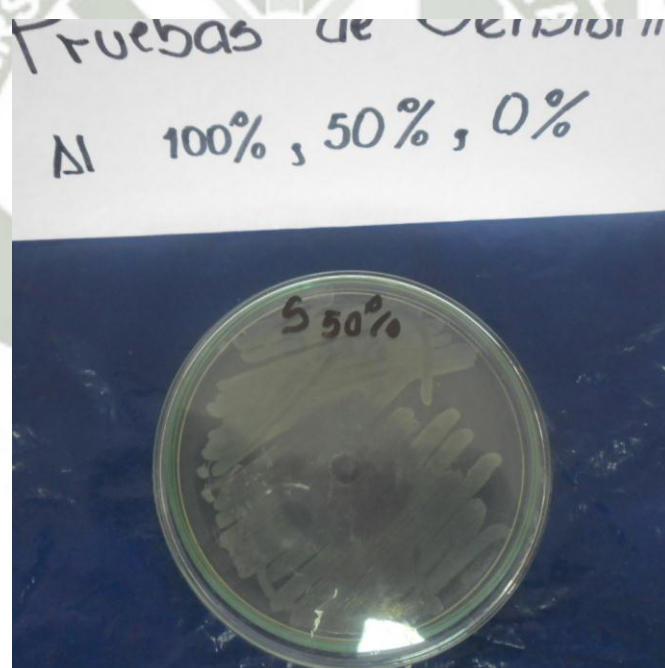


Figura N° 9: Placa para la prueba de sensibilidad de *Streptococcus* al colutorio al 50%

**CUADRO N° 7: Promedio de los halos de inhibición para la prueba de sensibilidad de *Candida albicans* sp. a los colutorios (100 y 50%)**

Paciente	Promedio de los halos (mm) de inhibición			
	Colutorio 100% (120000 UI/ml)	Colutorio 50% (60000 UI/ml)	Colutorio vehículo	Control
Paciente 1	30 (S)	24.7(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 2	33.3(S)	28(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 3	28(S)	24 (S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 4	36(S)	29 (S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 5	31.3(S)	25(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 6	27.3(S)	23(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 7	35(S)	28.7(S)	Sin halo	Sin halo

(S): Sensible  $\geq 16$  mm; (I): Intermedio 11-15 mm

Fuente: Elaboración Propia

El cuadro muestra que tanto para el colutorio al 100% y al 50% tuvieron sensibilidad ya que los halos de inhibición de crecimiento de *Candida albicans* en todos los casos fueron mayores de 16mm, al igual que en el caso de *Streptococcus* se hicieron por triplicado cada siembra por lo tanto el cuadro analizado muestra los promedios de estos tres valores.

**CUADRO N° 8: Análisis estadístico para la prueba de sensibilidad de *Candida albicans* a los colutorios (100 y 50%)**

Concentración	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Varianza	Rango
120000 UI/ml (100%)	21	31,29	30,00	3,580	12,814	11
60000 UI/ml (50%)	21	26,29	26,00	3,196	10,214	13
Total	42	28,79	29,00	4,200	17,636	17

Fuente: Elaboración Propia

El cuadro N°8, muestra que el promedio del colutorio al 100% es superior al halo presentado por el colutorio al 50%, ya que presentan halos de 31.29 mm y 26.29mm respectivamente.

Al ver esta diferencia en cuanto promedios fue necesaria también la realización de un análisis de varianza que permita observar si los grupos presentan diferencias con respecto a los halos de inhibición.

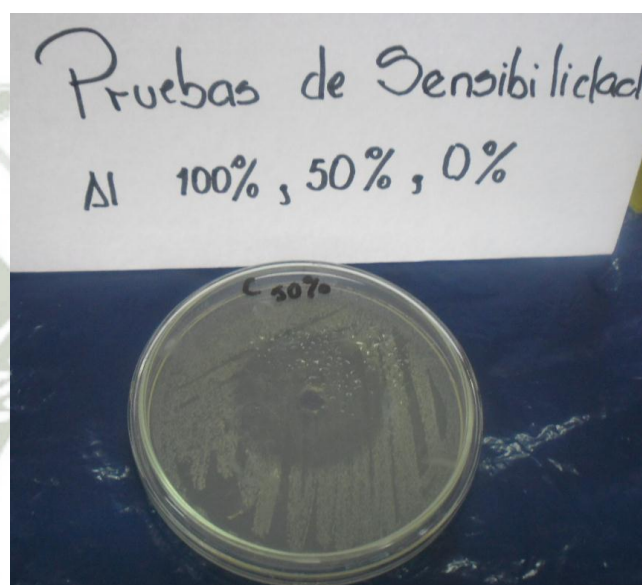


Figura N° 10: Placa para la prueba de sensibilidad de *Candida albicans* al colutorio al 50%

**CUADRO N° 9: Análisis de varianza para la prueba de sensibilidad de *Candida albicans* a los colutorios (100 y 50%)**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	262,500	1	262,500	22,798	,000
Intra-grupos	460,571	40	11,514		
Total	723,071	41			

Fuente: *Elaboración Propia*

El análisis de varianza que se muestra en el cuadro N°7 que se calculó con un nivel de confianza del 95% arroja una significancia similar a 0, al ser este valor inferior al nivel aceptado se afirma que la sensibilidad para el colutorio al

100% es estadísticamente diferente en cuanto al colutorio del 50%. Y al presentar este último una concentración que en promedio es sensible (al ser mayores a 16mm) para el hongo *Candida albicans* se establece esta concentración como punto de partida para la determinación de la concentración mínima inhibitoria.

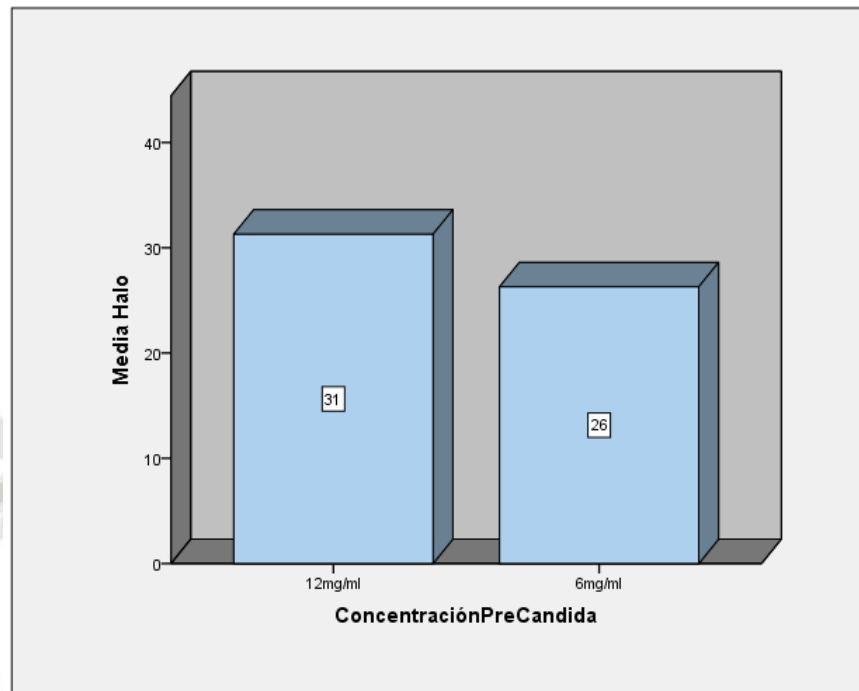


Figura N° 6: Promedio de los halos de inhibición de la dos concentraciones de colutorios frente a *Candida albicans* pre tratamiento quimioterápico

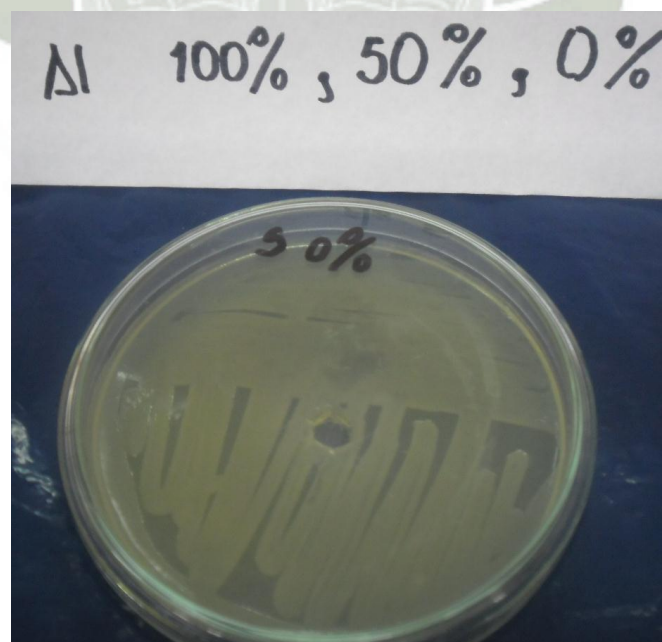


Figura N° 11: Placa control con el colutorio base (0%)

### 3.2.1.3 Determinación de la concentración mínima inhibitoria

**CUADRO N° 10: Concentración Mínima Inhibitoria del colutorio frente a cepas de *Streptococcus* presentes en secreciones orofaríngeas de pacientes oncológicos.**

Tubos		5	4	3	2	1	C
Conc. SMX (mg/ml)		1.2	0.96	0.72	0.48	0.24	--
Resultados muestras orofaríngeas	Paciente 1	-	-	-	-	+	+
	Paciente 2	-	-	-	-	+	+
	Paciente 3	-	-	-	-	+	+
	Paciente 4	-	-	-	-	+	+
	Paciente 5	-	-	-	-	+	+
	Paciente 6	-	-	-	-	+	+
	Paciente 7	-	-	-	-	+	+

(+): Tubo turbio, con crecimiento.

(-): Tubo no turbio, sin crecimiento.

Fuente: *Elaboración Propia*

El cuadro anterior muestra los resultados para la concentración mínima inhibitoria del colutorio frente a cepas provenientes de siete pacientes oncológicos. Para ello se sometieron dichas muestras a una dilución del colutorio, cuyas concentraciones finales se muestran en el encabezado correspondiente. En este caso las concentraciones se expresan en base a la cantidad presente de sulfametoxazol en nuestra formulación.

Observamos que para el caso de la bacteria *Streptococcus* se aprecia crecimiento en la última dilución cuya concentración es de 0.24 mg/ml, en cambio en concentraciones superiores a esta, es decir, 0.48, 0.72, 0.96, y 1.2 mg/ml no se observa crecimiento bacteriano, por lo tanto la concentración mínima inhibitoria fue de 0.48 mg/ml con relación al sulfametoxazol, en consecuencia la concentración mínima inhibitoria resultante para el trimetoprim teóricamente sería la quinta parte esto es 0.48mg/ml.

**CUADRO N° 11: Concentración Mínima Inhibitoria del colutorio frente a cepas de *Candida albicans* presentes en secreciones orofaríngeas de pacientes oncológicos.**

Tubos		5	4	3	2	1	C
Conc. Nistatina (UI/ml)		60000	48000	36000	24000	12000	--
Resultados muestras orofaríngeas	Paciente 1	-	-	-	-	+	+
	Paciente 2	-	-	-	-	+	+
	Paciente 3	-	-	-	-	+	+
	Paciente 4	-	-	-	-	+	+
	Paciente 5	-	-	-	-	+	+
	Paciente 6	-	-	-	-	+	+
	Paciente 7	-	-	-	-	+	+

(+): Tubo turbio, con crecimiento.

(-): Tubo no turbio, sin crecimiento.

Fuente: *Elaboración Propia*

El cuadro anterior muestra los resultados para la concentración mínima inhibitoria del colutorio frente a cepas de *Candida albicans* provenientes de siete pacientes oncológicos. Para ello se sometieron dichas muestras a una dilución del colutorio, cuyas concentraciones finales se muestran en el encabezado correspondiente, en este caso las concentraciones se expresan en base a la cantidad presente de nistatina en nuestra formulación.

Observamos que para el caso del hongo *Candida albicans* se aprecia crecimiento en la última dilución cuya concentración es de 12000 UI/ml, en cambio en concentraciones superiores a esta, es decir, de 24000 a 60000 UI/ml no se observa crecimiento fúngico, por lo tanto la concentración mínima inhibitoria fue de 24000 mg/ml con relación a la nistatina.

### 3.2.1.4 Determinación de la concentración bactericida mínima

**CUADRO N° 12: Concentración Bactericida Mínima del colutorio frente a cepas de *Streptococcus* presentes en secreciones orofaríngeas de pacientes oncológicos.**

Placas		5	4	3	2	1	C
Conc. SMX (mg/ml)		1.2	0.96	0.72	0.48	0.24	--
Resultados muestras orofaríngeas	Paciente 1	-	-	+	+	+	+
	Paciente 2	-	+	+	+	+	+
	Paciente 3	+	+	-	+	+	+
	Paciente 4	-	+	+	+	+	+
	Paciente 5	-	-	+	+	+	+
	Paciente 6	+	+	+	+	+	+
	Paciente 7	-	+	+	+	+	+

(+): Placa con crecimiento.

(-): Placa sin crecimiento.

Fuente: *Elaboración Propia*

El cuadro anterior muestra los resultados para la concentración bactericida mínima del colutorio frente a cepas de *Streptococcus* provenientes de siete pacientes oncológicos. El procedimiento es el mismo que para la determinación de la concentración mínima inhibitoria, con la diferencia que se realizó una resiembra en placa de los tubos sin turbidez. Del mismo modo las concentraciones se expresan en base a la cantidad de sulfametoxazol (240mg/100ml) presente en la fórmula del colutorio.

Observamos que para el caso de la bacteria *Streptococcus* no se aprecia una concentración bactericida, a pesar de que se repitieron algunas placas, volviéndose a observar crecimiento microbiano, incluso en concentraciones de 1.2mg/ml, por lo que podríamos concluir que nuestro colutorio solo presentaría una concentración inhibitoria mínima más no una concentración bactericida mínima.

**CUADRO N° 13: Concentración Fungicida Mínima del colutorio frente a cepas de *Candida albicans* presentes en secreciones orofaríngeas de pacientes oncológicos.**

Placas		5	4	3	2	1	C
Conc. Nistatina (UI/ml)		60000	48000	36000	24000	12000	--
Resultados muestras orofaríngeas	Paciente 1	-	-	-	-	+	+
	Paciente 2	-	-	-	-	+	+
	Paciente 3	-	-	-	-	+	+
	Paciente 4	-	-	-	-	+	+
	Paciente 5	-	-	-	-	+	+
	Paciente 6	-	-	-	-	+	+
	Paciente 7	-	-	-	-	+	+

(+): Placa con crecimiento.

(-): Placa sin crecimiento.

Fuente: *Elaboración Propia*

El cuadro anterior muestra los resultados para la concentración fungicida mínima del colutorio frente a cepas de *Candida albicans* provenientes de siete pacientes oncológicos. El procedimiento es el mismo que para la determinación de la concentración mínima inhibitoria, con la diferencia que se realizó una resiembra en placa de los tubos sin turbidez. Del mismo modo las concentraciones se expresan en base a la cantidad de nistatina (1200000/100ml) presente en la fórmula del colutorio.

Observamos que para el caso del hongo *Candida albicans* la concentración fungicida se mantiene en 24000UI/ml ya que a esta concentración no se apreció crecimiento fúngico.

**3.2.2.RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DESPUÉS DE LA QUIMIOTERAPIA**

La evaluación microbiológica del colutorio preventivo con cotrimoxazol y nistatina, se realizó también después de la administración del tratamiento antineoplásico. Si bien es cierto el colutorio es utilizado como terapéutica

profiláctica, fue necesario evaluar *in vitro* después de la administración del tratamiento con la finalidad de verificar si el colutorio mantiene su eficacia antimicrobiana aún después de la incidencia de mucositis como rémora del tratamiento quimioterapéutico. Por lo tanto se ensayó en pacientes que recibieron el tratamiento contra su enfermedad a los que no se les prescribió el colutorio magistral.

### 3.2.2.1 Recuento de microorganismos

**CUADRO N° 14: Recuento en placa de *Streptococcus* presentes en muestras orofaríngeas de pacientes oncológicos post tratamiento antineoplásico**

Paciente	Recuento en placa				
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
Paciente 1	Incontables	Incontables	380	296	95
Paciente 2	Incontables	Incontables	420	285	66
Paciente 3	Incontables	Incontables	395	260	75
Paciente 4	Incontables	Incontables	458	280	85
Paciente 5	Incontables	Incontables	321	223	97
Paciente 6	Incontables	Incontables	402	275	68
Paciente 7	Incontables	Incontables	496	289	49
<b>Promedio</b>			410	273	76

*Fuente: Elaboración Propia*

El cuadro muestra el recuento en placa de las secreciones de los siete pacientes oncológicos, para el conteo se realizó diluciones en seriadas, se consideró la dilución  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  ya que se encuentran entre 30 y 300 colonias. Observamos que a diferencia del cuadro anterior (pre tratamiento antineoplásico) el número de estreptococos es muy superior, tan es así que para el conteo se consideró las dos últimas diluciones.

### 3.2.2.2 Determinación de la sensibilidad

**CUADRO N° 15: Promedio de los halos de inhibición para la prueba de sensibilidad de *Streptococcus* sp. a los colutorios (100 y 50%) post antineoplasia**

Paciente	Promedio de los halos (mm) de inhibición			
	Colutorio 100% (100µl)	Colutorio 50% (100µl)	Colutorio vehículo	Control
Paciente 1	29.3(S)	24(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 2	29.3(S)	26.3(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 3	29(S)	19.7(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 4	29(S)	22(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 5	33.7(S)	22.7(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 6	28(S)	24(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 7	31.3(S)	22(S)	Sin halo	Sin halo

(S): Sensible  $\geq 16$  mm; (I): Intermedio 11-15 mm

Fuente: *Elaboración Propia*

Al igual que en la determinación de los halos de inhibición para la prueba de sensibilidad de estreptococos antes de iniciar el tratamiento antineoplásico, en este caso – post tratamiento – también se hizo una prueba por triplicado, es decir, que en el cuadro por cada paciente se presenta un promedio de las tres lecturas, de allí que en algunos casos se observen números decimales.

Se observa que tanto para el colutorio al 100% y al 50% tuvieron sensibilidad ya que todos los halos de inhibición de crecimiento de *Streptococcus* fueron mayores de 16mm.

**CUADRO N° 16: Análisis estadístico para la prueba de sensibilidad de  
*Streptococcus* a los colutorios (100 y 50%) post tratamiento**

Concentracion	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Varianza	Rango
2.4mg/ml (100%)	21	30,38	30,00	3,041	9,248	10
1.2mg/ml (50%)	21	22,95	23,00	2,598	6,748	10
Total	42	26,67	26,50	4,683	21,935	18

*Fuente: Elaboración Propia*

El cuadro N°16, muestra que el promedio del colutorio al 100% es superior al halo presentado por el colutorio al 50%, ya que presentan halos de 30.38 mm y 22.95mm respectivamente.

Al ver esta diferencia en cuanto promedios fue necesaria también la realización de un análisis de varianza que permita observar si los grupos presentan diferencias con respecto a los halos de inhibición.

**CUADRO N° 17 Análisis de varianza para la prueba de sensibilidad de  
*Streptococcus* a los colutorios (100 y 50%) post tratamiento**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	579,429	1	579,429	72,450	,000
Intra-grupos	319,905	40	7,998		
Total	899,333	41			

*Fuente: Elaboración Propia*

El análisis de varianza que se muestra en el cuadro N°17 que se calculó con un nivel de confianza del 95% arroja una significancia similar a 0, al ser este valor inferior al nivel aceptado se afirma que la sensibilidad para el colutorio al 100% es estadísticamente diferente en cuanto al colutorio del 50%. Y al presentar este último una concentración que en promedio es sensible (al ser mayores a 16mm) para la bacteria *Streptococcus* se establece esta concentración como punto de partida

para la determinación de la concentración mínima inhibitoria post tratamiento antineoplásico.

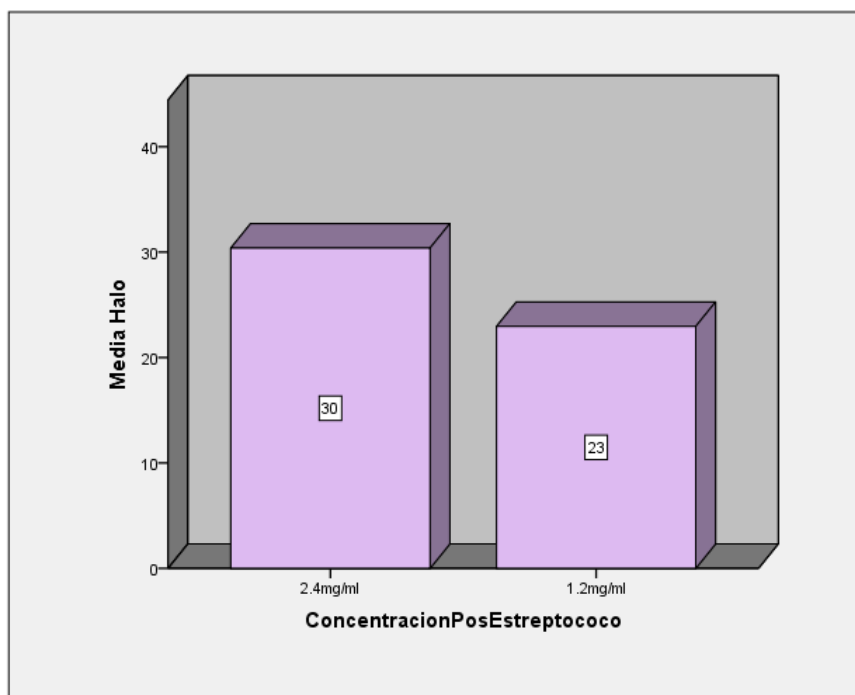


Figura N° 7: Promedio de los halos de inhibición de la dos concentraciones de colutorios frente a *Streptococcus* post tratamiento quimioterápico

**CUADRO N° 18: Promedio de los halos de inhibición para la prueba de sensibilidad de *Candida albicans* a los colutorios (100 y 50%) post antineoplasia**

Paciente	Promedio de los halos (mm) de inhibición			
	Colutorio 100%	Colutorio 50%	Colutorio vehículo	Control
Paciente 1	30(S)	21.7(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 2	26(S)	24(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 3	28.7(S)	22.3(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 4	35(S)	27(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 5	29.7(S)	25.7(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 6	29.3(S)	27.3(S)	Sin halo	Sin halo
Paciente 7	32.7(S)	30(S)	Sin halo	Sin halo

(S): Sensible  $\geq 16$  mm; (I): Intermedio 11-15 mm

Fuente: Elaboración Propia

El cuadro muestra que tanto para el colutorio al 100% y al 50% tuvieron sensibilidad ya que los halos de inhibición de crecimiento de *Candida albicans* en todos los casos fueron mayores de 16mm, al igual que en el caso de *Streptococcus* se hicieron por triplicado cada siembra por lo tanto el cuadro analizado muestra los promedios de estos tres valores.

**CUADRO N° 19: Análisis estadístico para la prueba de sensibilidad de *Candida albicans* a los colutorios (100 y 50%) post tratamiento**

Concentración	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Varianza	Rango
120000 UI/ml (100%)	21	30,14	30,00	3,214	10,329	12
60000 UI/ml (50%)	21	25,67	26,00	3,554	12,633	12
Total	42	27,90	28,00	4,041	16,332	17

Fuente: *Elaboración Propia*

El cuadro N°19, muestra que el promedio del colutorio al 100% es superior al halo presentado por el colutorio al 50%, ya que presentan halos de 30.14 mm y 25.67mm respectivamente.

Al ver esta diferencia en cuanto promedios fue necesaria también la realización de un análisis de varianza que permita observar si los grupos presentan diferencias con respecto a los halos de inhibición.

**CUADRO N° 20: Análisis de varianza para la prueba de sensibilidad de *Candida albicans* a los colutorios (100 y 50%) post tratamiento**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	210,381	1	210,381	18,324	,000
Intra-grupos	459,238	40	11,481		
Total	669,619	41			

Fuente: *Elaboración Propia*

El análisis de varianza que se muestra en el cuadro N°20 que se calculó con un nivel de confianza del 95% arroja una significancia similar a 0, al ser este valor inferior al nivel aceptado se afirma que la sensibilidad para el colutorio al 100% es estadísticamente diferente en cuanto al colutorio del 50%. Y al presentar este último una concentración que en promedio es sensible (al ser mayores a 16mm) para la bacteria *Candida albicans* se establece esta concentración como punto de partida para la determinación de la concentración mínima inhibitoria post tratamiento antineoplásico.

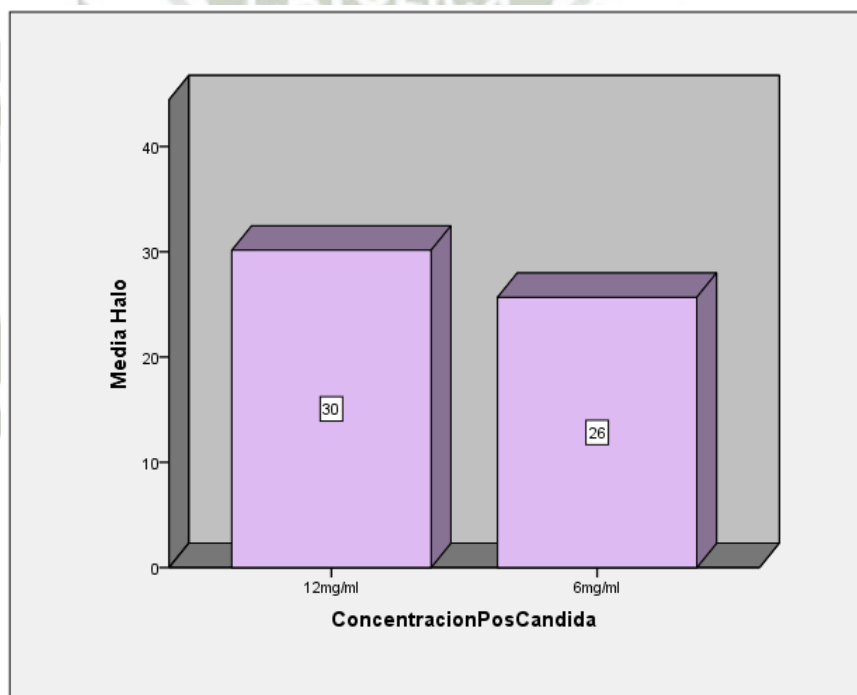


Figura N° 7: Promedio de los halos de inhibición de la dos concentraciones de colutorios frente a *Candida albicans* post tratamiento quimioterápico

### 3.2.2.3 Determinación de la concentración mínima inhibitoria

**CUADRO N° 21: Concentración Mínima Inhibitoria del colutorio frente a cepas de *Streptococcus* presentes en secreciones orofaríngeas de pacientes oncológicos.**

Tubos		5	4	3	2	1	C
Conc. SMX (mg/ml)		1.2	0.96	0.72	0.48	0.24	--
Resultados muestras orofaríngeas	Paciente 1	-	-	-	-	+	+
	Paciente 2	-	-	-	-	+	+
	Paciente 3	-	-	-	-	+	+
	Paciente 4	-	-	-	-	+	+
	Paciente 5	-	-	-	-	+	+
	Paciente 6	-	-	-	-	+	+
	Paciente 7	-	-	-	-	+	+

(+): Tubo turbio, con crecimiento.

(-): Tubo no turbio, sin crecimiento.

Fuente: *Elaboración Propia*

El cuadro anterior muestra los resultados para la concentración mínima inhibitoria del colutorio frente a cepas provenientes de siete pacientes oncológicos post tratamiento antineoplásico. Se procedió de manera similar que para la evaluación pre tratamiento antineoplásico. Del mismo modo las concentraciones se expresan en base a la cantidad presente de sulfametoxazol en nuestra formulación.

Observamos que para el caso de la bacteria *Streptococcus* se aprecia crecimiento en la última dilución cuya concentración es de 0.24 mg/ml, en cambio en concentraciones superiores a esta, es decir, 0.48, 0.72, 0.96, y 1.2 mg/ml no se observa crecimiento bacteriano, por lo tanto la concentración mínima inhibitoria fue de 0.48 mg/ml con relación al sulfametoxazol, en consecuencia la concentración mínima inhibitoria resultante para el trimetoprim teóricamente sería la quinta parte esto es 0.048mg/ml. Si comparamos estos resultados con la evaluación pre tratamiento antineoplásico concluimos que dicha concentración mínima inhibitoria se mantiene.

**CUADRO N° 22: Concentración Mínima Inhibitoria del colutorio frente a cepas de *Candida albicans* presentes en secreciones orofaríngeas de pacientes oncológicos.**

Tubos		5	4	3	2	1	C
Conc. Nistatina (UI/ml)		60000	48000	36000	24000	12000	--
Resultados muestras orofaríngeas	Paciente 1	-	-	-	+	+	+
	Paciente 2	-	-	-	+	+	+
	Paciente 3	-	-	-	+	+	+
	Paciente 4	-	-	-	+	+	+
	Paciente 5	-	-	-	+	+	+
	Paciente 6	-	-	-	+	+	+
	Paciente 7	-	-	-	+	+	+

(+): Tubo turbio, con crecimiento.

(-): Tubo no turbio, sin crecimiento.

Fuente: *Elaboración Propia*

El cuadro anterior muestra los resultados para la concentración mínima inhibitoria del colutorio frente a cepas de *Candida albicans* provenientes de siete pacientes oncológicos post tratamiento antineoplásico. Para ello se sometieron dichas muestras a una dilución del colutorio, cuyas concentraciones finales se muestran en el encabezado correspondiente, en este caso las concentraciones se expresan en base a la cantidad presente de nistatina en nuestra formulación.

Observamos que para el caso del hongo *Candida albicans* se aprecia crecimiento en la dilución cuya concentración es de 24000 UI/ml, en cambio en concentraciones superiores a esta, es decir, de 36000 a 60000 UI/ml no se observa crecimiento fúngico, por lo tanto la concentración mínima inhibitoria fue de 36000 UI/ml con relación a la nistatina.

En conclusión la concentración mínima inhibitoria para la etapa de post tratamiento es mayor en comparación a la concentración hallada en la evaluación pre tratamiento antineoplásico.

### 3.2.2.4 Determinación de la concentración bactericida mínima

**CUADRO N° 23: Concentración Bactericida Mínima del colutorio frente a cepas de *Streptococcus* presentes en secreciones orofaríngeas de pacientes oncológicos.**

Placas		5	4	3	2	1	C
Conc. SMX (mg/ml)		1.2	0.96	0.72	0.48	0.24	--
Resultados muestras orofaríngeas	Paciente 1	-	-	+	+	+	+
	Paciente 2	-	-	+	+	+	+
	Paciente 3	+	+	+	+	+	+
	Paciente 4	-	-	+	+	+	+
	Paciente 5	-	-	+	+	+	+
	Paciente 6	+	+	+	+	+	+
	Paciente 7	-	+	+	+	+	+

(+): Placa con crecimiento.

(-): Placa sin crecimiento.

Fuente: *Elaboración Propia*

El cuadro anterior muestra los resultados para la concentración bactericida mínima del colutorio frente a cepas de *Streptococcus* provenientes de siete pacientes oncológicos post tratamiento antineoplásico. El procedimiento es el mismo que para la determinación de la concentración mínima inhibitoria, con la diferencia que se realizó una resiembra en placa de los tubos sin turbidez. Del mismo modo las concentraciones se expresan en base a la cantidad de sulfametoxazol (240mg/100ml) presente en la fórmula del colutorio.

Observamos que para el caso de la bacteria *Streptococcus* no se aprecia una concentración bactericida, a pesar de que se repitieron algunas placas, volviéndose a observar crecimiento microbiano, incluso en concentraciones de 1.2mg/ml, por lo que podríamos concluir que nuestro colutorio solo presentaría tanto antes del tratamiento antineoplásico como después, solo una concentración inhibitoria mínima más no una concentración bactericida mínima.

**CUADRO N° 24: Concentración Fungicida Mínima del colutorio frente a cepas de *Candida albicans* presentes en secreciones orofaríngeas de pacientes oncológicos.**

Placas		5	4	3	2	1	C
Conc. Nistatina (UI/ml)		60000	48000	36000	24000	12000	--
Resultados muestras orofaríngeas	Paciente 1	-	-	-	+	+	+
	Paciente 2	-	-	-	+	+	+
	Paciente 3	-	-	-	+	+	+
	Paciente 4	-	-	-	+	+	+
	Paciente 5	-	-	-	+	+	+
	Paciente 6	-	-	-	+	+	+
	Paciente 7	-	-	-	+	+	+

(+): Placa con crecimiento.

(-): Placa sin crecimiento.

Fuente: *Elaboración Propia*

El cuadro anterior muestra los resultados para la concentración fungicida mínima del colutorio frente a cepas de *Candida albicans* provenientes de siete pacientes oncológicos post tratamiento antineoplásico. El procedimiento es el mismo que para la determinación de la concentración mínima inhibitoria, con la diferencia que se realizó una resiembra en placa de los tubos sin turbidez. Del mismo modo las concentraciones se expresan en base a la cantidad de nistatina (1200000/100ml) presente en la fórmula del colutorio.

Finalmente en atención a las evaluaciones realizadas la formula centesimal final quedaría como sigue:

Componente	Cantidad
Carboximetil celulosa	400 mg
Sulfametoxazol	48 mg
Trimetroprim	9.6 mg
Lidocaína	60 mg
Nistatina	36000 UI

Glicerina	5 ml
Esencia de menta	0.5 ml
Agua csp.	100 ml



**Figura N° 12:** Cavidad oral luego del tratamiento con el colutorio, se evidencia la ausencia de entidad clínica alguna

La presente preparación está formulada debido a los resultados hallados en el presente estudio, considerando la concentración inhibitoria mínima (Bactericida y Fungicida respectivamente)

Por lo que finalmente se recomienda en forma preliminar la utilización del colutorio al 100% en atención a los hallazgos de la evaluación *in vitro* en la presente investigación

## CONCLUSIONES

### Primera

Se evaluó la eficacia *in vitro* sobre muestras bucofaríngeas de un colutorio preventivo contra la mucositis de pacientes oncológicos del Hospital Carlos Alberto Segúin Escobedo de Arequipa, antes y después de recibir su tratamiento antineoplásico.

### Segunda

Se obtuvo un número de siete muestras antes de recibir el tratamiento antineoplásico y siete después de recibir dicho tratamiento de pacientes oncológicos atendidos en el Hospital Carlos Alberto Segúin Escobedo de Arequipa.

### Tercera

Mediante pruebas bioquímicas (catalasa, coagulasa y montaje con KOH) se identificaron como microorganismos patógenos causantes de mucositis en muestras de la mucosa bucofaríngea de pacientes oncológicos del Hospital Carlos Alberto Segúin Escobedo de Arequipa, a cepas de *Streptococcus* sp y *Candida albicans*.

### Cuarta

Se formuló una forma farmacéutica líquida de aplicación tópica oral a dos concentraciones (100 y 50%) teniendo como activo antimicótico a la nistatina a concentraciones de 1200000 UI y 60000 UI; como antibacteriano al sulfametoxazol a 240mg y 120mg, que luego de la evaluación y determinación de la concentración mínima inhibitoria sobre *Streptococcus* y concentración fungicida mínima sobre *Candida albicans*, la fórmula quedó ajustada.

### Quinta

Se determinó la sensibilidad de *Streptococcus* y *Candida albicans* causantes de mucositis frente a dos formulaciones de un colutorio conteniendo nistatina y cotrimoxazol, en muestras bucofaríngeas de pacientes antes y después de recibir su tratamiento antineoplásico, y debido a la formación a halos de inhibición mayores de 16mm se concluyó que existe sensibilidad a los colutorios formulados.

### Sexta

Antes del tratamiento quimioterápico la concentración mínima inhibitoria (CMI) del colutorio con nistatina y cotrimoxazol fue de 24000 UI/ml y 0.48mg/ml respectivamente, por otra parte la concentración fungicida mínima (CFM) para la nistatina fue también de 24000 UI/ml, no observándose concentración bactericida mínima (CBM) para el cotrimoxazol. Después de recibir el tratamiento antineoplásico la CMI fue de 0.48mg/ml y de 36000 UI/ml para el antibacteriano y antimicótico respectivamente; la CFM para la nistatina fue de 36000 UI/ml, tampoco se observó CBM para el cotrimoxazol.

## SUGERENCIAS

### **Primera**

Realizar un estudio clínico de fase I en pacientes sanos y de Fase II para evaluar la eficacia preventiva y curativa del colutorio contra la mucositis que contenga 0.48mg/ml de sulfametoxazol y 36000 UI/ml de nistatina.

### **Segunda**

Realizar un estudio de control de calidad del colutorio contra la mucositis que contenga 0.48mg/ml de sulfametoxazol y 36000 UI/ml de nistatina.

### **Tercera**

Determinar el costo beneficio en el uso de un colutorio que contenga 0.48mg/ml de sulfametoxazol y 36000 UI/ml de nistatina, para la prevención y tratamiento de la mucositis en pacientes que reciban tratamiento antineoplásico.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Arenas Camac, Ysabel: DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO *IN VITRO* DE LA RESINA DE *COAPIFERA PAUPERA* (COPAIBA) SOBRE EL CRECIMIENTO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, *ESCHERICHIA COLI*, *PSEUDOMONA AERUGINOSA* Y *CANDIDA ALBICANS*. Programa Farmacia y Bioquímica, Universidad Católica Santa María. Arequipa, Perú 2014.
2. Alvarado Alva J.: APUNTES DE FARMACOLOGÍA. 3ª Edición, 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
3. Añanca Cotrado E.: EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO DE VAINAS DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) EN CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *STREPTOCOCCUS PYOGENES*. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica. Tacna, Perú. 2009.
4. Ashutosh Kar: PHARMACEUTICAL MICROBIOLOGY. 1ª Edition, 2008. Published by New Age International.
5. Bisso A. y Candiotti J.: TERAPÉUTICA MÉDICA, 10ª Edición. 2005. Editorial MAD Corp. S.A.
6. Bowman W.C. y Rand M.J.: FARMACOLOGÍA BASES BIOQUÍMICAS Y PATOLÓGICAS APLICACIONES CLÍNICAS, 2ª Edición. 1984. Nueva Editorial Interamericana, México D.F.
7. Ciril Rozman: COMPENDIO DE MEDICINA INTERNA, 2ª Edición. 2002. Ediciones Harcourt S.A.
8. Carrasco Díaz S.; METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, 1ª Edición. 2005. Editorial San Marcos. Lima, Perú.
9. Castro Zurita V.; Marcilla Truyenque S.: EFECTO BACTERICIDA Y FUNGICIDA *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE LA *MATRICARIA RECUTITA* (MANZANILLA) FRENTE A MICROORGANISMOS

- AISLADOS DE LESIONES BUCOFARÍNGEAS. Universidad Católica de Santa María. Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa 2004.
10. Collins C. H. & Lyne P.: MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS. 5ª Edición, 1989. Editorial Acribia, SA. España.
  11. Daniel Wayne: BIOESTADÍSTICA, BASE PARA EL ANÁLISIS DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD. 4ª Edición, 2007. Editorial Limusa S.A. México.
  12. Delgado-Iribarren Alberto y otros: LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. 1ª Edición, 1994. Editorial McGraw Hill Interamericana. España.
  13. Diaz R. & Gamazo C. & López-Goñi I.: MANUAL PRÁCTICO DE MICROBIOLOGÍA. 2ª Edición, 1999. Editorial Masson.
  14. Flórez Jesús: FARMACOLOGÍA HUMANA, 5ª Edición. 2008. Editorial Elsevier España.
  15. Fuentes Escarcena A.; Gutiérrez Carpio B.: DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO E IN VIVO DEL EXTRACTO DE *SCHINUS MOLLE* L. (MOLLE). Universidad Católica de Santa María. Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa 2007.
  16. García-Rodríguez J.A. & Picazo J.J.: COMPENDIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA. 1ª Edición, 2006. Editorial Harcourt Brace.
  17. Gonzáles Alfaro José: LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. 1ª Edición, 2004. Editorial Ciencias Médicas. La Habana-Cuba.
  18. Guyton Arthur: TEXBOOK OF MEDICAL PHYSIOLOGY. 11ª Edición. 2006. Editorial Elsevier.
  19. Harman J., Limbirt L. y Gilman A.: LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA, 11ª Edición. 2008. McGraw-Hill Interamericana.
  20. Harvey R. & Champe P. (Editors): PHARMACOLOGY. 4ª Edición, 2009. Lippincott Edition.
  21. Kalant Harold & Roschlau Walter: PRINCIPIOS BÁSICOS DE FARMACOLOGÍA MÉDICA. 6ª Edición, 2002. Editorial Oxford University Press. México.

22. Kayser Fritz & col: MEDICAL MICROBIOLOGY. 10ª Edition. 2005. Editorial Thieme.
23. López A., Moreno L., Villagrasa V.: MANUAL DE FARMACOLOGÍA, GUÍA PARA EL USO RACIONAL DEL MEDICAMENTO. 1ª Edición 2006. Editorial ELSEVIER S.A.
24. Lorenzo P., Moreno A., Leza J.C. y Moro M.A.: VELÁZQUEZ FARMACOLOGÍA BÁSICA Y CLÍNICA, 18ª Edición. 2009. Editorial Médica Panamericana.
25. Mamani Urquizo I.: EVALUACIÓN DEL EFECTO BACTERICIDA DE LOS DESINFECTANTES EN CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DEL ÁREA DE FABRICACIÓN DE PRODUCTOS ESTÉRILES REALIZANDO PRUEBAS DE DILUCIÓN EN LABORATORIOS BAGÓ DE BOLIVIA S.A. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. La Paz, Bolivia. 2008.
26. Ministerio de Sanidad y Consumo de España: FORMULARIO NACIONAL, 1ª Edición. 2003. Editorial Ministerio de Sanidad y Consumo de España.
27. Orue Bejar C y Rebaza F.: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE FRUTOS Y HOJAS DE *PSIDIUM GUAJAVA* L. “GUAYABA” FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ATCC 25923, *ESCHERICHIA COLI* ATCC 25922, *PSEUDOMONA AERUGINOSA* ATCC 27853. Programa Farmacia y Bioquímica, Universidad Católica Santa María. Arequipa, Perú 2014.
28. Paredes Loayza A.; Salas Grandes E.: EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA RESINA DE *AZORELLA COMPACTA* (YARETA) SOBRE MICROORGANISMOS RESPONSABLES DE PRODUCIR INFECCIÓN DE HERIDAS. Universidad Católica de Santa María. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Arequipa 2004.
29. Pino Gotuzzo Raúl.; METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN, 1ª Edición. 2007. Editorial San Marcos. Lima, Perú.
30. POLIT HUNGLER: Investigación Científica en Ciencias de la Salud. Sexta Edición. Editoria Mc Graw-Hill Interamericana. México 2000.

31. Rang H. & Dale M.: PHARMACOLOGY, 6ª Edition, 2007. Editorial Elsevier.
32. Stuart Walker: MICROBIOLOGÍA. 1ª Edición, 1999. Editorial McGraw Hill Interamericana. España.
33. Swarbrick J.: ENCYCLOPEDIA OF PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY. 3ª Edition. 2007. Editorial Advisory Board.
34. Vila Jato José Luis (Editor): TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA. 1ª Edición 2001. Editorial SINTESIS S.A.
35. Virrueta Gómez C.; Zegarra Manrique Y.: DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICÓTICO Y ANTIBACTERIANO IN VITRO DE *PIPER ELONGATUM* “MATICO” FRENTE A CEPAS DE *CANDIDA ALBICANS*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *ESCHERICHIA COLI*. Universidad Católica de Santa María. Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa 2008.





## ANEXO N°1: MEDIOS DE CULTIVO

### – CALDO PEPTONADO

#### Composición:

Peptona de carne	10.0 g
Extracto de carne	3.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g

#### Preparación:

Para preparar un litro se utiliza 15 g del medio.

#### Procedimiento:

Colocar el medio en un matraz, añadir agua destilada, disolver con ayuda del mechero Bunsen hasta completa transparencia.

Esterilizar el medio en la autoclave por 15 minutos a 121°C.

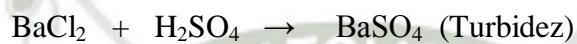
## ANEXO N°2: MEDIO DE CONTRASTE

### – ESCALA DE MC. FARLAND

#### Composición:

Cloruro de bario	0.5ml
Ácido sulfúrico	99.5ml

#### Reacción:



#### Procedimiento:

Para preparar la suspensión estándar se agrega 0.5ml de una solución de cloruro de bario 0.048 M a 99.5ml de una solución de ácido sulfúrico 0.36 N.

## ANEXO N°3: DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES DEL COLUTORIO

### COTRIMOXAZOL

**a. Nombre comercial**

No presenta.

**b. Forma farmacéutica**

Forma sólida oral: comprimido.

**c. Concentración**

Sulfametoxazol: 800 mg

Trimetoprima: 160 mg

**d. Laboratorio fabricante**

Laboratorio Medrock Corporation SAC

**e. Número de lote**

103253

**f. Fecha de vencimiento**

Mar-2015

### NISTATINA

**a. Nombre comercial**

Nistavan®

**b. Forma farmacéutica**

Suspensión oral

**c. Concentración**

100000 UI/ml

**d. Laboratorio fabricante**

IQFARMA, Instituto Quimioterápico SA

**e. Número de lote**

10622482

**f. Fecha de vencimiento**

06 2015

**LIDOCAÍNA**

**a. Nombre comercial**

Xilonest S.P. al 2%

**b. Forma farmacéutica**

Solución inyectable

**c. Concentración**

0.4gr/20ml

**d. Laboratorio fabricante**

Medifarma S.A.

**e. Número de lote**

1115624

**f. Fecha de vencimiento**

11 2018

**ESENCIA DE MENTA**

**a. Nombre comercial**

Menta soluble

**b. Presentación**

Frasco x 90 cc

**c. Fabricante**

Elyasan S.A.

**d. Número de lote**

101042

**e. Fecha de vencimiento**

31-12-2017

**CARBOXIMETIL CELULOSA**

**a. Nombre genérico**

- BP: Dispersible cellulose
- PhEur: Carmellosa sodium
- USP NF: Carboxymethylcellulose

**b. Sinónimos**

Avicel, vivapur, colloidal cellulose.

**c. Nombre químico y número de registro CAS:**

Cellulose [9004-34-6]

**d. Fórmula empírica y peso molecular**

$(C_6H_{10}O_5)_n$  ~36000

**e. Categoría funcional**

Adsorbente, agente de suspensión, diluyente de capsulas y tabletas, disgregante de tabletas.

**f. Aplicaciones en tecnología farmacéutica.**

Es utilizado para la elaboración de geles tixotrópicos, como vehículo de suspensión en preparaciones farmacéuticas y cosméticas. Concentraciones menores al 1% generan dispersiones fluidas, mientras que concentraciones superiores al 1.2% producen geles tixotrópicos. Es usado en sprays nasales, sprays y lociones tópicas, suspensiones orales, emulsiones, cremas y geles.

**g. Descripción**

Se presenta como polvo blanco higroscópico con olor característico.

**GLICERINA****a. Nombre genérico**

- BP: Glicerol
- JP: Concentrated Glycerin
- PhEur: Glicerol

– USPNF: Glycerin

**b. Sinónimos**

Croderol, glicerol, glicerina, Glycerin, Glycon G-100.

**c. Nombre químico y número de registro CAS:**

Propane-1, 2, 3-triol [56-81-5]

**d. Fórmula empírica y peso molecular**

$C_3H_8O_3$  92.09

**e. Categoría funcional**

Preservante antimicrobiano, cosolvente, emoliente, humectante, plastificante, disolvente, agente edulcorante, agente de tonicidad.

**f. Aplicaciones en tecnología farmacéutica.**

La glicerina es utilizada en una amplia variedad de formulaciones farmacéuticas incluyendo preparaciones orales, óticas, oftálmicas, tópicas y parenterales.

En las formulaciones farmacéuticas y cosméticas tópicas, la glicerina es utilizada principalmente por sus propiedades humectantes y emolientes. La glicerina se utiliza como un disolvente o codisolvente en cremas y emulsiones. La glicerina se utiliza adicionalmente en geles acuosos y no acuosos y también como aditivo en aplicaciones de parches. En formulaciones parenterales la glicerina se utiliza principalmente como un disolvente y codisolvente.

En soluciones orales, la glicerina se utiliza como disolvente, edulcorante, agente conservante antimicrobiano, como agente que aumenta la viscosidad, también se utiliza como un plastificante y en recubrimientos de película.

La glicerina se utiliza como un plastificante de gelatina en la producción de cápsulas de gelatina blanda y supositorios de gelatina.

La glicerina se emplea como un agente terapéutico en una variedad de aplicaciones clínicas, y también se utiliza como un aditivo alimentario.

#### **g. Descripción**

La glicerina es un líquido claro, incoloro, inodoro, viscoso, hidróscopico, tiene un sabor dulce, aproximadamente 0.6 veces más dulce que la sacarosa.

#### **h. Propiedades físicas**

- *Solubilidad:* Prácticamente insoluble en aceites, benceno y cloroformo, soluble en etanol (95%), soluble en metanol y agua.
- *Densidad:* 1.2656 g/cm<sup>3</sup>

#### **i. Incompatibilidades**

La glicerina pueda explotar si se mezclan con agentes oxidantes fuertes, tales como trióxido de cromo, clorato de potasio o permanganato de potasio. En solución diluida, la reacción procede a una velocidad más lenta con varios productos de oxidación que se forman.

Un contaminante de hierro en la glicerina, es responsable del oscurecimiento del color de las mezclas que contienen fenoles, salicilatos y taninos. La glicerina forma un complejo de ácido bórico, ácido glicerobórico, que es un ácido más fuerte que el ácido bórico.

#### **j. Seguridad**

La glicerina se produce de forma natural en grasas y aceites animales y vegetales que son consumidos como parte de una dieta normal. La glicerina se absorbe fácilmente desde el intestino y se metaboliza en dióxido de carbono y glucógeno utilizando en la síntesis de grasas del cuerpo.

La glicerina se utiliza en una amplia variedad de formulaciones farmacéuticas incluidas las preparaciones orales, oftálmicas, parenterales y tópicas.

Los efectos adversos son principalmente debido a las propiedades deshidratantes de la glicerina.

Las dosis orales son emoliente y laxante suaves, grandes dosis puede producir dolor de cabeza, sed, náuseas, e hiperglicemia. La administración terapéutica parenteral de una gran dosis de glicerina, de 70 a 80 g durante 30 a 60 minutos en adultos para reducir la presión intracraneal, puede inducir hemólisis, hemoglobinuria e insuficiencia renal.

