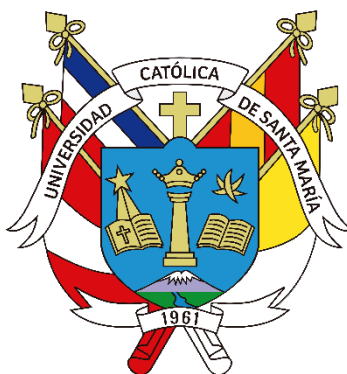


**Universidad Católica de Santa María**  
**Facultad de Odontología**  
**Escuela Profesional de Odontología**



**Análisis de expresión por aproximación proteómica de marcadores  
moleculares asociados al proceso cariogénico producido por *Candida  
albicans* UCSM. Arequipa, 2024.**

Tesis presentada por el Bachiller:

**Valdivia Cervera, Jeremy Ramiro**

**ORCID: 0009-0009-0980-8392**

para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Asesor (a):

**Dr. Obando Pereda, Gustavo Alberto**

**ORCID: 0000-0001-6044-1551**

Arequipa - Perú

2024

UCSM-ERP

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**

**ODONTOLOGIA**

**TITULACIÓN CON TESIS**

**DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR**

Arequipa, 04 de Octubre del 2024

**Dictamen: 012190-C-EPO-2024**

Visto el borrador del expediente 012190, presentado por:

**2018248691 - VALDIVIA CERVERA JEREMY RAMIRO**

Titulado:

**ANÁLISIS DE EXPRESIÓN POR APROXIMACIÓN PROTEÓMICA DE MARCADORES  
MOLECULARES ASOCIADOS AL PROCESO CARIOGÉNICO PRODUCIDO POR CANDIDA ALBICANS  
UCSM. AREQUIPA, 2024.**

Nuestro dictamen es:

**APROBADO**

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

**CIRUJANO DENTISTA**

**29231712 - VASQUEZ HUERTA ELSA CARMELA  
DICTAMINADOR**



**29328711 - CARDENAS VILCA TANIA ESTHER  
DICTAMINADOR**



**44601950 - ALVARADO GOMEZ ALBERTO ARMANDO  
DICTAMINADOR**



# Análisis de expresión por aproximación proteómica de marcadores moleculares asociados al proceso cariogénico producido por *Candida albicans* UCSM. Arequipa, 2024.

## INFORME DE ORIGINALIDAD

29%

INDICE DE SIMILITUD

29%

FUENTES DE INTERNET

7%

PUBLICACIONES

13%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://www.scielo.org.co">www.scielo.org.co</a> Fuente de Internet	6%
2	<a href="http://tesis.ucsm.edu.pe">tesis.ucsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	5%
3	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	4%
4	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://patents.google.com">patents.google.com</a> Fuente de Internet	1%
6	Submitted to Universidad Señor de Sipan Trabajo del estudiante	1%
7	<a href="http://1library.co">1library.co</a> Fuente de Internet	1%
8	<a href="http://www.americanprogress.org">www.americanprogress.org</a> Fuente de Internet	<1%

## DEDICATORIA

*A Dios, quien supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no rendirme a pesar de todos los obstáculos en estos 5 años de mi carrera profesional, haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.*

*A mi Madre **Flor Esther Cervera Cuadros**, por todo su sacrificio, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor eterno.*

*A mi Padre **Carlos Rojas Beltran**, que en vida fue el mejor hombre del mundo, siendo el mejor ejemplo de vida para mí, por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha inculcado siempre. Seguir sin ti no es fácil, pero sé que agarras mi mano y con tu amor guías mi camino siempre.*

*A mi Abuelita **Cristina Cuadros Velasquez**, por ser la persona que lo cambió todo, que me dio la oportunidad de convertirme en lo que soy ahora. Siempre haz sido el pilar en el que siempre me he apoyado, te quiero más que a nada en esta vida. Ojalá la vida te hubiera tratado mejor, y aun así nunca fallas. Siempre estás ahí cuando te necesito, eres el angelito que me tocó en vida y sé que lo seguirás siendo siempre, aún el día que me faltes. No quiero ni pensarlo. Perderte sería un golpe tan duro que no sé cuánto me va a costar volver a levantarme.*

*A mi Hermana **Karolain Valdivia Cervera**, por estar siempre a lado mío donde tuvieron lugar los mejores recuerdos de mi infancia y por ser el ejemplo de una hermana mayor*

*A mis tías **Cecilia, Ruth, Lida, Martha, Marilyn**, a mis tíos **Rolando, Carlos, Richard, Dante, Milguer**, a mi prima **Helen**, a mis primos **Bryan, Snayder, Cristhian, Pier, Diego, Jairo, Gustavo, Jhon**, a mi padre político **Augusto**, mi primo político **Pedro** y mi padre de nacimiento **Antonio Valdivia Cisneros**, agradecido por todo su apoyo incondicional cuando más lo necesité.*

*Y, por supuesto a mi ahijado **Thiago** que es mi inspiración de cada día.*

## AGRADECIMIENTO

*A la **Universidad Católica de Santa María** y en especial a la Facultad de Odontología por permitirme ser parte de una generación de triunfadores y gente productiva para el país.*

*Debo agradecer de manera especial y sincera al **Dr. Gustavo Alberto Obando Pereda** y al **Dr. Luis Alberto Ponce Soto**, por su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigador. Las ideas propias, siempre enmarcadas en su orientación y rigurosidad, han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntos. Les agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta tesis, los grandes consejos que siempre me brindaron como amigos y padres para mi.*

*A la **Dra. Elsa Carmela Vasquez Huerta**, por su tiempo compartido y por impulsar el desarrollo de mi formación profesional, por el gran proseo en horas de clínica y los maravillosos consejos cada vez que lo necesitaba.*

*Un especial agradecimiento a mis **Dictaminadores**, por su tiempo, sus valiosas observaciones y su excelente evaluación, que sin duda han engrandecido el resultado final de esta tesis.*

*A mis **amigos**, que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que siempre estuvieron presentes en los peores y mejores momentos de mi vida*

*Y, por supuesto, el agradecimiento más profundo y sentido va para mi **familia**. Sin su apoyo incondicional, colaboración e inspiración habría sido imposible llevar a cabo estos hermosos años de mi carrera profesional.*

*A mis padres, **Flor y Carlos**, por su ejemplo de lucha y honestidad; a mi hermana **Karolain** por su tenacidad y superación, a mi primo **Snayder** por su paciencia, inteligencia, generosidad y a mi abuelita **Cristina** por ser un ejemplo de valentía, capacidad y superación...por ellos y para ellos!*



## EPÍGRAFE

*“Muere lentamente quien no viaja, quien no oye música, quien no encuentra gracia en sí mismo”*

*Pablo Neruda*

## RESUMEN

La caries dental es la enfermedad que acomete los tejidos duros del diente, de elevada prevalencia (50% de la población mundial), principalmente en niños, como también en otras fases etarias. Esta tiene una etiología de origen multifactorial con la interacción de tres factores primordiales: El huésped (tipo y anatomía de los dientes, efecto tampón de la saliva), la microflora, el sustrato (dieta) y el tiempo. En este sentido, uno de los microorganismos frecuentemente aislados de esta enfermedad es el *S. mutans*. Sin embargo, en el presente estudio, se ha podido determinar que la levadura *C. albicans* también puede desmineralizar el tejido dentario, pudiendo originar la caries dental.

**Objetivo:** Esta investigación tiene por objetivo emplear la técnica observacional y de medición, usando el instrumento electroforesis bidimensional y el análisis de homología secuencial de proteínas por espectrometría de masas, determinando el análisis de expresión por aproximación proteómica de marcadores moleculares asociados al proceso cariogénico producido por *C. albicans*.

**Resultados:** Se obtuvieron marcadores moleculares a los 07 días los cuales son: Ca\_08, Ca\_09, Ca\_31, Ca\_32, Ca\_33, Ca\_34 y a los 14 días: Ca\_08, Ca\_09, Ca\_10, Ca\_11, Ca\_12, Ca\_13, Ca\_27, Ca\_28, Ca\_29, Ca\_30, Ca\_31, Ca\_32, Ca\_33.

Es así como las proteínas H (+)-exporting p2-type atpase (Ca\_27) y la proteína Flavodoxin-like fold family protein (Ca\_29) son las encargadas de expulsar los compuestos dañinos al exterior de la célula manteniendo su citoplasma en pH neutro. Es así como gran acumulo de protones en el exterior, conllevara a la acidificación del medio, provocando así la desmineralización del tejido duro del diente.

**Conclusiones:** En conclusión, se ha podido confirmar que bajo los límites de este estudio se puede manifestar que la *C. albicans* puede producir la desmineralización de la superficie dental por ella misma provocando así el proceso cariogénico por un eucariota.

**Palabras claves:**

Proteómica, *C. albicans*, *S. mutans*, espectrometría de masas, cromatografía de interacción hidrofóbica, acidificación, desmineralización, marcadores moleculares, eucariota.

## ABSTRACT

Dental caries is a disease that affects the hard tissues of the teeth, with a high prevalence, especially in children, but also in other age groups. It has a multifactorial etiology with the interaction of three main factors: The host (type and anatomy of teeth, buffering effect of saliva), the microflora, the substrate (diet) and time. In this regard, one of the microorganisms frequently isolated in this disease is *S. mutans*. However, in the present study, it was found that the yeast *C. albicans* can also demineralize dental tissues, which can lead to dental caries.

**Objective:** This research aims to apply the observation and measurement technique using the instrument bidimensional electrophoresis and the analysis of sequential homology of proteins by mass spectrometry, determining the analysis of expression by proteomic approximation of molecular markers associated with the cariogenic process produced by *C. albicans*.

**Results:** Molecular markers were obtained at 07 days, which are: Ca\_08, Ca\_09, Ca\_31, Ca\_32, Ca\_33, Ca\_34 and at 14 days: Ca\_08, Ca\_09, Ca\_10, Ca\_11, Ca\_12, Ca\_13, Ca\_27, Ca\_28, Ca\_29, Ca\_30, Ca\_31, Ca\_32, Ca\_33.

Thus, the H (+)-exporting p2-type atpase protein (Ca\_27) and the protein of the flavodoxin-like fold family (Ca\_29) are responsible for expelling harmful compounds from the cell and maintaining its cytoplasm at neutral pH. Thus, a large accumulation of protons in the extracellular space leads to acidification of the medium, provoking the demineralization of the hard tissues of the tooth.

**Conclusions:** In conclusion, it has been possible to confirm that within the limits of this study it can be shown that *C. albicans* can produce the demineralization of the dental surface by itself, thus provoking the cariogenic process by a eukaryote.

### Key words:

Proteomics, *C. albicans*, *S. mutans*, mass spectrometry, hydrophobic interaction chromatography, acidification, demineralization, molecular markers, eukaryote.

## ÍNDICE

<b>DEDICATORIA</b>	
<b>AGRADECIMIENTO</b>	
<b>EPÍGRAFE</b>	
<b>RESUMEN</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>CAPITULO I</b> .....	2
<b>PLANTEAMIENTO TEÓRICO</b> .....	2
<b>1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	3
1.1. Determinación del problema .....	3
1.2. Enunciado .....	4
1.3. Descripción .....	4
a. Área de Conocimiento .....	4
b. Operacionalización de Variables .....	4
c. Interrogantes Básicas .....	5
d. Taxonomía de la Investigación (Diseño de la Investigación) .....	5
1.4. Justificación .....	5
Originalidad: .....	5
Relevancia: .....	6
Actualidad: .....	6
Factibilidad: .....	6
Interés Personal: .....	6
<b>2. OBJETIVOS:</b> .....	6
2.1 Objetivo general: .....	6
2.2 Objetivo específico: .....	7
<b>3. MARCO CONCEPTUAL</b> .....	7
3.1. Conceptos Básicos .....	7
3.1.1. Electroforesis bidimensional (2-DE/2D-PAGE) .....	7
3.1.2. Estudios de homología secuencia “de novo” por Espectrometría de masas en tándem.....	7
3.1.3. Secuenciación “de novo” de péptidos tripticos. ....	8
3.2. Caries Dental: .....	8
a) La Dieta: .....	9
b) Huésped: .....	9
c) Microflora: .....	9
d) Tiempo: .....	9

3.2.1. Microbiología en la caries .....	9
3.3. Formación del biofilm: .....	11
3.3.1. Fases de desarrollo de Biofilm .....	11
• Fijación inicial (Adhesión) .....	11
• Fijación irreversible (Colonización) .....	11
• Maduración I (Formación) .....	12
• Maduración II (Crecimiento) .....	12
• Dispersión .....	12
3.4. <i>Candida Albicans</i> .....	12
3.4.1. Factores de virulencia <i>C. albicans</i> .....	13
Colonización: .....	13
Infección superficial: .....	13
Infección profunda: .....	13
Infección diseminada: .....	13
Adherencia .....	14
Enzimas degradativas secretadas .....	14
Cambio de morfología .....	15
Biopelículas .....	15
Quorum sensing (QS) .....	16
Modulación de la respuesta inmune .....	16
Otros factores de virulencia .....	17
Dermatofitos .....	17
Adherencia .....	18
Enzimas proteolíticas .....	18
Invasión .....	19
Modulación de la respuesta inmune .....	19
Otros factores que influyen en la virulencia .....	20
3.4.2. Formación de la caries por <i>C. albicans</i> .....	20
3.4.3. Características de <i>C. albicans</i> : .....	21
3.4.4. Forma y Biopatología: .....	21
3.4.5. Factores predisponentes .....	21
3.4.6. Lugares de ataque del <i>Candida albicans</i> .....	22
3.5. Antecedentes Investigativos .....	22
3.5.1. Antecedentes internacionales: .....	22
3.5.2. Antecedentes nacionales: .....	24
3.5.3. Antecedentes locales: .....	24

<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	25
<b>CAPITULO II</b> .....	26
<b>1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN</b> .....	27
1.1. Técnicas .....	27
1.1.1. Electroforesis bidimensional (2-DE/2D-PAGE) .....	27
1.1.2. Estudios de homología secuencia “de novo” por Espectrometría de masas en tándem. 27	
1.1.3. Secuenciación “de novo” de péptidos trípticos.....	28
1.2. Instrumentos:.....	28
1.2.1 Instrumentos documentales:.....	28
1.2.2. Instrumentos mecánicos:.....	28
1.3. Materiales de Verificación .....	29
<b>2. CAMPO DE VERIFICACIÓN</b> .....	29
2.1. Ubicación Espacial.....	29
2.1.1. Ámbito General.....	29
2.1.2. Ámbito específico .....	29
2.2. Ubicación Temporal .....	29
2.3. Población/muestra .....	29
<b>3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS</b> .....	30
3.1. Organización de la información .....	30
3.2. Recursos.....	30
3.3. Prueba Piloto/Validación del Instrumento .....	30
<b>4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS</b> .....	30
4.1. Tipo de procesamiento: .....	30
4.2. Plan de Procesamiento .....	30
4.3. Plan de Análisis .....	31
<b>CAPÍTULO III</b> .....	32
<b>RESULTADOS</b> .....	32
<b>1. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS:</b> .....	33
A) Gel bidimensional (2d) procedente de cultivo de <i>Candida albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en un día (01). (mapa de referencia o control).....	33
B) Gel bidimensional (2d) procedente de cultivo de <i>Candida albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en siete (07) días.....	35
C) Gel bidimensional (2d) procedente de cultivo de <i>Candida albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en catorce (14) días. ....	38
<b>2. ESTUDIO DE HOMOLOGÍA SECUENCIAL POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS ESQ-TOF-MS/MS</b> .....	41

A)	Análisis de homología secuencial de cultivo de <i>C. albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en siete días (07).....	41
A.1)	Estudio de homología secuencial del péptido 1 corresponde (Ca_08).....	41
A.2)	Estudio de homología secuencial del péptido 2 corresponde (Ca_09).....	42
A.3)	Estudio de homología secuencial del péptido 3 corresponde (Ca_31).....	43
A.4)	Estudio de homología secuencial del péptido 4 corresponde (Ca_32).....	44
A.5)	Estudio de homología secuencial del péptido 5 corresponde (Ca_33).....	45
A.6)	Estudio de homología secuencial del péptido 6 corresponde (Ca_34).....	47
B)	Análisis de homología secuencial de cultivo de <i>Candida albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en catorce días (14). .....	48
B.1)	Estudio de homología secuencial del péptido 1 corresponde (Ca_08).....	48
B.2)	Estudio de homología secuencial del péptido 2 corresponde (Ca_09).....	49
B.3)	Estudio de homología secuencial del péptido 3 corresponde (Ca_10).....	50
B.4)	Estudio de homología secuencial del péptido 4 corresponde (Ca_11).....	53
B.5)	Estudio de homología secuencial del péptido 5 corresponde (Ca_12).....	54
B.6)	Estudio de homología secuencial del péptido 6 corresponde (Ca_13).....	55
B.7)	Estudio de homología secuencial del péptido 7 corresponde (Ca_27).....	56
B.8)	Estudio de homología secuencial del péptido 8 corresponde (Ca_28).....	57
B.9)	Estudio de homología secuencial del péptido 9 corresponde (Ca_29).....	58
B.10)	Estudio de homología secuencial del péptido 10 corresponde (Ca_30). .....	59
B.11)	Estudio de homología secuencial del péptido 11 corresponde (Ca_31). .....	60
B.12)	Estudio de homología secuencial del péptido 12 corresponde (Ca_32). .....	61
B.13)	Estudio de homología secuencial del péptido 13 corresponde (Ca_33). .....	62
C)	Análisis de secuencias en base de datos NCBI usando el programa BLAST-P Protein search. 64	
<b>3.</b>	<b>MODELADO ESTRUCTURAL Y FUNCIONES DE PROTEÍNAS.....</b>	<b>68</b>
	(CA_08) Csh1p (Cell surface hydrophobicity protein):.....	68
	(CA_09) S-adenosylmethionine-homocysteine S-methyltransferase: .....	69
	(CA_10) Als10 Full=Agglutinin-like protein 10 .....	70
	(CA_11) Crd2p .....	71
	(CA_12) Chitinase.....	72
	(CA_13) 60S Acidic ribosomal protein P2 .....	73
	(CA_31) Pyridoxine biosynthesis protein.....	74
	(CA_32) Glucosamine 6-Phosphate N-Acetyltransferase.....	75
	(CA_33) Proteasome regulatory particle base subunit.....	76
	(CA_34) NHP2 / L7aE family protein.....	77
	(CA_27) H (+)-exporting P2-type ATPase.....	78

(CA_28) Bifunctional (2E,6E) - farnesyl diphosphate synthase/dimethylallyltranstransferase:.....	79
(CA_29) Flavodoxin-like fold family protein.....	80
(CA_30) Plb4.5p.....	81
<b>DISCUSIÓN</b> .....	83
<b>CONCLUSIONES</b> .....	87
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	88
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	89
<b>ANEXOS</b> .....	92



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: .....	37
Tabla 2: .....	40
Tabla 3. Muestra las secuencias completas con los respectivos códigos de acceso en la base de datos. .....	64



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Figura 1A) Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de <i>Candida albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en un (1) día. ....	33
Figura 2. Figura 1B) Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de <i>Candida albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en un (1) día. Los grupos de puntos identificados como los “spots” consignados bajo el círculo de línea verde fueron siete (7) denominados: Ca_1 a Ca_7. Y los “spots” consignados en el círculo rojo fueron siete (7), denominados Ca_21 al Ca_27, respectivamente. Por MS/MS y el programa de búsqueda fue el MASCOT (Ca. USA). El software de análisis es el PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA). ....	34
Figura 3. Figura 2A) Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de <i>Candida albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en siete (7) días. ....	35
Figura 4. Figura 2B) Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de <i>Candida albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en siete (07) días. Los grupos de puntos identificados como los “spots” consignados bajo el círculo de línea verde fueron dos (2) denominados: Ca_8 y Ca_9. Y los “spots” consignados en el círculo naranja fueron cuatro (4), denominados Ca_31 al Ca_34, respectivamente. Por MS/MS y el programa de búsqueda fue el MASCOT (Ca. USA). El software de análisis es el PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA). ....	36
Figura 5. Figura 3A) Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de <i>Candida albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en catorce (14) días. ....	38
Figura 6. Figura 3B) Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de <i>Candida albicans</i> sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en catorce (14) días. Los grupos de puntos identificados como los “spots” consignados bajo el círculo de línea verde fueron seis (6) denominados: Ca_8 al Ca_13. Y los “spots” consignados en el círculo rojo fueron siete (7), denominados Ca_27 al Ca_33, respectivamente. Por MS/MS y el programa de búsqueda fue el MASCOT (Ca. USA). El software de análisis es el PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA). ....	39
Figura 7. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión tróptica, del spot Ca_08. ....	41
Figura 8. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión tróptica, del spot Ca_09. ....	42
Figura 9. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión tróptica, del spot Ca_31. ....	43
Figura 10. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión tróptica, del spot Ca_32. ....	44
Figura 11. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión tróptica, del spot Ca_33. ....	46
Figura 12. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión tróptica, del spot Ca_34. ....	47
Figura 13. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión tróptica, del spot Ca_08. ....	48
Figura 14. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión tróptica, del spot Ca_09. ....	49
Figura 15. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión tróptica, del spot Ca_10. ....	52

Figura 16. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca_11. ....	53
Figura 17. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca_12. ....	54
Figura 18. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca_13. ....	55
Figura 19. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca_27. ....	56
Figura 20. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca_28. ....	57
Figura 21. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca_29. ....	58
Figura 22. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca_30. ....	59
Figura 23. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca_31. ....	60
Figura 24. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca_32. ....	61
Figura 25. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca_33. ....	63
Figura 26. ....	68
Figura 27. ....	69
Figura 28. ....	70
Figura 29. ....	71
Figura 30. ....	72
Figura 31: .....	73
Figura 32. ....	74
Figura 33. ....	75
Figura 34. ....	76
Figura 35. ....	77
Figura 36. ....	78
Figura 37. ....	79
Figura 38. ....	80
Figura 39. ....	81
Figura 40. Gráfico de los marcadores moleculares de <i>C. albicans</i> de 0 días hasta los 14 días. (fuente propia) .....	82

## INTRODUCCIÓN

La caries dental es una enfermedad que acomete los tejidos duros del diente, de elevada prevalencia, principalmente en niños, como también en otras fases etarias (1). Esta tiene una etiología de origen multifactorial con la interacción de tres factores primordiales: El huésped (tipo y anatomía de los dientes, efecto tampón de la saliva), la microflora, el sustrato (dieta) y el tiempo. Según la OMS estimó que 2000 millones de personas padecen caries en dientes permanentes, mientras que 514 millones de niños sufren de caries en dientes temporales. En el Perú, según el Minsa, el 90.4% de peruanos padece de esta enfermedad (2).

La destrucción de los tejidos duros del diente comienza con la desmineralización de este, clínicamente conocida como la “mancha blanca”. Este fenómeno se produce por la baja del pH ( $\text{pH} \cong 2$ ) debido a la concentración de metabolitos ácidos producidos por la microflora presente en la pieza dentaria afectada (3).

Una de las características de esta enfermedad es de etiología multimicrobiana, siendo uno de los principales agentes etiológicos el *Streptococcus mutans*. Esta bacteria metaboliza los carbohidratos (azúcares) de la placa dental en altas concentraciones de ácido láctico, bajando por consecuencia el pH local, provocando la desmineralización del diente (4).

Las técnicas de prevención frecuentemente están supeditadas a la utilización de instrumentos mecánicos y sustancias químicas como detergentes (cepillos dentales y dentífricos), para la remoción de dicha placa bacteriana, así como la desorganización de los medios ácidos. Estas técnicas de prevención son frecuentemente utilizadas en individuos de aparente estado de salud normal; Sin embargo, en pacientes comprometidos sistémicamente como la inmunosupresión, estados metabólicos alterados o con algún tipo de retardo mental, estos pacientes además de recibir estas técnicas de prevención son medicados con antibióticos; sin embargo, se ha podido observar la presencia continua de caries aun con estos tratamientos (5).

Microorganismos emergentes como especies de *Candida*, son responsables de la cronificación de enfermedades con una baja resolución, así que el objetivo de la presente tesis fue determinar la capacidad cariogénica de la *Candida albicans*.



# **CAPITULO I**

## **PLANTEAMIENTO TEÓRICO**

## 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Determinación del problema.

La *Candida albicans* (*C. albicans*) es el pionero habitual de la cavidad oral, ya que tiende a tener acumulación en el revestimiento de la boca, es un microorganismo que puede proliferar en exceso y ocasionar síntomas, sobre todo en pacientes infectados esto puede tener un riesgo de diseminación tanto sistemática como de infección, desde infecciones superficiales hasta cuadros clínicos más graves, como candidiasis oral que se manifiesta con placas blancas en la lengua o en el interior de las mejillas o también puede ser sistémica (candidema), con altas tasas de morbilidad y mortalidad (6).

La *C. albicans* produce con mayor frecuencia infecciones micóticas como la candidiasis oral, queilitis angular, siendo que se ha demostrado que la *Candida* está presente en lesiones periodontales, endodónticas y en procesos dentales. Uno de los lugares favoritos del *C. albicans* es en individuos sanos ya sea en la cavidad bucal, donde coloniza sitios mucosos y en piezas dentarias, por eso podemos analizar cuáles son las proteínas de *C. albicans* para producir caries. Sabemos que la caries es una enfermedad desde tiempos inmemoriales que se define como un proceso patológico, que ablanda los tejidos duros, que avanza hasta formar una cavidad y se sabe que su etiología es multifactorial en el que se produce la desmineralización de las estructuras dentarias. Sin embargo, la relación entre la caries dental y la presencia oral que tiene de hongos solo se recolecta específicamente para la especie de *C. albicans* en cualquier edad (6).

El objetivo principal de este trabajo es conocer cuáles son los marcadores biomoleculares que emplea la *C. albicans* para la desmineralización del diente. Ya que al hablar de caries dental esta se muestra por naturaleza acidúrica, su capacidad que esta desarrolla sus biopelículas espesas llega a fermentar azúcar de la dieta y produce enzimas que disminuyen el colágeno, por eso es importante recalcar qué tan importante es el avance de caries en la dentina, ya que estudios previos de Klinke y Paniagua nos llegan a sugerir que la *C. albicans* llega a modular las biopelículas y las hace más virulentas y cariogénicas (20, 24).

Por lo tanto, el *C. albicans* es acidogénico y hetero fermentativo, cuando este tiene presencia de muy altas concentraciones en carbohidratos. Así este microorganismo está presente en el desarrollo de desmineralización de todos los dientes y representa un patógeno que si está involucrado en la caries dental (7).

Es por eso por lo que la investigación verificara cuales son las proteínas encargadas de la acidificación de la *C. albicans* por medio de espectrometría de masas.

### 1.2. Enunciado

Análisis de expresión por aproximación proteómica de marcadores moleculares asociados al proceso cariogénico producido por *Candida albicans* UCSM. Arequipa, 2024.

### 1.3. Descripción

#### a. Área de Conocimiento

- Área General: Ciencias de la Salud.
- Área Específica: Odontología.
- Especialidad: Cariología
- Línea o Tópico: Microbiología, Proteómica.

#### b. Operacionalización de Variables

Variables	Indicadores	Sub-Indicadores	Sub-indicadores de primer orden
Nivel de expresión proteómico en el sobrenadante de <i>C. albicans</i> del proceso cariogénico en diente a los 1, 7 y 14 días.		Proteínas diferenciales en ambos mapas de referencia (control y patológico).	Expresión de posibles proteínas modificaciones post-traduccionales y análisis de secuencia por PatternLAB como base de datos.

**c. Interrogantes Básicas**

¿Cuál es el nivel de expresión proteómica diferencial en el sobrenadante de *C. albicans* del proceso cariogénico en diente al primer día (control)?

¿Cuál es el nivel de expresión proteómica diferencial en el sobrenadante de *C. albicans* del proceso cariogénico en diente a los 7 días?

¿Cuál es el nivel de expresión proteómica diferencial en el sobrenadante de *C. albicans* del proceso cariogénico en diente a los 14 días?

¿Cuál es el nivel de expresión proteómica en el sobrenadante de *C. albicans* del proceso cariogénico?

**d. Taxonomía de la Investigación (Diseño de la Investigación)**

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	1. Por la técnica de recolección	2. Por el tipo de dato que se planifica recoger	3. Por el número de mediciones de la variable	4. Por el número de muestras o población	5. Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Experimental	Prospectivo	Transversal	Comparativo	De laboratorio	Experimental	Explicativo

**1.4. Justificación**

**Originalidad:**

La investigación es original. El estudio proteómico comparativo al proceso cariogénico producido por *C. albicans* no ha sido investigado. A nivel mundial sería el primer estudio en verificar cuales son las proteínas encargadas de la acidificación de la *C. albicans* por medio de espectrometría de masas.

**Relevancia:**

La presente investigación tendrá relevancia científica. Aportará información al campo de la proteómica y la cariología. Esta investigación nos mostrará las proteínas que expresa la *C. albicans* para producir la desmineralización del diente en la producción de caries.

**Actualidad:**

Es una información actual por que emplea metodología y tecnología moderna, la cual explicara las proteínas encargadas en la producción de caries de la *C. albicans*.

**Factibilidad:**

El proyecto se considera factible porque el ámbito de recolección del sobrenadante producto de un estudio anterior realizado en el laboratorio. Los geles para electroforesis se realizarán en el Laboratorio de Química y Proteínas de la Universidad Católica de Santa María. El modelo se enviará a secuenciar y el análisis bioinformático se realizará en el Laboratorio de Química y proteínas en la Universidad Católica de Santa María, bajo el apoyo de la base de datos PatternLAB.

**Interés Personal:**

Es de mi interés personal realizar un proyecto de investigación experimental enfocado al tema de producción de caries por *C. albicans*, complementado con el análisis bioinformático, al mismo tiempo pretendo optar por el título profesional de Cirujano Dentista.

**2. OBJETIVOS:****2.1 Objetivo general:**

Determinación de posibles proteínas y marcadores moleculares en la acidificación de la *C. albicans* para producir caries dental.

## 2.2 Objetivo específico:

- Determinar la secuencia proteica de marcadores moleculares en la acidificación de la *C. albicans* para producir caries dental a través de ESP-MS/MS al 1º día (control).
- Determinar la secuencia proteica de marcadores moleculares en la acidificación de la *C. albicans* para producir caries dental a través de ESP-MS/MS a los 7º días.
- Determinar la secuencia proteica de marcadores moleculares en la acidificación de la *C. albicans* para producir caries dental a través de ESP-MS/MS a los 14º días.

## 3. MARCO CONCEPTUAL

### 3.1. Conceptos Básicos

#### Herramientas de estudio en la aproximación proteómica:

##### 3.1.1. Electroforesis bidimensional (2-DE/2D-PAGE)

El gel de electroforesis bidimensional (2-DE o 2D-PAGE) es una técnica primaria que se utiliza en proteómica (8). Se logra la separación de la mezcla compleja de muestras usando 2 diferentes propiedades de la proteína. En la primera dimensión, también llamada “isoelectric focusing” (IEF), las proteínas son separadas por el valor de puntos isoeléctricos (pI) y en la segunda dimensión consiste en SDS- PAGE, donde las proteínas son separadas por el peso molecular relativo (9).

##### 3.1.2. Estudios de homología secuencia “de novo” por Espectrometría de masas en tándem.

La espectrometría de masas en tándem ESI-CID-MS/MS se realizó utilizando un espectrómetro de masas híbrido de tiempo de vuelo de cuadrupolo (Q-TOF, Micromass Manchester, Reino Unido), equipado con una fuente de nanopulverización que funciona en modo de ionización positiva. Las condiciones de ionización fueron: voltaje capilar de 2,3 kV, voltaje de cono y lente RF1 de 30 y 100 V, respectivamente, y una energía de colisión de 10 eV. La temperatura de la fuente fue de 70 oC y el cono de gas fue N<sub>2</sub> a un caudal de 80 l/h; no se utilizó gas nebulizador para obtener el spray. Se utilizó gas argón para la fragmentación de iones. La calibración externa se realizó con yoduro de sodio en un rango de masas de 50 a 3000 m/z. Todos los espectros se adquirieron con el analizador TOF en modo “Vmode” (TOF kV=9,1) y voltaje MCP a 2150 V (8).

### 3.1.3. Secuenciación “de novo” de péptidos trípticos.

Los péptidos trípticos alquilados, se separaron mediante HPLC de fase reversa, se recogieron manualmente, se liofilizaron y se re-suspendieron en acetonitrilo al 20 % y ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1 % (8).

Cada péptido se introdujo por separado en la fuente del espectrómetro de masas con una jeringa a un caudal de 500 nl/min-1. Antes de realizar los espectros de masas en tándem, se adquirió un espectro ESI/MS (modo TOF MS) para cada pico obtenido de la HPLC de fase inversa en el rango de 400 a 2000 m/z para seleccionar los iones de interés. Estos iones se fragmentaron posteriormente en una celda de colisión (modo TOF MS/MS). Se utilizaron diferentes energías de colisión según el estado de carga y la masa de los iones (9). Los espectros resultantes se adquirieron en el analizador TOF y se resolvieron utilizando el software del algoritmo MassLynx-MaxEnt (9).

Los espectros de carga única se procesaron manualmente utilizando la aplicación PepSeq incluida con MassLynx (10).

En el segundo paso, al combinar los patrones de fragmentación y consultar la literatura relacionada, se estableció una base de datos MASCOT para el análisis de secuencia de proteínas. En el tercer paso, la base de datos autoconstruida se importó a MASCOT (11).

### 3.2. Caries Dental:

Es una enfermedad que acomete los tejidos duros del diente, de elevada prevalencia, principalmente en niños, como también en otras fases etarias. En estos años es descrita como una enfermedad multifactorial, además no solo debe tener un contribuyente de aparición, si no que existan más factores contribuyentes que puedan producir la enfermedad de caries y afecte la salud oral. Algunas literaturas para el comienzo de y su progresión de la caries van interviniendo factores los que serán agrupados en una triada de “Keyes” que menciona a los tres factores que se enlazan y así predisponen a la caries dental, posteriormente esta es modificada con el fin de tener mejoras convirtiendo esta enfermedad en tetrafactorial y estas son (12):

- La Dieta
- Huésped
- Microflora (Microorganismos)
- Tiempo

- a) **La Dieta:** La alimentación es también uno de los factores importantes para poder predisponer de la aparición de la caries, ya que debido a que una dieta rica en carbohidratos y los azúcares principales, van a llegar a contribuir en su proceso carioso (12).
- b) **Huésped:** Este factor representa el individuo, ya que por cada organismo es diferente e interviene en la respuesta inmune y se analiza la susceptibilidad de si el diente es o no susceptible a la caries, ya que depende de su composición y la cantidad de saliva del individuo que va a estar presente en su cavidad bucal. Es muy importante dar prioridad a las enfermedades sistémicas y sus tratamientos que pueden afectar cada tejido de la cavidad bucal y predisponen al diente a caries (12).
- c) **Microflora:** Los microorganismos se presentan en la placa dental, que son diversos microorganismos, restos de comida y células, también es llamado biofilm, que es el crecimiento de las bacterias fijadas en una superficie. Cada microorganismo son activos actores en su desarrollo de la caries, así también cuando esta tiene una progresión, estos microorganismos metabolizan los carbohidratos (azúcares) de la placa dental en altas concentraciones de ácido láctico, bajando por consecuencia el pH local, provocando la desmineralización al tejido duro del diente (12).
- d) **Tiempo:** Este es considerado factor, ya que en varios estudios se han demostrado que al estar el biofilm en contacto con el diente, tiene mayor probabilidad de que madure desestabilizando el equilibrio del pH y por consecuencia el medio lo acidifica y se produce la desmineralización del esmalte (12).

Finalmente se debe desorganizar el biofilm en su menor tiempo posible, ya que no se puede con sus fuerzas fisiológicas y es necesario usar las fuerzas mecánicas y en bastantes ocasiones se deja un tiempo extenso en la boca dicho componente (12).

### 3.2.1. Microbiología en la caries

En la cavidad bucal el microbiota es muy importante, ya sé por qué brinda una protección en la invasión y posterior colonización de bacterias extrínsecas, estas pueden también intervenir en la salud, generando los factores de riesgo para que este pueda afectar la salud sistémica (13).

La gingivitis, periodontitis y la caries son las enfermedades más comunes de la cavidad bucal y estas son consecuencia por microorganismos que se encuentran en forma de biofilm; por lo que esta se adhiere a las superficies que le ayudara a que no se desprenda (13).

El desequilibrio del ecosistema de la cavidad bucal, se da por una sobrecarga o inmunología débil del individuo y eso compromete en la salud sistemática y local (13).

Sobre lo antes dicho sirve para la prevención de la caries y va en erradicar de una manera mecánica el biofilm de las piezas dentarias, aparatos ortodónticos y protésicos mediante un correcto cepillado con una técnica correcta, disminuyendo la posibilidad de contraer dichas enfermedades ya mencionadas (13).

La ubicación de la microbiota oral comprende una parte de la microbiota humana general y estas son: Paladar, lengua, saliva, mejillas y dientes; también la gran variedad de microorganismos orales aún no llega. A estudiarlos de manera suficiente. Esta estima que la lengua llega albergar la mayor parte de toda la carga microbiana de la cavidad bucal y soporta la mayor parte de su densidad bacteriana, así como una microbiota es más diversa que las otras superficies mucosas; se dice que el 30% es de la población bacteriana detectable mediante los estudios moleculares se encontraron únicamente en la lengua (13).

La superficie dental, específicamente las zonas internas cercanas a la pulpa podemos encontrar microorganismos facultativos, es decir se pueden desarrollar independientemente si existe oxígeno o llega a carecer de él. El *Streptococcus* es el que se considera más en la literatura como la familia más predominante y es el causante de la enfermedad de la caries y afectación pulpar (13).

También se encuentran cerca a la encía, en esta existe varias mezclas de especies facultativas que van a llegar a ocasionar las enfermedades gingivales por inflamación llamada “Gingivitis”; esta llega a provocar que todo el biofilm que llegara a permanecer en el tiempo llega a dañar el surco gingival y provoca la “periodontitis”, así mismo es importante saber que las especies anaerobias son las que predominan el contenido del biofilm (13).

Al hablar de las prótesis dentales, aparatos de ortodoncia, restauraciones y cualquier material artificial que se lleguen a encontrar en la cavidad bucal, que compense alguna pérdida de las piezas naturales en boca, es importantes saber que alberga especies muy similares a las supragingivales; sin embargo, los aparatos protésicos pueden llegar a hospedar *Candida* spp y puede provocar una estomatitis (13).

### 3.3. Formación del biofilm:

Este es proceso continuo hasta lograr su grado de estabilidad, entonces este al necesitar el equilibrio se llega a deducir que necesita el ambiente estable para que los microorganismos puedan llegar a colonizar en el huésped, es por esa razón que la saliva no se puede producir sucesión. Cuando las bacterias salivales llegan a invadir a las células de la mucosa, a pesar de que en las literaturas esta que en los tejidos blandos son propensos a las colonizaciones bacterianas en un 80% no se manifiesta ninguna patología ya sea por una característica importante que es cuando las células del tejido de la mucosa se descaman y se degluten de forma similar a la saliva, por esto se concluye que en las superficies mucosas solo llegan a existir una capa no patogénica, por otro lado los tejidos duros van a quedar cubiertos por una gran película asociada a la colonización bacteriana, posteriormente a esta fase constantemente la microbiota de la película día a día va a cambiar, y este proceso le denominan sucesión (14).

En los 7 días se llega a desarrollar y llega hasta formarse una “Flora primaria inmediata “que se llegará dominar por el Streptococcus en donde se forma una comunidad anaerobia de los bacilos gramnegativos. Gracias a diferentes localizaciones, así como los diversos factores exógenos que influyen, se llega a desarrollar placa de un diferente espesor y su composición bacteriana, principalmente no solo a escala macroscópica, sino que también a un nivel microecológico, esta tiene relación con el O<sub>2</sub> – tensión, pH local, estructura de la matriz y la disponibilidad de las sustancias nutritivas (14).

A consecuencia de todo esto se desarrollan afecciones en la cavidad oral.

#### 3.3.1. Fases de desarrollo de Biofilm

- **Fijación inicial (Adhesión)**

Aquí los diversos gérmenes independientes, que son denominados células planctónicas, quedan sobre una superficie y comienzan a agruparse entre ellos.

Esta fase es reversible si aplicamos limpieza y desinfección eficientes (15).

- **Fijación irreversible (Colonización)**

Cuando las células que encontramos en la primera Fase llegan a quedar totalmente unidas y se llegan a proteger mediante una película de polisacáridos que les ayuda a proporcionar seguridad y alimento.

En esta fase, las células de la primera capa se llegan a sacrificar para poder dejar que se lleguen acumular en nuevas células planctónicas (4).

- **Maduración I (Formación)**

En esta fase la multiplicación bacteriana permite que toda la comunidad de las células crezca protegida bajo la película que las recubre, en pocas palabras las células microbianas empiezan a formar la matriz extracelular, dando lugar a un biofilm maduro (4).

- **Maduración II (Crecimiento)**

Con ayuda del crecimiento de la comunidad, también aparecen las zonas especiales creadas para la supervivencia de los gérmenes. Este es el caso de los canales de H<sub>2</sub>O que fomentan aún más ese crecimiento. Dicha explicación llega a que se forman intersticios y canales en el interior de la matriz del biofilm, que servirán para poder transportar el agua y los nutrientes (4).

- **Dispersión**

En esta fase la película que protegía se llega a romper de forma natural por el agotamiento de alimento o por alguna necesidad de colonizar lugares nuevos (Se retro alimenta el proceso). Otra forma es que también puede eliminarse de una forma intencionada mediante una fricción en la limpieza o el uso de químicos especificados para ello (4).

### 3.4. *Candida Albicans*

Nombrada por Robin en Berkhout en el año 1923. Aparece primero como comensal en las membranas mucosas del tracto digestivo (cavidad oral) de los humanos y los animales.

La morfología microscópica es ovalada, miden aproximadamente de 3 a 6  $\mu\text{m}$ . Es considerada como el agente causal de todos los tipos de candidiasis. Por la parte laboratorial su medio de crecimiento es “Agar Saboraud”, aquí le permite crecer y llegar a formas sus colonias para que puedan ser apreciadas en el microscopio (16).

La *C. albicans* es la micosis que es causada por distintas especies de las levaduras que son oportunistas, pertenecen a la familia sacaromicetos, se considera un microorganismo local

residente del cuerpo humano, pero es oportunista ya que no dudara en tener un sobrecrecimiento y causara una patología (16).

*C. albicans* llega al humano sin tener ninguna complicación y esto depende mucho del sistema inmunológico del huésped, por eso cuando un sistema inmunológico es sano llega a mantener controlado los hongos, por otro lado, si este llega a ser afectado del tal manera que se reproducen y causan infecciones en distintas partes del cuerpo humano y de varias formas. Principalmente la cavidad bucal posee tener lugares para su colonización por esta especie (16).

### 3.4.1. Factores de virulencia *C. albicans*

En *C. albicans* su virulencia implica en reconocimiento del hospedador, el vínculo del organismo a las células del hospedero (17).

En los factores de virulencia del patógeno oportunista se encuentran su habilidad para quedarse como comensal, la adherencia a las células del hospedero, la secreción de enzimas degradativas y el cambio que tienen en su morfología. Los factores juegan un papel muy importante en su infección del *C. albicans* (17).

La infección puede subdividirse en sus 4 etapas:

**Colonización:** En esta etapa interviene la adhesión epitelial y su adquisición de nutrientes por medio de la acción de adhesinas, enzimas hidrolíticas, formación de las hifas y su cambio de fenotipo (17).

**Infección superficial:** Esta etapa es muy importante porque se da la infiltración epitelial por medio de degradación de proteínas del hospedador, por enzimas hidrolíticas y su formación de hifas (17).

**Infección profunda:** En esta etapa participa la infiltración tisular, la invasión vascular, como también la evasión inmune por medio de sus enzimas hidrolíticas y en la formación de sus hifas (17).

**Infección diseminada:** La *C. albicans* llega a realizar esta etapa de infección a través de la adherencia que tiene al endotelio, infección de tejidos del hospedero, su activación del sistema de coagulación por su intervención de las adhesinas, enzimas hidrolíticas, su formación de hifas y su cambio de fenotipo (17).

## Adherencia

La colonización de factores epiteliales, endoteliales, solubles, matriz extracelular y materiales inertes en el cuerpo del huésped es esencial para iniciar y mantener la relación comensal. La hidrofobicidad es uno de los dos mecanismos involucrados: las uniones fisicoquímicas que acercan el patógeno a la superficie del huésped y los mecanismos particulares que implican receptores y adhesinas en el sustrato (17).

El hongo tiene hidrofobicidad gracias a la capa externa fibrilar formada por cuatro componentes protéicos del tubo germinal; estos funcionan como receptores de proteínas del hospedero, como el complemento, laminina y fibrinógeno. La presencia de la proteína Csh1p, que fomenta la formación de biopelículas y ayuda a *C. albicans* a adherirse a las proteínas de la matriz extracelular y al plástico, es otra razón de la hidrofobicidad (17).

Las adhesinas son biomoléculas que, según sus ligandos, fomentan la unión de las células huésped. Las adhesinas como Ala1p, Als1p, Hwp1p, Csh1, Ywp1, Pra1 y Saps son fundamentales para la colonización y la inducción de enfermedades, y las proteínas como Ecm33 y Utr2 pueden facilitar su funcionamiento adecuado (17).

Los lípidos, los polisacáridos y las glicoproteínas presentes en la superficie de las células y en sus estructuras, como las fimbrias, son otras moléculas que fomentan la penetración y la adhesión de *C. albicans*. Ocho proteínas de la superficie celular vinculadas a glicosilfosfatidilinositol (GPI), que facilitan la unión a múltiples superficies del huésped, son codificadas por genes de secuencia similar a aglutinina (ALS) (17).

La manoproteína Hwp1 se expresa en la superficie de la hifa; mediante la mimetrización de proteínas ricas en prolina, facilita su adhesión a las células epiteliales orales (17).

Las 12 proteínas de la familia trIf4 ayudan a las células epiteliales orales a adherirse y se expresan en la superficie celular (17).

## Enzimas degradativas secretadas

*C. albicans* tiene dos familias principales de enzimas degradativas, aspartil proteinasas (SAP) y fosfolipasas (PL). Estas enzimas pueden incorporarse a la pared celular o secretarse, lo que permite que *C. albicans* se una a proteínas del huésped como colágeno, laminina, fibronectina, mucina, lactoferrina e inmunoglobulinas. Pueden invadir células epiteliales, nutrirse y evadir la respuesta inmune. La Agglutinin-Like Sequence (AIS) 1, 2 y 3 son secretadas por las levaduras y contribuyen al daño tisular y a la invasión de la boca y la epidermis. Las AIS 4, 5 y 6,

producidas por las hifas, son importantes para la infección sistémica. Las AIS 9 y 10 están conectadas a la pared fecal mediante una unión GPI. Las fosfolipasas, codificadas como PLA, PLB, PLC y PLD, son esenciales para la virulencia y la invasión (17).

### **Cambio de morfología**

La forma de la levadura de *C. albicans* puede variar, desde rojiza u ovoide (blastoconidia) a filamentosa y alargada (hifa y pseudohifa), lo que aumenta la virulencia, la defensa inmunitaria y la respuesta proinflamatoria. Los sistemas de detección de quórum y la inducción de genes HIFA específicos (HSG) estimulan los hifas, que crecen a 37°C, pH 7 y una concentración de CO<sub>2</sub> del 5,5%. Las temperaturas más bajas, el pH más alto, la ausencia de azufre y las altas concentraciones de glucosa son algunos de los estímulos para el crecimiento unicelular (17).

Mientras que la hifa es responsable de la invasión celular, la forma de levadura es útil para facilitar la diseminación del gusano en el torrente sanguíneo al adherirse significativamente a las células endoteliales. La expresión de proteínas similares en la superficie de la célula huésped, la penetración activa entre las células epiteliales debido a las actividades HIFA y los altos niveles de SOD5, que codifica un superóxido dismutasa extracelular que neutraliza la oxidación, son algunos de los muchos factores que contribuyen a este evento. producir lisis en el ambiente de monocitos, macrófagos y neutrófilos. Las vías de señalización selectiva inducen morfología traduciendo las señales ambientales. La formación de hifas y la inducción simultánea de adhesinas asociadas son estimuladas por el contacto con superficies abióticas o células huésped. Los genes Nrg-1 -Rog1- Tup1 y Rbf1 producen dos vías que impiden la transición entre la levadura y el filamento. El cambio morfológico también depende de la densidad celular; la aparición de hifas se produce cuando la densidad celular es baja. Los iniciadores y controladores de la cascada de eventos para la morfología siguen siendo objeto de investigación (17).

### **Biopelículas**

Las biopelículas de *C. albicans* son formadas por levaduras e hifas embebidas en una matriz extracelular producida por sí mismas. Esto dificulta el tratamiento de pacientes con infecciones sistémicas debido a su alta resistencia a la respuesta inmunitaria, a los medicamentos antifúngicos y a la falla en artefactos médicos como catéteres y válvulas cardíacas que sirven al hongo como superficie de adhesión. El factor de transcripción Bcr1p controla la formación de la biopelícula. La adhesina Hwp1, una de las adhesinas específicas de hifa, también participa en la formación de biopelícula (17).

La formación de las levaduras requiere la utilización de adhesinas para unirse a la superficie del látex, silicona o plástico. Estos adhesivos, como Eap1, comienzan a formar tubos germinales, se adhieren firmemente a las células endoteliales y finalmente producen hifas que maduran en una matriz extracelular debido a la interacción entre Als1 y 3 con Hwp1. La producción de farnesol permite que las levaduras recién formadas se liberen de la biopelícula y se propaguen y colonicen nuevas áreas (17).

### **Quorum sensing (QS)**

Se trata del factor de virulencia que precede al cambio de morfología y la producción de Saps. Es un fenómeno que permite que las células se comuniquen con el entorno químico y físico de su entorno. El *C. albicans* puede interactuar entre sí en sistemas regulados por QS, lo que lo hace cooperar (17).

El farnesol, la sustancia autorreguladora morfogenética (MARS, por sus siglas en inglés), y el triptofol, que impiden la filamentación, y el tirosol, que la promueve, son algunos de los compuestos que se consideran moléculas de QS de *C. albicans*. Farnesol es una molécula lipofílica que se encuentra en las membranas de los hospederos, lo que altera su fluidez y permite que este patógeno ingrese. Además, afecta negativamente la respuesta inmunitaria celular Th1 del hospedero y fomenta la Th2, lo que hace que la defensa contra este hongo sea menos efectiva. El farnesol es un agente fungistático potencial y previene la transición de la levadura a la hifa (17).

### **Modulación de la respuesta inmune**

*C. albicans* tiene la capacidad de alterar la respuesta inmunitaria. C3b y *C. albicans* interactúan. Las proteínas de *Candida* tienen características antigénicas y funcionales similares a los receptores de complemento 3 y 4. Las integrinas son similares a estos receptores CR3 y CR4. Por lo tanto, *Candida* puede evitar la fagocitosis porque tiene receptor para estos componentes del complemento (17).

Además, la expresión de defensinas en las uñas puede verse alterada por *Candida*. *C. albicans* también provoca la inmunosupresión liberando IL-10 media (17).

### Otros factores de virulencia

Las células de *Candida* están expuestas a especies reactivas de oxígeno producidas por el sistema inmunológico del hospedero durante la infección. Este patógeno tiene factores de virulencia que lo ayudan a contrarrestar estos mecanismos, como catalasa, superóxido dismutasa y proteínas de choque térmico. Las últimas se encuentran en la superficie celular y su expresión está controlada por el factor de transcripción Hsf1; se cree que desempeñan un papel en el cambio de forma de la levadura a hifa (17).

Para colonizar y expandirse dentro del hospedero, *C. albicans* necesita hierro, que obtiene a través de la lisis de eritrocitos por una manoproteína en su superficie celular. Una enzima de señalización regulada por calcio llamada calcineurina es esencial para su supervivencia. Además, genera partículas de melanina in vitro. Se sabe que la melanina protege contra las enzimas hidrolíticas, los antifúngicos, los péptidos antimicrobianos, la radiación ultravioleta y la temperatura (17).

### Dermatofitos

Con una prevalencia del 20% en todo el mundo, son la causa más frecuente de infecciones fúngicas. Los hongos queratinofílicos filamentosos de la clase Eumycetes se clasifican en tres géneros según su hábitat: los antropofílicos infectan a los humanos, los zoofílicos infectan a los animales y los geofílicos infectan materiales queratináceos. Los dos primeros son parásitos obligados porque infectan el estrato córneo. La infección por dermatofitos es causada principalmente por *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton tonsurans*, que son antropofílicos. *Microsporum gypseum* es geofílico, mientras que *Trichophyton mentagrophytes* y *Microsporum canis* son zoofílicos (17).

La inmunidad celular es responsable de regular la respuesta inflamatoria frente a la infección por estos patógenos, ya que los antígenos fúngicos activan las células T supresoras y ayudadoras del hospedero (17).

Los dermatofitos tienen muchas características virulentas que hacen que se infecten. Esta tiene tres fases: adhesión, invasión y crecimiento. Primero, los dermatofitos logran la adhesión a través de las glicoproteínas que contienen manan en su pared celular. Después de la adhesión, ocurre la germinación dos a tres horas después. Esto sigue a la penetración de las hifas para evitar que el epitelio las descame. Una vez que los dermatofitos se han instalado, necesitan encontrar nutrientes para crecer a través de enzimas como permeasas y enzimas de la pared

celular, así como otras enzimas hidrolíticas como nucleasas, lipasas, proteasas no específicas y queratinasas (17).

Dado que el efecto fungistático del suero es probablemente uno de los factores que previenen la penetración e infección más profunda, los dermatofitos generalmente solo invaden las capas "muertas" del tejido queratinizado (17).

Cuando el hongo permanece en contacto con la piel y las uñas durante varias horas o incluso días, el hongo puede crecer e invadir las capas de queratina de las uñas. Otros factores del hospedero también pueden afectar el proceso infeccioso. Los espacios interdigitales donde se encuentran factores como el sudor, la maceración y el pH alcalino son ideales para el desarrollo de enfermedades fúngicas. En la ingle, hay condiciones locales como humedad, temperatura y nutrientes para el crecimiento de dermatofitos que favorecen la infección. Se cree que seis conidios son la dosis infecciosa para piel sin pelo (17).

Algunos de los factores patogénicos de los dermatofitos se describen a continuación.

### **Adherencia**

Se sabe que el contacto inicial entre las adhesinas de las artroconidias del hongo (elemento infeccioso) y la manosa y galactosa del estrato córneo del hospedero es un prerrequisito para la infección, aunque muchos de los mecanismos por los cuales los dermatofitos interactúan con las células epiteliales aún no han sido dilucidados. El tiempo de contacto aumenta la adherencia. Las artroconidias de *T. mentagrophytes* producen largas fibrillas en la superficie del estrato córneo in vitro (17).

Aunque la germinación ocurre después de cuatro horas, *Trichophyton mentagrophytes* necesita seis horas para adherirse firmemente. Los dermatofitos se adhieren a los carbohidratos que se encuentran en la superficie de la piel. Los dermatofitos liberan enzimas y proteasas después de que se han unido al tejido queratinizado para obtener nutrientes, digerir la queratina y acceder al epitelio e inmunomodular (17).

### **Enzimas proteolíticas**

Una variedad de enzimas proteolíticas es producida por los dermatofitos, incluidas las Endo y exoproteasas. La secreción de estas enzimas está regulada por la activación génica de un factor de transcripción de la familia GATA. El primer grupo incluye subtisilinas (Subs 3,4) y metaloproteasas (Meps 3,4), mientras que el segundo grupo incluye aminopeptidasas de leucina (Laps) (17).

Aunque no se conoce el mecanismo exacto por el cual las proteasas fúngicas secretadas ayudan a la adherencia, se sugiere que pueden actuar como adhesivos en las células del hospedero o del hongo. Las lipasas, ceramidasa y nucleasas son otras enzimas que no han sido suficientemente descritas (17).

Debido a que *Trichophyton rubrum* es el patógeno más frecuente que causa dermatofitosis en humanos, la maquinaria enzimática ha sido mejor caracterizada en él. La virulencia de *Trichophyton mentagrophytes* fue atribuida a la tioredoxina, que es útil para la defensa contra el estrés oxidativo (17).

### **Invasión**

Los tubos germinales surgen de las arthroconidias, lo que conduce a la aparición de hifas que atacan áreas queratinizadas como la piel, el cabello y las uñas a una velocidad superior al recambio epidérmico, gracias a la acción queratolítica de las proteasas que descomponen grandes péptidos en aminoácidos. Las hifas suelen adherirse a los agujeros y grietas de las superficies (17).

La sulfitólisis es el proceso por el cual los dermatofitos tienen una bomba de sulfito codificada por el gene SSU1. Este proceso disocia los enlaces disulfuro de la queratina y libera cisteína y S-sulfacisteína, lo que facilita la digestión por otras endo y exopeptidasas. La queratina dura y difícil de degradar se debe a los puentes disulfuro; el sulfito secretado por los dermatofitos reduce estos puentes y los disocia directamente. Luego, las endo y exoproteasas proporcionan alimentos a estos patógenos. Además, durante el proceso de invasión, producen y secretan proteasas en respuesta a componentes de la matriz extracelular como queratina y elastina (17).

### **Modulación de la respuesta inmune**

La capacidad de controlar la respuesta inmunitaria del hospedero es otro factor de virulencia. Una manera de evitar el desarrollo de una respuesta celular marcada es localizarse en el estrato córneo (17).

*Trichophyton mentagrophytes* aumenta la producción de IL8 y factor de necrosis tumoral alfa *in vitro*, lo que explica la respuesta inflamatoria aguda que provoca este dermatofito.

Sin embargo, *Trichophyton rubrum* puede afectar la defensa inmune del hospedero de varias maneras. Parece que el manano de la pared celular participa en la inmunosupresión al detener la reacción linfoproliferativa de los monocitos a diversos antígenos fúngicos. Los macrófagos que fagocitan sus conidias producen IL10, que tiene propiedades antiinflamatorias. Por lo tanto,

puede inhibir la expresión de receptores similares a Toll en la superficie de los queratinocitos, lo que reduce la respuesta celular Th1. Por lo tanto, la infección causada por este patógeno es persistente (17).

En el futuro, se deben desarrollar estrategias para desarrollar una vacuna segura y efectiva contra los dermatofitos mediante el estudio y la mejor caracterización de los factores de virulencia y la relación dermatofito hospedero (17).

### **Otros factores que influyen en la virulencia**

Las hemaglutininas, la xantomegnina (una toxina), el manano (que actúa como inmunosupresor) y la termotolerancia son algunos de los factores potencialmente patogénicos de los dermatofitos. Además, utilizan la transferrina para competir con la flora microbiana. Las hemolisinas producidas por las especies *Trichophyton* pueden ser cruciales para equilibrar la inmunidad celular del hospedero y la capacidad del hongo para reducir la respuesta inmunitaria. Las artroconidias son un tipo de hongo resistente que puede sobrevivir años en el ambiente y tolera temperaturas extremas, especialmente si se encuentran entre escamas de piel o restos de cabello (17).

#### **3.4.2. Formación de la caries por *C. albicans***

Hay distintas características del microorganismo que está relacionado con la cariogénicidad; Primeramente, la membrana plasmática llega a generar el ATPasa, que este bombea activamente los protones hacia fuera de la célula, esto provoca extraordinariamente una alta tolerancia a dichos ácidos y llegara a permitir una veloz acidificación extracelular; A parte *C. albicans* comienza a expulsar ácidos orgánicos, el más relevante es el pirúvico ( $pK_a = 2,39$ ) y el ácido acético ( $pK_a = 4,75$ ), incluso este es más potente que el ácido láctico ( $pK_a = 3,86$ ) llega aminorar el pH desde un ambiente ya que es intenso en su acidificación (18).

En varios estudios investigativos se resalta la velocidad de formación de ácido a partir de la glucosa por *C. albicans* y los lactobacilos de la cavidad bucal en condiciones de un pH estable llegaron a dar como resultado una acidogenicidad parecida de ambos microorganismos (18).

Parte importante de *C. albicans* se adhiere muy bien a la hidroxiapatita recubierta de la saliva y este tiene una unión al colágeno nativo o desnaturalizado. También demostrado que la aspartil proteasa secretada por los hongos son capaces de degrada el colágeno dentinario en las condiciones ácidas (18).

Las características que están descritas anteriormente muestran que *C. albicans* es un impetuoso patógeno de caries, su gran importancia a menudo lo han negado ya que las unidades de los hongos formadoras de colonias son generalmente presentadas por un bajo porcentaje del microbiota total. Además de eso la biomasa de *C. albicans* es más desmesurado que los de bacterias como el grande *Streptococcus* (18).

#### 3.4.3. Características de *C. albicans*:

- Calor
- Demasiada Humedad
- Ambientes cerrados
- Mayor riesgo en personas con bajas defensas

#### 3.4.4. Forma y Biopatología:

Es un hongo de dos formas, la primera es en forma de hifas la cual es invasiva ya que sobrecreció en los órganos, tiene forma de captus o elongada, sin embargo, tiene otra morfología que sería la segunda que son las levaduras, estas son de forma ovaladas redondeadas y son muy móviles (19).

Se considera también a las Pseudohifas que vendría a ser la tercera morfología que es una combinación de hifas y levaduras, los cuales remedan a los palillos de un tambor (20).

El factor tiempo siempre es importante, cuando se le permite de crecer de más, las manifestaciones se pueden ver de 3 a 30 días de incubación (21). Muy importante saber que la *C. albicans* cuando crecen en exceso sus factores de virulencia que son: adhesinas, proteinasas y fosfolipasas, dañando la capa escamosa madura y esto provoca lesiones algodonosas o algunos le dicen queso cottage y al ser raspadas queda una superficie enrojecida, se les denomina lesiones pseudomembranosas (21).

#### 3.4.5. Factores predisponentes

- Tabaco
- Diabetes o prediabetes
- Cáncer
- Desnutrición
- Obesidad
- Exceso en uso de antibiótico
- Corticoterapia (actúa como un inmunosupresor)

- Lactantes
- Linfomas
- Leucemias
- Patología renal
- Patología hepática
- Patologías o medicamentos debilitantes del sistema inmune
- Inmunosupresión (hereditaria: gammaglobulina, adquirida: inmunosupresores en trasplantes, terapia antineoplásica y SIDA)

### 3.4.6. Lugares de ataque del *Candida albicans*

- Cavidad Bucal
- Vías respiratorio (esófago, Pliegues cutáneos)
- Piel de bebés
- Cavidad Vaginal

## 3.5. Antecedentes Investigativos

### 3.5.1. Antecedentes internacionales:

#### “Caries dental en ratas asociada a *Candida albicans*”

**Autores:** Klinke T, Guggenheim B, Klimm W, Thurnheer T.

#### **Resumen:**

Además de la colonización oportunista ocasional de la mucosa oral, *Candida albicans* se encuentra frecuentemente en la dentina cariada. Se investigó el potencial de la levadura para inducir caries dental como consecuencia de su marcada capacidad para producir y tolerar ácidos. Ochenta ratas Osborne-Mendel con caries activa se criaron con una dieta suplementada con ampicilina y se expusieron a *Candida albicans* y/o *Streptococcus mutans*, excepto los controles. Durante el período de prueba de 28 días, a los animales se les ofreció la dieta cariogénica modificada 2000a, que contenía un 40% de diversos azúcares. Posteriormente, se puntuaron los molares superiores según la extensión de la placa. Después de la disección, se evaluó la superficie lisa y la caries de fisuras de los molares mandibulares. Los animales de prueba expuestos a *Candida albicans* mostraron lesiones de fisuras considerablemente más avanzadas ( $p < 0,001$ ) que los controles no expuestos. Si bien *S. mutans* arrojó resultados

similares, una asociación combinada de *Candida albicans* y *S. mutans* no tuvo ningún efecto sobre la incidencia de caries oclusal. La sustitución de la sacarosa de la dieta por glucosa no modificó la inducción de caries por *Candida albicans*. Sin embargo, los animales alimentados con una dieta que contenía un 20% de ambos azúcares no mostraron diferencias con los controles no infectados. La levadura no generó caries de superficie lisa. Este estudio proporciona evidencia experimental de que *Candida albicans* es capaz de causar caries oclusal en ratas en un índice elevado (20).

### “*Candida* y caries dental en niños, adolescentes y adultos: una revisión sistemática y metaanálisis”

**Autores:** Eidt Gustavo, Waltermann EDM, Hilgert JB, Arthur RA.

#### **Resumen:**

**Objetivo:** Esta revisión sistemática y metaanálisis tuvo como objetivo investigar si la presencia de hongos del género *Candida* en la cavidad bucal está asociada con caries dental en niños y adolescentes (de 6 a 18 años) o en adultos (mayores de 18 años).

**Diseño:** Se realizó búsqueda electrónica en las bases de datos MEDLINE, EMBASE y LILACS. Estudios que evaluaron la presencia de *Candida* spp. y se incluyeron caries dentales en esos individuos. Dos investigadores independientes realizaron la extracción de datos y la evaluación de la calidad de la evidencia. La razón de prevalencia (RP) se calculó considerando el intervalo de confianza (IC) del 95 %. El metaanálisis se realizó utilizando el modelo de efectos aleatorios de Mantel-Haenszel.

**Resultados:** Treinta de 123 publicaciones seleccionadas para lectura completa se incluyeron en la revisión sistemática. Prevalencia de *Candida* spp. en la cavidad bucal osciló entre el 7,7 % y el 78 %. Prevalencia de caries dental en individuos que albergan *Candida* spp. osciló entre 27,2% y 100% y fue mayor que en individuos que no albergan *Candida* spp. (RP = 1,72 [1,46-2,02]). La prevalencia de caries dental fue 2,3 veces mayor en individuos que albergaban *Candida* spp. en mucosas. Además, la prevalencia de caries dental fue 80 % y 48 % mayor en niños/adolescentes y adultos con *Candida* spp., respectivamente (IC 95 % [1,44-2,25] y [1,20-1,83]). La calidad de la evidencia de la mayoría de los estudios (n = 21) se calificó como regular.

**Conclusiones:** Estos resultados sugieren que, independientemente de la edad o el sitio de muestra, los individuos con presencia de *Candida* spp. tienen una mayor prevalencia de caries dental en comparación con individuos sin estos microorganismos en la cavidad bucal (30).

## “Potencial desmineralizante del biofilm dental adicionado con *Candida albicans* y *Candida parapsilosis* aislados de niños preescolares con y sin caries”

**Autores:** Caroline de Abreu Brandi T, Portela MB, Lima PM, Castro GFBA, Maia LC, Fonseca-Gonçalves A.

### **Resumen:**

Este estudio tuvo como objetivo investigar el potencial desmineralizante de la biopelícula dental agregada de *Candida albicans* (CA) y *Candida parapsilosis* (CP), aisladas de niños preescolares con y sin caries. Se fijaron bloques de esmalte bovino ( $n = 48$ ), con dureza inicial =  $341,50 \pm 21,83$  kg/mm<sup>2</sup> en placas de 24 pocillos que contenían medio de cultivo. Un pool de saliva infantil (PHS) fue el inóculo para la formación de biopelículas en presencia o ausencia de CA o CP aislados de acuerdo con cada grupo ( $G n = 8$ ): G1 - PHS; G2 - PHS + CA aislado de niños con caries; G3 - PHS + CP aislado de niños con caries; G4 - PHS + CA aislado de niños sin caries; G5 - PHS + CP aislado de niños sin caries; y G6 - control en blanco. Las placas se incubaron a 37 °C durante 5 días, con cambios diarios de medio de cultivo. Se calculó el porcentaje de pérdida de microdureza (MHL%) de los bloques, teniendo en cuenta los valores de dureza antes y después del experimento. La biopelícula dental se volvió más cariogénica, independientemente de las especies de *Candida* aisladas. El mayor % MHL se observó en G4 ( $85,90 \pm 8,72\%$ ) y G5 ( $86,13 \pm 6,74\%$ ) en comparación con los demás ( $p < 0,001$ ): G1 ( $34,30 \pm 14,30\%$ ) < G2 ( $59,40 \pm 10,56\%$ ) y G3 ( $65,80 \pm 6,36\%$ ) < G6 ( $13,68 \pm 4,86\%$ ) ( $p < 0,001$ ). Los aislados de *C. albicans* y *C. parapsilosis* indujeron la desmineralización del esmalte dental (31).

### **3.5.2. Antecedentes nacionales:**

No se han encontrado antecedentes nacionales.

### **3.5.3. Antecedentes locales:**

**Capacidad cariogénica de la *Candida albicans*: Estudio in vitro, Arequipa 2024.**

**Autores:** Paniagua Caira D.

**Resumen:** La *Candida albicans* es uno de los microorganismos que hospedan la cavidad bucal en la mayoría de los individuos sanos e inmunocomprometidos colonizando sitios mucosos y

también han sido aislados con alta frecuencia en lesiones de caries en niños; muy pocos estudios enfocan el papel que desempeña la *Candida albicans* en la patogenicidad del biofilm debido a que la mayoría de los estudios mencionan que la *Cándida albicans* solo es responsable de potenciar la cariogénicidad del *Streptococcus Mutans*. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar la capacidad cariogénica de la *Candida albicans* en un estudio in vitro. La investigación se realizó en 12 discos de piezas de bovino de 1cm de diámetro, divididos en 4 grupos, 3 subgrupos y también la cepa del microorganismo de *Candida albicans*; cada grupo está conformado por 3 discos. Los discos fueron colocados en una placa de tejidos de 6 pocillos en grupos de 3, previamente el microorganismo *Candida albicans* fue incubado y reactivado en Agar Sabouraud. En una placa Petri se colocó 80 uL del microorganismo sobre nueve de los discos (Escala 0.5 MacFarland) y se dejó 60 minutos a 37° en la estufa. Después de eso, se trasladó a una placa de cultivo de 6 pocillos dividiéndolos en los grupos correspondientes y añadiendo al control negativo que no fue inoculado, los grupos fueron divididos por días de control, retirando 2 discos de cada grupo y utilizando el indicador de caries Sable Seek realizando la tinción para su posterior vista microscópica; 1 disco de cada grupo es sometido a microscopia electrónica de barrido. Finalmente, los datos se procesaron utilizando ANOVA bidireccional con la prueba post hoc de Tukey y el valor de  $P < 0.001$  se consideró estadísticamente significativo. Los datos mostraron que *Candida albicans* es capaz de desarrollar caries sin la presencia de ningún microorganismo cariogénico; las diferencias significativamente mayores se evidencian entre los días 7-14 en donde se observa un aumento de área revelada en un 35% interpretando como pico a los primeros 14 días y posterior a ellos se observan cambios, pero no con tanta magnitud. Podemos concluir que la *Candida albicans* posee capacidad cariogénica, desmineralizando al esmalte dental, por lo tanto, no es solo un patógeno que afecta únicamente a la mucosa de la cavidad bucal, sino que también afecta a los tejidos duros del diente. La importancia clínica que presenta esta investigación revela la importancia de un nuevo enfoque en los tratamientos que en la actualidad se tienen para combatir a la enfermedad de caries; esto debido a que la *Candida albicans* es un patógeno con la capacidad de provocar caries dental y debe ser incluido en uno de los agentes causales de la caries. (22).

#### 4. HIPÓTESIS

**Dado que** la literatura reconoce la participación de la *C. albicans* en la enfermedad de la caries dental y que algunos estudios sugieren su capacidad cariogénica, **es probable** que haya proteínas que expliquen la desmineralización del diente.



# **CAPITULO II**

## **PLANTEAMIENTO OPERACIONAL**

## 1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

### 1.1. Técnicas

En la presente investigación se recolectará muestra del sobrenadante de la *C. albicans* en diente a los 1, 7 y 14 día. Se empleará la técnica observacional y medición usando el instrumento de electroforesis bidimensional (2-DE o 2D-PAGE) y el análisis de homología secuencial de proteínas por espectrometría de masas.

CUADRO DE TÉCNICAS E INSTRUMENTOS		
VARIABLES	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Nivel de expresión proteómico en el sobrenadante de <i>C. albicans</i> en diente a los 1 (control), 7 y 14 días.	Observación y Medición	1. Electroforesis bidimensional (2-DE o 2D-PAGE) 2. Análisis de secuencia por espectrometría de masas (ESI-QTOF).

#### 1.1.1. Electroforesis bidimensional (2-DE/2D-PAGE)

El gel de electroforesis bidimensional (2-DE o 2D-PAGE) es una técnica primaria que se utiliza en proteómica (8). Se logra la separación de la mezcla compleja de muestras usando 2 diferentes propiedades de la proteína. En la primera dimensión, también llamada “isoelectric focusing” (IEF), las proteínas son separadas por el valor de puntos isoeléctricos (pI) y en la segunda dimensión consiste en SDS- PAGE, donde las proteínas son separadas por el peso molecular relativo (9).

#### 1.1.2. Estudios de homología secuencia “de novo” por Espectrometría de masas en tándem.

La espectrometría de masas en tándem ESI-CID-MS/MS se realizó utilizando un espectrómetro de masas híbrido de tiempo de vuelo de cuadrupolo (Q-TOF, Micromass Manchester, Reino Unido), equipado con una fuente de nanopulverización que funciona en modo de ionización positiva. Las condiciones de ionización fueron: voltaje capilar de 2,3 kV, voltaje de cono y lente RF1 de 30 y 100 V, respectivamente, y una energía de colisión de 10 eV. La temperatura de la fuente fue de 70 oC y el cono de gas fue N2 a un caudal de 80 l/h; no se utilizó gas nebulizador para obtener el spray. Se utilizó gas argón para la fragmentación de iones. La calibración externa se realizó con yoduro de sodio en un rango de masas de 50 a 3000 m/z. Todos los

espectros se adquirieron con el analizador TOF en modo “Vmode” (TOF kV=9,1) y voltaje MCP a 2150 V (8).

### 1.1.3. Secuenciación “de novo” de péptidos trípticos.

Los péptidos trípticos alquilados, se separaron mediante HPLC de fase reversa, se recogieron manualmente, se liofilizaron y se re-suspendieron en acetonitrilo al 20 % y ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1 % (8)..

Cada péptido se introdujo por separado en la fuente del espectrómetro de masas con una jeringa a un caudal de 500 nl/min-1. Antes de realizar los espectros de masas en tándem, se adquirió un espectro ESI/MS (modo TOF MS) para cada pico obtenido de la HPLC de fase inversa en el rango de 400 a 2000 m/z para seleccionar los iones de interés (9). Estos iones se fragmentaron posteriormente en una celda de colisión (modo TOF MS/MS). Se utilizaron diferentes energías de colisión según el estado de carga y la masa de los iones. Los espectros resultantes se adquirieron en el analizador TOF y se resolvieron utilizando el software del algoritmo MassLynx-MaxEnt (9)..

Los espectros de carga única se procesaron manualmente utilizando la aplicación PepSeq incluida con MassLynx (10)..

En el segundo paso, al combinar los patrones de fragmentación y consultar la literatura relacionada, se estableció una base de datos MASCOT para el análisis de secuencia de proteínas. En el tercer paso, la base de datos autoconstruida se importó a MASCOT (11).

## 1.2. Instrumentos:

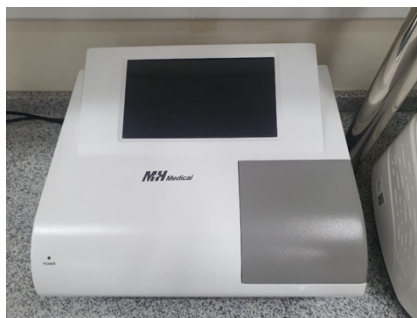
### 1.2.1 Instrumentos documentales:

- Ficha de recolección de datos. (ANEXO 4)

### 1.2.2. Instrumentos mecánicos:

- Muestra de sobrenadante de *C. albicans* en diente de 1 día (control).
- Muestra de sobrenadante de *C. albicans* en diente de 7 días.
- Muestra de sobrenadante de *C. albicans* en diente de 14 días.

- Equipo de bioseguridad (guantes, lentes, mascarilla)
- Columna Cromatográfica de interacción hidrofóbica (HiTrap)
- Lector de placa (Mhmedical USA)



### 1.3. Materiales de Verificación

- Cámara fotográfica.
- Computadora, laptop y/o Tablet.
- Útiles de escritorio.
- Bases de datos electrónicas (PatternLab)

## 2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

### 2.1. Ubicación Espacial

#### 2.1.1. Ámbito General

La investigación se realizó en Arequipa.

#### 2.1.2. Ámbito específico

Laboratorio de Química de Proteínas – VRI de la Universidad Católica de Santa María.

### 2.2. Ubicación Temporal

Esta investigación se realizará entre el mes de marzo - agosto del año 2024.

### 2.3. Población/muestra

En la presente investigación se estudiará 1 muestra de sobrenadante de *C. albicans* en diente cariado de 1 (control), 7 y 14 días.

### 3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

#### 3.1. Organización de la información

Antes de iniciar el estudio será necesario:

- Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM (ANEXO 1).
- Coordinación con los encargados del laboratorio específico.

#### 3.2. Recursos

**Físicos:** Ambiente físico del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM.

**Humanos:** El equipo de investigación se compone de:

- Estudiante: Valdivia Cervera, Jeremy Ramiro
- Asesor: Dr. Gustavo Alberto Obando Pereda

**Económicos:** Los recursos económicos propios del investigador.

#### 3.3. Prueba Piloto/Validación del Instrumento

Debido al tamaño de la población y muestra no se realizará prueba piloto.

### 4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

Realizado el análisis de proteómica de las muestras

- **Conteo:** Se utilizará matrices de recuento

#### 4.1. Tipo de procesamiento:

Se empleará un procesamiento computarizado utilizando programas como Mascot y Pattern lab como base de datos para el análisis de secuencia.

#### 4.2. Plan de Procesamiento

- **Clasificación:** La información obtenida de los instrumentos aplicados será ordenada en una matriz de sistematización

- **Codificación:** Para el procesamiento computarizado será necesario haber

- **Tabulación:** Se elaborará tablas de doble entrada

- **Graficación:** Se elaborará gráficos de barra doble

- **Criterios de inclusión:**

- Sobrenadante no contaminado

- Muestras no contaminadas.

- **Criterio de exclusión:**

- Infiltración multimicrobiana en la colección.

**4.3. Plan de Análisis**

VARIABLE INVESTIGATIVA	TIPO DE VARIABLE	ESCALA POR ESCALA DE MEDICIÓN	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA (Medidas de tendencia central y de dispersión)	ESTADÍSTICA
Nivel de expresión proteómica en sobrenadante de <i>C. albicans</i> en diente cariado de 1 (control), 7 y 14 días.	Cuantitativo		De razón Ninguna Ninguna	



# CAPÍTULO III RESULTADOS

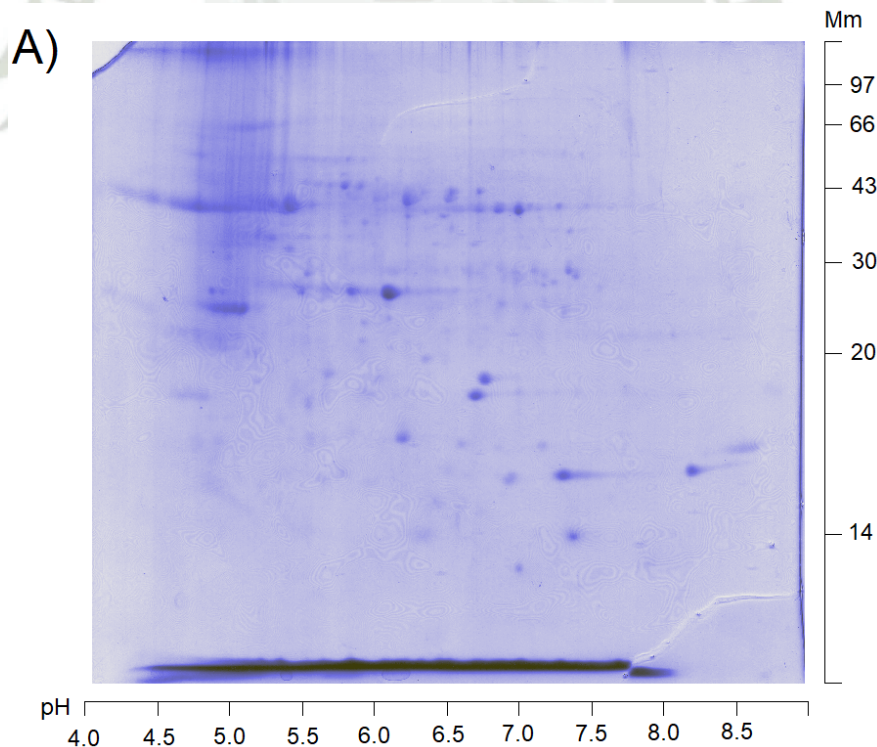
## 1. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS:

### ELECTROFORESIS BIDIMENSIONAL (2D) EN GEL DE POLIACRILAMDA (SDS\_PAGE).

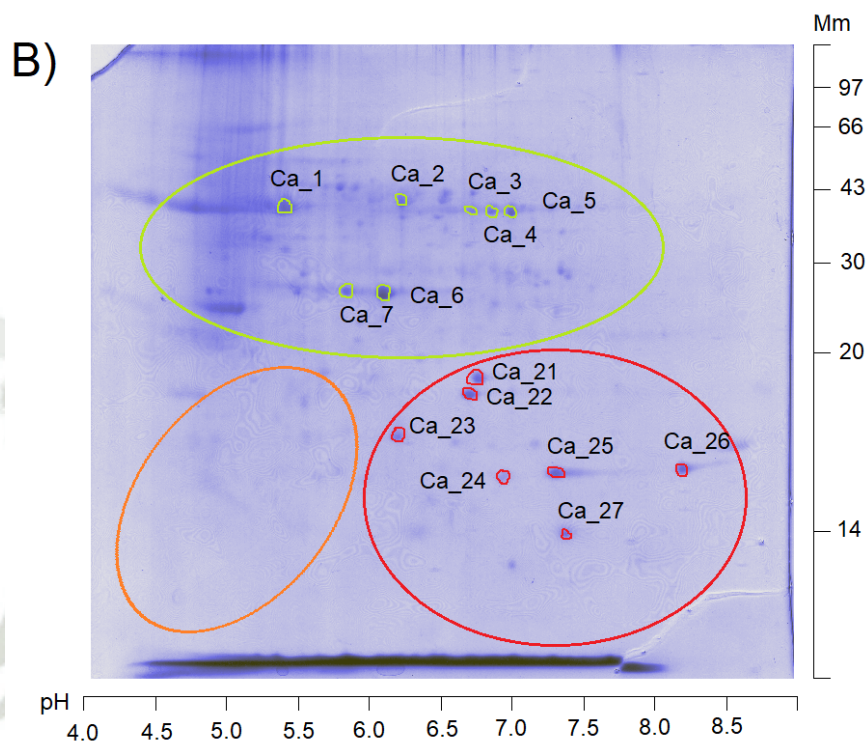
#### A) Gel bidimensional (2d) procedente de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en un día (01). (mapa de referencia o control).

El gel bidimensional (2D) de electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de la figura 1 en A y B, muestra el extracto de proteínas expresadas de *Cándida albicans* y analizadas bajo su punto isoeléctrico y masa molecular con ayuda de software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), coloreado con Comasie blue.

La figura A y B muestra la expresión proteica dividida en tres (3) grupos, tal como se evidencia en la figura 1B, siendo los rangos de masas en torno a los 14 a 66 kDa y pI entre 4.5 y 8.5.



**Figura 1.** Figura 1A) Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en un (1) día.

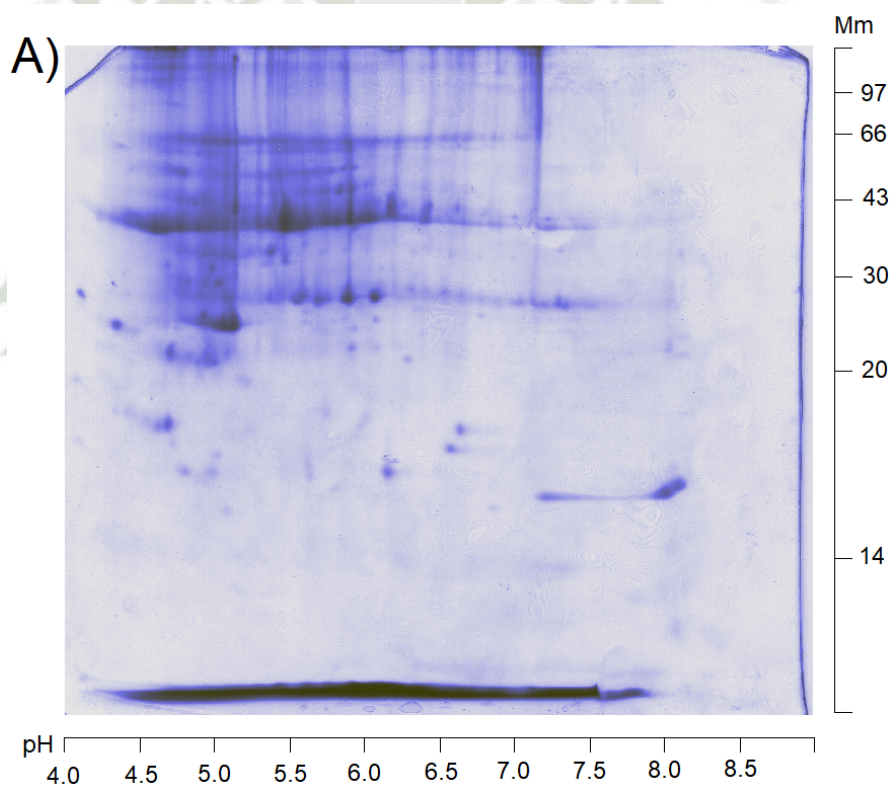


**Figura 2.** Figura 1B) Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en un (1) día. Los grupos de puntos identificados como los “spots” consignados bajo el círculo de línea verde fueron siete (7) denominados: Ca\_1 a Ca\_7. Y los “spots” consignados en el círculo rojo fueron siete (7), denominados Ca\_21 al Ca\_27, respectivamente. Por MS/MS y el programa de búsqueda fue el MASCOT (Ca. USA). El software de análisis es el PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA).

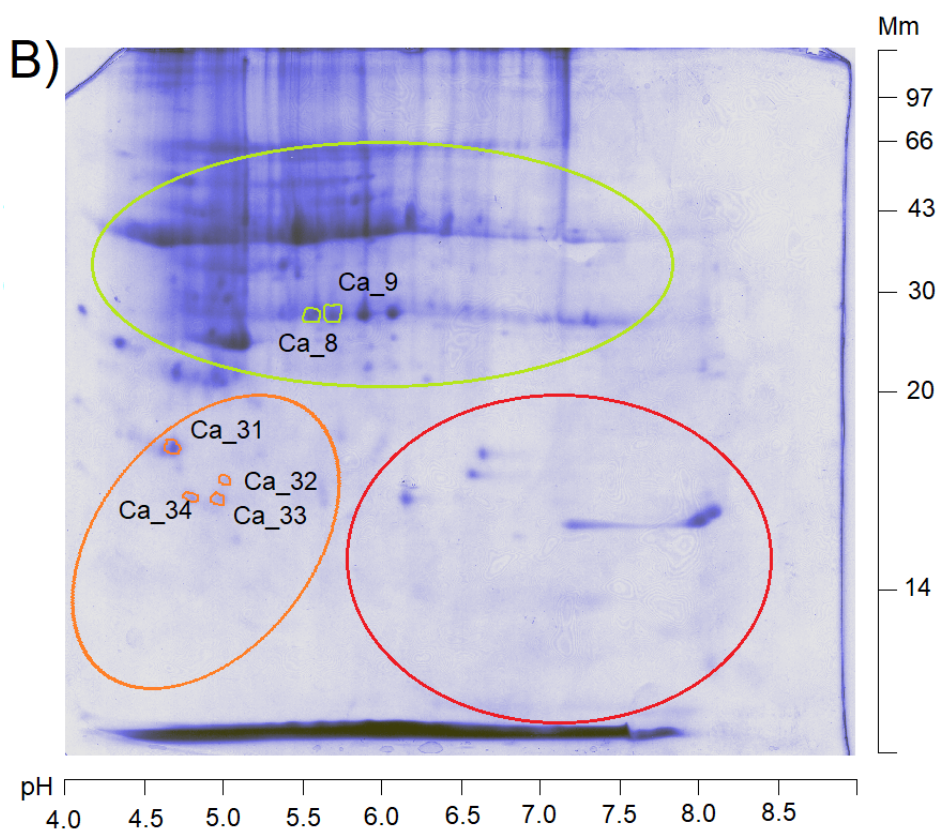
**B) Gel bidimensional (2d) procedente de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en siete (07) días.**

El gel bidimensional (2D) de electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de la figura 2 en A y B, muestra el extracto de proteínas expresadas de *Cándida albicans* y analizadas bajo su punto isoeléctrico y masa molecular con ayuda de software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), coloreado con Comasie blue.

La figura A y B muestra la expresión proteica dividida en tres (3) grupos, siendo de mayor densidad sólo dos (2) grupos, tal como se evidencia en la figura 1B, siendo los rangos de masas en torno a los 20 a 30 kDa y pI entre 4.5 y 6.5.



**Figura 3.** Figura 2A) Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en siete (7) días.



**Figura 4.** Figura 2B Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en siete (07) días. Los grupos de puntos identificados como los “spots” consignados bajo el círculo de línea verde fueron dos (2) denominados: Ca\_8 y Ca\_9. Y los “spots” consignados en el círculo naranja fueron cuatro (4), denominados Ca\_31 al Ca\_34, respectivamente. Por MS/MS y el programa de búsqueda fue el MASCOT (Ca. USA). El software de análisis es el PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA).

Tabla 1:

**Proteínas identificadas procedente de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en siete (07) días, por espectrometría de masas ESI-Q-TOF-MS/MS a través BLAST**

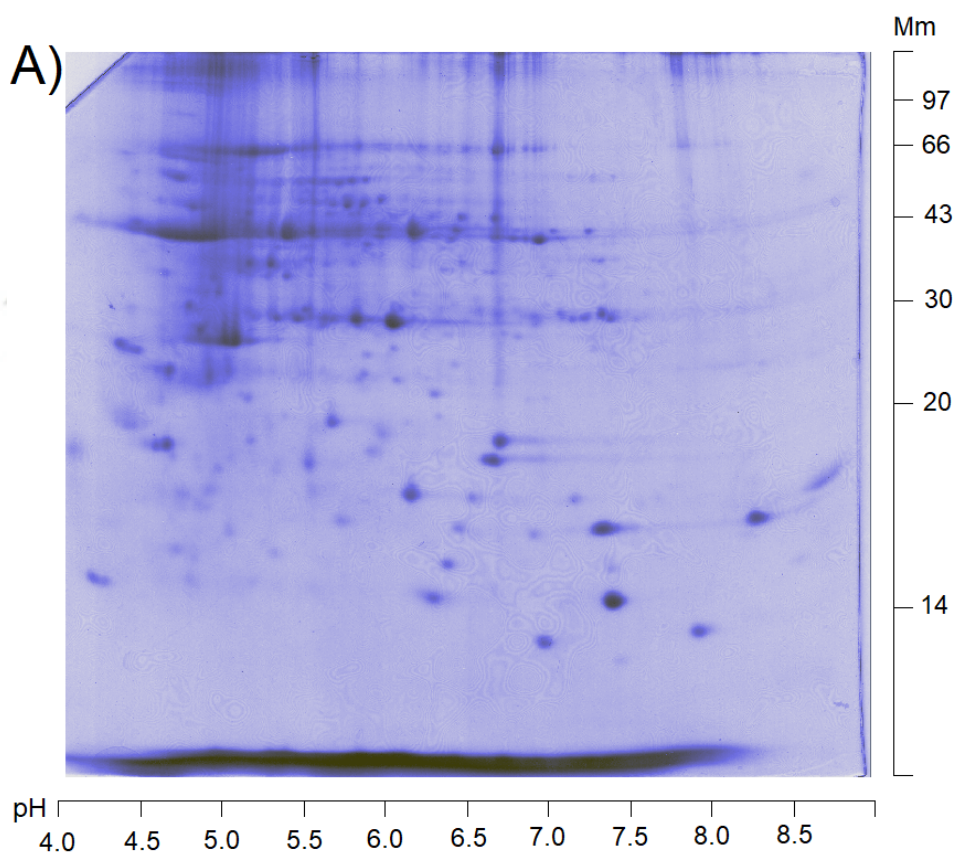
(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>).

N	SPOT NUMBER	ACCESSION	PEPTIDE SEQUENCE	Mm	pI
1	Ca_08	AOW26077	...KYNIPRERIVILTK...	1742.11	10.32
2	Ca_09	AOW26479	...KYIGYDMDQAIALWNSAL ...	2071.35	3.92
3	Ca_31	XP_721446	...KIPVMAKCRIGHFTESQILEALGVYID ...	3146.69	5.56
4	Ca_32	AOW27414	...KLKLTDYDNQYLETLKVLTTVGEISK ...	3012.45	6.40
5	Ca_33	AOW26936	...KYRLLASDDTISDWGHEYMRHLALEIGE...	3318.69	4.84
6	Ca_34	EEQ44481	... KKGANEATKTLNRGISEFII ...	2189.50	9.71

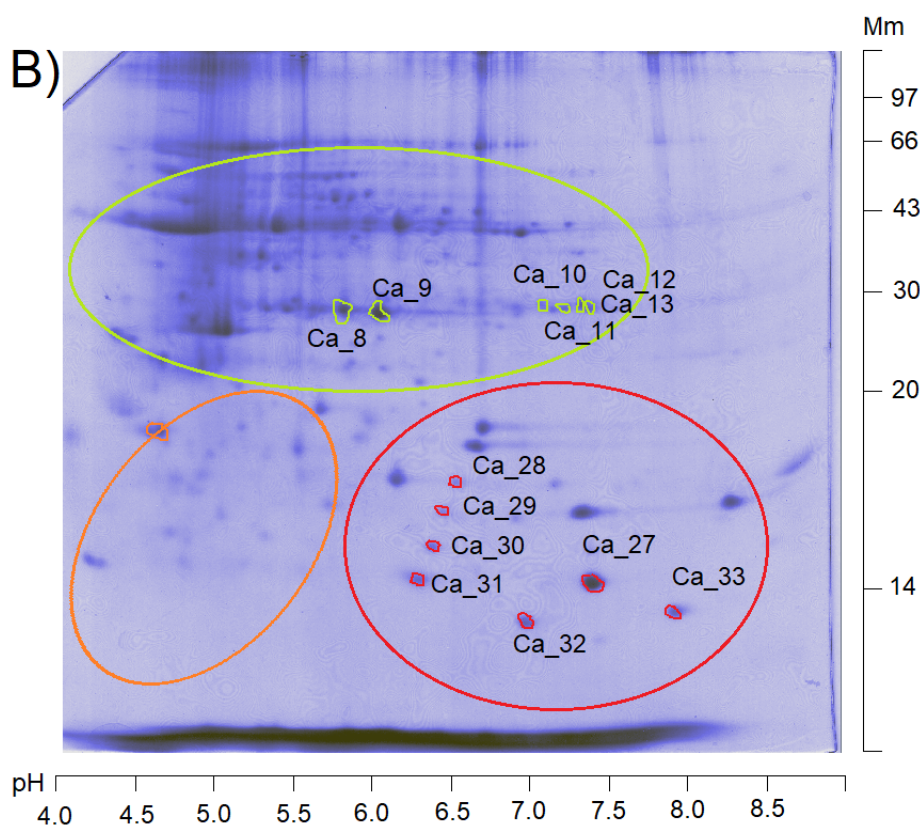
**C) Gel bidimensional (2d) procedente de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en catorce (14) días.**

El gel bidimensional (2D) de electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de la figura 3 en A y B, muestra el extracto de proteínas expresadas de *Cándida albicans* y analizadas bajo su punto isoeléctrico y masa molecular con ayuda de software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), coloreado con Comasie blue.

La figura A y B muestra la expresión proteica dividida en tres (3) grupos, siendo de mayor densidad sólo dos (2) grupos, tal como se evidencia en la figura 1B, siendo los rangos de masas en torno a los 20 a 30 kDa y pI entre 4.5 y 6.5.



**Figura 5.** Figura 3A) Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en catorce (14) días.



**Figura 6.** Figura 3B Electroforesis bidimensional (2D) de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa en catorce (14) días. Los grupos de puntos identificados como los “spots” consignados bajo el círculo de línea verde fueron seis (6) denominados: Ca\_8 al Ca\_13. Y los “spots” consignados en el círculo rojo fueron siete (7), denominados Ca\_27 al Ca\_33, respectivamente. Por MS/MS y el programa de búsqueda fue el MASCOT (Ca. USA). El software de análisis es el PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA).

**Tabla 2:**

**Proteínas identificadas procedente de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en catorce (14) días, por espectrometría de masas ESI-Q-TOF-MS/MS a través BLAST**

(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>).

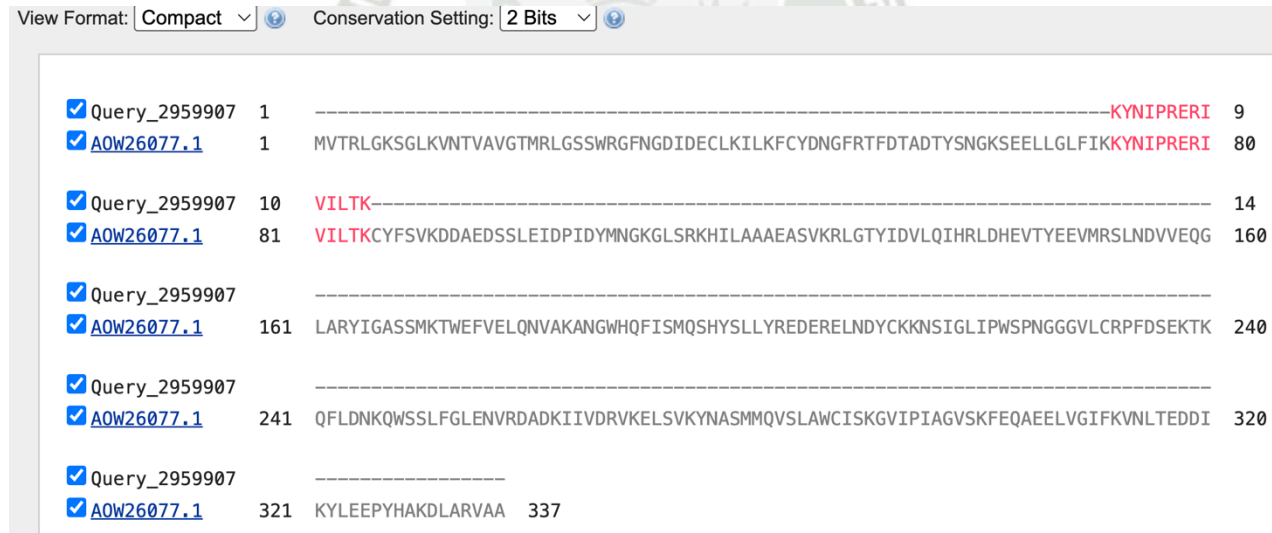
N	SPOT NUMBER	ACCESSION	PEPTIDE SEQUENCE	Mm	pI
1	Ca_08	AOW26077	... KYNIPRERIVILTK...	1742.11	10.32
2	Ca_09	AOW26479	... KYIGYDMDQAIALWNSAL ...	2071.35	3.92
3	Ca_10	Q59SN8	... KTAPIGETATVIVDVPYHT ...	2011.28	5.41
4	Ca_11	AOW28902	... KQPALKCNCCKASVENVVPSSND ...	2417.71	7.99
5	Ca_12	AAA68015	... FGAGEDPERPFDDAVVDGF ...	2039.12	3.40
6	Ca_13	XP_002422331	... KAVLSAANIEIEEEKVEK ...	1999.25	4.59
7	Ca_27	XP_717759.2	... GDSTFVGRAAALVNKA...	15425.32	7.42
8	Ca_28	AOW27484	... KLNDTEYKKVALLGWAIELLQAYFLV ...	3038.59	6.38
9	Ca_29	AOW31260	... KADIFQVPETLPQEVLDKMHAPAK ...	2705.14	5.57
10	Ca_30	AOW27184	... KVNKSLIEFLKSANLSN ...	1904.20	9.71
11	Ca_31	XP_721446	... KGEAGTGDVSSAVDHIRTIKK ...	2168.40	8.74
12	Ca_32	AOW27414	... KCGYKDGGMVEMVCRF ...	1691.00	7.99
13	Ca_33	AOW26936	... KLAEYFQYLVKELNLLDPKVPEDVYK ...	3154.66	4.83

## 2. ESTUDIO DE HOMOLOGÍA SECUENCIAL POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS ESI-Q-TOF-MS/MS

### A) Análisis de homología secuencial de cultivo de *C. albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en siete días (07).

#### A.1) Estudio de homología secuencial del péptido 1 corresponde (Ca\_08).

La homología secuencial del péptido Ca\_08 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans* SC5314), con identificación de secuencia ID AOW26077.1, como se muestra en la figura 7. La secuencia consenso...KYNIPRERIVILTK... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).



**Figura 7.** Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_08

## A.2) Estudio de homología secuencial del péptido 2 corresponde (Ca\_09).

La homología secuencial del péptido Ca\_09 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans SC5314*) con identificación de secuencia ID XP\_711874.2, (*Candida albicans I2C*) con identificación de secuencia ID KGT71299.1, (*Candida albicans WO-1*) con identificación de secuencia ID EEQ42376.1 como se muestra en la figura 8. La secuencia consenso... KYIGYDMDQAIALWNSAL ... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

<input checked="" type="checkbox"/>	Query_9622790	-----	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">XP_711874.2</a>	1	MGRVQDILEKRRLVIDGALGTELERLLPTTSTYLPSSGSPWSGQVLIKPNGLVEQVHLDYINVGADMIITSTYQTSYASL 80
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGT71299.1</a>	1	MGRVQDILDKRRLVIDGALGTELERLLPTTSTYLPSSGSPWSGQVLIKPNGLVEQVHLDYINVGADMIITSTYQTSYASL 80
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">EEQ42376.1</a>	1	MGRVQDILEKRRLVIDGALGTELERLLPTTSTYLPSSGSPWSGQVLIITNPPELVEQVHLDYINAGADMIITSTYQTSYASL 80
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_9622790	1	-KYIGYDMDQAIALWNSAL----- 18
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">XP_711874.2</a>	81	HKYIGYDMDQAIALWNSALNVAKNAVKKSGRDDVVIAGSIGPYATLLANGSEYNGDYQGVTDEELIEYHTPLFEFYENS 160
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGT71299.1</a>	81	HKYIGYDMDQAIALWNSALNVAKNAVKKSGRDDVVIAGSIGPYATLLANGSEYNGDYQGVTDEELIEYHTPLFEFYENS 160
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">EEQ42376.1</a>	81	HKYIGYDMDQAIALWNSALNVAKNAVKKSGRDDVVIAGSIGPYATLLANGSEYNGDYQGVTDEELIEYHTPLFEFYENS 160
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_9622790	-----	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">XP_711874.2</a>	161	VDIICIEIIPSFQELKVIIGLAKKYTSKEFFISINPQTGSALSDGTSLEVAQLFAEINDPRFVAVGINCTSYENVQDIS 240
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGT71299.1</a>	161	VDIICIEIIPSFQELKVIIGLAKKYTSKEFFISINPQTGSALSDGTSLEVAQLFAEINDPRFVAVGINCTSYENVQDIS 240
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">EEQ42376.1</a>	161	VDIICIEIIPSFQELKVIIGLAKKYTSKEFFISINPQTGSALSDGTSLEVAQLFAEINDPRFVAVGINCTSYENVQDIS 240
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_9622790	-----	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">XP_711874.2</a>	241	TYLTDFFPLFIYPNLGFVYDITVHKFVSKVLQESTWSKSVAKWLAFPNVKAIGGCCSTTPAEIKQVAQLINQ 311
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGT71299.1</a>	241	TYLTDFFPLFIYPNLGFVYDITVHKFVSKVLQESTWSKSVAKWLAFPNVKAIGGCCSTTPAEIKQVAQLINQ 311
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">EEQ42376.1</a>	241	TYLTDFFPLFIYPNLGFVYDITVHKFVSKALQESTWSKSVAKWLAFPNVKAIGGCCSTTPAEIKQVAQLINQ 311

**Figura 8.** Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_09

### A.3) Estudio de homología secuencial del péptido 3 corresponde (Ca\_31).

La homología secuencial del péptido Ca\_31 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Dehalococcoides mccartyi* BAV1) con identificación de secuencia ID A5FS82.1, (*Dehalococcoides mccartyi* 195) con identificación de secuencia ID Q3Z9H3.1, (*Herpetosiphon aurantiacus* DSM 785) con identificación de secuencia ID A9B891.1 como se muestra en la figura 9. La secuencia consenso... KIPVMAKCRIGHFTESQILEALGVDYID... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo)

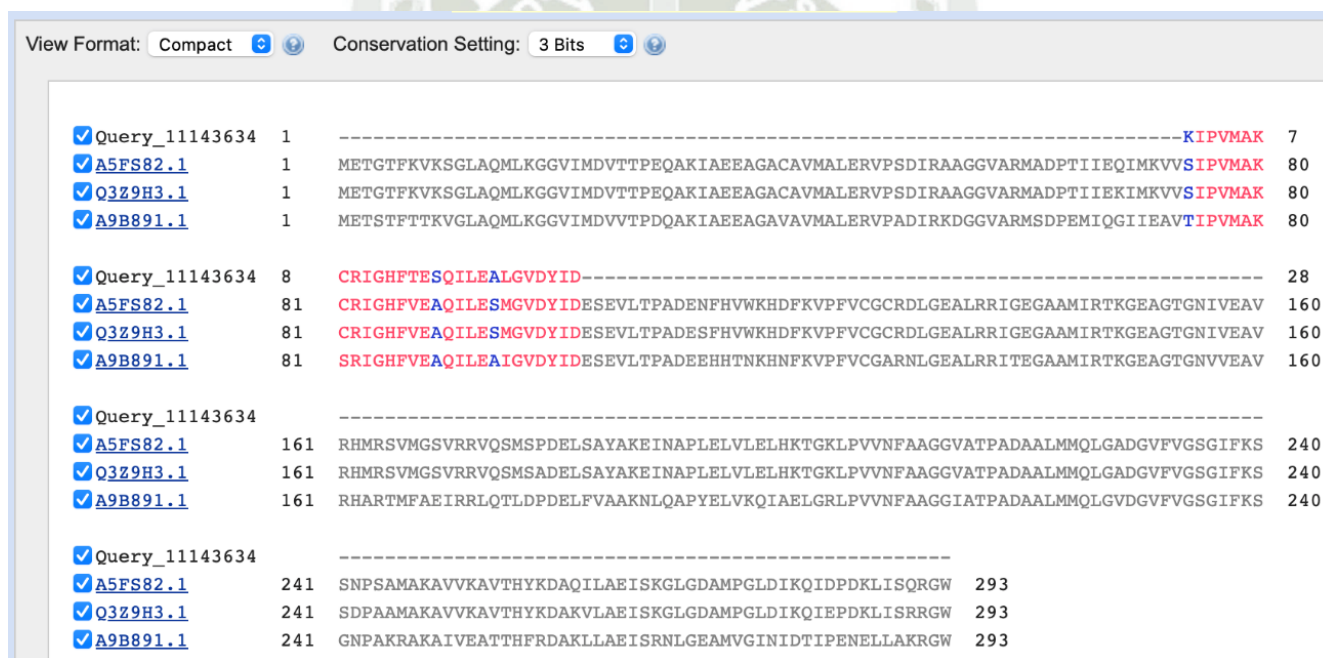


Figura 9. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_31

#### A.4) Estudio de homología secuencial del péptido 4 corresponde (Ca\_32).

La homología secuencial del péptido Ca\_32 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans* (*Candida stellatoidea*) con identificación de secuencia ID O93806.1 como se muestra en la figura 10. La secuencia consenso ... KLKLTDYDNQYLETLKVLTTVGEISK ... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).



Figura 10. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_32.

### A.5) Estudio de homología secuencial del péptido 5 corresponde (Ca\_33).

La homología secuencial del péptido Ca\_33 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST *Saccharomyces cerevisiae* S288C con identificación de secuencia ID P38764.3, *Neurospora crassa* OR74A con identificación de secuencia ID Q7S8R8.2, *Nakaseomyces glabratus* CBS 138 con identificación de secuencia ID Q6FPV6.1 como se muestra en la figura 11 (parte 1 y 2). La secuencia consenso ... KYRLLASDDTISDWGHEYMRHLALEIGE ... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

#### Parte 1

✓ Query_7159094	----	-----	-----
✓ P38764.3	1	MVDE	SDKKQQTII--D--EQSQISPEKQTPNKKDKKKEEQLSEEDAKLKTDLLELLVERLKEDDSSLYEASLNALKE 73
✓ Q7S8R8.2	1	MAQE [ 6 ]	ADKGRGKAvdDEKHHQDVGKTPANGKKEEQNASEELSEEDQQLKSELEMLVERLTESDATLYKPALEAMKN 83
✓ Q6FPV6.1	1	M--S	TDKKKEEV--PKPETEDLTVKDETKNKDKKANEELSEEDQLKGDLEMLVQTLLEDDSKLYETTLTQLKE 73
✓ Query_7159094	1	-----	-----KYRLLASDDTISDWGHEY 18
✓ P38764.3	74	SIKNSTSSMTAVPKPLKFLRPTYPDLCSIIDKWTDPNLKSSLADVLSILAMTYSENGKHDLSLR	RYRLLSDVSDPEGWGHEY 153
✓ Q7S8R8.2	84	SIKSTSSMTAVPKPLKFLRPHYETMTKLYDEWPAGDDKSSLADVLSVIGMTYSDEDRQDTLKYRLLSPTQD	IGSWGHEY 163
✓ Q6FPV6.1	74	FIKNSTSSMTAVPKPLKFLRPFYPDLCKAYDKWSDKQKSSLADMLSVLAMTYSDTHQHDSLR	FRLLSDTSNIASWGHEY 153
✓ Query_7159094	19	MRHLALEIGE-----	----- 28
✓ P38764.3	154	IRHLALEIGEVYNDQVEKDAEDETSSdgSKSDGSAATSGFEFSKEDTLRLCLDIVPYFLKHNGEEDAVD	LLEIESIDKL 233
✓ Q7S8R8.2	164	VRHLALEIGEVYAKRI---ANDEPTQ-----	ELVDLALVLPFLKSNAEADAVDLMSELEIEEL 221
✓ Q6FPV6.1	154	VRHLALEIGEVYNEQVEKEAEDNSTS--TESSQPQPHMFEFSKDVILQLSLEIVPYPMKHNGEEDAVD	LLEIEAIEKL 231
✓ Query_7159094	-----	-----	-----
✓ P38764.3	234	PQFVDENTFQRVCQYMVACVPLPPEDVAFKLTAYSIIYLSQNELTDAIALAVRLGEEDEMIRSVF	DAT--SDPVMHKQLAY 312
✓ Q7S8R8.2	222	PKFLDENTYSRVCLYMVSMVNLTYPDNETFLRVAHSIYKYNQHTQAMVLAIRLNDLGLIEKDFEA	AdEDPALRKQLAF 301
✓ Q6FPV6.1	232	PQFVDENTYKRVCCQYMIACVQLLPPEDISFLQTAYSIIYSELQPEALSIAIRLGNEDMIRSVF	DAT--SDPIVHQQLAY 310
✓ Query_7159094	-----	-----	-----
✓ P38764.3	313	ILAAQKTSFEYE	GVQDIIGNGLSEHFLYLAKELNLTGPKVPEDIYKSHLDNKSVMFSSAGLDSAQQNLASSFVNGF 389
✓ Q7S8R8.2	302	LIARQGIPLFE [ 7 ]	KIYECLSNQKLESEYFKSLGKELNILEPKTTEDIYKSHLESSR--VAGMTNFD SARHNLAA
✓ Q6FPV6.1	311	ILAAQRVPFEHP	EQEIIGNTKLSEHFLYLAKELNLLTPKIPEDIYKSHLDSKSVFSSAGLDSAQQNLAA
✓ Query_7159094	-----	-----	-----
✓ P38764.3	390	LNLGYCNDKLIV---	DNDNWWYKTRGDGMTSAVASIGSIYQWNLD--GLQQLDKYLVDPEVKAGALLGIGISASGVHdg 465
✓ Q7S8R8.2	385	VNAGFGSDKMMLVgkDKDSDWVWTKDEGMMSTVASLGTLLLDWVEnGLDHVDKYTYL	EEQIQAGAYLAIGIMNTNVRT-- 463
✓ Q6FPV6.1	388	LNLGYCNDKMIT---	DNDNWWYKTRGDGMTSAVASIGSIYQWNID--GLQQLDKYLVDPEVKAGLLGIGIASAGVHH-- 462
✓ Query_7159094	-----	-----	-----
✓ P38764.3	466	EVEPALLLQD--YVTNPDTKISSAAILGLGIAFAGSKNDEVLG	LLLLPIAASTDLP IETAAMASLALAHVFGTCNGDIT 543
✓ Q7S8R8.2	464	DSEPAMALLADpdKLAHKNPLIRVATIMGLGLAYAGSCKEELLSFLVNIISDPEESMQVSAMAALACGMIFV	GSSNSEVS 543
✓ Q6FPV6.1	463	DVEPALLLQE--YINHSDTKISTAAILGIGIAFAGSKNDEVLG	LLLLPVVNTENSLELAAIALALSHVFGTCNGDIT 540

Parte 2

<input checked="" type="checkbox"/> Query_7159094	-----		
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">P38764.3</a>	544	TSIMDNFL-ERTAIELKTDWVRFLALALGILYMGQGEQVDDVLETISAIIEHPMTSAIEVLVGS CAYTGTGDVLLIQDLLH	622
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q7S8R8.2</a>	544	EAIVTLLdEESGSRNLNDKWSRFLALGLGLLYFGRQEQVDVILETLKAVEHPMAKPTAVLAEICAWAGTGAVLKIQELLH	623
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q6FPV6.1</a>	541	TAVMDNFL-ERTPLELKSEWARFLALSLGLLYLQGGEHVDDVLETINAIEHPMTSAIEVLISSCAYTATGDVLLVQDLLH	619
<input checked="" type="checkbox"/> Query_7159094	-----		
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">P38764.3</a>	623	RLTPKNVKG---EEDADEEETAEGQTNSISDFLGEQVNE PTKNEEAEievDEMEVDAEGEEVE[5]TEKKNGESLEG	698
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q7S8R8.2</a>	624	ICNEHIEDG---EEKKGEELLQ-----	642
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q6FPV6.1</a>	620	RLTPKAVKSsdeDEDEDNEELSQEDMNGISAF LGKKENE[4]PQGNEGAD---NEMEVD SHQDETT TGENNVKKEEN	694
<input checked="" type="checkbox"/> Query_7159094	-----		
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">P38764.3</a>	699	EEIKSEKKGKSSDKD[6]NDDEEEKEAGIVDELAYAVLGIALIALGEDIGKEMSLRHFHGLMHYGN EHIRRMVPLAMG	781
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q7S8R8.2</a>	643	-----AYAVLGIGLIAMGEDVQGEMVLRHFHGLMHYGEANIRRAVPLAMG	687
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q6FPV6.1</a>	695	EEEKTEKSEKTENDEE EEDEEESKDEGANDELAYAVIGIALITMGEEIGKEMSLRHFHGLMHYGN EHIRRMVPLAMG	771
<input checked="" type="checkbox"/> Query_7159094	-----		
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">P38764.3</a>	782	IVSVSDPQMKVFDTLTRFSDHADLEVMNSIFAMGLCGAGTNNARLAQLLRQLASYY SREQDALFITRLAQGLLHLGKGT	861
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q7S8R8.2</a>	688	LISPSNPQMKVYDTLSTRYSHDNDNEVAINAIFAMGLL GAGTNNARLAQLLRQLASYYHRDQESLFMVR IAQGLLHMKGKT	767
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q6FPV6.1</a>	772	LVSVADPQMKVFDTLTRFSDHDPDLVSMNSIFAMGLCGVGTNNARLAQLLRQLASYY SREQDALFITRLAQGLVHLGKGT	851
<input checked="" type="checkbox"/> Query_7159094	-----		
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">P38764.3</a>	862	MTMDVFN-DAHVLNKVTLASILTAVGLVSPS FML--KHHQLFYMLNAGIRPKFILALNDEGEPIKVNVRV GQAVETVGQ	938
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q7S8R8.2</a>	768	LSVSPFHtDRQVLSNVATAGLLAVLVAMIDAKQFI tSKSHYLLYWIVTAMHPRMLVTLDEDL KPLTVNVRV GQAVDVVGQ	847
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q6FPV6.1</a>	852	MTMDIFN-DAHVLNKVTLASLLTVLVGLISPSFIL--KHHQLFYMLNSGVRPKFIITLNEEGEQIKVNVRIGQAVETVGQ	928
<input checked="" type="checkbox"/> Query_7159094	-----		
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">P38764.3</a>	939	AGRPKITGWITQSTPVL LNHG ERAELETDEYISYTS HIEGVVILKKNPDYREEE	993
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q7S8R8.2</a>	848	AGRPKITGWITQSTPVL LGYGERAELEDDQYISLSSTLEGLVILRKNPDWE GEEK	902
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Q6FPV6.1</a>	929	AGKPKITGWITQSTPVL LGHG ERAELENDEYISYTN NIEGVVILKKNPNFQEEE	983

Figura 11. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión triéptica, del spot Ca\_33.

### A.6) Estudio de homología secuencial del péptido 6 corresponde (Ca\_34).

La homología secuencial del péptido Ca\_34 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Eremothecium gossypii* ATCC 10895) con identificación de secuencia ID Q757T2.1, (*Debaryomyces hansenii* CBS767) con identificación de secuencia ID Q6BLQ3.1, (*Saccharomyces cerevisiae* S288C) con identificación de secuencia ID P39990.1 como se muestra en la figura 12. La secuencia consenso ... KKGANEATKTLNRGISEFII ... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

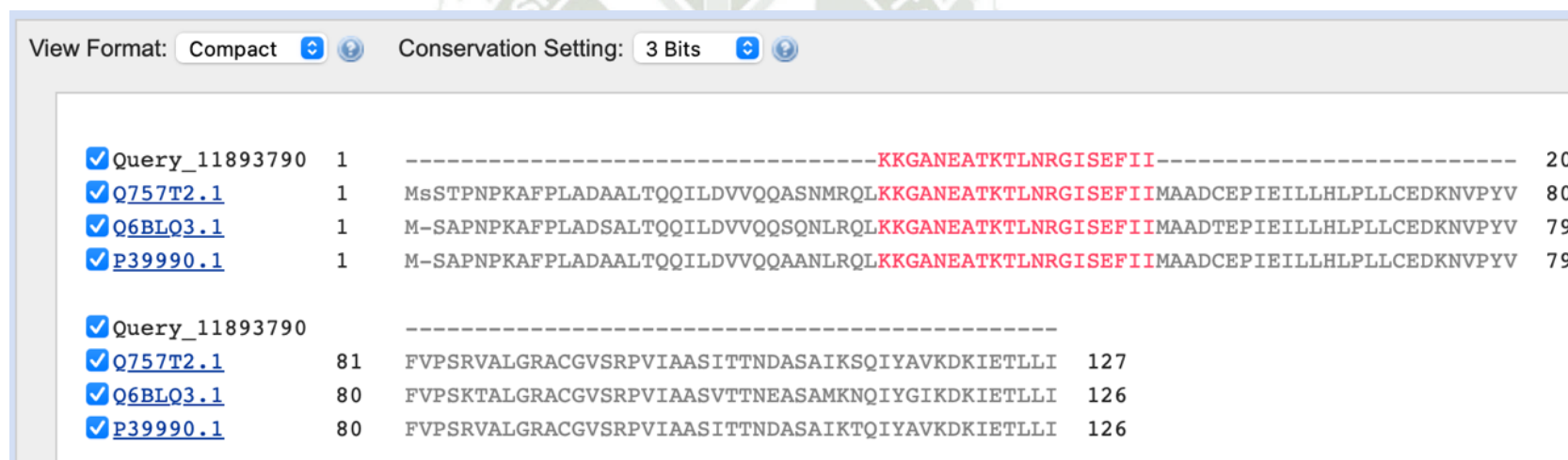
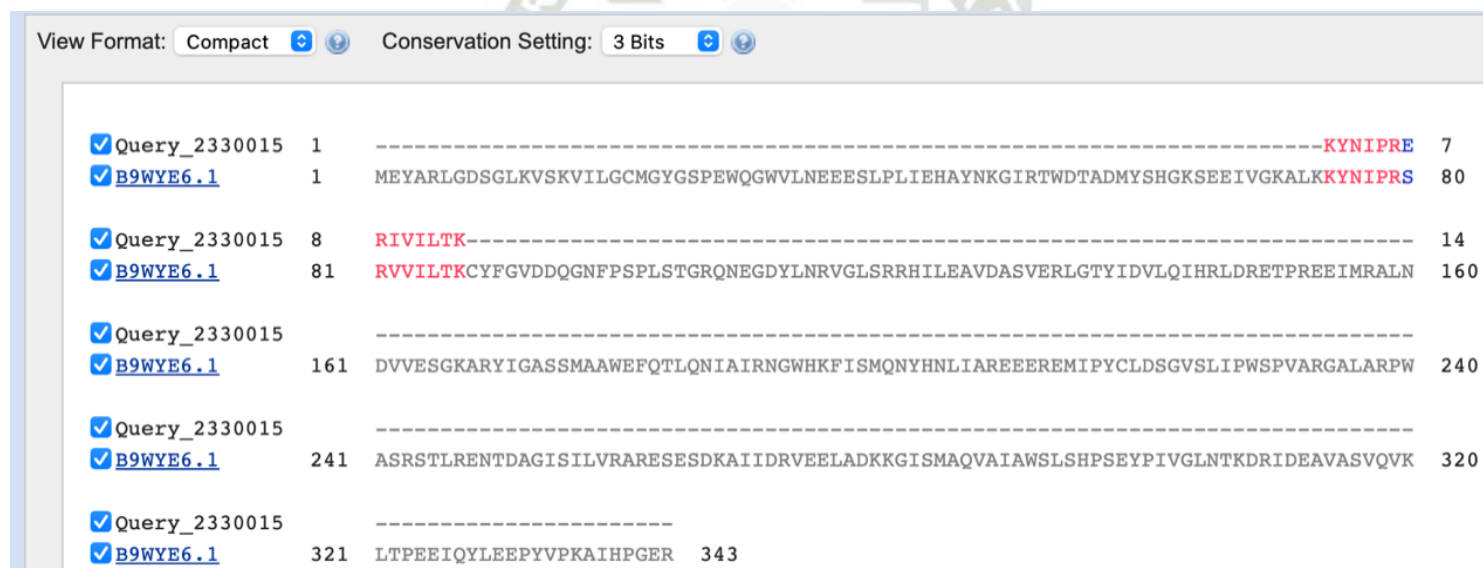


Figura 12. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_34

**B) Análisis de homología secuencial de cultivo de *Candida albicans* sobre pieza dentaria en medio de cultivo en placa, en catorce días (14).**

**B.1) Estudio de homología secuencial del péptido 1 corresponde (Ca\_08).**

La homología secuencial del péptido Ca\_08 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Aspergillus parasiticus*), con identificación de secuencia ID B9WYE6.1, como se muestra en la figura 13. La secuencia consenso...KYNIPRERIVILTK... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).



**Figura 13.** Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_08.

## B.2) Estudio de homología secuencial del péptido 2 corresponde (Ca\_09).

La homología secuencial del péptido Ca\_09 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans SC5314*) con identificación de secuencia ID XP\_711874.2, (*Candida albicans I2C*) con identificación de secuencia ID KGT71299.1, (*Candida albicans WO-1*) con identificación de secuencia ID EEQ42376.1 como se muestra en la figura 14. La secuencia consenso... KYIGYDMDQAIALWNSAL ... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

<input checked="" type="checkbox"/>	Query_9622790	-----	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">XP_711874.2</a>	1 MGRVQDILEKRRKLVIDGALGTELERLLPTTSTYLPSSGSPWLSGQVLIKNPGLVEQVHLDYINVGADMIITSTYQTSYASL	80
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGT71299.1</a>	1 MGRVQDILDKRKLVIDGALGTELERLLPTTSTYLPSSGSPWLSGQVLIKNPGLVEQVHLDYINVGADMIITSTYQTSYASL	80
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">EEQ42376.1</a>	1 MGRVQDILEKRRKLVIDGALGTELERLLPTTSTYLPSSGSPWLSGQVLIITNPPELVEQVHLDYINAGADMIITSTYQTSYASL	80
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_9622790	1 -KYIGYDMDQAIALWNSAL-----	18
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">XP_711874.2</a>	81 HKYIGYDMDQAIALWNSALNVAKNAVKKSGRDDVIIAGSIGPYATLLANGSEYNGDYQGVTDDEELIEYHTPLFEFYENS	160
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGT71299.1</a>	81 HKYIGYDMDQAIALWNSALNVAKNAVKKSGRDDVIIAGSIGPYATLLANGSEYNGDYQGVTDDEELIEYHTPLFEFYENS	160
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">EEQ42376.1</a>	81 HKYIGYDMDQAIALWNSALNVAKNAVKKSGRDDVIIAGSIGPYATLLANGSEYNGDYQGVTDDEELIEYHTPLFEFYENS	160
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_9622790	-----	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">XP_711874.2</a>	161 VDIICIEIETIPSFQELKVIIGLAKKYTSKEFFISINPQTGSALSDGTSLEVAQLFAEINDPRFVAVGINCTSYENVDQIS	240
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGT71299.1</a>	161 VDIICIEIETIPSFQELKVIIGLAKKYTSKEFFISINPQTGSALSDGTSLEVAQLFAEINDPRFVAVGINCTSYENVDQIS	240
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">EEQ42376.1</a>	161 VDIICIEIETIPSFQELKVIIGLAKKYTSKEFFISINPQTGSALSDGTSLEVAQLFAEINDPRFVAVGINCTSYENVDQIS	240
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_9622790	-----	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">XP_711874.2</a>	241 TYLTDPLFIYPNLGFVYDITVHKFVSKVLQESTWSKSVAKWLAFFPNVKAIGGCCSTTPAEIKQVAQLINQ	311
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGT71299.1</a>	241 TYLTDPLFIYPNLGFVYDITVHKFVSKVLQESTWSKSVAKWLAFFPNVKAIGGCCSTTPAEIKQVAQLINQ	311
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">EEQ42376.1</a>	241 TYLTDPLFIYPNLGFVYDITVHKFVSKALQESTWSKSVAKWLAFFPNVKAIGGCCSTTPAEIKQVAQLINQ	311

**Figura 14.** Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_09.

### B.3) Estudio de homología secuencial del péptido 3 corresponde (Ca\_10).

La homología secuencial del péptido Ca\_10 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans SC5314*) con identificación de secuencia ID P0CU38.1, (*Candida albicans SC5314*) con identificación de secuencia ID A0A1D8PQB9.1, (*Candida albicans SC5314*) con identificación de secuencia ID Q59SN8.1 como se muestra en la figura 15 (parte 1, 2, 3 y 4). La secuencia consenso... KTAPIGETATVIVDVPYHT... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

Parte 1

Query	Accession	Score	Identical	Positives	Accession	Score	Identical	Positives
Query_8511485	P0CU38.1	1	100%	100%	MLLQFLLLSLCVSVATAKVIITGVFNSFDLSLWTRAGNYAYKGNRPTWNAVLGNSLDGTSANPGDTFFLNMPCVFKFITD	80		
Query_8511485	A0A1D8PQB9.1	1	100%	100%	MLLQFLLLSLCVSVATAKVIITGVFNSFDLSLWTRAGNYAYKGNRPTWNAVLGNSLDGTSANPGDTFFLNMPCVFKFITD	80		
Query_8511485	Q59SN8.1	1	100%	100%	MLLQFLLLSLCVSVATAKVIITGVFNSFDLSLWTRAGNYAYKGNRPTWNAVLGNSLDGTSANPGDTFFLNMPCVFKFITD	80		
Query_8511485	P0CU38.1	81	100%	100%	QTSVDLTADGVKYATCQFYSGEFTTFSSLKCTVSNLTSIKALGTVTLPIFNVGGTSLVDLESKCFKAGTNTVTF	160		
Query_8511485	A0A1D8PQB9.1	81	100%	100%	QTSVDLTADGVKYATCQFYSGEFTTFSSLKCTVSNLTSIKALGTVTLPIFNVGGTSLVDLESKCFKAGTNTVTF	160		
Query_8511485	Q59SN8.1	81	100%	100%	QTSVDLTADGVKYATCQFYSGEFTTFSSLKCTVSNLTSIKALGTVTLPIFNVGGTSLVDLESKCFKAGTNTVTF	160		
Query_8511485	P0CU38.1	161	100%	100%	NDGDKKISIDVDPEKTNEDASGYPIASRLIPSINKASITYVAPQCANGYTSANGMFTIGSGDTTIDCSNVHVGITKGLND	240		
Query_8511485	A0A1D8PQB9.1	161	100%	100%	NDGDKKISIDVDPEKTNEDASGYPIASRLIPSINKASITYVAPQCANGYTSANGMFTIGSGDTTIDCSNVHVGITKGLND	240		
Query_8511485	Q59SN8.1	161	100%	100%	NDGDKKISIDVDPEKTNEDASGYPIASRLIPSINKASITYVAPQCANGYTSANGMFTIGSGDTTIDCSNVHVGITKGLND	240		
Query_8511485	P0CU38.1	241	100%	100%	WNFPVSDSLSYNKTCSSTGISITYENVPAGYRPFVDVYTSVSD-QNRQLKYTNDYACVGSLSQKPFNLRGYNNSA	319		
Query_8511485	A0A1D8PQB9.1	241	100%	100%	WNFPVSDSLSYNKTCSSTGISITYENVPAGYRPFVDVYTSVSD-QNRQLKYTNDYACVGSLSQKPFNLRGYNNSA	319		
Query_8511485	Q59SN8.1	241	100%	100%	WNFPVSDSLSYNKTCSSTGISITYENVPAGYRPFVDVYTSVSD-QNRQLKYTNDYACVGSLSQKPFNLRGYNNSA	319		
Query_8511485	P0CU38.1	320	100%	100%	NSNGFIVATTRIVDSTTAV[432]TTTTVTAPPGGTATVIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTVPGGTDTVIR	826		
Query_8511485	A0A1D8PQB9.1	321	100%	100%	NSNGFIVATTRIVDSTTAV TLPFNSESDKTKTEIILQPIPTTTITTSYVGVV-TSYSTKTAPIGETATVIVD	394		
Query_8511485	Q59SN8.1	320	100%	100%	NSNGFIVATTRIVDSTTAV TLPFNPSIDKTKTEIILQPIPTTTITTSYVGVV-TSYSTKTAPIGETATVIVD	393		
Query_8511485	P0CU38.1	15	100%	100%	VPYHT-----KTAPIGETATVIVD	19		
Query_8511485	A0A1D8PQB9.1	827	100%	100%	EPPNPTVTTTEYWSQSYATTTVTAPPGGTATVIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTVTGPPGGTDTVIREPPSP	905		
Query_8511485	Q59SN8.1	395	100%	100%	VPYHTTTVTSEMTGTLITTTTRNPTDSIDTVVQVPSNPVTTTEYWSQSYATTTVTAPPGGDSVIREPPNPT	474		
Query_8511485	P0CU38.1	906	100%	100%	TTEYWSQSYATTTVTAPPGGTATVIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTVTGPPGGTDTVIREPPNPTVTTTEYWSQ	985		
Query_8511485	A0A1D8PQB9.1	475	100%	100%	TTEYWSQSYATTTVTAPPGGDSVIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTVTAPPGGDSVIREPPNPTVTTTEYWSQ	554		
Query_8511485	Q59SN8.1	474	100%	100%	TTEYWSQSYATTTVTAPPGGDSVIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTITAPPGGDTVIREPPNPTVTTTEYWSQ	553		
Query_8511485	P0CU38.1	986	100%	100%	SYATTTVTAPPGGTATVIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTVTGPPGGTDTVIREPPSPVTTTEYWSQSYATTTV	1065		
Query_8511485	A0A1D8PQB9.1	555	100%	100%	SYATTTVTAPPGGDSVIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTVTAPPGGDSVIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTV	634		
Query_8511485	Q59SN8.1	554	100%	100%	SYATTTVTAPPGGDSVIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTVTAPPGGDSVIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTV	633		

Parte 2

<input checked="" type="checkbox"/> Query_8511485		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> P0CU38.1	1066	TAPPGGTATVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTGTGPPGGTDTVIIREPPSPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTA	1145
<input checked="" type="checkbox"/> AQA1D8POB9.1	635	TAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSFATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTD	714
<input checked="" type="checkbox"/> Q59SN8.1	634	TATPGGTDVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTD	713
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8511485		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> P0CU38.1	1146	TVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTGTGPPGGTDTVIIREPPNPTVTTTEYWSQSFATTTTAPPGGTDVIIREPP	1225
<input checked="" type="checkbox"/> AQA1D8POB9.1	715	SVIIREPPNPTVTTTEYWSQSFATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSFATTTTAPPGGTDVIIREPP	794
<input checked="" type="checkbox"/> Q59SN8.1	714	TVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTGTGPPGGTDTVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTGTGPPGGTDTVIIREPP	793
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8511485		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> P0CU38.1	1226	NPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSFATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTE	1305
<input checked="" type="checkbox"/> AQA1D8POB9.1	795	NPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTGTGPPGGTDTVIIREPPNPTVTTTE	874
<input checked="" type="checkbox"/> Q59SN8.1	794	SPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTATVIIKEPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTGTGPPGGTDTVIIREPPNPTVTTTE	873
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8511485		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> P0CU38.1	1306	YWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTATVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYAT	1385
<input checked="" type="checkbox"/> AQA1D8POB9.1	875	YWSQSYATTTTSPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYAT	954
<input checked="" type="checkbox"/> Q59SN8.1	874	YWSQSFATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYTT	953
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8511485		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> P0CU38.1	1386	TTTAPPGGTATVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTITAPPGTDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSFATTTTAPPG	1465
<input checked="" type="checkbox"/> AQA1D8POB9.1	955	TTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSFATTTTAPPG	1034
<input checked="" type="checkbox"/> Q59SN8.1	954	TTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTATPGGTDVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTAPPG	1033
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8511485		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> P0CU38.1	1466	GGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTATVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTATVII	1545
<input checked="" type="checkbox"/> AQA1D8POB9.1	1035	GGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTGTGPPGGTDTVII	1114
<input checked="" type="checkbox"/> Q59SN8.1	1034	GGTDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNHTVTTTEYWSQSYTTTTVIAPPGGTDVII	1113
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8511485		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> P0CU38.1	1546	REPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTITAPPGTDTVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNYTV	1625
<input checked="" type="checkbox"/> AQA1D8POB9.1	1115	REPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTSPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSFATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTV	1194
<input checked="" type="checkbox"/> Q59SN8.1	1114	REPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTITAPPGTDTVIIREPPNHTVTTTEYWSQSFATTTTAPPGGTDVIIREPPNHTV	1193
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8511485		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> P0CU38.1	1626	TTTEYWSQSYATTTTAPPGGTATVIIREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTGTGPPGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQ	1705
<input checked="" type="checkbox"/> AQA1D8POB9.1	1195	TTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTAPPGGTDVIIREPPNPTVTTTEYWSQ	1274
<input checked="" type="checkbox"/> Q59SN8.1	1194	TTTEYWSQSYATTTTITAPPGTDTVIIREPPNHTVTTTEYWSQSYATTTTITAPPGTDTVIIREPPNPTVTTTEYWSQ	1273
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8511485		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> P0CU38.1	1706	SYATTTTAPPGGTATVIIREP PNYTVTTTEYWSQSYATTT---TVTAPPG GDTVIIREPPNYTVTTTEYWS	1775
<input checked="" type="checkbox"/> AQA1D8POB9.1	1275	SYATTTTAPPGGTDVIIREP PNTVTTTEYWSQSYATTT---TVTAPPG GDTVIIREPPNYTVTTTEYWS	1344
<input checked="" type="checkbox"/> Q59SN8.1	1274	SYTTATTVTAPPGGTDVIIYDT[ 11 ]PHYTNHT-LWSTTWIETkt.iTETSCEG[ 7 ]SVSTRIVTIPNNIETPMVTNT	1363

Parte 3

```
✓Query_8511485 -----
✓P0CU38_1 1776 SQSYATTTTAVTAPPG-GTDTVIIREPPSPVTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTATVIIREPPNYTITTEYWSQSYATT 1854
✓A0A1D8POB9_1 1345 SQSYATTTTAVTAPPG-GTDTVIIREPPSPVTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTATVIIREPPNYTITTEYWSQSYATT 1423
✓O59SN8_1 1364 VDTTTESTLQSPSGIFSESGVSVETESSTPTTAQTNPSPVPTTESEVVFTKGNNGNGPYESPSTNVKSSMDENSEPTTS 1443

✓Query_8511485 -----
✓P0CU38_1 1855 TTVTGPPGGTDVILIREPPNPTVITTEYWSQSYATTTITAPPGATDSVRIREPPNYTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPG 1934
✓A0A1D8POB9_1 1424 TTITAPPGGTDTVIIREPPNYTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTDTVIIREPPNYTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPG 1503
✓O59SN8_1 1444 TAAS-----TSTDENETIATTGSVEA---SSPIISSADETTTIVTTT---AESTSVIEQQTNNG 1498

✓Query_8511485 -----
✓P0CU38_1 1935 GTDSVIREPPNPTVITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTATVIIREPPNYTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTDTVIIIR 2014
✓A0A1D8POB9_1 1504 GTDTVIIREPPSPVTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTATVIIREPPNYTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTDTVIIIR 1583
✓O59SN8_1 1499 GGNAPSATSTSSPSTTTAN-SDSVITSTT-----STNQSQSQNSDTQQTTLSQQTSSSLV-- 1554

✓Query_8511485 -----
✓P0CU38_1 2015 EPPSPVTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTATVIIREPPSPVTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTATVIIREPPNYTIT 2094
✓A0A1D8POB9_1 1584 EPPNYTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTDTVIIREPPNYTITTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTDTVIIREPPNYTIT 1663
✓O59SN8_1 1555 ---SLHMLTTFDGGSGVSIQHSWLCGLITLLSLFI----- 1586

✓Query_8511485 -----
✓P0CU38_1 2095 TTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTDTVIIREPPNPTVITTEYWSQSYATTLTITAPPGGTNSVIRVHSSNDDESSESTFST 2174
✓A0A1D8POB9_1 1664 TTEYWSQSYATTTTAVTAPPGGTDTVIIREPPNPTVITTEYWSQSYATTLTITAPPGGTNSVIRVHSSNDDESSESTFST 1743
✓O59SN8_1 -----

✓Query_8511485 -----
✓P0CU38_1 2175 LSVPSFSGSISVSVTVSRPHYVNSTVTHLPSSSSKPVDPSSDVVTSTNDNSLSTLTSSENGKTSVAISTTFCDDENGCO 2254
✓A0A1D8POB9_1 1744 LSVPSFSGSISVSVTVSRPHYVNSTVTHLPSSSSKPVDPSSDVVTSTNDNSLSTLTSSENGKTSVAISTTFCDDENGCO 1823
✓O59SN8_1 -----

✓Query_8511485 -----
✓P0CU38_1 2255 TSIPQGSVVRTATTATTTTIIIGDNNGSGKSKGELSSSTGVSVTNTATPDVPSTKVPSPNGAPGTGVPPLAPSTETQT 2334
✓A0A1D8POB9_1 1824 TSIPQGSVVRTATTATTTTIIIGDNNGSGKSKGELSSSTGVSVTNTATPDVPSTKVPSPNGAPGTGVPPLAPSTETQT 1903
✓O59SN8_1 -----

✓Query_8511485 -----
✓P0CU38_1 2335 TNNVPGSPNIPATGTTDIIIRESTTVSHVTGNGNTGVPMPNPVLTSTSLTGATNSATNPSHETSVENTGSGGNTNIVTP 2414
✓A0A1D8POB9_1 1904 TNNVPGSPNIPATGTTDIIIRESTTVSHVTGNGNTGVPMPNPVLTSTSLTGATNSATNPSHETSVENTGSGGNTNIVTP 1983
✓O59SN8_1 -----

✓Query_8511485 -----
✓P0CU38_1 2415 PSSATATVVIPTDNGATTKGQDTA-GGNSNGSTATNIIQGGNNEPGNQPGTNTTGEVGTDTTQSVESISQPTTLSQQT 2493
✓A0A1D8POB9_1 1984 PSSATATVVIPTDNGATTKGQDTA-GGNSNGSTATNIIQGGNNEPGNQPGTNTTGEVGTDTTQSVESISQPTTLSQQT 2063
✓O59SN8_1 -----
```

Parte 4

```
✓Query_8511485 -----
✓P0CU38_1 2494 TSSLISTPLASTFDGSGSIVQHSGLVYLLTAISIFF 2530
✓A0A1D8POB9_1 2064 TSSLISTPLASTFDGSGSIVQHSGLVYLLTAISIFF 2100
✓O59SN8_1 -----
```

Figura 15. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_10.

#### B.4) Estudio de homología secuencial del péptido 4 corresponde (Ca\_11).

La homología secuencial del péptido Ca\_11 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans* SC5314) con identificación de secuencia ID XP\_019330904.1, (*Candida albicans* P60002) con identificación de secuencia ID KHC50670.1, (*Candida dubliniensis* CD36) con identificación de secuencia ID XP\_002419784.1 como se muestra en la figura 16. La secuencia consenso ...KQPALKCNCSKASVENVVPSSND... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

<input checked="" type="checkbox"/> Query_1983956	1	-----KQPALKCNCSKASVENVVPSSND-----	23
<input checked="" type="checkbox"/> XP_019330904.1	1	MACSAAQCVCAQKSTCSCGKQPALKCNCSKASVENVVPSSNDACACGKRKSSCTCGANAICDGTRDGETDFTNLK	76
<input checked="" type="checkbox"/> KHC50670.1	1	MACSAVQCVCAQKSTCSCGKQPALKCNCSKASVENVVPSSNDACACGKRKSSCTCGANAICDGTRDGETDFTNLK	76
<input checked="" type="checkbox"/> XP_002419784.1	1	MACSATQCVCAQKSTCSCGKQPALKCNCSKAS IENI IPLSNDACACGKRKSNCTCGVNSICDGNRDGEIDFTNLK	76

**Figura 16.** Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión triptica, del spot Ca\_11.

### B.5) Estudio de homología secuencial del péptido 5 corresponde (Ca\_12).

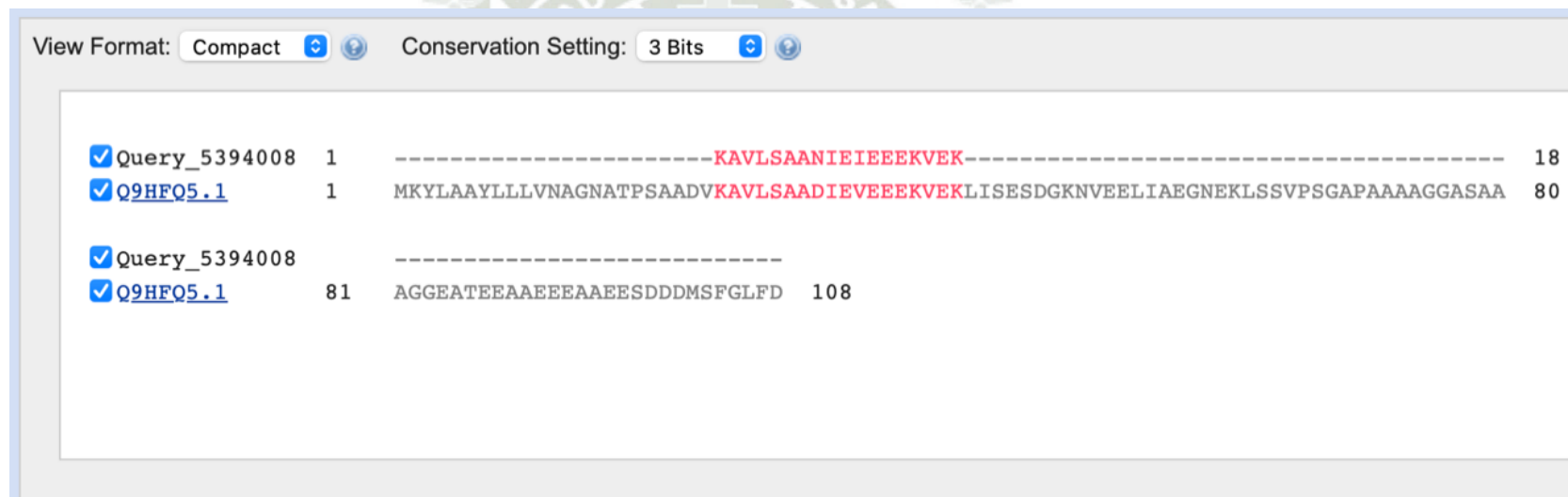
La homología secuencial del péptido Ca\_12 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans SC5314*) con identificación de secuencia ID P40953.2, (*Candida albicans - Candida stellatoidea*) con identificación de secuencia ID P46876.2, (*Candida albicans SC5314*) con identificación de secuencia ID Q5AAH2.1 como se muestra en la figura 17. La secuencia consenso ...FGAGEDPERPFDDAVVDGF... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

<input checked="" type="checkbox"/> Query_5160932	-----	-----	-----	-----	-----
<input checked="" type="checkbox"/> P40953.2	1	-MLSFKSLAAAVVASS [6] NQVALYWGQNGAGGQERLAQYCEADVDDIILLSFLNLFPPDINVNANQCGNTFESGLLH	82		
<input checked="" type="checkbox"/> P46876.2	1	MILNLI LLLAISIVASA SNI AAYWGQNGAGDQQLGDYCSSSPASIIILSFLDGF PNL-SLNFANQCSGTFSSGLAH	76		
<input checked="" type="checkbox"/> Q5AAH2.1	1	MILNLI LLLAISIVASA SNI AAYWGQNGAGDQQLGDYCSSSPASIIILSFLDGF PNL-SLNFANQCSGTFSSGLAH	76		
<input checked="" type="checkbox"/> Query_5160932	1	-----	-----	FGAGEDPERPFDDAVVDGF	-----
<input checked="" type="checkbox"/> P40953.2	83	CSQIGADIKTCQSLGKTVLLSLGGVVDYGFSDVASATKPADTLWNKFGAGEDPERPFDDAVVDGFD FDIHGGATGYPE	162		
<input checked="" type="checkbox"/> P46876.2	77	CSQIGSDIKSCQQQKTKLLSLGGATGNYGFSSEAVQFAGTLWNKFGGKDSERPFDDAVVDGFD FDIENKDTGYAA	156		
<input checked="" type="checkbox"/> Q5AAH2.1	77	CSQIGSDIKSCQQQKTKLLSLGGATGNYGFSSEAVQFAGTLWNKFGGKDSERPFDDAVVDGFD FDIENKDTGYAA	156		
<input checked="" type="checkbox"/> Query_5160932	163	LATALRGKFAKDTsKNYFLSAAQPCYPDASLGDLLSKVPLDFAFIQFYNNYCSINGQFNVDTSKFAdsaPNKNIKLFV	242		
<input checked="" type="checkbox"/> P40953.2	157	LATQLRKYFSTGT-KSYLSAAPQCPYPDESVDLMSQVLDLDFAFIQFYNNYCSLNQFNWNSWSNYA---RGKSIKLYL	232		
<input checked="" type="checkbox"/> P46876.2	157	LATQLRKYFSTGT-KSYLSAAPQCPYPDESVDLMSQVLDLDFAFIQFYNNYCSLNQFNWNSWSNYA---RGKSIKLYL	232		
<input checked="" type="checkbox"/> Q5AAH2.1	157	LATQLRKYFSTGT-KSYLSAAPQCPYPDESVDLMSQVLDLDFAFIQFYNNYCSLNQFNWNSWSNYA---RGKSIKLYL	232		
<input checked="" type="checkbox"/> Query_5160932	243	GVPATSNII--AGYVDTSKLSSAIEEIKCDSHFAGVSLWDASGA [6] KGENFVVQVKNVLM [93] GSGS [72] PSPTSTSQ	480		
<input checked="" type="checkbox"/> P40953.2	233	GLPGSSSAGSGFVGLSTVQRVVASIKGDSPPGGISIWDISSA ENGGYLNQLYQALS GSGS PAAPSNYS	301		
<input checked="" type="checkbox"/> P46876.2	233	GLPGSSSAGSGFVGLSTVQRVVASIKGDSPPGGISIWDISSA ENGGYLNQLYQALS GSGS PAAPSNYS	301		
<input checked="" type="checkbox"/> Q5AAH2.1	233	GLPGSSSAGSGFVGLSTVQRVVASIKGDSPPGGISIWDISSA ENGGYLNQLYQALS GSGS PAAPSNYS	301		
<input checked="" type="checkbox"/> Query_5160932	481	KPKAS-TTIKGVKQGTTSYPVVGTEGVKKIVTTS-----AQTVGSSTKYVTI--ELTSTITPVYTPSVASN	546		
<input checked="" type="checkbox"/> P40953.2	302	QFNTPLTRTYGGSTATASAYISVGF TAGATHGSTTTNDLLAWIDSLFGSSQSSVQYATPVQSVTATPQVAATTTTSAPK	381		
<input checked="" type="checkbox"/> P46876.2	302	QFNTPLTRTYGGSTATASAYISVGF TAGATHGSTTTNDLLAWIDSLFGSSQSSVQYATPVQSVTATPQVAATTTTSAPK	381		
<input checked="" type="checkbox"/> Q5AAH2.1	302	QFNTPLTRTYGGSTATASAYISVGF TAGATHGSTTTNDLLAWIDSLFGSSQSSVQYATPVQSVTATPQVAATTTTSAPK	381		
<input checked="" type="checkbox"/> Query_5160932	547	GTNTTVPVFTFEGGAAVANSLNSVWFTVPFLAFAF-----	583		
<input checked="" type="checkbox"/> P40953.2	382	PTASAFNFWGFDGTTTSTTLQTVYSTVPADQTVYVTLTTTVGSQLQSLFDRDVI EAESNLQICWLLFIPLLALIC	461		
<input checked="" type="checkbox"/> P46876.2	382	PTASAFNFWGFDGTTTSTTLQTVYSTVPADQTVYVTLTTTVGSQLQSLFDRDVI EAESNLQICWLLFIPLLALIC	461		
<input checked="" type="checkbox"/> Q5AAH2.1	382	PTASAFNFWGFDGTTTSTTLQTVYSTVPADQTVYVTLTTTVGSQLQSLFDRDVI EAESNLQICWLLFIPLLALIC	461		
<input checked="" type="checkbox"/> Query_5160932	-	-	-	-	-
<input checked="" type="checkbox"/> P40953.2	-	-	-	-	-
<input checked="" type="checkbox"/> P46876.2	462	S 462			
<input checked="" type="checkbox"/> Q5AAH2.1	462	S 462			

Figura 17. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión triptica, del spot Ca\_12.

### B.6) Estudio de homología secuencial del péptido 6 corresponde (Ca\_13).

La homología secuencial del péptido Ca\_13 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans* - *Candida stellatoidea*) con identificación de secuencia ID Q9HFQ5.1, como se muestra en la figura 18. La secuencia consenso ...KAVLSAANIEIEEEKVEK... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).



**Figura 18.** Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_13.

### B.7) Estudio de homología secuencial del péptido 7 corresponde (Ca\_27).

La homología secuencial del péptido Ca\_27 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans* - *Candida stellatoidea*) con identificación de secuencia ID P28877.1, como se muestra en la figura 19. La secuencia consenso ...GDSTFVGRAAALVNKA... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

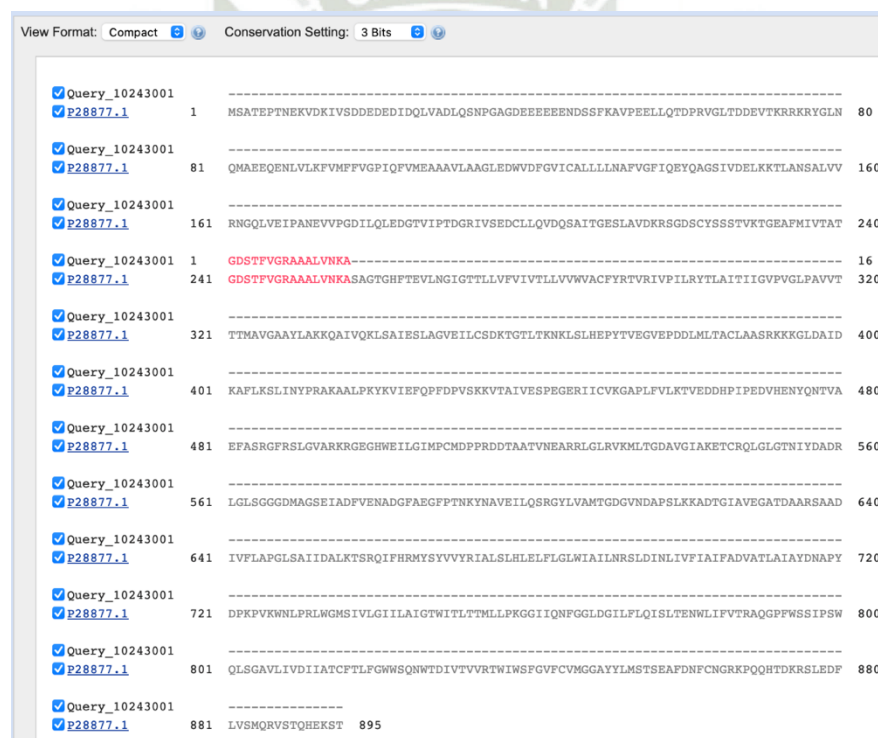


Figura 19. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión triptica, del spot Ca\_27

### B.8) Estudio de homología secuencial del péptido 8 corresponde (Ca\_28).

La homología secuencial del péptido Ca\_28 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans SC5314*) con identificación de secuencia ID A0A1D8PH78.1, (*Kluyveromyces lactis NRRL Y-1140*) con identificación de secuencia ID P49349.1, (*Saccharomyces cerevisiae S288C*) con identificación de secuencia ID P08524.2 como se muestra en la figura 20. La secuencia consenso ... KLNDTEYKKVALLGWAIPELLQAYFLV... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).



Figura 20. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_28.

### B.9) Estudio de homología secuencial del péptido 9 corresponde (Ca\_29).

La homología secuencial del péptido Ca\_29 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans SC5314*) con identificación de secuencia ID A0A1D8PT03.1, (*Alternaria alternata*) con identificación de secuencia ID P42058.1, (*Candida albicans SC5314*) con identificación de secuencia ID A0A1D8PHR5.1 como se muestra en la figura 21. La secuencia consenso ...KADIFQVPETLPQEVLDKMHAPAK... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

<input checked="" type="checkbox"/> Query_7772291	1	-----KADIFQVPETLPQEVLDKMHAPAK-----	24
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">A0A1D8PT03.1</a>	1	---MKIAIIQYSTYGHITQLAKAVQKGVADAGYKADIFQVPETLPQEVLDKMHAPAKPTDIPIATNDT-LTEYDAFLFGV	76
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">P42058.1</a>	1	MAP-KIAIVYYSMYGHIKKMADAELKGIQEAGGDAKLFQVAETLPQEVLDKMYAPPKDSSVPVLEDPavLEEFDGILFGI	79
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">A0A1D8PHR5.1</a>	1	MAQGVVAII IYSLYHHVYDLALAEKAGIEAAGGVADIYQVAETLSDDVLAKMHAPAKP-DIPIATHET-LTQYDAFLFGI	78
<input checked="" type="checkbox"/> Query_7772291		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">A0A1D8PT03.1</a>	77	PTRYGTAPAQFFFEFWGATGGLWANGSLAGKPAGVVFVSTSGQGGGQETT VRNFLNFLAHHGMPYIPLGYANAFALQSSMEE	156
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">P42058.1</a>	80	PTRYGNFPAQFKTFWDKTGKQWQQGAFWGKYAGVVFVSTGTLGGGQETTAITSMSTLVDHGF IYVPLGYKTAFSMLANLDE	159
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">A0A1D8PHR5.1</a>	79	PTRFGNFPAQIKAFWDRTGGLWAKNALRGKYAGVVFVWTGTPGGGQETTI INSLSTLAHHGIIYVPGFY--GYPGMTDLEE	156
<input checked="" type="checkbox"/> Query_7772291		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">A0A1D8PT03.1</a>	157	VHGGSPYGAGTFANVDGSRQPSTLELEIAEKQGEAFVKSATKLVK[ 87 ]	288
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">P42058.1</a>	160	VHGGSPWGAGTFSAGDGSRQPSELELNIAQAQGKAFYEAVAKAHQ	204
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">A0A1D8PHR5.1</a>	157	VHGGSPWGAGTFASGNGSRKVTDLEKAIKQQGEDFFKTVFK---	198

Figura 21. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_29

### B.10) Estudio de homología secuencial del péptido 10 corresponde (Ca\_30).

La homología secuencial del péptido Ca\_30 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans P75063*) con identificación de secuencia ID KGU32256.1, (*Candida albicans P75016*) con identificación de secuencia ID KHC73827.1, (*Candida africana*) con identificación de secuencia ID KAG8203759.1 como se muestra en la figura 22. La secuencia consenso ...KVNKSLIEFLKSANLSN... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

<input checked="" type="checkbox"/>	Query_2608004	1	-----KVNKSLIEF	9
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGU32256.1</a>	1	MNLLISLLLLISLVLGSSPSGGYAPGIVQCPINSNSSSSSSRNTTFFSFIREADSISDLEKQWIKQRQLKVNKSLIEF	80
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KHC73827.1</a>	1	MNLLISLLLLISLVLGSSPSGGYAPGIVQCPINSNSSSSSSRNTTFFSFIREADSISDLEKQWIKQRQLKVNKSLIEF	80
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KAG8203759.1</a>	1	MNLLISLLLLISLVLGSSPSGGYAPGIVQCPINSNSSSSSSRNTTFFSFIREADSISDLEKQWIKQRQLKVNKSLIEF	80
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_2608004	10	LKSANLSN-----	17
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGU32256.1</a>	81	LKSANLSNFNPNQIFIDAKDYQGINLGLAFSGGSYRAMLNGAGQLMALDSRSSSPSESGSGSGLGGILQSANIYIGGL	160
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KHC73827.1</a>	81	LKSANLSNFNPNQIFIDAKDYQGINLGLAFSGGSYRAVLNGAGQLMALDSRSSSPSESGSGSGLGGILQSANIYIGGL	160
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KAG8203759.1</a>	81	LKSANLSNFNPNQIFIDAKDYQGINLGLAFSGGSYRAMLNGAGQLMALDSRSSSPSESGSGSGLGGILQSANIYIGGL	160
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_2608004		-----	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGU32256.1</a>	161	SGSSHLLGSLAMQGMPTVEEVFENPYDVNLLTSSRQLVNTGLNLTIVFPVMFDNPNKALSHMNFHDNNADGIKFDLEAK	240
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KHC73827.1</a>	161	SGSSHLLGSLAMQGMPTVEEVFENPYDVNLLTSSRQLVNTGLNLTIVFPVMFDNPNKALSHMNFHDNNADGIKFDLEAK	240
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KAG8203759.1</a>	161	SGSSHLLGSLAMQGMPTVEEVFENPHDVNLLTSSRQLVNTGLNLTIVFPVMFDNPNKALSHMNFHDNNADGIKFDLEAK	240
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_2608004		-----	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGU32256.1</a>	241	EKAGFETSLTDAMARGLAHQLFPKGDNYGSSETHSDIRNIDAFANHDMPFPVFTGLGRKPGTTVYNLNSTVIEIENPFEF	320
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KHC73827.1</a>	241	EKAGFETSLTDAMARGLAHQLFPKGDNYGSSETHSDIRNIDAFANHDMPFPVFTGLGRKPGTTVYNLNSTVIEIENPFEF	320
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KAG8203759.1</a>	241	EKAGFETSLTDAMARGLAHQLFPKGDNYGSSETHSDIRNIDAFANHDMPFPVFTGLGRKPGTTVYNLNSTVIEIENPFEF	320
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_2608004		-----	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGU32256.1</a>	321	GSFDPSSLNTFTDIKYLGTNVSNVGPVLDLVNDFVDFNSGFIKSSSSLFNLSLNTLVCDNCNSLNSVIKWLKKFLTYLSKA	400
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KHC73827.1</a>	321	GSFDPSSLNTFTDIKYLGTNVSNVGPVLDLVNDFVDFNSGFIKSSSSLFNLSLNTLVCDNCNSLNSVIKWLKKFLTYLSKA	400
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KAG8203759.1</a>	321	GSFDPSSLNTFTDIKYLGTNVSNVGPVLDLVNDFVDFNSGFIKSSSSLFNLSLNTLVCDNCNSLNSVIKWLKKFLTYLSKA	400
<input checked="" type="checkbox"/>	Query_2608004		-----	
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KGU32256.1</a>	401	HEDVALYKPNPFFNSQYAKSDNITTSYDLYVLDGGIGGEVIPLSTLHWKRALDIVFAFSDTNTKTNPDGSALISSYE	480
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KHC73827.1</a>	401	HEDVALYKPNPFFNSQYAKSDNITTSYDLYVLDGGIGGEVIPLSTLHWKRALDIVFAFSDTNTKTNPDGSALISSYE	480
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">KAG8203759.1</a>	401	HEDVALYKPNPFFNSQYAKSDNITTSYDLYVLDGGIGGEVIPLSTLHWKRALDIVFAFSDTNTKTNPDGSALISSYE	480

Figura 22. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión tróptica, del spot Ca\_30.

### B.11) Estudio de homología secuencial del péptido 11 corresponde (Ca\_31).

La homología secuencial del péptido Ca\_31 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Corynebacterium urealyticum* DSM 7109) con identificación de secuencia ID B1VDJ3.1, (*Corynebacterium efficiens* YS-314) con identificación de secuencia ID Q8FPJ9.1, (*Corynebacterium diphtheriae* NCTC 13129) con identificación de secuencia ID P60800.1 como se muestra en la figura 23. La secuencia consenso ... KGEAGTGDVSSAVDHIRTIKK ... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

<input checked="" type="checkbox"/> Query_40796		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> B1VDJ3.1	1	MSKASK[5]ASITTSARVVKRGFADKLGKGVIMDVVTPEQAKIAEDAGASAVMALERVVPADIRAQGGVSRMSDPDMIAGI	82
<input checked="" type="checkbox"/> Q8FPJ9.1	1	MS---- APTTNAAPRAKTGYADRFKGGVIMDVVNPEQARIAEAAAGAVAVMALERVVPADIRAQGGVSRMSDPDMIDGI	73
<input checked="" type="checkbox"/> P60800.1	1	MTQETF ----TATTRVVKRGLADMLKGGVIMDVVTPEQARIAEDAGASAVMALERVVPADIRAQGGVARMSDPLIEGI	73
<input checked="" type="checkbox"/> Query_40796	1	-----	2
<input checked="" type="checkbox"/> B1VDJ3.1	83	IDAVEIPVMAKARIGHFVEAEVLEALGVDFIDSEVLSPADYKNHIDKDFPFVFCGATNLGEALRRINEGAAMIRSKG	162
<input checked="" type="checkbox"/> Q8FPJ9.1	74	LEAVDIPVMAKARIGHFVEAQVLSLGVHFIDSEVLTADYANHIDKFAFVFPVFCGATNLGEALRRVNEGAAMIRSKG	153
<input checked="" type="checkbox"/> P60800.1	74	VNAVSIIPVMAKARIGHFVEAQILESLGVDFIDSEVLSPADYVNHIDKWNFDVFPVFCGATNLGEALRRITEGAAMIRSKG	153
<input checked="" type="checkbox"/> Query_40796	3	EAGTGDVSSAVDHIRTIKK-----	21
<input checked="" type="checkbox"/> B1VDJ3.1	163	EAGTGDVSNVTHMRTIRAEINRLSNMAEDELVYAAKELAAPYELVVEVARNGKLPVTLFTAGGIATPADAAMMHLGAE	242
<input checked="" type="checkbox"/> Q8FPJ9.1	154	EAGTGDVSNVTHMRTIRAEINRLTSMAEDELVYAAKELQAPYELVVHVAREGKLPVPLLTAGGIATPADAAMMQLGAD	233
<input checked="" type="checkbox"/> P60800.1	154	EAGTGDVSEAVKHLRTIRGEINRLRSMDEDQLYVAAKEIQAPYDLVREVAATGKLPVTLFVAGGVATPADAALVMQMGAE	233
<input checked="" type="checkbox"/> Query_40796		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> B1VDJ3.1	243	GVFVSGSIFKSGNPAQRAAAIVKATQNYQDPKVIADVSRGLGEAMVGINVDELPSHRLAERGW	306
<input checked="" type="checkbox"/> Q8FPJ9.1	234	GVFVSGSIFKSGNPEQRARAIVAATQNYNDPDTIARVSRGLGEAMVGINVDDLPSHRLAERGW	297
<input checked="" type="checkbox"/> P60800.1	234	GVFVSGSIFKSGNPAARAAAIKATMYDDPAATAEVSRLGEAMVGINVADVPAPHRLAERGW	297

Figura 23. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_31.

### B.12) Estudio de homología secuencial del péptido 12 corresponde (Ca\_32).

La homología secuencial del péptido Ca\_32 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Candida albicans* - *Candida stellatoidea*) con identificación de secuencia ID O93806.1 como se muestra en la figura 24. La secuencia consenso ...KCGYKDGGVEMVCRF... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

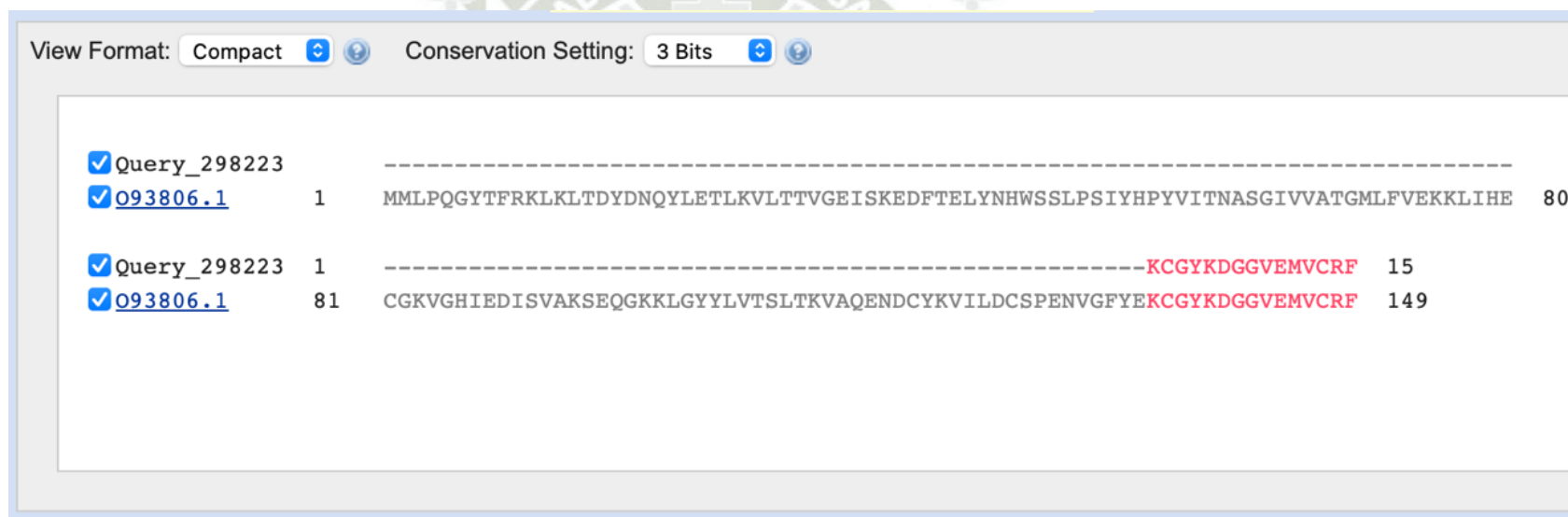


Figura 24. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_32.

### B.13) Estudio de homología secuencial del péptido 13 corresponde (Ca\_33).

La homología secuencial del péptido Ca\_33 determinado por espectrometría de masa en tandem ESI-Q-TOF-MS/MS del spot elegido, muestra similitud con otra secuencia, según el BLAST (*Nakaseomyces glabratus CBS 138*) con identificación de secuencia ID Q6FPV6.1, (*Schizosaccharomyces pombe 972h-*) con identificación de secuencia ID P87048.2, (*Saccharomyces cerevisiae S288C*) con identificación de secuencia ID P38764.3 como se muestra en la figura 25 (parte 1 y 2). La secuencia consenso ...KLAEYFQYLVKELNLLDPKVPEDVYK... es parte de una región altamente conservada (secuencia en rojo).

#### Parte 1

✓ Query_8483042	---	-----	-----	74
✓ Q6FPV6.1	1	MS--	TDKKKEEVPKpETEDLTVKDETknkdkkkaneEELSEEDQKLKGDLEMLVQTLLEDDSKLYETTLTQLKEF	74
✓ P87048.2	1	MSSK[13]	NDKKGKTSE-----TNDRNSTNNTKERDELEDLSEEDLQKNDLELLVQAVQDATPELVGSSLTQLKEI	82
✓ P38764.3	1	MVDE	SDDKQQTID--EQSQISPEKQTPNKKDKKKEEQLSEEDAKLKTDELELLVERLKEDDSSLYEASLNALKES	74
✓ Query_8483042	---	-----	-----	154
✓ Q6FPV6.1	75	IKNSTSSMTAVPKPLKFLRPFYDLCAYDKWSDKDKSSLADMLSVLAMYSDTHQHDSLRFRLLSDTNSIASWGHEYV		154
✓ P87048.2	83	IRTSTSSMTAVPKPLKFLRPHYFTLVKIYDSWFPQSPKQTLADILSVLGSYSNTSKHESLKYRLQGVTDPPLWGHYV		162
✓ P38764.3	75	IKNSTSSMTAVPKPLKFLRPTYDLCISYDKWTDPNLKSSLADVLSILAMYSENGKHSRLRYRLSDVSDFEWGHYI		154
✓ Query_8483042	---	-----	-----	232
✓ Q6FPV6.1	155	RHLALEIGEVYNEQVEKEAEDNSTS--TESSPQPPHMFESKDVILQLSLEIVPYFMKHNGEEDAVALLEIEAIEKLP		232
✓ P87048.2	163	RHLASEIEEFASRQEEEA-----PTDDLMEALALTIVPFFLTHNAEADAILLQELGAIEKVV		220
✓ P38764.3	155	RHLALEIGEVYNDQVEKDAEDTSSdgSKSDGSAATSGFEPFSKEDTLRLCLDIVPYFLKHNGEEDAVALLEIESIDKLP		234
✓ Query_8483042	---	-----	-----	312
✓ Q6FPV6.1	233	QFVDENTYKRVQYMIACVQLPPPEDISFLQTAYS IYLSSELQLPEALSLAIRLGNEDMIRSVFDATSDPIVHQQLAYIL		312
✓ P87048.2	221	PFVELDNASRVCLYITSCVNLLPFPEDVAMLRTHAHAYRKFQDLTQALNVAIRLDDMSLIKEDCEAATDPLKKQMSYML		300
✓ P38764.3	235	QFVDENTFQRVQYMVACVPLPPPEDVAFLLKTAYS IYLSQNELTAIALAVRLGEEDMIRSVFDATSDPVMHKQLAYIL		314
✓ Query_8483042	1	-----KLAEYFQYLVKELNLLDPKVPEDVYK-----		26
✓ Q6FPV6.1	313	AAQRVPFEH--PELQEIIGNTKLSEHFLYLAKELNLLTPKIPEDIYKSHLDSSKSVFSSAGLDSAQQNLAASFVNAFLNL		390
✓ P87048.2	301	ARQQIPMDMgdEELNDALNNTHLSDHFHLYLKGELNLLMDPKVPEDIFKTHLEVARTGLGASGVYSAQNLANTEFVNALVNA		380
✓ P38764.3	315	AAQKTSFEY--EGVQDIIGNGKLSEHFLYLAKELNLLGPKVPEDIYKSHLDNSKSVFSSAGLDSAQQNLAASFVNGFLNL		392
✓ Query_8483042	---	-----	-----	465
✓ Q6FPV6.1	391	GYCNDKMITDND---NWVYKTKGDGMTSAVASIGSIYQWNID-GLQQLDKYLVDPEVKAGLLGIGIASAGVHH-DVE		465
✓ P87048.2	381	GYSNDRLLVVDektSWIYKNKESGLISATASIGLLQLWNVDMGLSLLDKYLSSEENTKAGALLGIGVTNVAVRN-EAD		459
✓ P38764.3	393	GYCNDKLVVDND---NWVYKTKGDGMTSAVASIGSIYQWNLD-GLQQLDKYLVDPEVKAGALLGIGIASAGVHDgEVE		468
✓ Query_8483042	---	-----	-----	545
✓ Q6FPV6.1	466	PALLLLQEQYINHSDTKISTAAILGIGIAFAGSKNDEVLGLLPVVNTENSLELAIAALALSHVFGTCNGDITTVAMD		545
✓ P87048.2	460	PAMAILSEYLETGSVKLRASAILGLGLAYSANREDLDMSPIVTDTDCPMQLSCLAALSGLLIFVGTGCVGNDVASTILQ		539
✓ P38764.3	469	PALLLLQDYVTNPDTKISSAAILGLGIAFAGSKNDEVLGLLPIAASTDLPPIETAAMASLALAHVFGTCNGDITTSIMD		548

Parte 2

<input checked="" type="checkbox"/> Query_8483042		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> Q6FPV6.1	546	NFLERTPLELKSEWARFLALSGLLLYLGGQGEHVDDVLETINAIEHPMTSAIEVLISSCAYTATGDVLLVQDLLHRLTPKA	625
<input checked="" type="checkbox"/> P87048.2	540	TLMEREESAQNQWGRFMALGLALLFNGKQDLADATVETLKAIEGKIARQAEILVDICSYAGTGNVLHIQKLLH-----	613
<input checked="" type="checkbox"/> P38764.3	549	NFLERTAIELKTDWVRFLALALGILYMGQGEQVDDVLETISAIEHPMTSAIEVLVGSAYTGTGDVLLIQDLLHRLTPKN	628
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8483042		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> Q6FPV6.1	626	VKSsdeDEDEDNEELSQEDMNGISAFGLGKKEIEAEEPQGNAGAD---NEMEVDSHQDETT TGENNVKKEENEKEKT	699
<input checked="" type="checkbox"/> P87048.2	614	-----ICSEPPS-----	620
<input checked="" type="checkbox"/> P38764.3	629	VKG---EEDADEEETAEGQTNISISDFLGEQVNE----PTKNEEAEievDEMEVDAEGEEVE [ 5 ]TEKKNGESLEGEIEKS	703
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8483042		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> Q6FPV6.1	700	EKSEKTENDEE EDEEESKDEGANDELAYAVIGIALITMGEEIGKEMSLRHFHGLMHYGNHIRRMPVPLAMGLVSV	776
<input checked="" type="checkbox"/> P87048.2	621	----- --DDAKESETTIQ---TFAALGVATIAMGEDIGAEMVLRHFDHMMHYGEPDIRKAIPLALGLLSAS	681
<input checked="" type="checkbox"/> P38764.3	704	EEKKGKSSDKD [ 6 ]NDDEEEKEAGIVDELAYAVLGLIALGALGEDIGKEMSLRHFHGLMHYGNHIRRMPVPLAMGIVSVS	786
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8483042		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> Q6FPV6.1	777	DPQMKVFDTLTRFSDPDLDVSMNSIFAMGLCGVGTNNARLAQLLRQLASYSREQDALFITRLAQGLVHLGKGTMTMDI	856
<input checked="" type="checkbox"/> P87048.2	682	NPQMRIFDTPSRYSHDNDLDVAYNAIFAMGLVGAGTSNARLAQLLRQLASYYHKEKNALFMVRIAQGLLYLGGKGTMTLNP	761
<input checked="" type="checkbox"/> P38764.3	787	DPQMKVFDTLTRFSDADLEVSMNSIFAMGLCGAGTNNARLAQLLRQLASYSREQDALFITRLAQGLLHLGKGTMTMDV	866
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8483042		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> Q6FPV6.1	857	FN-DAHVLNKVTLASLLTVLVGLISPS-FILK-HHQLFYMLNSGVRPKFIITLNEEGEQIKVNVIRIGQAVETVGGQAGPK	933
<input checked="" type="checkbox"/> P87048.2	762	YHtERQILGQTAFAGLMTVVLAMLDANtFVLDTSHWLLYAITLAIRPRMLITLGEDGQYLPVSVRVGQAVDVVGQAGRPK	841
<input checked="" type="checkbox"/> P38764.3	867	FN-DAHVLNKVTLASILTAVGLVSPS-FMLK-HHQLFYMLNAGIRPKFILALNDEGEPIKVNVRVGGQAVETVGGQAGRPK	943
<input checked="" type="checkbox"/> Query_8483042		-----	
<input checked="" type="checkbox"/> Q6FPV6.1	934	TITGWITQSTPVLGHGERAELENDEYISYTNIEGVVILKKNPNFQEEE-	983
<input checked="" type="checkbox"/> P87048.2	842	VITGWVTHTPVLLHNERAELEATEAYTPLTS-LEGIVILKKNTEDEIEMTa	891
<input checked="" type="checkbox"/> P38764.3	944	KITGWITQSTPVLNHHGERAELETDYISYTSHIEGVVILKKNPDYREEE-	993

Figura 25. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot Ca\_33.

**C) Análisis de secuencias en base de datos NCBI usando el programa BLAST-P Protein search.**

Las secuencias exploradas a partir de los spots analizados por secuencia vía espectrometría de masas EI-Q-TOF mS/MS, fueron 17 los cuales fueron estudiados por usando el programa BLAST-P Protein search, los cuales en análisis de secuencia mostraron una alta fidelidad con otras proteínas almacenadas en la base de datos del Swisprot (Tabla 3).

**Tabla 3. Muestra las secuencias completas con los respectivos códigos de acceso en la base de datos.**

Lista de proteínas es formato FASTA
<p><b>AOW26077 (CA 08)</b></p> <pre>&gt;AOW26077.1 Cshlp [Candida albicans SC5314] MVTRLGKSGSLKVNVTAVGTMRLGSSWRGFNGDIDECLKILKFCYDNGFRTFDTADTYSNGKSEELLGLFIKK YNI PRERIVILTKCYFSVKDDAEDSSLEIDPIDYMNGKGLSRKHILAAAEEASVKRLGTYIDVLIHQIHRLDHEV TYEEVMRSLNDVVEQGLARYIGASSMKTWEFVELQNVAKANGWHQFISMQSHYSLLYREDERELNDYCKKNS IGLIPWSPNGGGVLCRPFDESEKTKQFLDNKQWSSFLGLENVRDADKIIVDRVKELSVKYNASMMQVSLAWCI SKGVIPIAGVSKFEQAEELVGIKFNLTEDDIKYLEEPPYHAKDLARVAA</pre>
<p><b>AOW26479 (CA 09)</b></p> <pre>&gt;AOW26479.1 S-adenosylmethionine-homocysteine S-methyltransferase [Candida albicans SC5314] MGRVQDILEKRRLVIDGALGTELERLLPTTSTYLPSPGSLWWSGQVLIKNPGLVEQVHLDYINVGADMIITSTY QTSYASLHKYIGYDMDQAIALWNSALNVAKNAVKKSGRDDVI IAGSIGPYATLLANGSEYNGDYQGVTDDEELI EYHTPLFEFYENSVDVIDIICETIPSFQELKVI IGLAKKYTSKEFFISINPQTGSALSDBGTSLEIQAQLFAEIN DPRFVAVGINCTSYENVDQISTYLTDFPLFIYPNLGFVYDITTVHKFVSKVLQESTWKS SVAKWLAFFPNVKAIG GCCSTTPAEIKQVAQLINQ</pre>
<p><b>Q59SN8 (CA 10)</b></p> <pre>&gt;sp Q59SN8.1 ALS10_CANAL RecName: Full=Agglutinin-like protein 10; AltName: Full=Adhesin 10; AltName: Full=Agglutinin ALS3-like protein ALS10; Flags: Precursor MLLQFLLLSLCVSVATAKVITGVFNSFDSLTTWTRAGNYAYKGNRPTWNAVLGWSLDGTSANPGDFTFLNMPG VFKFITDQTSVDLTDAGVKYATCQFYSGEEFTTFSSLKCTVSNLTLTSSIKALGTVTLPI SFNVGGTGS LVDLE SSKCFKAGTNTVTFNDGDKKISIDVDFEKTNE DASYFIA SRLIPSINKASITYVAPQCANGYTS GAMGFTIG SGDTTIDCSNVHVGITKGLNDWNFPVSSDSL SYNKTCSSSTGISITYENVPAGYRPFDFVYTSVSDQNRQLKYT NDYACVGSLSLQSKPFLNRLRGYNNSEANSNGFVIVATTRTVDSTTAVTTLPFNPSIDKTKTIEILQPIPTTT ITTSYVGVTTTSYSTKTAPIGETATVIVDVPYHTTTTTVTSEWGTITTTTTTRTNPTDSIDTVVVQVSPNPTVS TTEYWSQSYATTTTTITAPPGGTDTVI IREPPNHTVTTTEYWSQSYATTTTTVTAPPGGTD SVI IREPPNPTVTT TEYWSQSYATTTTTITAPPGGTDTVI IREPPNHTVTTTEYWSQSYATTTTTVTAPPGGTD SVI IREPPNPTVTTT EYWSQSYTTTTTTVTAPPGGTD SVI IREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTTVTATPGGTDTVI IREPPNYTVTTTE YWSQSYATTTTTVTAPPGGTDTVI IREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTTVTAPPGGTDTVI IREPPNYTVTTTEY WSQSYATTSTITAPPGGTDTVI IREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTTVTGPPGGTDTVI IREPPSPVTTTEYWS SQSYATTTTTVTAPPGGTATVI IREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTTVTGPPGGTDTVI IREPPNPTVTTTEYWS QSFATTTTTVTAPPGGTD SVI IREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTTVTAPPGGTD SVI IREPPNPTVTTTEYWSQ SYTTTTTTVTAPPGGTD SVI IREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTTVTATPGGTDTVI IREPPNYTVTTTEYWSQS YATTTTTVTAPPGGTDTVI IREPPNYTVTTTEYWSQSYATTTTTVTAPPGGTDTVI IREPPNHTVTTTEYWSQSY TTTTTVIAPPGGTD SVI IREPPNPTVTTTEYWSQSYATTTTTITAPPGGTDTVI IREPPNHTVTTTEYWSQSYFA TTTTVTAPPGGTDTVI IREPPNHTVTTTEYWSQSYATTTTTITAPPGGTDTVI IREPPNHTVTTTEYWSQSYAT TTTTIAPPGGTDTVI IREPPNPTVTTTEYWSQSYTTATTVTAPPGGTDTVI IYDTMSSSEISSFSRPHYTNHT TLWSTTWVIETKTI TETSCEGDKGC SWVSVSTRIVTIPNNIETPMVTNTVDTTTTTESTLQSPSGIFSESGVSV ETESSTFTTAQTNPSVPTTESEVVF TTKGNNGNGPYESPSTNVKSSMDENSEFTTSTAASTSTDIENETIATT</pre>

GSVEASSPII SSSADETTTTVTTTAEESTSVIEQQTNNNGGNAPSATSTSSPSTTTTANSDSVITSTTSTNQSQ  
SQSNSDTQQTTL SQMTSSLVSLHMLTTFDGS SVIQHSTWLCGLITLLSLFI

**AOW28902 (CA 11)**

>AOW28902.1 Crd2p [*Candida albicans* SC5314]  
MACSAAQCVCAQKSTCSCGKQPALKCNCSKASVENVPSSNDACACGKRKSSCTCGANAICDGTRDGETDFT  
NLK

**AAA68015 (CA 12)**

>AAA68015.1 chitinase [*Candida albicans*]  
MLSFKSLLA AVVASSALASASNQVALYWGQNGAGGQERLAQYCQETDVDIVLLSFLNLFDPFLNVN FANQCG  
NTFESGLLHCSQIGADIKTCQSLGKTVLLSLGGVGDYGFSDVASATKFADTLWNKFGAGEDPERPFDDAVVD  
GFDFDIEHGGATGYPELATALRGKFAKDTSKNYFLSAAPQCPYPDASLGDLLSKVPLDFAFIQFYNNYCSING  
QFN YDTWSKFADSAPNKNIKL FVGV PATSNIAGYVDT SKLSSAIEEIKCDSHFAGVSLWDASGAWLNTDEKGE  
NFVVQVKNVNLNQACVAPSSSATTQSTTTTSSAVTQSTTTTSSAAITQSATTTSSAAVTTKSNQIVTSSSSSSS  
IFYGNSTTESSTGIATGTVLPTGSNENAATTGSGSNTKLAISTVTDVQKTVITITSCSEHKCVATPVTTGVVV  
VTDIDTVYTTYCLTNSQVYVPVQTVVCTEETCVPSPTSTAQKPKASTTIKGVKQTTSPVVGTTTEGVKKI  
VTTSAQTVGSSTKYVTIELTSTITPVTYPTSVASNGTNTTVPVFTFEGGAAVANSLSNVWFVFPFLAFAF

**XP 002422331 (CA 13)**

>XP\_002422331.1 60S acidic ribosomal protein P2 [*Candida dubliniensis* CD36]  
MKYLAAYLLLVNAGNATPSAADVKAVLSAANIEIEEEKVEKLI SELDGKNVEELIVEGNEKLSSVPTGAPAAA  
AGGASAAAGGEEAEEAEEAEEESDDDMGFGFLFD

**XP 721446 (CA 31)**

>XP\_721446.1 pyridoxine biosynthesis protein [*Candida albicans* SC5314]  
MSDFKVKAGLAQMLKGGVIMDVVNADQAKIAEAAAGACAVMALERI PAEMRKSNOVCRMSDPKMIKDIMETVKI  
PVMACRIGHFTESQILEALGVYDIDESEVLTPADTVYHIDKTKFKVPFVCGARNLGEALRRINEGAAMIRCK  
GEAGTGDVSSAVDHI RTIKKDIEEASKLKTETEIVELARELRVPTELLIQVIEEKKLPVVLFCAGGVSTPADA  
ALLMQLGCDGVFVGSIGIFKSKNPEKLAKAIVNATTHYNDPVKLLQYSTDLGELMGGIAIDSIKKEEKLEKRGW

**AOW27414 (CA 32)**

>AOW27414.1 glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase [*Candida albicans* SC5314]  
MSLPQGYTFRKLKLT DYDNQYLET LKVLTTVGEISKEEFTELYNHWSLPSIYHPYVITNASGIVVATGMLFV  
EKKLIHECGKVGHIEDISVAKSEQGKGLGYLLVTS LTKVAQENDCYKVI LDCSPENVGFYKCGYKDGGMVEMV  
CRF

**AOW26936 (CA 33)**

>AOW26936.1 proteasome regulatory particle base subunit [*Candida albicans* SC5314]  
MAPSQEQSKEQIQSQT SKDQOPTKSDKSKVQKEEELSEEDQHLKDELELLVERLNEPNQDRALYNKYLDALKT  
FIKESTTSMTAVPKPLKFLRPHYPSLTELTYTNWSNQFS AKDVIVIKLADILSVLATTYSDEGNRDSLKYRLLA  
SDDTISDWGHEMYRHLALEIGESFQENLGVDEELVNKLVKLALQIVPFFLKHNAEADA VDLLEIECIDKLPQ  
FVDENTFARVCLYVTSCVPYLAPPDDVSFLNTAYS IYLSHNQLTQALTLAIKLDNLIKQVFDSTTDES LHK  
QLGFILSQQNSNFKYPGENPEVQECISNVKLA EYFYQYLVKELNLLDPKVPEDVYKSHLENSKFG LGTSGSIDS  
AKQNLAA SFVNGFLNLGFGNDKLVQTEEDNKS WIYRTKSGMASTTASLGSIHQWNINEGLQVLDKYTYSEDS  
EVKAGALLGTGVVSANVHDEVDAAFALLQ EYVHEPNKLYQTAA INGLGIAFAGSANEDVNL LLLPLVSDLDIS  
LEISCLAALALGHIFVGTCHGDVTSTILQTL LERDYTQLTNKFIKFM SLGLGLLYMGRTEQAEDVLETIDAIE  
HPISKTLKVLVNICAFAGTGNVLQIQALLQMCTAKPKDQLEEEKLEQSEEEQQQQQNKDTSKNGEGGEEEEE  
DVEMEDAESKNETSENTTASATSTTSSSKEKGDSSSSAAAAGDEKAQEGGDDKEDEEEIDEEEEELYQGI AV  
LGLACI AMGEDIGQDMSLRHFGLMHYGNLSIRRAVPLAMGLVSTSNPQMKV FETLSRYSHDPDLEVAQNSIY  
SMGLV GAGTNNARLAQLLRQLASYYIKSPDTL FVMVRIAQGIHLGKGTLLTLPYNSERTILSKVSLASLLTIA  
IALLDPRSFILNDSTTETHQLLYLTPAVKPRMLVTVDEELKPIKVNVRVQAVDVVVGQAGKPKITIGWV TQ  
STPVLLNYGERAELENTDEWISLSSSLEGVVILKKNPEYMEIDS

**EEQ44481 (CA 34)**

>EEQ44481.1 NHP2/L7aE family protein [*Candida albicans* WO-1]  
MSAPNPKAFPLADSALTQQILDVVQQSQNLRLQKKGANEATKTLNRGISEFI IMAADTEPIEILLHLPLLCED  
KNVPYVFPVSKAALGRACGVSVPVIAASVTSNDASSIKNQIYGKDKIETLLI

**XP 717759.2 (CA 27)**

>XP\_717759.2 H(+)-exporting P2-type ATPase [*Candida albicans* SC5314]  
MSATEPTNEKVDKIVSDDEDEDIDQLVADLQSNPGAGDEEEEEENDSSFKAVPEELLQTDPRVGLTDDEVTKR  
RKRYGLNQMAEEQENLVLFKVMFFVVGPIQFVMEAAAVLAAGLEDWVDFGVICALLLLNFAVGF IQEYQAGSIV  
DELKKTLANALVVRNGQLVEIPANEVVPDILQLEDGTVIPTDGRIVSEDCLLQVDQSAITGESLAVDKRSG  
DSCYSSSTVKTGEAFMIVTATGDSTFVGRAAALVNKASAGTGHFTEVLNIGITLLLVFVIVTLLVVWVACFYR  
TVRIVPILRYTLAITIIGVVPVGLPAVVTTTMAVGAAYLAKKQAI VQKLSAIESLAGVEILCSDKTGTLTKNKL  
SLHEPYTVEGVEPDDLMLTACLAASRKKKGLDAIDKAFKLSLINYPRAKAALPKYKVIEFQPFDPVSKKVTAI  
VESPEGERIICVKGAPLFLVLTVEDDHP I PEDVHENYQNTVAEFASRGFRSLGVARKRGEHWEILGIMPCMD  
PPRDDTAATVNEARRLGLRVKMLTGDVAVGI AKETCRQLGLGTNIYDADRLGLSGGGDMAGSEIADFVENADGF  
AEVFPQHKNYAVEILQSRGYLVAMTGDGVNDAPSLKKADTGIAVEGATDAARSAADIVFLAPGLSAI IDALKT  
SRQIFHRMYSYVVYRIALS LHLELFLGLWIAILNRS LDINLIVFIAI FADVATLAIAYDNAPYDPKPVKWNLP  
RLWGSIVLGVILAIGTWITLTTMLLPKGGIIQNFGLDGLIFLQISLTENWLI FVTRAQGFWS SIPSQWLS  
GAVLIVDIIATCFTLFGWWSQNWTDIVTVVRTWIWSFGVFCVMGGAYYLMSTSEAFDNFCNGRKPQQHTDKRS  
LEDFLVSMQRVSTQHEKST

**AOW27484 (CA 28)**

>AOW27484.1 bifunctional (2E,6E)-farnesyl diphosphate  
synthase/dimethylallyltranstransferase [*Candida albicans* SC5314]  
MSDKLAARERFLDVFEDLVEELKQILVSYNMPQEAIEWFVRS LNYNTPGGKLNRLSVVDTFA I LNNTTSDKL  
NDTEYKVALLGWAI ELLQAYFLVADDMMDQSKTRRGQPCWYLVEGVNNAI INDSFMLEGA IY ILLKKHFRQD  
PYYVDLLDLFHEVTFQTELGQLLDLITADEEIVDLDFKFSLEKHSFIVIFKTAYYSFYLPVALAMYMSGINDEK  
DLKQVRDIL I PLGEYFQIQDDYLD CFGTPEQIGKIGTDIKDNKCSWVINQALLIATPEQRQLLDNNY GKKDDE  
SEQKCKDLFKQLGIEKIYHDYEE SIVAKLRKQIDQIDESRGLKKDVLTAFLGKVYKRSK

**AOW31260 (CA 29)**

>AOW31260.1 flavodoxin-like fold family protein [*Candida albicans* SC5314]  
MKIAIIQYSTYGHITQLAKAVQKGVADAGYKADIFQVPETLPQEVLDKMHAPAKPTDIPIATNDTLTEYDAFL  
FGVPTRYGTAPAQFFFEFWGATGGLWANGSLAGKPAGV FVSTSGQGGGQETT VRNFLNFLAHHGMPYIPLGYAN  
AFALQSSMEEVHGGSPYGAGTFANVDGSRQPSTLELEIAEKQGEAFVKSATKLVKGSKKTNTTTT SKSAATSD  
AAGTTSGTAAGTSAATGAATGTSAPKESTKEASSAKKEATNGTATRTQQSTKAPETA EKSSCSKCIIM

**AOW27184 (CA 30)**

>AOW27184.1 Plb4.5p [*Candida albicans* SC5314]  
MNLLISLLLLSISLVLGSSPSGGYAPGIVQCPINSNSNSSSSSRNTTFSFIREADSISDLEKQWIKQRQLKV  
NKSLIEFLKSANLSNFNPQNFIDAKDYQG INLGLAFSGGSYRAMLNAGQLMALDSRSSSSPESGSGSGSLG  
GILQSANYIGGLSGSSWLLGSLAMQGWPTVEEVVFENPHDVWNL TSSRQLVNQTGLWTIVFPVMDNMKALS  
HMNFWDNNADGIKFDLEAKEKAGFETSLTD A WARGLAHQLF PKGKDNYSSETWSDIRNIDAFANHDMPPFV  
TGLGRKPGTTVYNLSTVIEMNPF EFGSFDPSLNTFTDIKYLGTNVSNGVVPVDS CVNGFDNSGFIVGSSSSLF  
NSFLNTLVCDNCNSLSSVIK WILKKFLTYLSKAHEDVALYKPNPFFNSQYAKSDNITTS DTLYVIDGGIGGEV  
IPLSTLMVKERALDIVFAFSDTNTKTNPWDG SALISSYERQFSQQGSSSICPYVPDTKTFLEKGLTAKPTFF  
GCDAKNLTALEKDGVI PPLVVYFANRPYEYYSNVSTFDLTF TDEQKKGLIKNGFDVATRLNGTIDPEFKSCIA  
CAVIRREEERRGIEQSDQCKKCFKNYCWDGTYASGPAENYVNF TSSLTNGSTVFYFGKADAKVSSSKGGLFGF  
LKRDTQNNDEKEEFIGVVRESNSDSLKLSKYLTIASLFALYLVIM

**XP 721446 (CA 31)**

>XP\_721446.1 pyridoxine biosynthesis protein [*Candida albicans* SC5314]  
MSDFKVKAGLAQMLKGGVIMDVVNADQAKIAEAAGACAVMALERI PAEMRKSNOVC RMSDPKMIKDIME TVKI  
PVMACRIGHFTESQILEALGV DYID ESEVLTPADTVYHIDKTKFKVFPVFCGARNLGEALRR INEGAAMIRCK  
GEAGTGDVSSAVDHIRTIKKDIEEASKLKTETEIVELARELRVPT ELLIQVIEEKKLPVVLFCAGGVSTPADA  
ALLMQLGCDGVFVGSIGIFKSKNPEKLAKAIVNATTHYNPDKLLQYSTDLGELMGGIAIDS IKEEEKLEKRGW

**AOW27414 (CA 32)**

>AOW27414.1 glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase [*Candida albicans* SC5314]  
MSLPQGYTFRKLLKLDYDNQYLETCLKVLTTVGEISKEEFTELYNHWSLPSIYHPYVITNASGIVVATGMLFV  
EKKLIHECGKVGHIEDISVAKSEQGKGLGYLLVTSCLKVAQENDCYKVIILDCSPENVGIFYEKCGYKDGGMVEMV  
CRF

**AOW26936 (CA 33)**

>AOW26936.1 proteasome regulatory particle base subunit [*Candida albicans* SC5314]  
MAPSQEQSKEQIQSQTSKDQOPTKSDKSKVQKEEELSEEDQHLKDELELLVERLNEPNQDRALYNKYLDALKT  
FIKESTTSMTAVPKPLKFLRPHYPSLTELYTNWSNQFSAKDVIVIKLADILSVLATTYSDEGNRDSLKYRLLA  
SDDTISDWGHEYMRHLALEIGESFQENLGVDEELVNKLVKLALQIVPFFLKHNAEADAVDLLLEIECIDKLPQ  
FVDENTFARVCLYVTSCVPYLAPPDDVSFLNTAYSIIYLSHNQLTQALTLAIKLDNLIKQVFDSTTDESLHK  
QLGFILSQNSNFKYPGENPEVQECISNVKLAEYFYQLVKELNLLDPKVPEDVYKSHLENSKFGLGTSGSIDS  
AKQNLAAASFVNGFLNLGFGNDKLVQTEEDNKSWIYRTKSGMASTTASLGSIHQWNINEGLQVLDKYTYSEDS  
EVKAGALLGTGVVSANVHDEVDAAAFALLQEYVHEPNKLYQTAAINGLGI AFAGSANEDVNLNLLPLVSDLDIS  
LEISCLAALALGHIFVGTCHGDVTSTILQTLLELDYDTQLTNKFIKFM SLGLGLLYMGRTEQAEDVLETIDAIE  
HPISKTLKVLVNICAFAGTGNVLOIQALLQMCTAKPKDQLEEEKLEQSEEEQQQQQNKDTKSN GEGGEEEE  
DVEMEDAESKNETSSENTTASATSTTSSSKEKGDSSSSAAAAAAGDEKAQEGGDDKEDEEEIDEEEEELYQGI AV  
LGLACIAMGEDIQDMSLRHFGHLMHYGNSLIRRAVPLAMGLVSTSNPQMKVFETLSRYSHDPDLEVAQNSIY  
SMGLVGAGTNNARLAQLLRQLASYYIKSPDTLFMVRIAQGILHLGKGTTLTTPYNSERTILSKVSLASLLTIA  
IALLDPRSFILNDSTTETTHQLLYLTPAVKPRMLVTVDEELKPIKVNVRVQAVDVVVGQAGKPKTITGWVTQ  
STPVLNLYGERAELENTDEWISLSSSLEGVVILKKNPEYMEIDS

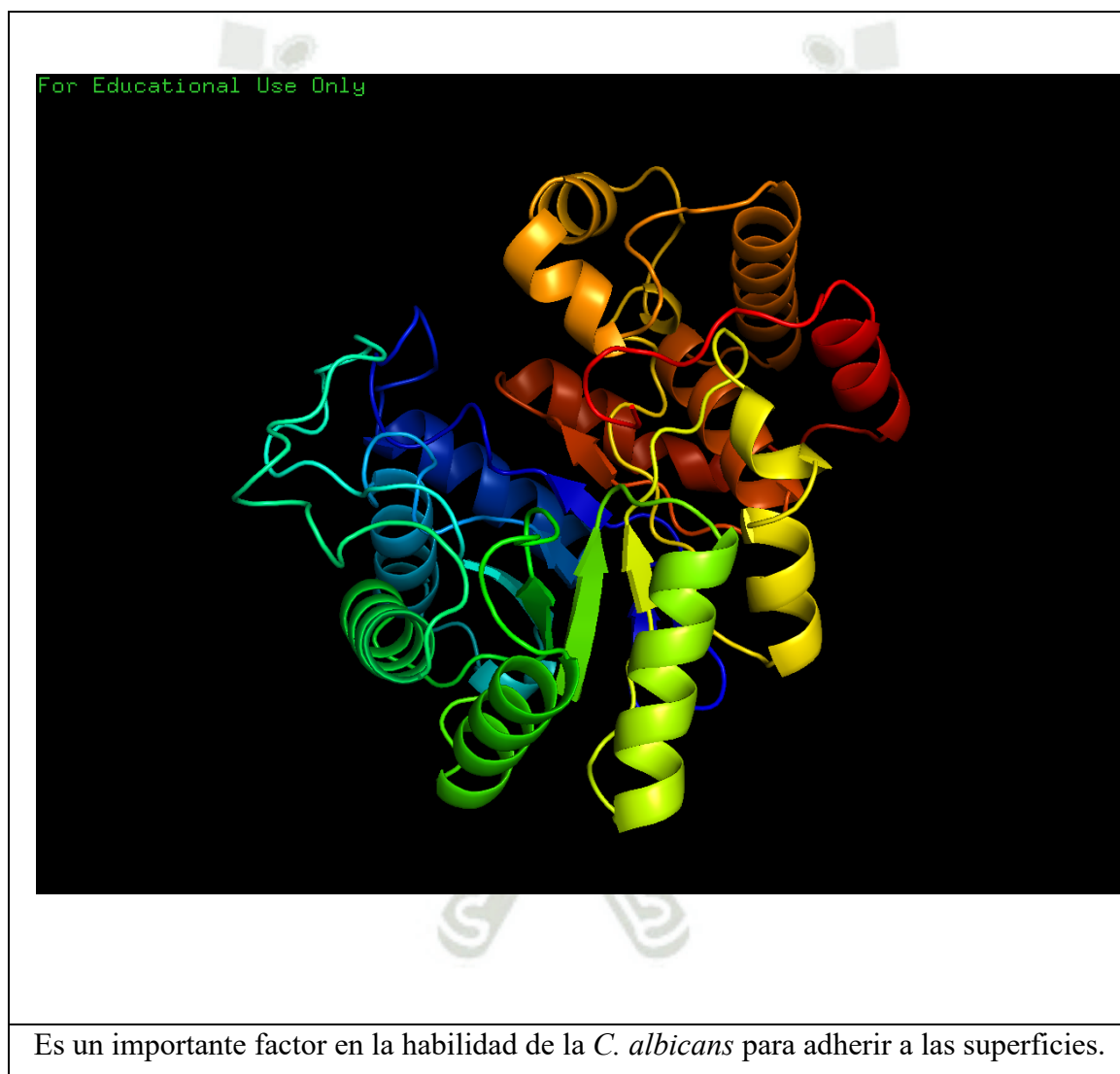


### 3. MODELADO ESTRUCTURAL Y FUNCIONES DE PROTEÍNAS

- Proteínas expresadas a los 1,7 y 14 días.

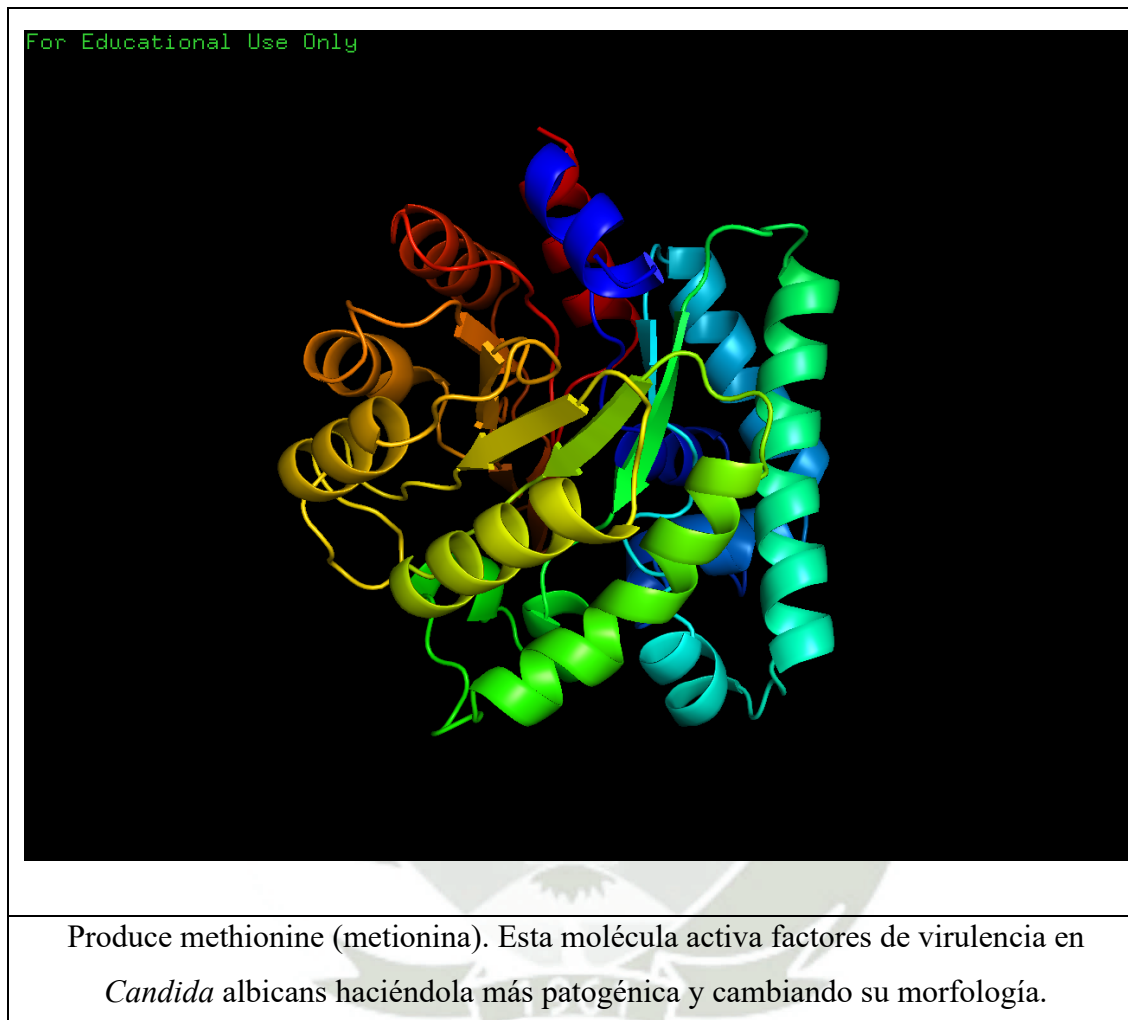
**Figura 26**

(CA\_08) Csh1p (Cell surface hydrophobicity protein):



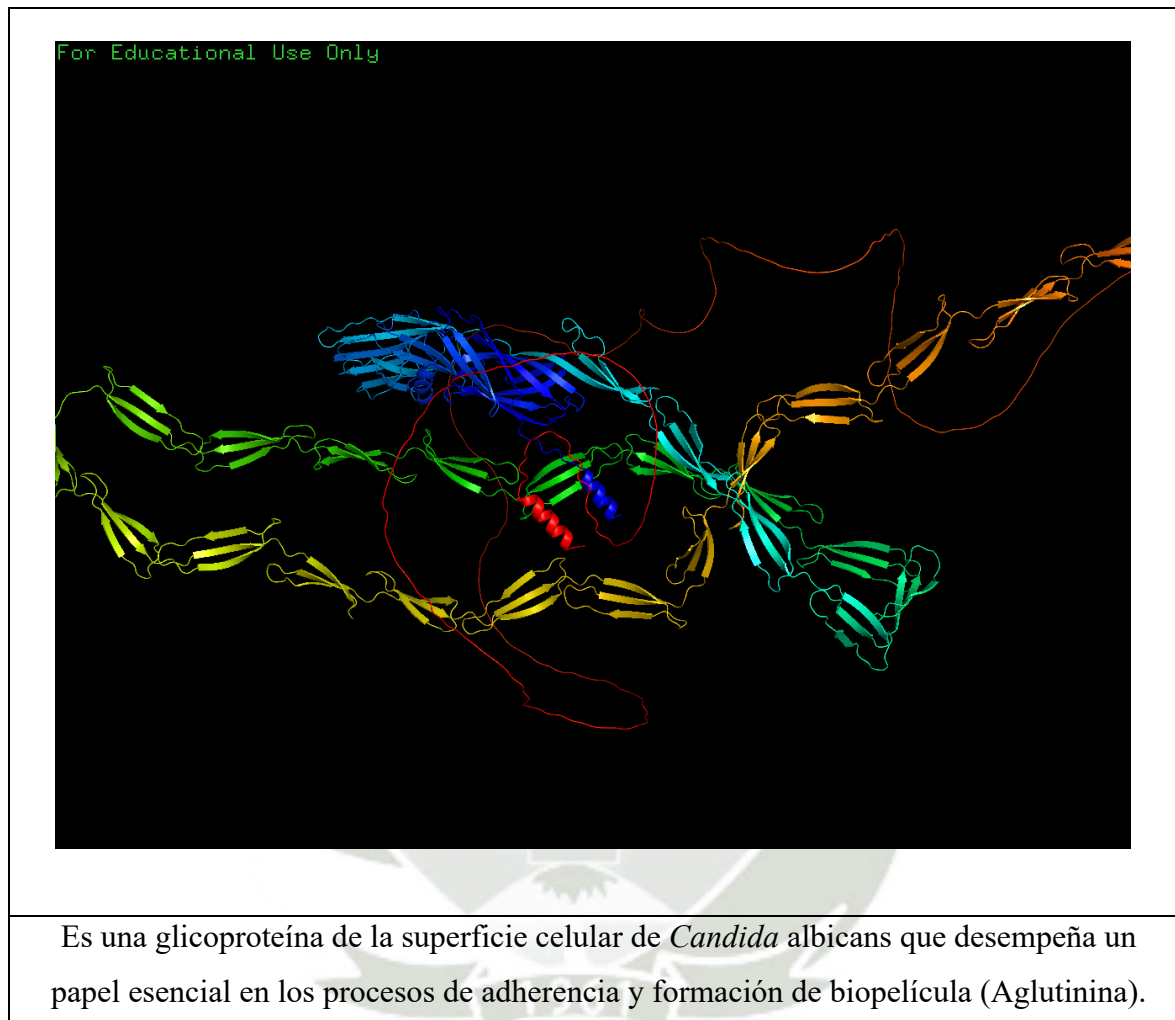
**Figura 27**

(CA\_09) S-adenosylmethionine-homocysteine S-methyltransferase:



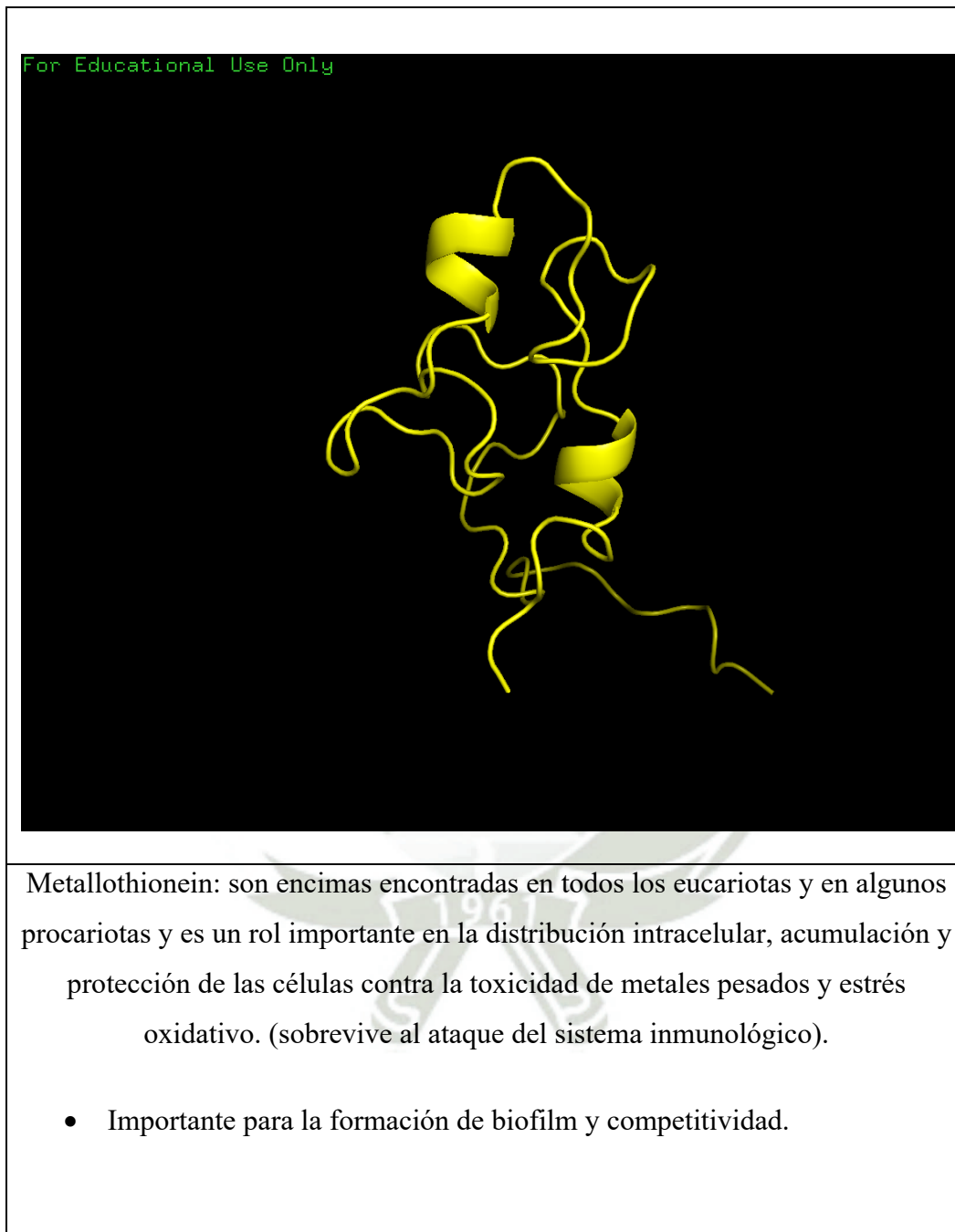
### Figura 28

(CA\_10) Als10 Full=Agglutinin-like protein 10

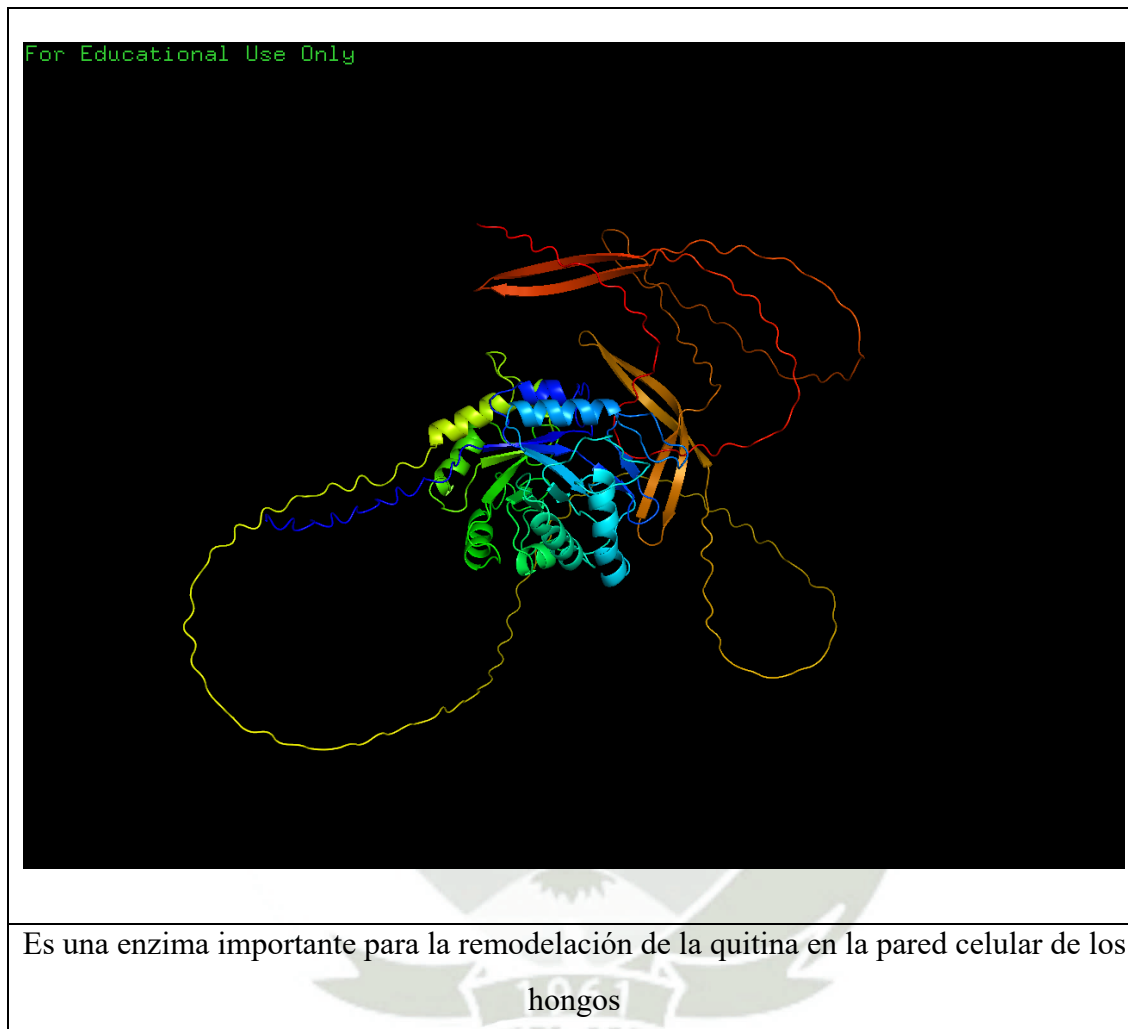


**Figura 29**

(CA\_11) Crd2p

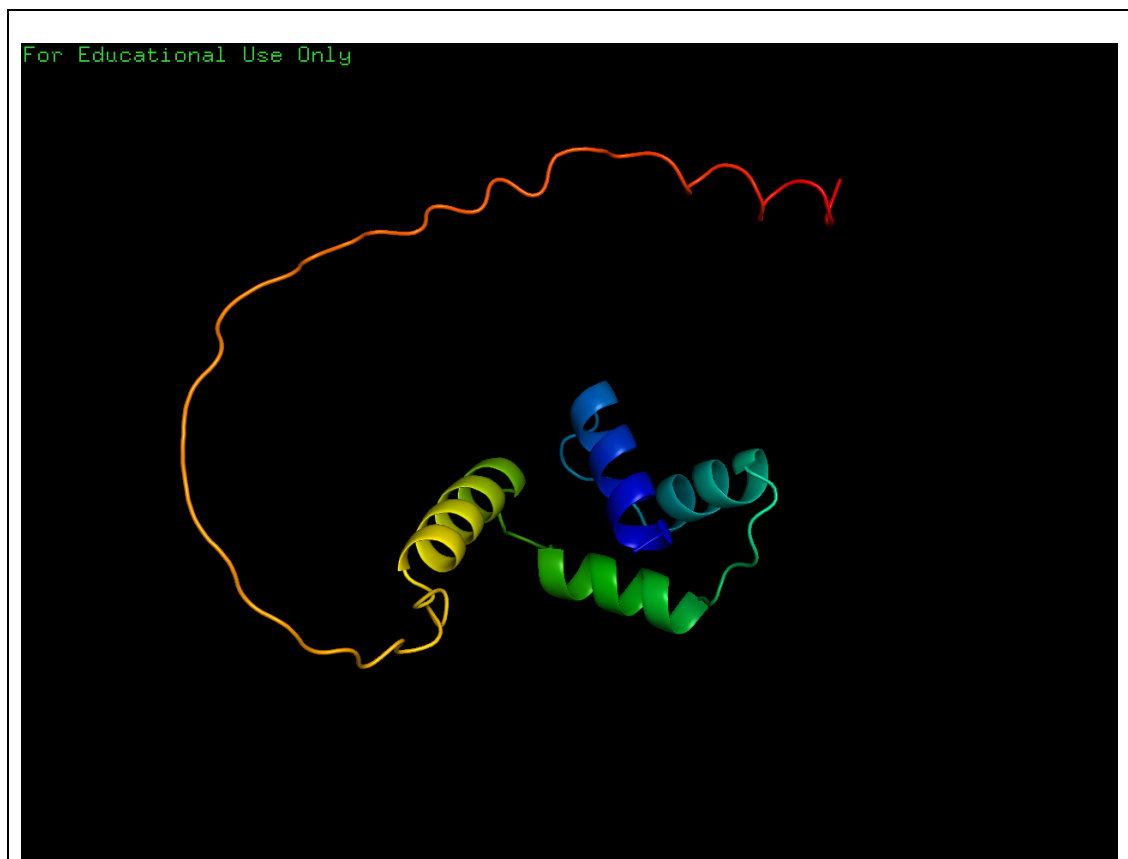


**Figura 30**  
(CA\_12) Chitinase



**Figura 31:**

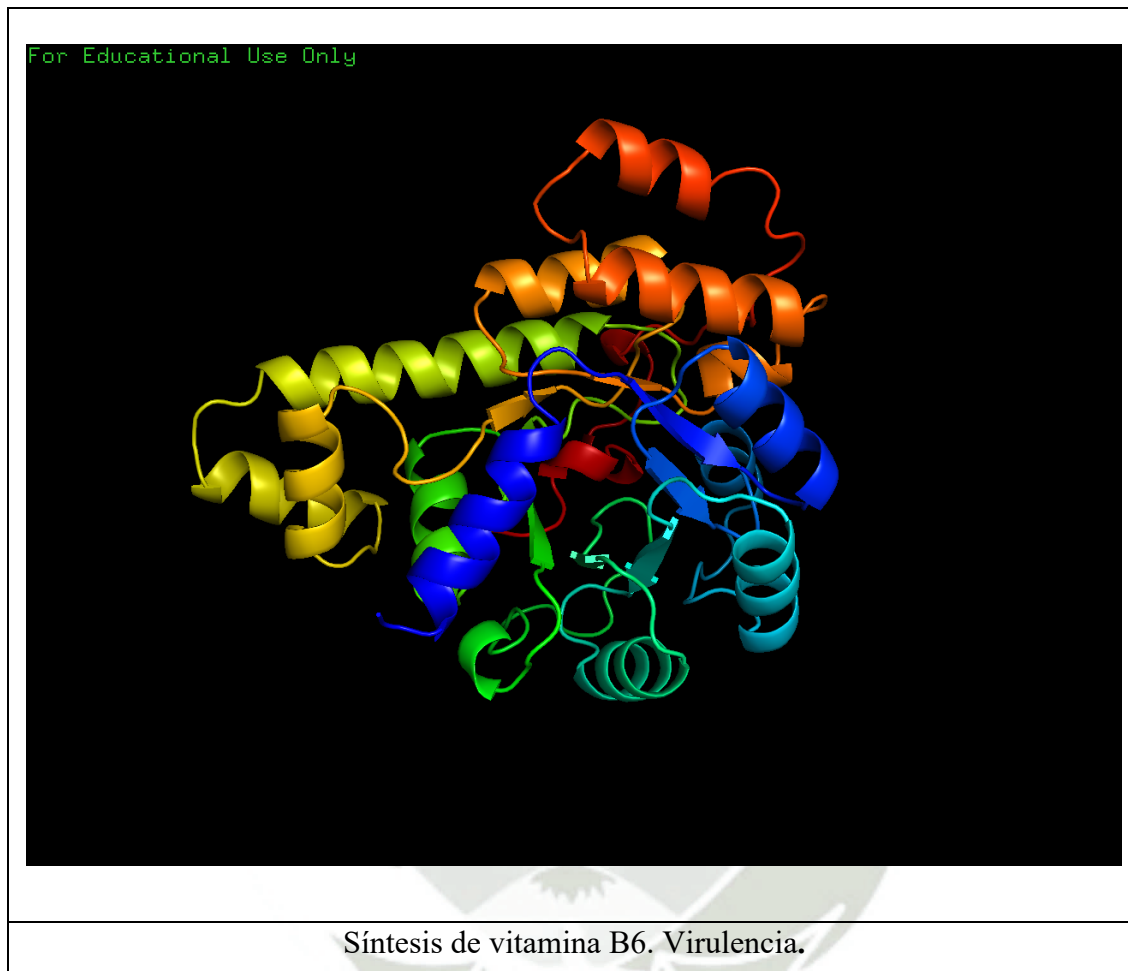
(CA\_13) 60S Acidic ribosomal protein P2



Esta proteína participa en la elongación de las proteínas. Posiblemente es un factor de virulencia.

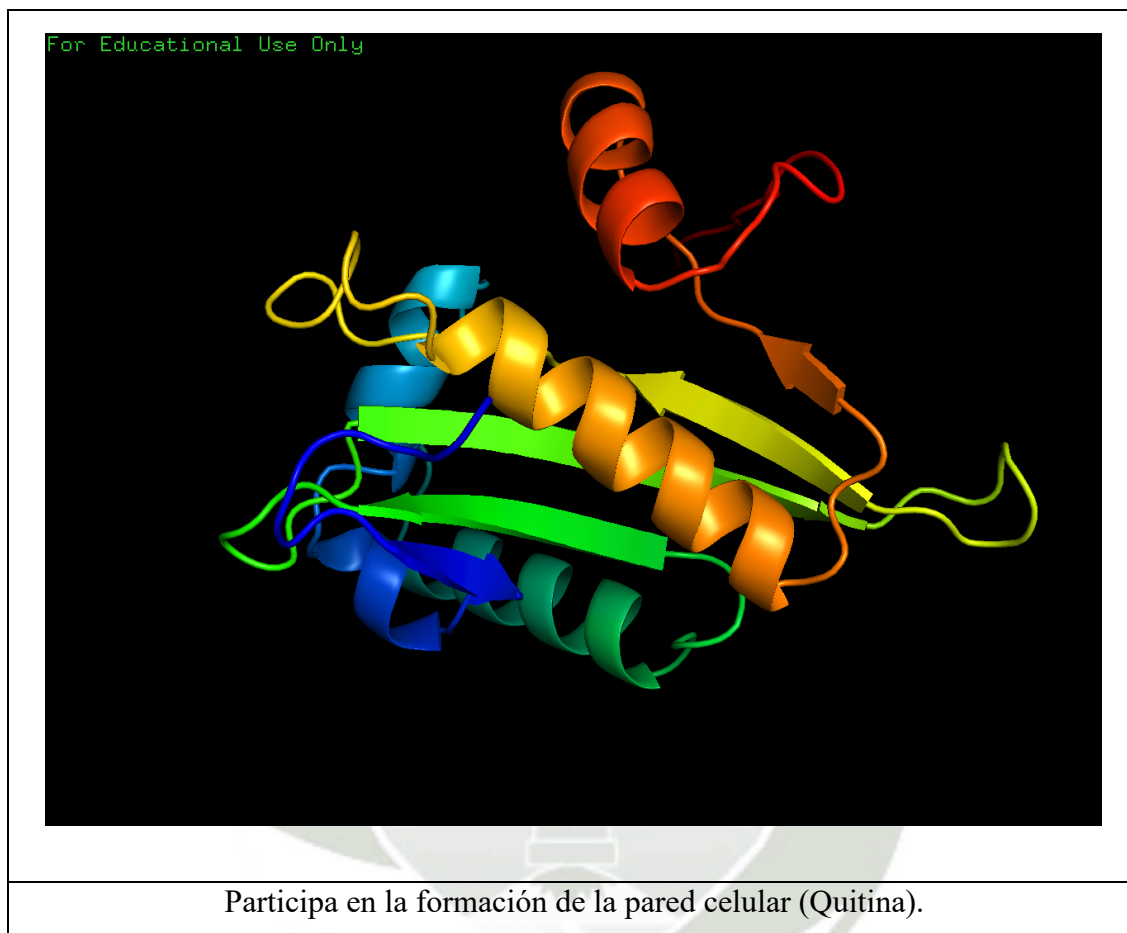
**Figura 32**

(CA\_31) Pyridoxine biosynthesis protein



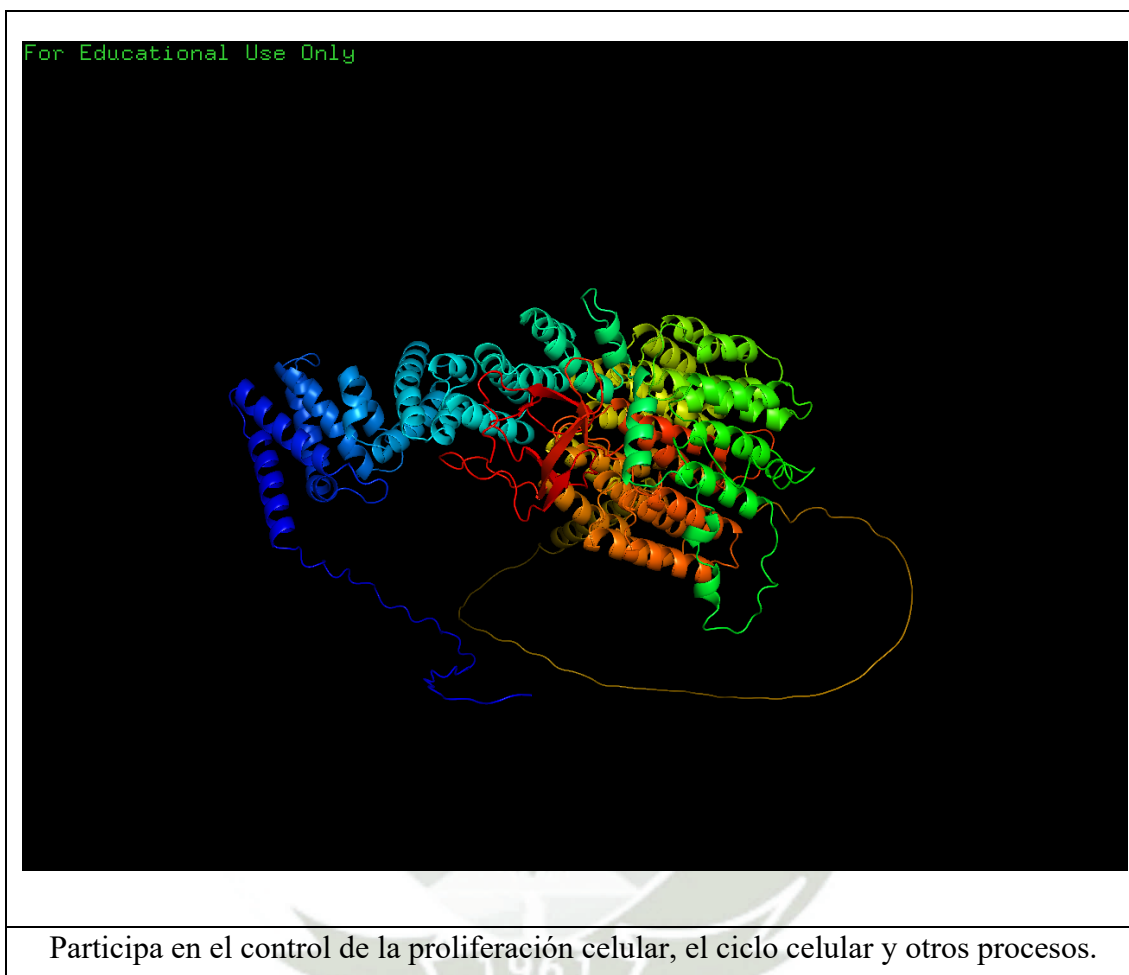
**Figura 33**

(CA\_32) Glucosamine 6-Phosphate N-Acetyltransferase



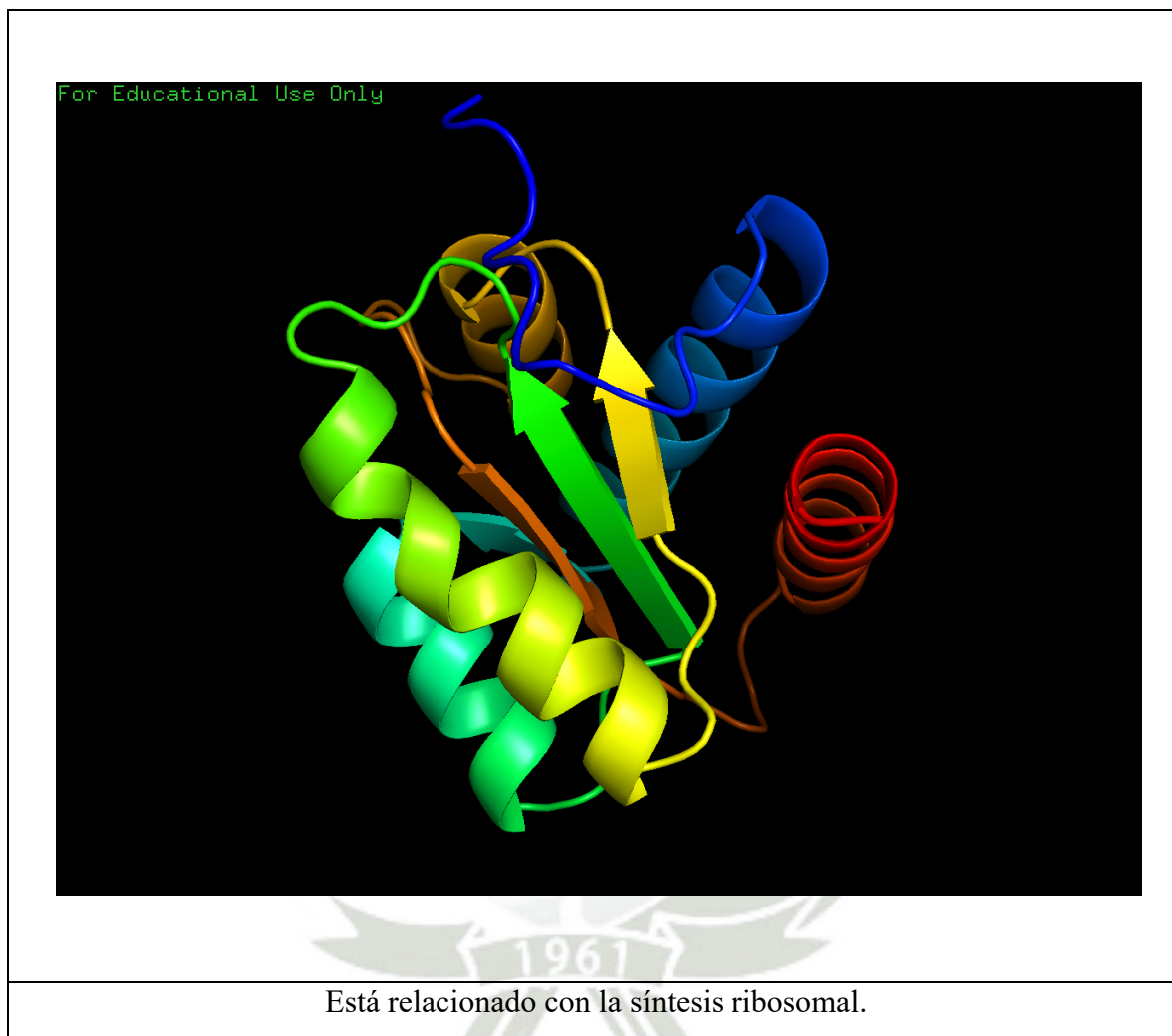
**Figura 34**

(CA\_33) Proteasome regulatory particle base subunit



**Figura 35**

(CA\_34) NHP2 / L7aE family protein



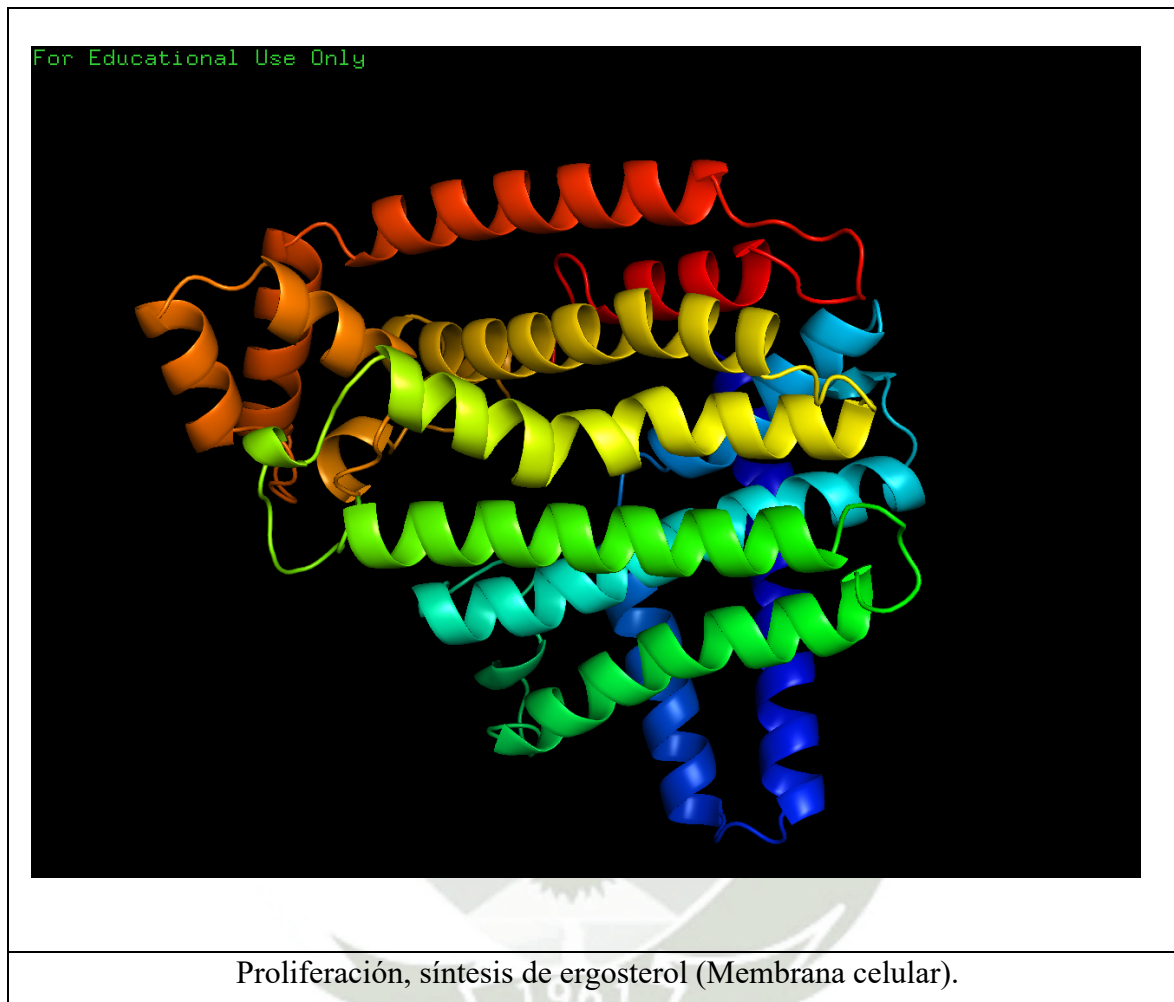
**Figura 36**

(CA\_27) H (+)-exporting P2-type ATPase



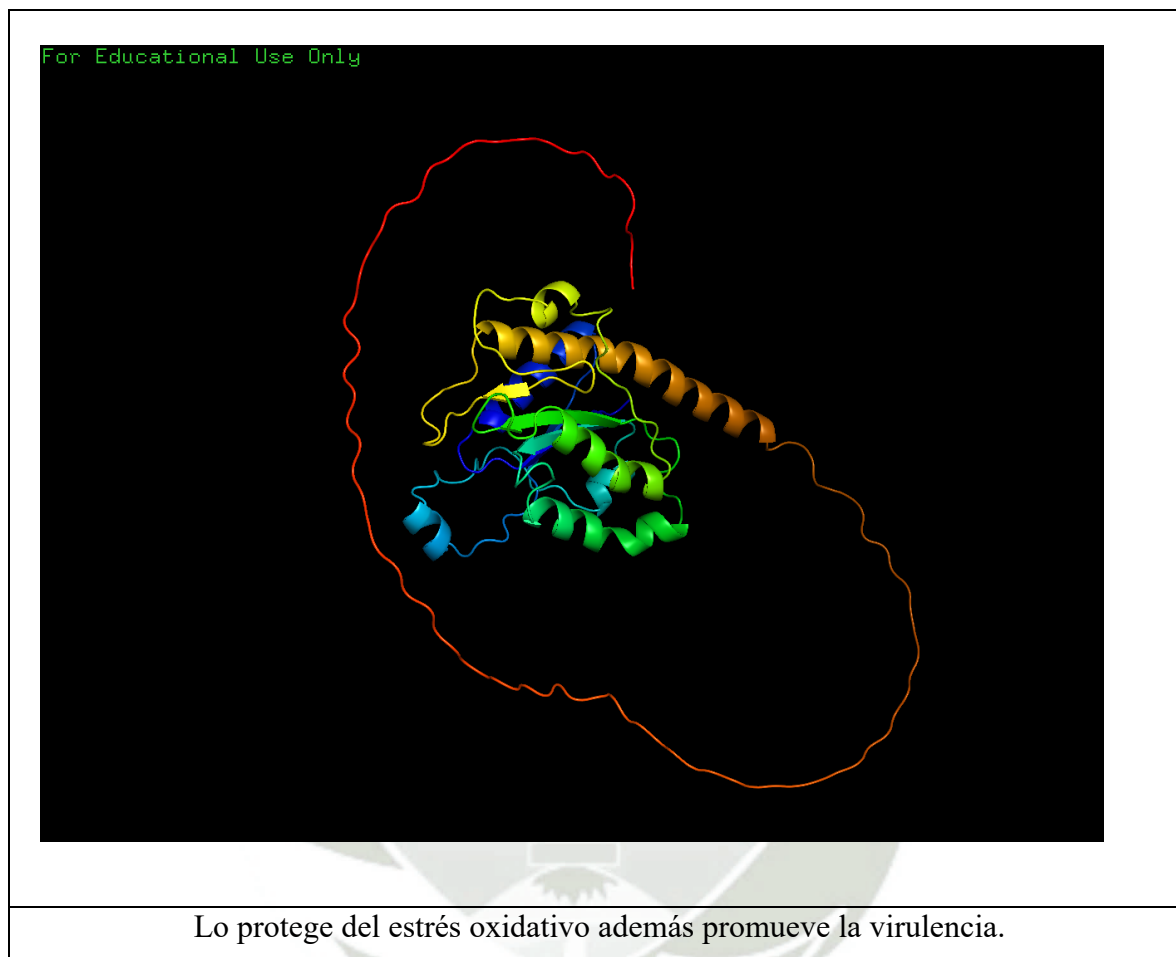
**Figura 37**

(CA\_28) Bifunctional (2E,6E) - farnesyl diphosphate synthase/dimethylallyltransferase:

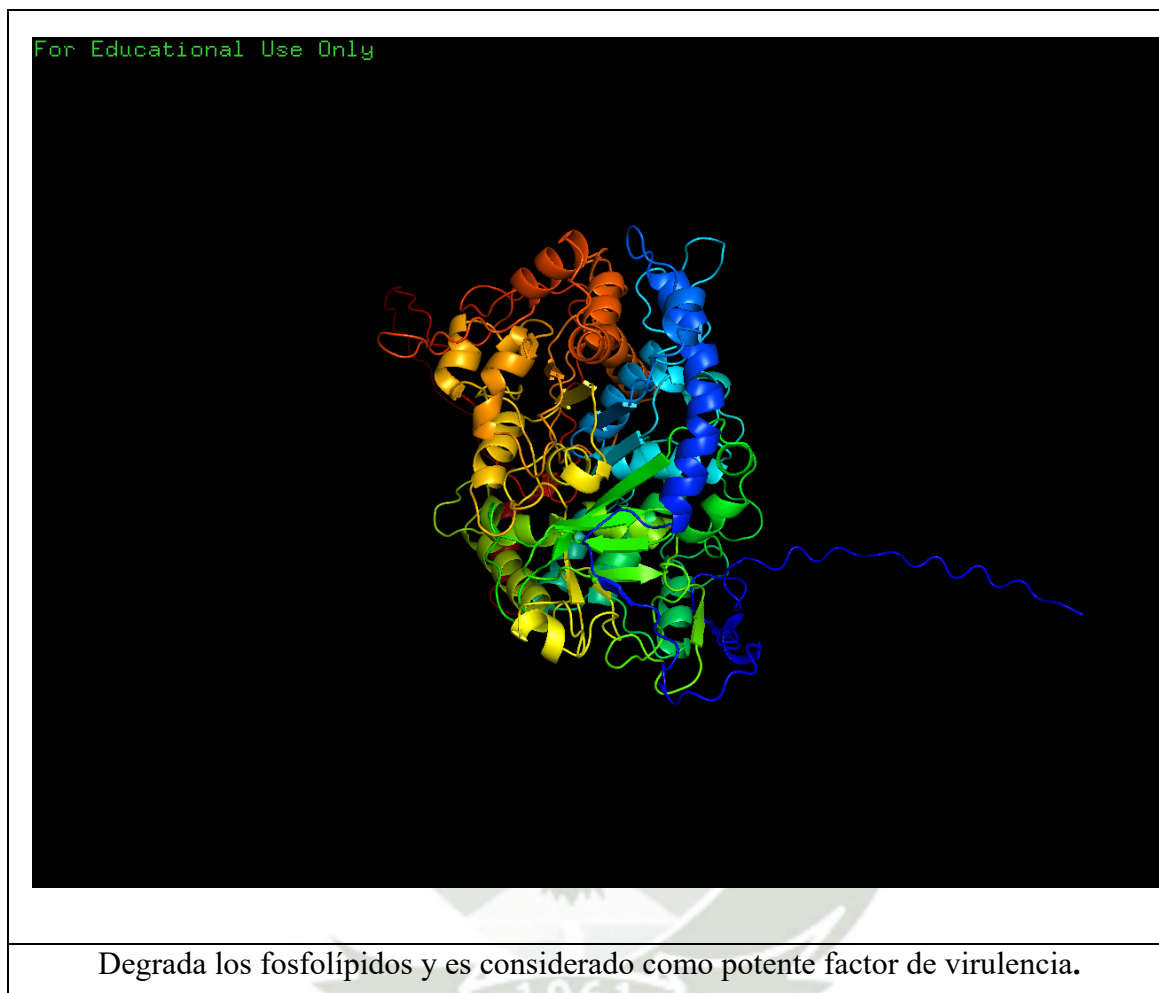


### Figura 38

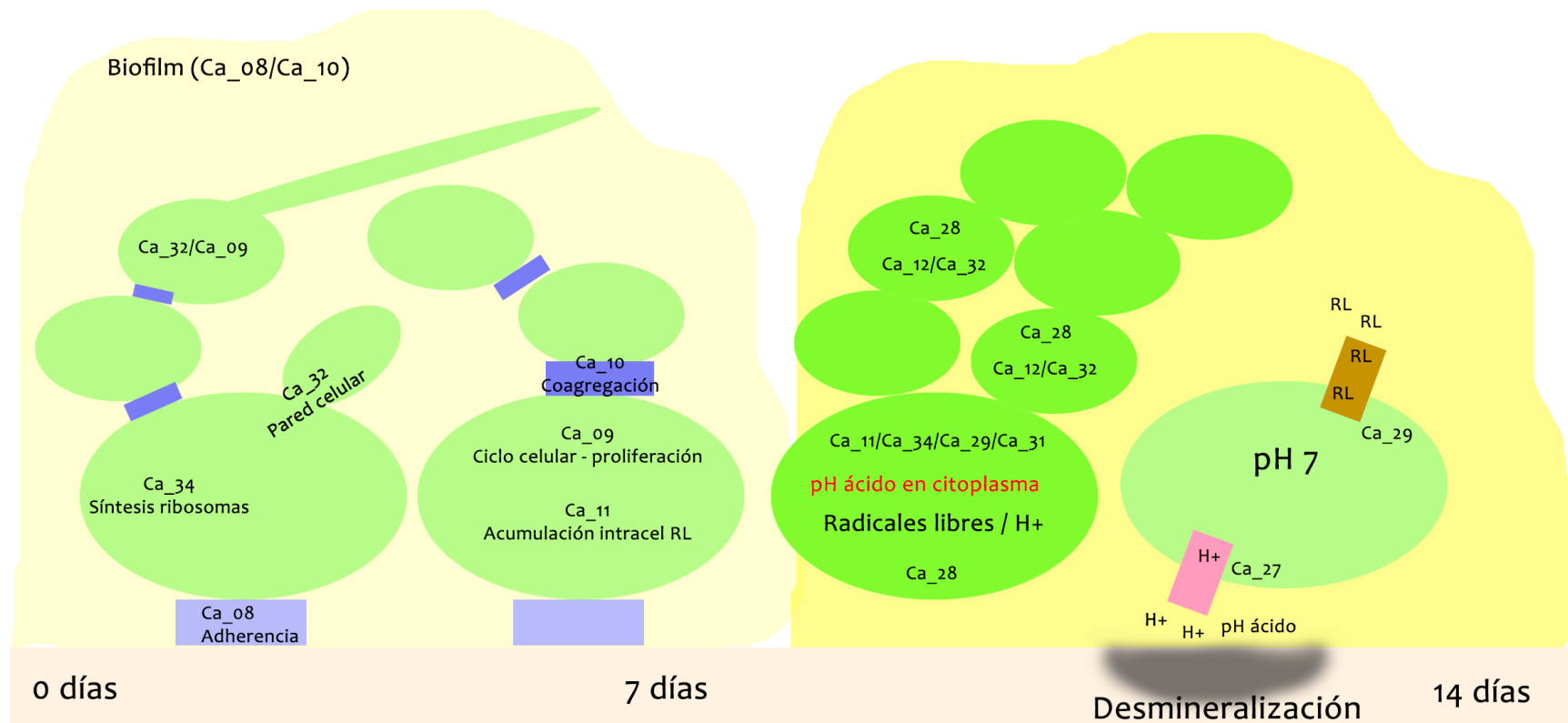
(CA\_29) Flavodoxin-like fold family protein



**Figura 39**  
(CA\_30) Plb4.5p



### Proteínas asociadas al proceso cariogénico de la *C. albicans*



**Figura 26.** Gráfico de los marcadores moleculares de *C. albicans* de 0 días hasta los 14 días. (fuente propia)

## DISCUSIÓN

La caries es una enfermedad multifactorial que destruye los tejidos duros del diente por la presencia de ácidos que desmineralizan el esmalte provocando la mancha blanca (clínicamente) conllevando posteriormente a la destrucción de la dentina pudiendo llegar a estructuras internas del diente. En este sentido, uno de los microorganismos frecuentemente aislados de esta enfermedad es el *S. mutans*. Sin embargo, en el presente estudio, se ha podido determinar que la levadura *C. albicans* también puede desmineralizar el tejido dentario, pudiendo originar la caries dental. Este dato, está de acuerdo con estudios previamente reportados por Klinker y Paniagua (20, 24).

Se ha determinado molecularmente la presencia de proteínas relacionadas a la producción de caries dental por la *C. albicans*. Siendo así, las principales proteínas expresadas a los 7 días son:

La proteína Csh1p Cell Surface hydrophobicity protein (Ca\_08), que da su importante factor en su habilidad del *C. albicans* para poder adherirse en las superficies y a proteínas de la matriz extracelular, favoreciendo en la formación de biofilm. Este es un requisito importante de esta levadura, como factor de virulencia, debido a que esta proteína sería la encargada de que esta levadura se adhiera a las superficies, en este caso, dentarias para su establecimiento, desarrollo en forma de biofilm y futura infección (23).

La proteína NHP2 / L7aE family protein (Ca\_34) cuya función es la de promover la síntesis de ribosomas, estructuras celulares importantes para la síntesis de proteínas funcionales, la cual es utilizada por la *C. albicans* para su funcionamiento celular, así como diferentes factores que van a contribuir a su funcionamiento y sobrevivencia. Estos datos están de acuerdo con (24), (25).

Las proteínas Glucosamine 6-Phosphate N-Acetyltransferase (Ca\_32) que participa en la formación de la pared celular y la proteína Proteasome regulatory particle base subunit (Ca\_33), S-adenosylmethionine-homocysteine S-methyltransferase (Ca\_09) cuya función es participar en el control de la proliferación celular y el ciclo celular. El funcionamiento de las dos proteínas es su morfología, parte desde su cambio de forma blastoconidia a levadura filamentosa y elongada (hifa y pseudohifa) que a su vez las verdaderas hifas crecen en presencia de suero a 35 °C y 37 °C, otorgándole un alto grado de virulencia (adherencia a un sustrato – tejidos, por

ejemplo), capacidad de evadir el sistema inmune y de suprimir la respuesta proinflamatoria del hospedero, su forma de levadura es muy interesante ya que facilita la diseminación del hongo en el torrente sanguíneo al adherirse de forma significativa a las células endoteliales, mientras que la hifa es responsable de la invasión celular (21). El tubo germinal es como una extensión filamentosa de una célula levaduriforme, sin embargo, se expresa que el tubo germinal es más adherente a las superficies de las mucosas y la división celular que es importante para que la levadura pueda aumentar su población en un determinado local, provocando así una futura infección (19).

La proteína Pyridoxine biosynthesis protein (Ca\_31) da importancia a la síntesis de vitamina B6, los compuestos de vitamina B6 previenen la muerte de las células de levadura debido a la menadiona, un generador reactivo de oxígeno, el cual tiene la función principal de eliminar compuesta óxido radicales (26).

Se observó molecularmente la presencia de proteínas relacionadas a la producción de caries dental por la *C. albicans*, las principales proteínas que siguen expresándose a los 07 y 14 días, las cuales son: la proteína Csh1p Cell Surface hydrophobicity protein (Ca\_08), la proteína S-adenosylmethionine-homocysteine S-methyltransfer (Ca\_09), la proteína Pyridoxine biosynthesis protein (Ca\_31), la proteína Glucosamine 6-Phosphate N-Acetyltransferase (Ca\_32), la proteína Proteasome regulatory particle base subunit (Ca\_33) y la proteína NHP2 / L7aE family protein (Ca\_34), que a su vez tiene presencia en el día 07.

Se determinó molecularmente la presencia de proteínas relacionadas a la producción de caries dental por la *C. albicans*. Siendo así, las principales proteínas expresadas a los 14 días son: La proteína Als10 full=agglutinin-like protein 10 (Ca\_10), al ser una glicoproteína se encargará con compañía de la proteína Csh1p Cell Surface hydrophobicity protein (Ca\_08) de tener una sobre adherencia a la superficie celular o puede ser la responsable de la coagregación y es de gran importancia para la formación de biopelícula como la glutinina, la cual se encarga de unirse y formar el Biofilm (25).

Luego, la levadura tiene que tener un procedimiento importante para la supervivencia de su ecosistema por la acumulación progresiva de los radicales libres y metales pesados, lo cual la proteína Crd2p (Ca\_11), que son enzimas encontradas en todos los eucariotas y en algunos procariotas, el cual ocupa un rol importante en su distribución intracelular, poseen el papel de sobrevivencia para la protección de las células contra la toxicidad de radicales libres metales y al ataque del sistema inmunológico; cabe recalcar que la proteína NHP2 / L7aE family protein

(Ca\_34), acompaña en su síntesis ribosomal para la supervivencia. Gracias a la proteína Flavodoxin-like fold family protein (Ca\_29), la protege también del estrés oxidativo y con ayuda de la proteína Pyridoxine biosynthesis protein (Ca\_31), la vitamina B6 previenen también la muerte de las células de levadura debido a la menadiona, estos a su vez tendrá una consideración muy potente como factor de virulencia (26).

A partir del quinto día en adelante, el biofilm de la *C. albicans* va madurando lo que conlleva a la adquisición de nutrientes, división celular (multiplicación) cambio en su morfología y excreción de catabolitos, los cuales pueden ser dañinos para la *C. albicans*. Estos mecanismos podrían deberse a la expresión de las siguientes proteínas: La proteína 60s acidic ribosomal protein p2 (Ca\_13), ya que se observa la alta expresión de esta proteína, la cual participa en la expresión de otro tipo de proteínas que requiere el sistema (27).

La proteína Chitinase (Ca\_12) y la proteína Glucosamine 6-Phosphate N-Acetyltransferase (Ca\_32), son las encargadas de que se produzcan la remodelación de la quitina en la pared celular y la proteína bifuncional (2e,6e) - farnesyl diphosphate synthase/dimethylallyltransferase (Ca\_28), que tiene que proliferar síntesis de ergosterol para la membrana celular. Concomitantemente en el citoplasma del hongo se produce la acumulación excesiva de radicales libres y acumulación de protones, los cuales van a acidificar su citoplasma. Si estos elementos no son expulsados al exterior la *C. albicans* tendría un proceso de muerte. Es así como la proteína H (+)-exporting p2-type atpase (Ca\_27) y la proteína Flavodoxin-like fold family protein (Ca\_29) son las encargadas de expulsar los compuestos dañinos al exterior de la célula manteniendo su citoplasma en pH neutro. Es así que gran acúmulo de protones en el exterior, conllevará a la acidificación del medio (28), provocando así la desmineralización del tejido duro del diente (18).

Dado que la *C. albicans* está en completa producción de catabolitos, como radicales libres y protones, es posible que estructuras internas como membranas celulares y nucleares, puedan ser afectadas por estos acúmulos, es por eso por lo que la proteína Plb4.5p (Ca\_30), se encargue de degradar los fosfolípidos de la membrana dañada para poderla regenerarla. Por otro lado, uno de los componentes del diente tanto de dentina como esmalte, es la presencia de fosfolípidos en su composición (29). Por lo que esta proteína estaría también relacionada a la desintegración de los tejidos duros del diente.

Solo un estudio ha demostrado morfológicamente, utilizando un indicador de caries, el cual tiñe el tejido desmineralizado, que la *C. albicans* puede provocar la desmineralización del diente.

Otros estudios han podido corroborar la presencia de *C. albicans* en lesiones cariosas, así como también el mutualismo que existe entre el *S. mutans* y la *C. albicans*. Un estudio en ratas, concluyó que la *C. albicans* puede provocar caries oclusal en esos animales (18).

En consecuencia, y teniendo en cuenta las proteínas obtenidas por aproximación proteómica en los días estudiados, se puede denotar el mecanismo molecular por el cual la *C. albicans* podría estar produciendo la desmineralización de los tejidos duros del diente originando caries dental por un microorganismo eucariota, siendo este el primer estudio en demostrar proteómicamente la producción de caries por *C. albicans*.

Estos datos, son recolectados por la aproximación proteómica, lo que significa que la función probable de las moléculas obtenidas en el estudio, son comparadas con moléculas ya determinadas por estudios previos hechos en *C. albicans* o en *S. cerevisiae*. Y debido a que este reporte es el primero en la literatura por el cual se denota proteómicamente cuales son las principales proteínas responsables por la acidificación y producción de mancha blanca (desmineralización de la superficie dentaria - caries) por la *C. albicans*, la interpretación y discusión de estos resultados está determinada por las funciones previamente reportadas en la literatura.

## CONCLUSIONES

1. Se determina que a primer día los marcadores moleculares son: Ca\_01, Ca\_02, Ca\_03, Ca\_04, Ca5, Ca\_07, Ca\_21, Ca\_22, Ca\_23, Ca\_24, Ca\_25, Ca\_26, Ca\_27.
2. Se determina que a los 07 días los marcadores moleculares son: Ca\_08, Ca\_09, Ca\_31, Ca\_32, Ca\_33, Ca\_34.
3. Se determina que a los 14 días los marcadores moleculares son: Ca\_08, Ca\_09, Ca\_10, Ca\_11, Ca\_12, Ca\_13, Ca\_27, Ca\_28, Ca\_29, Ca\_30, Ca\_31, Ca\_32, Ca\_33.
4. Bajo los límites de este estudio se puede manifestar que la *C. albicans* puede producir la desmineralización de la superficie dental por ella misma provocando así el proceso cariogénico por un eucariota.

## RECOMENDACIONES

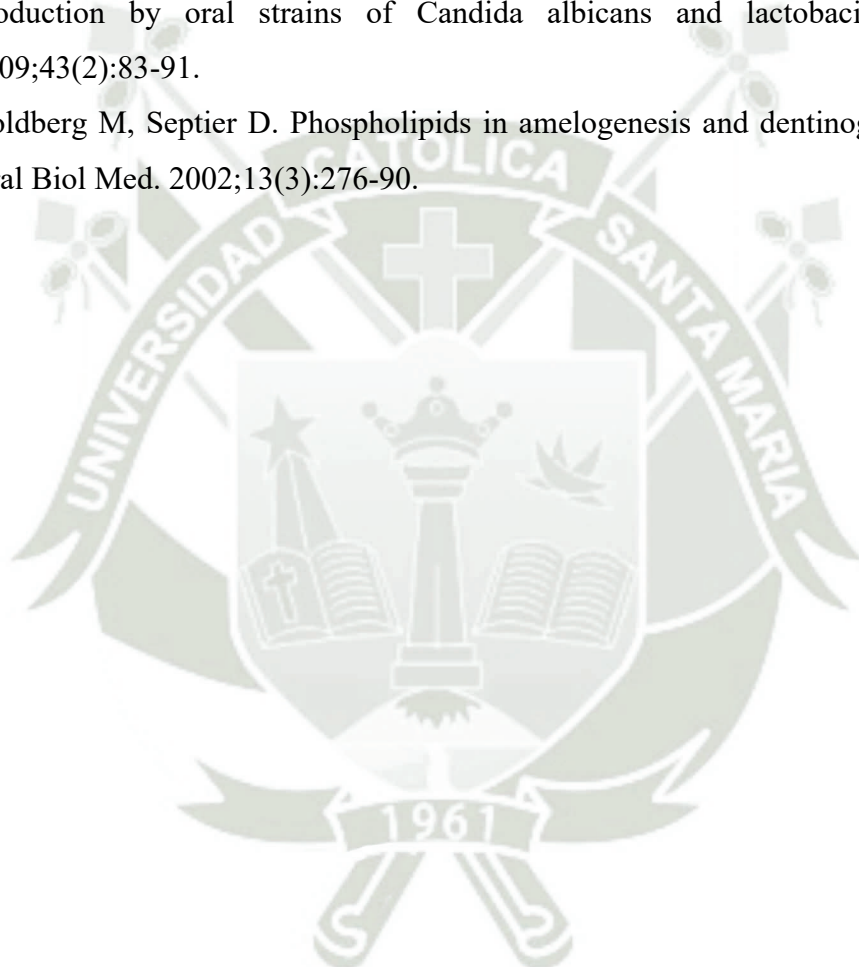
1. Se recomienda a los futuros tesista e investigadores a estudiar con más énfasis la biología de la *C. albicans* en Odontología.
2. Se recomienda a los futuros tesista e investigadores a estudiar con más profundidad el proceso cariogénico de la *C. albicans*.
3. Se recomienda a los futuros tesista e investigadores a realizar estudios de dentífricos y colutorios que además de actuar contra las bacterias, actúen contra los hongos.
4. Se recomienda a los futuros tesista e investigadores a estudiar la interacción de la *C. albicans* con otros microorganismos cariogénicos.

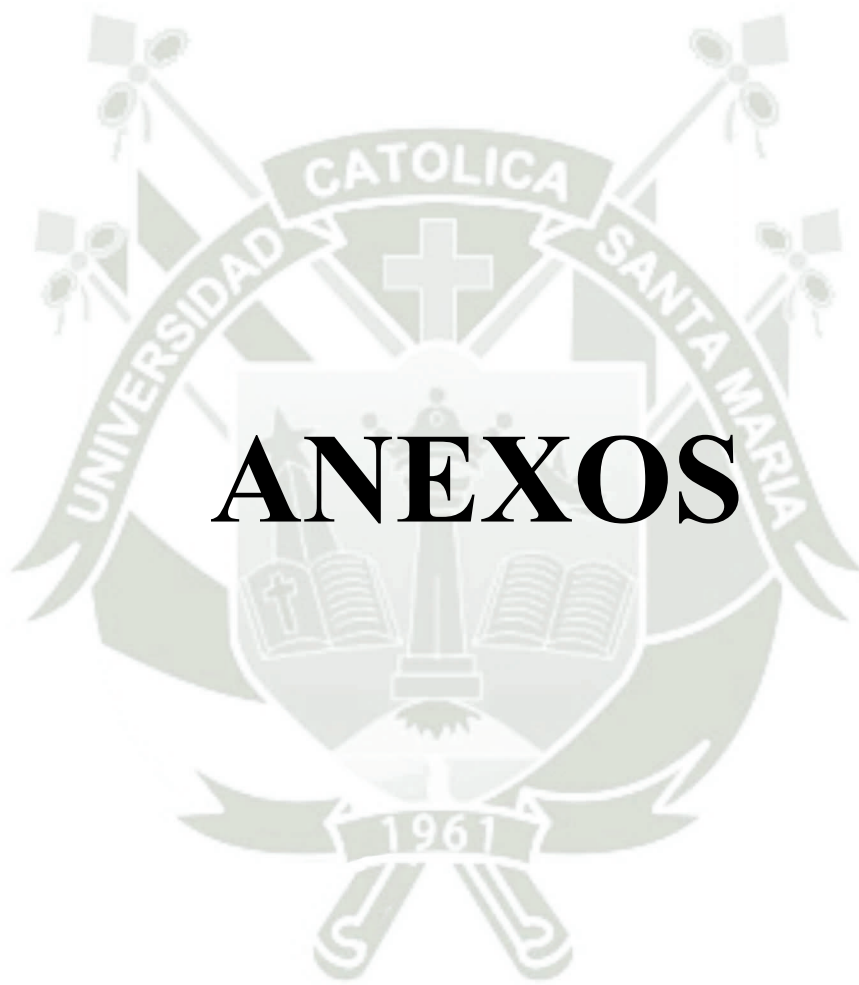
## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Mathur VP, Dhillon JK. Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. *Indian J Pediatr.* 2018;85(3):202-6.
2. Garispe A, Sorensen C, Sorensen JR. Dental Emergencies. *StatPearls. Treasure Island (FL)*2024.
3. Larotta L, Acevedo AM. [Dental caries: etiology and nature. (2)]. *Pract Odontol.* 1991;12(8):13-7, 20-2.
4. Krzysciak W, Jurczak A, Koscielniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33(4):499-515.
5. Robles Raya P, Javierre Miranda AP, Moreno Millan N, Mas Casals A, de Frutos Echaniz E, Morato Agusti ML. [Management of odontogenic infections in Primary Care: Antibiotic?]. *Aten Primaria.* 2017;49(10):611-8.
6. Ponde NO, Lortal L, Ramage G, Naglik JR, Richardson JP. *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. *Crit Rev Microbiol.* 2021;47(1):91-111.
7. Du Q, Ren B, Zhou X, Zhang L, Xu X. Cross-kingdom interaction between *Candida albicans* and oral bacteria. *Front Microbiol.* 2022;13:911623.
8. Vitorino R, Guedes S, Trindade F, Correia I, Moura G, Carvalho P, et al. De novo sequencing of proteins by mass spectrometry. *Expert Rev Proteomics.* 2020;17(7-8):595-607.
9. van Agthoven MA, Lam YPY, O'Connor PB, Rolando C, Delsuc MA. Two-dimensional mass spectrometry: new perspectives for tandem mass spectrometry. *Eur Biophys J.* 2019;48(3):213-29.
10. Zhao L, Hou Y, Picariello T, Craig B, Witman GB. Proteome of the central apparatus of a ciliary axoneme. *J Cell Biol.* 2019;218(6):2051-70.
11. Revesz A, Rokob TA, Jeanne Dit Fouque D, Turiak L, Memboeuf A, Vekey K, et al. Selection of Collision Energies in Proteomics Mass Spectrometry Experiments for Best Peptide Identification: Study of Mascot Score Energy Dependence Reveals Double Optimum. *J Proteome Res.* 2018;17(5):1898-906.
12. Tanzer JM. Dental caries is a transmissible infectious disease: the Keyes and Fitzgerald revolution. *J Dent Res.* 1995;74(9):1536-42.

13. Perea EJ. [Oral microbiology in the era of genomics and proteomics]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005;23(3):113-5.
14. Tu C, Wang Y, Yi L, Wang Y, Liu B, Gong S. [Roles of signaling molecules in biofilm formation]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao.* 2019;35(4):558-66.
15. Carniello V, Peterson BW, van der Mei HC, Busscher HJ. Physico-chemistry from initial bacterial adhesion to surface-programmed biofilm growth. *Adv Colloid Interface Sci.* 2018;261:1-14.
16. Lyu XH, Wang K, Zhang LL. [Research progress of the relationship between *Candida albicans* and dental caries]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2021;56(5):491-6.
17. Natalia de la Calle Rodríguez CSV, Nora Cardona Castro. Factores de virulencia para la infección de tejidos queratinizados por *Candida albicans* y hongos dermatofitos. *CES Med.* 2012;vol.26.
18. Klinke T, Guggenheim B, Klimm W, Thurnheer T. Dental caries in rats associated with *Candida albicans*. *Caries Res.* 2011;45(2):100-6.
19. Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annu Rev Microbiol.* 2015;69:71-92.
20. Wang Y. Looking into *Candida albicans* infection, host response, and antifungal strategies. *Virulence.* 2015;6(4):307-8.
21. Dadar M, Tiwari R, Karthik K, Chakraborty S, Shahali Y, Dhama K. *Candida albicans* - Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control - An update. *Microb Pathog.* 2018;117:128-38.
22. Paniagua Caira D. Capacidad cariogénica de la *Candida albicans*: Estudio in vitro, Arequipa 2024: Universidad Católica de Santa María; 2024.
23. Singleton DR, Fidel PL, Jr., Wozniak KL, Hazen KC. Contribution of cell surface hydrophobicity protein 1 (Csh1p) to virulence of hydrophobic *Candida albicans* serotype A cells. *FEMS Microbiol Lett.* 2005;244(2):373-7.
24. Watkins NJ, Gottschalk A, Neubauer G, Kastner B, Fabrizio P, Mann M, et al. Cbf5p, a potential pseudouridine synthase, and Nhp2p, a putative RNA-binding protein, are present together with Gar1p in all H BOX/ACA-motif snoRNPs and constitute a common bipartite structure. *RNA.* 1998;4(12):1549-68.
25. Henras AK, Plisson-Chastang C, Humbert O, Romeo Y, Henry Y. Synthesis, Function, and Heterogeneity of snoRNA-Guided Posttranscriptional Nucleoside Modifications in Eukaryotic Ribosomal RNAs. *Enzymes.* 2017;41:169-213.

26. Chumnantana R, Yokochi N, Yagi T. Vitamin B6 compounds prevent the death of yeast cells due to menadione, a reactive oxygen generator. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1722(1):84-91.
27. Abramczyk D, Tchorzewski M, Grankowski N. Non-AUG translation initiation of mRNA encoding acidic ribosomal P2A protein in *Candida albicans*. *Yeast*. 2003;20(12):1045-52.
28. Klinke T, Kneist S, de Soet JJ, Kuhlisch E, Mauersberger S, Forster A, et al. Acid production by oral strains of *Candida albicans* and lactobacilli. *Caries Res*. 2009;43(2):83-91.
29. Goldberg M, Septier D. Phospholipids in amelogenesis and dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13(3):276-90.





# ANEXOS

**ANEXO 1:**

**Solicitud para el uso del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM**

**Solicito:** Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM

**Señor:**

**Dr. Luis Ponce Soto**

Coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas

Jeremy Ramiro Valdivia Cervera, identificado con DNI 70369234 y el código de alumno 2018248691, bachiller en Odontología.

Ante usted me presento y expongo que, me encuentro en proceso de realización de mi tesis: Análisis de expresión por aproximación proteómica de marcadores moleculares asociados al proceso cariogénico producido por *Candida albicans* UCSM. Arequipa, 2024. Asesorado por el Dr. Obando Pereda, Gustavo Alberto.

Por lo que solicito a usted la autorización para la obtención y proceso de mis muestras para desarrollar mi proyecto, para optar por el título de Cirujano Dentista en la UCSM.

Por lo expuesto, espero acceda a mi solicitud.

Arequipa, 04 de marzo del 2024



---

Valdivia Cervera, Jeremy Ramiro

DNI 70369234



**ANEXO 2:**

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIZACION

El que suscribe *Profesor* Luis Alberto Ponce Soto Ph.D. con DNI N°29546298, Docente Investigador y Coordinador del laboratorio de Química de Proteínas del Vicerrectorado de Investigación F-401, de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

**DECLARO:**

Que el trabajo de Investigación denominado: *“Análisis de expresión por aproximación proteómica de marcadores moleculares asociados al proceso cariogénico producido por Candida albicans”*, se realizará por el Alumno: *Valdivia Cervera Jeremy Ramiro* y docente *Dr. Gustavo Alberto Obando Pereda* en las instalaciones del laboratorio de Química de Proteínas, bajo mi supervisión.

Se expide la presente a solicitud de los interesados para los fines debidos.

Arequipa, 01 de abril del 2024.

Atentamente,



*Profesor Luis Alberto Ponce Soto  
Coordinador del Laboratorio de Química de Proteínas  
Vicerrectorado de Investigación  
Universidad Católica de Santa María*

ORCID: 0000-0001-5976-2913  
<https://orcid.org/0000-0001-5976-2913>  
Other IDs  
Scopus Author ID: 8987609300  
ResearcherID: B-1328-2017.

[vrinvestigacion@ucsm.edu.pe](mailto:vrinvestigacion@ucsm.edu.pe)

Teléfono: 382038. Anexo 1111

Universidad Católica de Santa María de Arequipa – Perú

**ANEXO 3:**

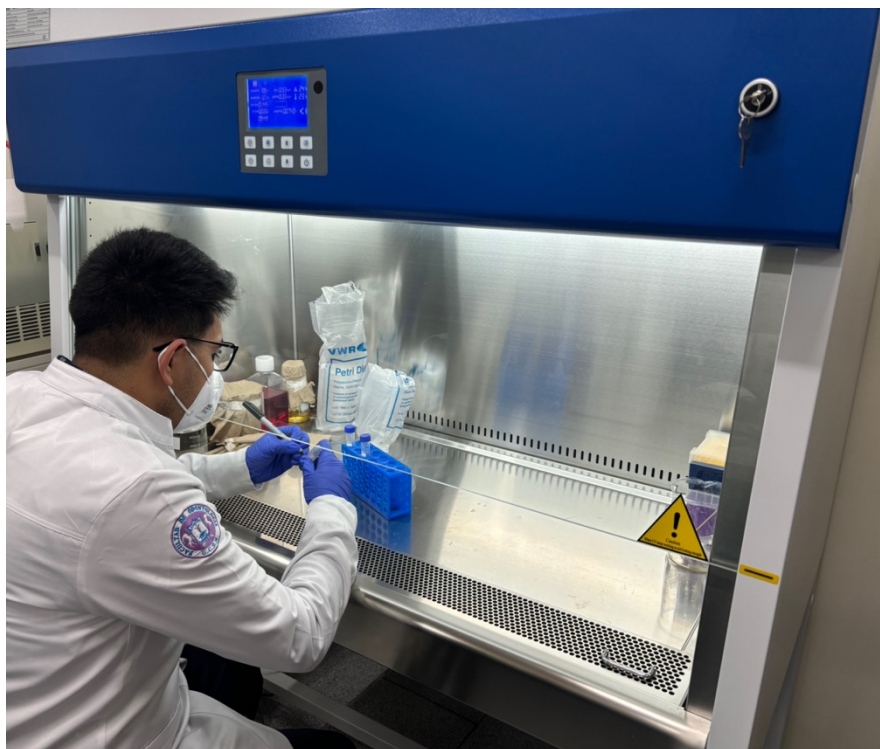
**Fotografías adjuntadas del proceso laboratorio**



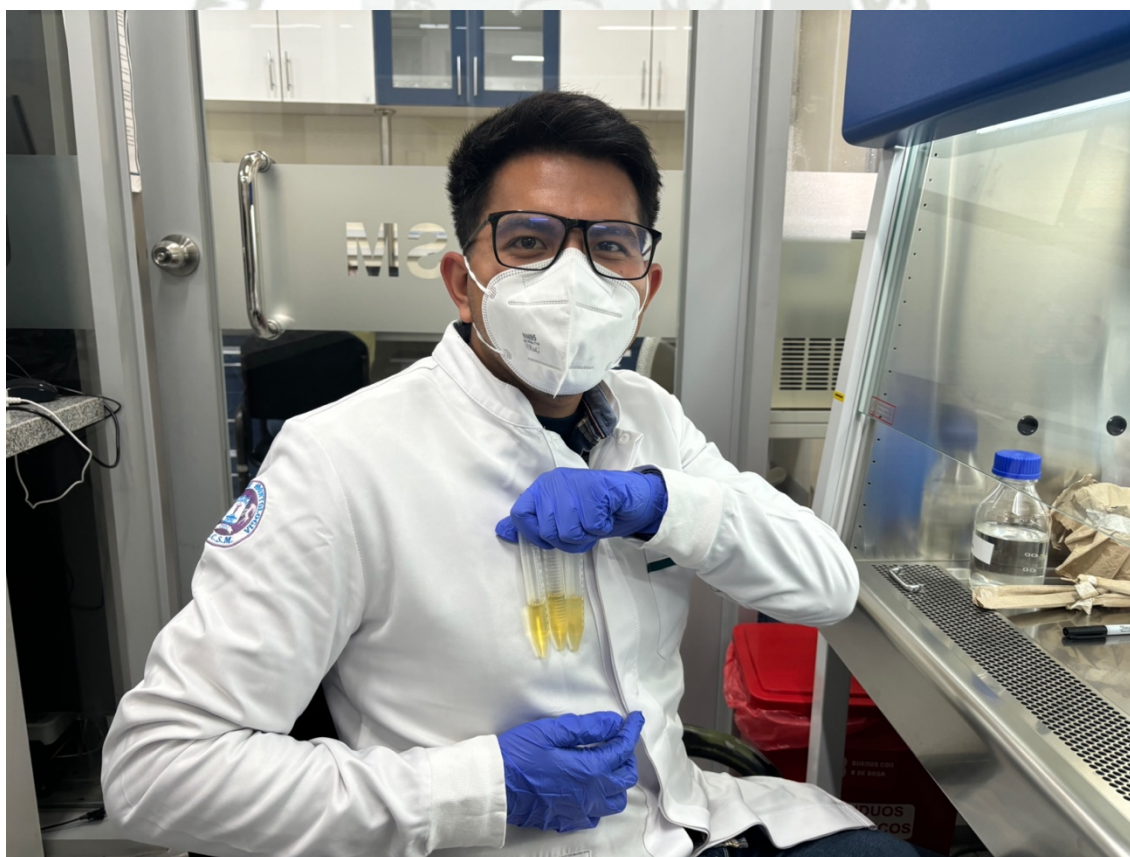
**Rotulación del sobrenadante del día 01**



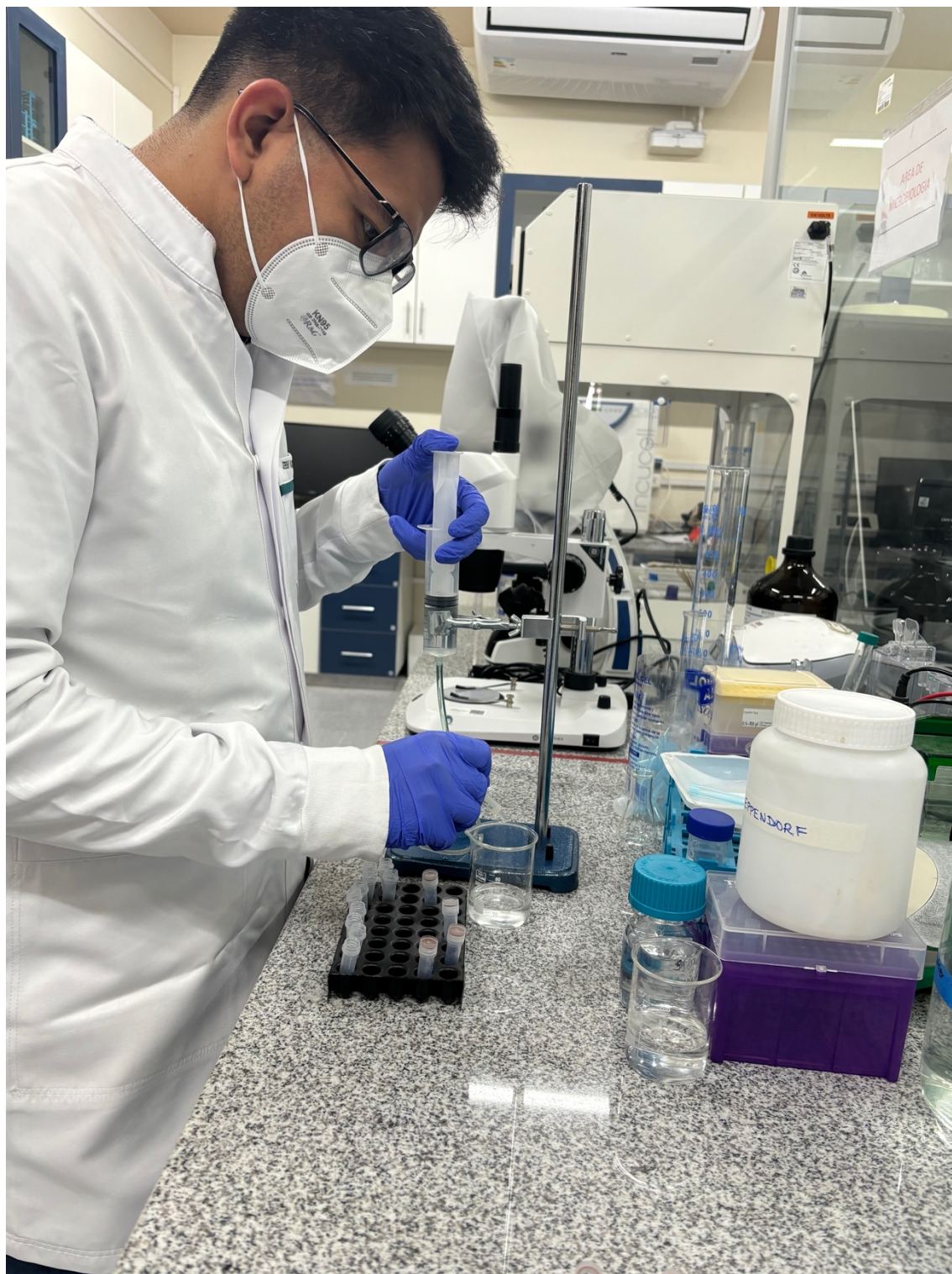
**Rotulación del sobrenadante del día 07**



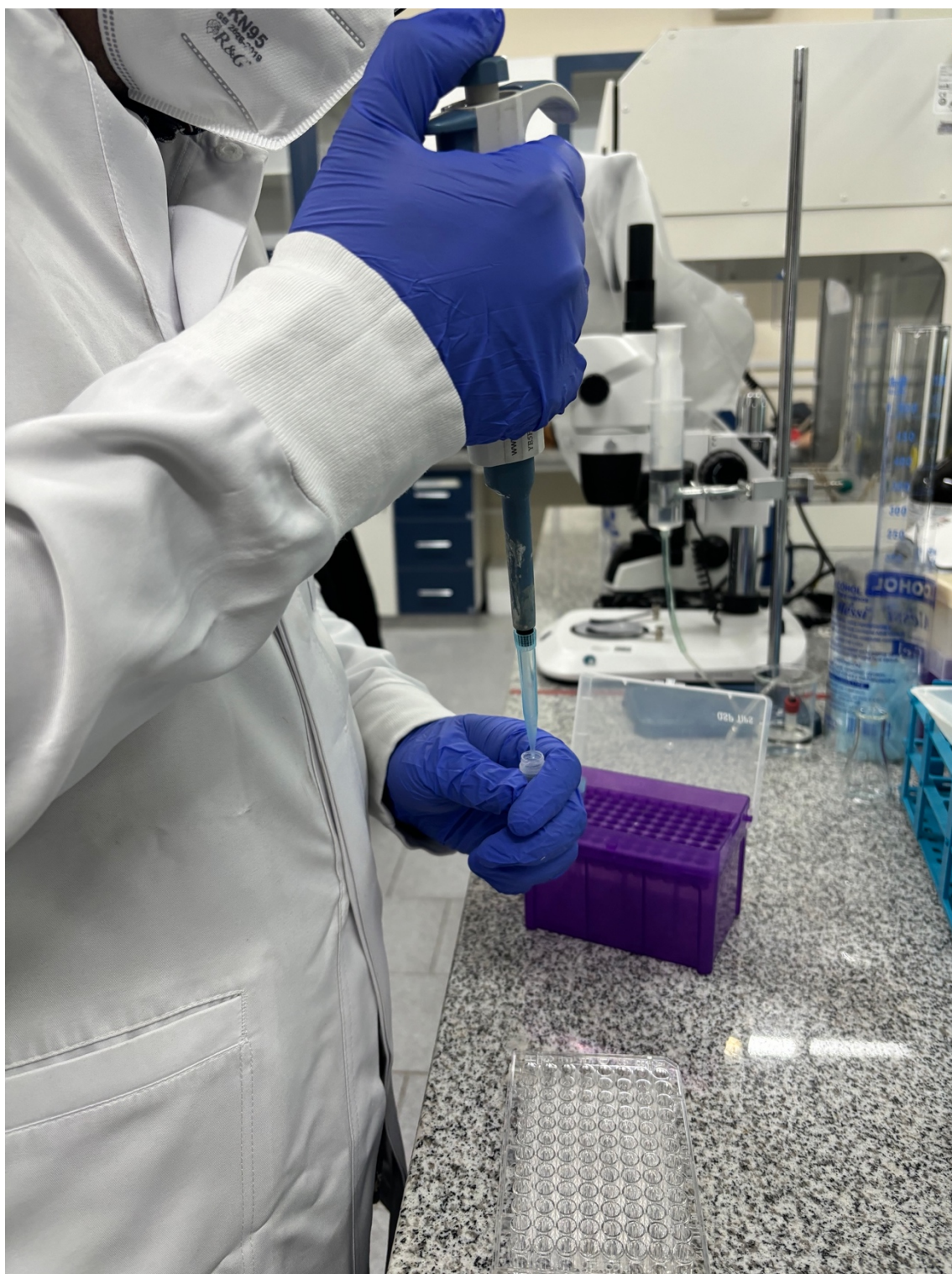
**Rotulación del sobrenadante del día 14**



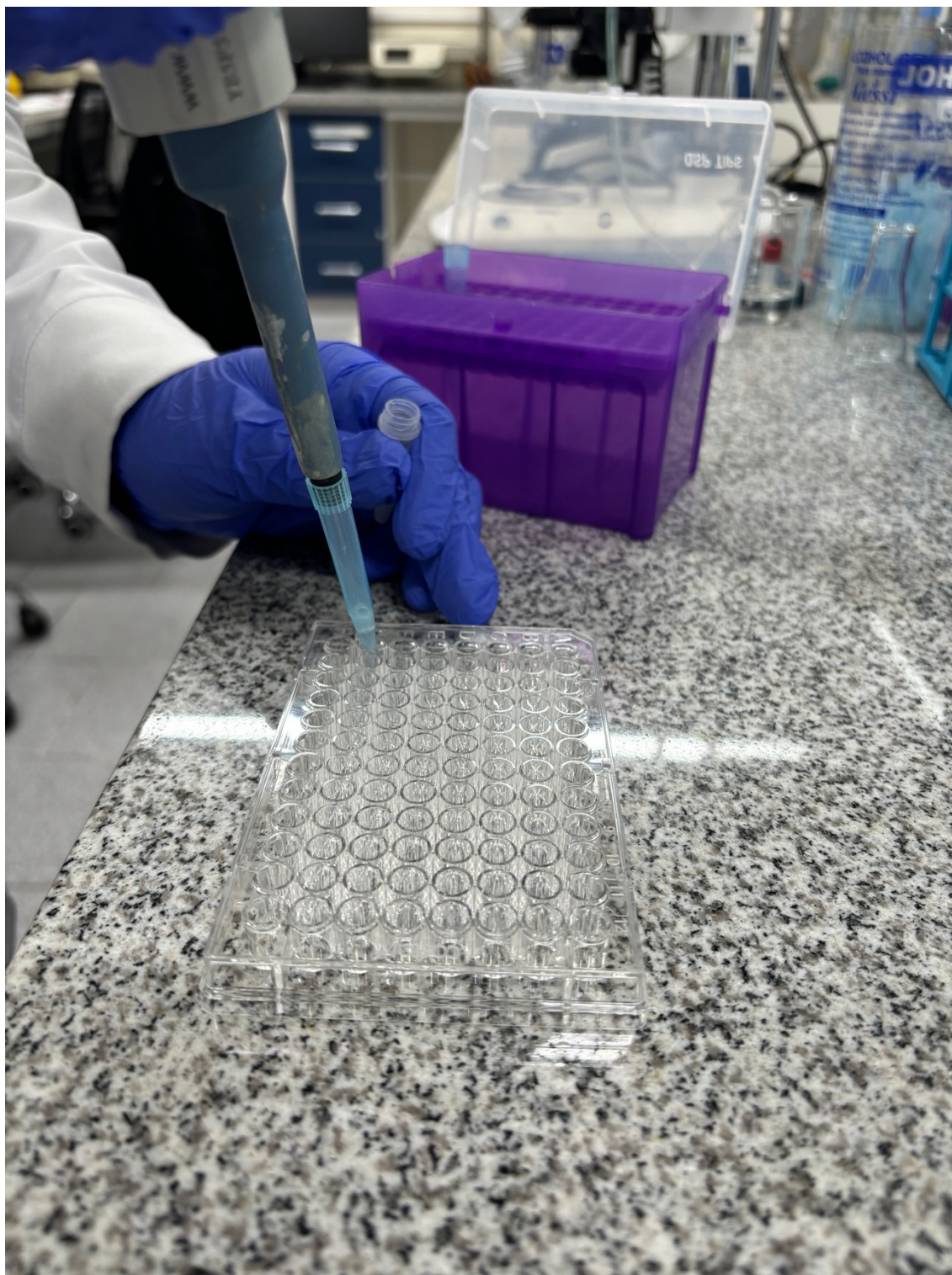
**Evidencia de muestras procedentes del sobrenadante de culturas de *C. albicans***



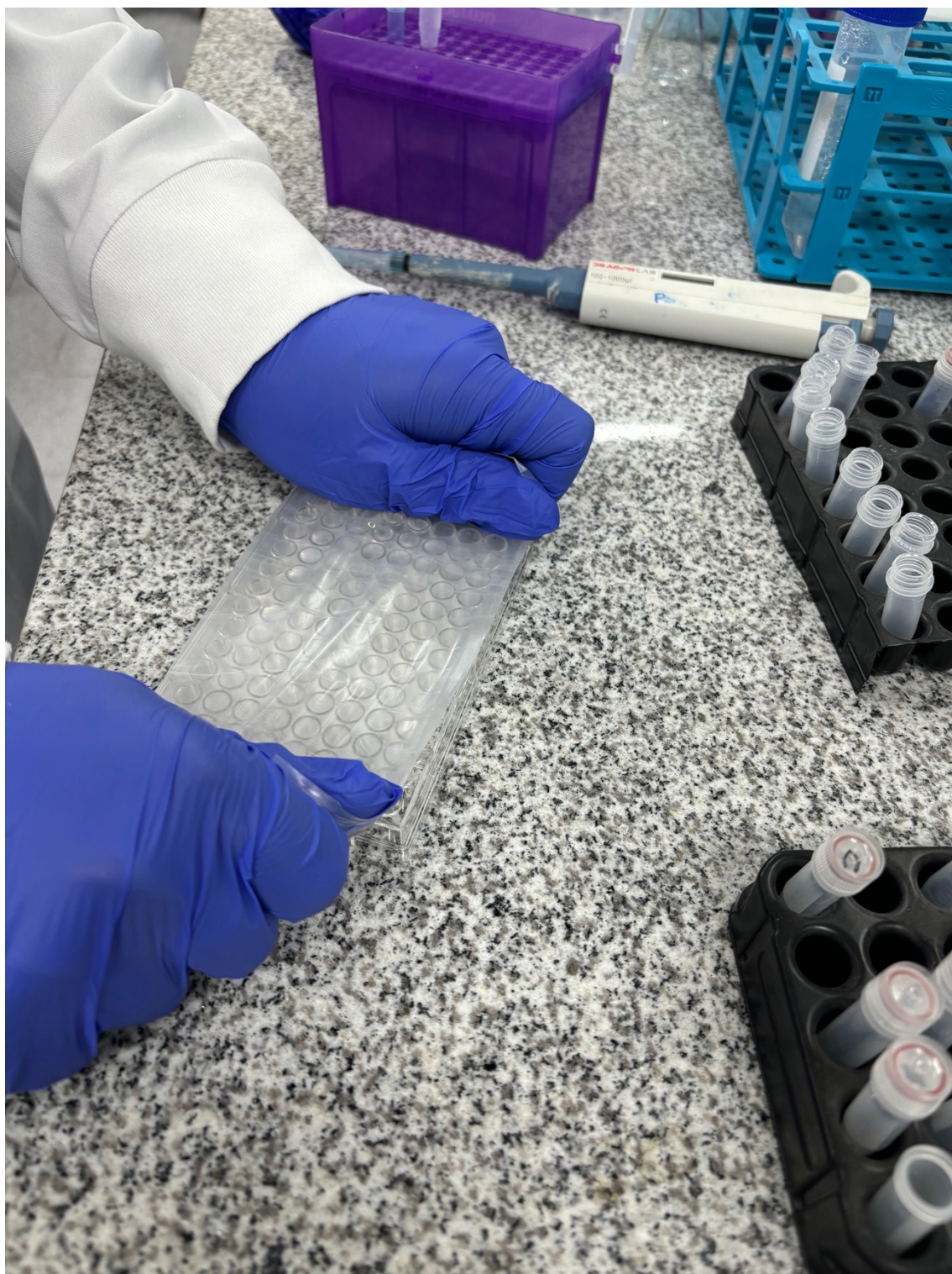
**Purificación de proteínas procedentes de muestra en sobrenadante de cultivo de *C. albicans***



**Preparación de la placa con muestras purificadas en sobrenadante de cultivo de *C. albicans***



**Preparación de la placa con muestras purificadas en sobrenadante de cultivo de *C. albicans***



**Sellado de la placa con muestras purificadas en sobrenadante de cultivo de *C. albicans***





