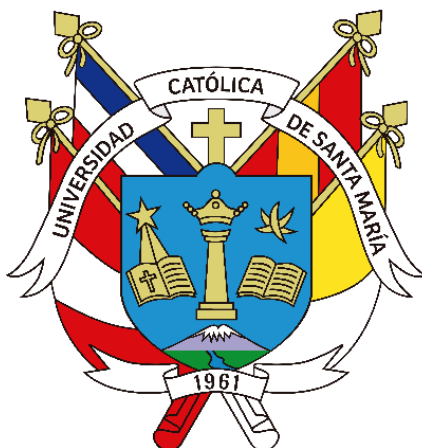


Universidad Católica de Santa María
Facultad de Odontología
Escuela Profesional de Odontología



**Influencia de la aerobiosis facultativa en la producción de biofilm,
viabilidad y morfología de Candida Albicans en la Universidad Católica de
Santa María (UCSM) - Arequipa 2024**

Tesis presentada por la Bachiller:

Pampa Chuquicaña, Milagros

ORCID:0009-0001-4984-2466

para optar el Título Profesional de Cirujana Dentista

Asesor:

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, 16 de Agosto del 2024

Dictamen: 012204-C-EPO-2024

Visto el borrador del expediente 012204, presentado por:

2019223962 - PAMPA CHUQUICAÑA MILAGROS

Titulado:

**INFLUENCIA DE LA AEROBIOSIS FACULTATIVA EN LA PRODUCCIÓN DE BIOFILM, VIABILIDAD
Y MORFOLOGÍA DE CANDIDA ALBICANS
EN LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA (UCSM) - AREQUIPA 2024**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

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

CIRUJANO DENTISTA

**29231712 - VASQUEZ HUERTA ELSA CARMELA
DICTAMINADOR**



**29716878 - PORTILLA MIRANDA SEREY DORIS
DICTAMINADOR**



**44601950 - ALVARADO GOMEZ ALBERTO ARMANDO
DICTAMINADOR**



Influencia de la aerobiosis facultativa en la producción de biofilm, viabilidad y morfología de Candida Albicans en la Universidad Católica de Santa María (UCSM) - Arequipa 2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

29%

INDICE DE SIMILITUD

23%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

16%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	10%
2	repositorio.usmp.edu.pe Fuente de Internet	3%
3	repository.javeriana.edu.co Fuente de Internet	3%
4	scielo.sld.cu Fuente de Internet	3%
5	www.medigraphic.com Fuente de Internet	2%
6	www.slideshare.net Fuente de Internet	2%
7	www.scielo.org.co Fuente de Internet	2%
8	repositorio.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	2%

Dedicatoria

Dedico la presente tesis:

*A **Dios**, por ser mi guía y mi sostén en este camino de formación académica, por brindarme las fuerzas necesarias para superar adversidades y por siempre iluminar cada paso hacia la culminación de esta etapa tan importante de mi formación profesional.*

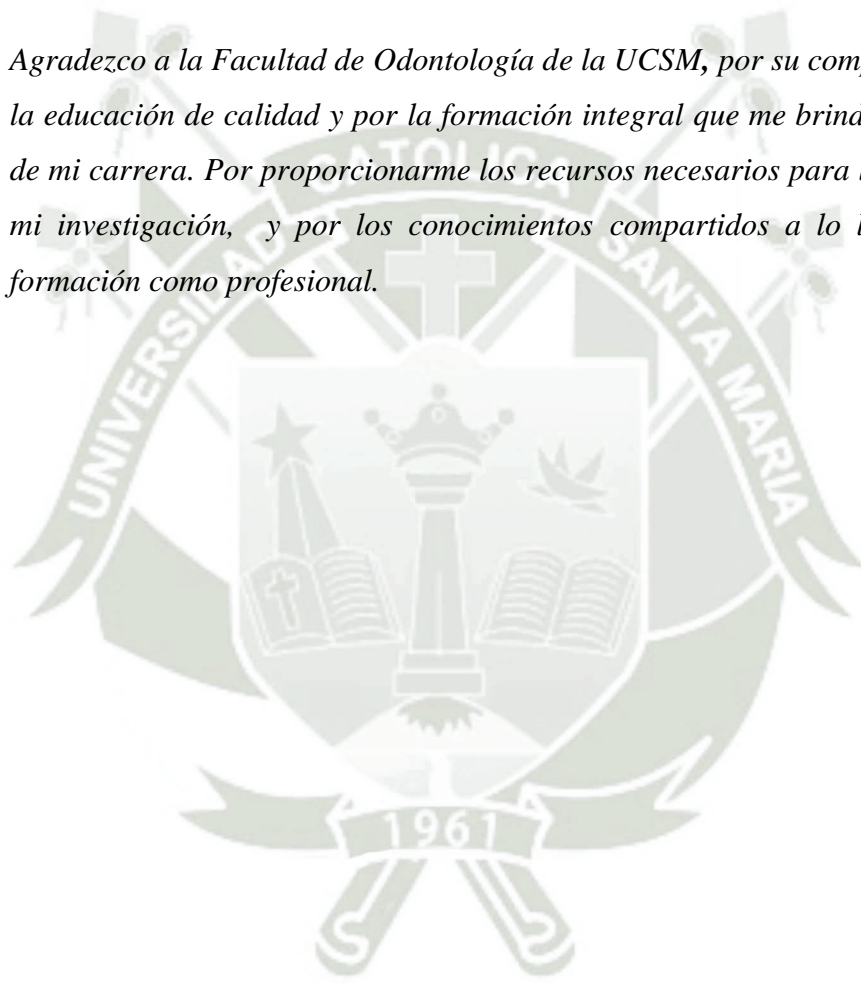
*A mis padres **David** y **Edith**, por ser los pilares de mi vida y mi inspiación para ser una gran profesional, por su confianza inquebrantable y por impulsarme a perseguir mis sueños y metas. Los amo y los admiro infinitamente.*

*A mi hermana **Gabriela**, por ser mi compañera de vida y estar presente en cada momento importante de mi vida, porque tu apoyo fue fundamental en este proceso y por ser mi mayor ejemplo de vocación y dedicación.*

Agradecimientos

Agradezco a mis padres David Pampa y Edith Chuquicaña, por su apoyo incondicional para poder lograr mis objetivos personales y académicos, por su incanzable sacrificio y su compromiso con mis estudios. Mi gratitud hacia ustedes es indescriptible.

Agradezco a la Facultad de Odontología de la UCSM, por su compromiso con la educación de calidad y por la formación integral que me brindó a lo largo de mi carrera. Por proporcionarme los recursos necesarios para llevar acabo mi investigación, y por los conocimientos compartidos a lo largo de mi formación como profesional.



RESUMEN

En la literatura se ha descrito la presencia de *Candida albicans* (*C. albicans*) en bolsas periodontales profundas lo que nos llevó a pensar que la *C. albicans* puede crecer y desarrollarse en condiciones de aerobiosis facultativa. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar la influencia de la aerobiosis facultativa en la producción de biofilm, en la viabilidad y en la morfología de *Candida albicans*.

Se trabajó con una cepa de *C. albicans* ATCC y cuatro cepas aisladas de bolsas periodontales profundas, las cuales fueron distinguidas usando CHROMagar. Acto seguido se colocaron en caldo Sabraud y se llevó a una incubadora a 37°C por 72 horas en condiciones de aerobiosis facultativa. Después de este tiempo, se midió la producción de biofilm por peso seco, su viabilidad por unidades formadoras de colonia y se observó en microscopio su morfología. Finalmente los datos se procesaron utilizando ANOVA de una vía con la prueba estadística Tukey y el valor de $P < 0.0001$ se consideró estadísticamente significativo.

Los resultados demostraron como influye la aerobiosis facultativa en las cepas de *C. albicans* aisladas de bolsas periodontales, debido a que en estas condiciones se logró un mayor crecimiento de Unidades Formadoras de Colonia en las cuatro cepas aisladas de bolsas periodontales (BP1, BP2, BP3 y BP4) respecto a la cepa de *C. albicans* ATCC, que presentó un menor crecimiento de UFC. Así mismo los resultados muestran que la aerobiosis facultativa influye en la producción de biofilm, de manera que, se mostró mayor peso seco de biofilm en la BP1, BP2 Y BP3 respecto a la ATCC y a la BP4. A nivel de microscopia, los resultados obtenidos fueron que en su morfología la mayoría tuvo predominación de hifas más que levaduras. Podemos inferir, considerando los resultados de estos 3 factores, que las cepas de *C. albicans* aisladas de bolsas periodontales tienen un mayor factor de virulencia en estas condiciones de aerobiosis facultativa.

Finalmente podemos concluir, teniendo en cuenta todos los aspectos analizados en la presente investigación, que si existe una influencia de la aerobiosis facultativa en la producción de biofilm, en su virulencia y en la morfología de *C. albicans*.

Palabras claves: *Candida albicans*, aerobiosis facultativa, bolsas periodontales.

ABSTRACT

The presence of *Candida albicans* (*C. albicans*) in deep periodontal pockets has been described in the literature, which led us to believe that *C. albicans* can grow and develop under facultative aerobic conditions. The present research work aims to evaluate the influence of facultative aerobiosis on biofilm production, viability and morphology of *Candida albicans*.

We worked with one strain of *C. albicans* ATCC and four strains isolated from deep periodontal pockets, which were distinguished using CHROMagar. They were then placed in Sabraud broth and placed in an incubator at 37°C for 72 hours under aerobic conditions, and another group of strains were placed at 37°C under facultative aerobic conditions. After this time, biofilm production was measured by dry weight, its viability by colony-forming units and its morphology was observed under a microscope. Finally, the data were processed using one-way ANOVA with the Tukey statistical test and the value of $P < 0.0001$ was considered statistically significant.

The results demonstrated the influence of facultative aerobiosis on *C. albicans*, since it was observed that under these conditions a greater amount of biofilm was produced than under aerobic conditions, through the determination of dry weight. Likewise, the results show its cellular viability since there is greater formation of colony-forming units under these conditions. At the microscopic level, the morphology of hyphae was mostly verified rather than yeasts.

Finally, we can conclude, taking into account all the aspects analyzed in the present investigation, that there is an influence of facultative aerobiosis on the production of biofilm, its virulence and the morphology of *C. albicans*.

Key words: *Candida albicans*, facultative aerobiosis, periodontal pockets.

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN..... 1

CAPITULO I..... 2

PLANTEAMIENTO TEÓRICO 2

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN..... 3

1.1. Determinación del Problema 3

1.2. Enunciado del Problema: 3

1.3. Descripción del Problema..... 3

1.4. Justificación 5

2. MARCO CONCEPTUAL..... 5

2.1. Candida albicans 5

2.2. Periodontitis 8

2.3. Bolsa periodontal 11

2.4. Biofilm en la cavidad oral..... 14

3. ANÁLISIS ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS 17

3.1. Antecedentes Internacionales 17

3.2. Antecedentes Locales 22

3.3. Antecedentes Nacionales 23

4. OBJETIVOS 24

5. HIPÓTESIS..... 24

CAPÍTULO II..... 25

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL 25

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN..... 26

1.1. Técnica..... 26

1.2. Instrumentos 26

1.3. Materiales	27
2. CAMPO DE VERIFICACIÓN	27
2.1. Ubicación espacial	27
2.2. Ubicación Temporal	27
2.3. Unidades de Estudio	27
3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN	27
3.1. Organización	27
3.2. Recursos	27
4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS	28
4.1. Plan de procesamiento	28
4.2. Plan de análisis	28
4.3. Cronograma de trabajo	28
CAPÍTULO III	29
RESULTADOS	29
1. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	30
2. DISCUSIÓN	43
3. CONCLUSIONES	45
4. RECOMENDACIONES	46
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
6. ANEXOS	50
6.1. ANEXO 1: Ficha de recolección de datos	50
6.2. ANEXO 2: Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM:	51
6.3. ANEXO 3: Secuencia fotográfica	53

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades periodontales consideradas como la principal causa de pérdida de piezas dentarias en adultos, son prevalentes y llegan a afectar significativamente a la salud pública, según el Ministerio de Salud del Perú (Minsa), la prevalencia en nuestro país es del 85%. Como signo clínico más importante de las enfermedades periodontales detallamos a la bolsa periodontal, que se define como la profundización patológica del surco gingival, que se origina inicialmente con la inflamación del tejido conectivo de donde resulta una degeneración de fibras gingivales y destrucción de fibras de colágeno, generada principalmente por la acción de las endotoxinas de la placa bacteriana. Así mismo, la bolsa periodontal de acuerdo al grado de compromiso y en un estadio avanzado puede llegar a generar la pérdida total de tejidos que forman parte del soporte y por consecuencia la pérdida de la pieza dentaria.

Como patógenos oportunistas precisamos a las levaduras que desencadenan enfermedades en huéspedes comprometidos por procesos sistémicos o por procesos patológicos locales. Se ha descrito en la literatura la presencia de *Candida albicans* (*C. albicans*), en bolsas periodontales profundas, sugiriendo una función principal de este organismo en la patogénesis de la periodontitis, lo que nos lleva a pensar que la *Candida albicans* podría crecer y desarrollarse en un ambiente de aerobiosis facultativa.

En relación con eso, evaluaremos si las especies aisladas de *C. albicans* se ven influenciadas en esas condiciones ambientales, esta característica podría estar relacionada a la virulencia de dicha levadura para poder penetrar en los tejidos y de esta manera poder adquirir nutrientes. Otra característica de interés de esta levadura es su capacidad de producir biofilm, ya que esta estructura será vital para su mantenimiento, obtención de nutrientes, defensa de factores externos, replicación y de su sobrevivencia.



CAPITULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Determinación del Problema

Las bolsas periodontales de más de 5mm de profundidad, contienen dentro de su microbioma, diversos tipos de microorganismos los cuales pertenecen a los complejos naranja y rojo de Socransky. En este sentido el microambiente que existe es frecuentemente anaerobio estricto. Sin embargo, por ser una displasia gingival, esta además presenta otro tipo de microorganismos aerobios facultativos, o sea, que son viables a un microambiente con cierta cantidad de oxígeno. Varios estudios, han corroborado la existencia de *Candida albicans* dentro de estas bolsas periodontales, por lo cual, una levadura aeróbica, puede subsistir en estos microambientes y contribuir con la patología de los tejidos blandos. En este sentido, el presente trabajo de investigación pretende evaluar la influencia de la aerobiosis facultativa en la producción de biofilm, viabilidad y morfología de *C. albicans* aisladas de bolsas periodontales profundas.

1.2. Enunciado del Problema:

“INFLUENCIA DE LA AEROBIOSIS FACULTATIVA EN LA PRODUCCIÓN DE BIOFILM, VIABILIDAD Y MORFOLOGÍA DE CANDIDA ALBICANS EN LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA – AREQUIPA 2024”

1.3. Descripción del Problema

1.3.1. Área de conocimiento

- a) Área General: Ciencias de la salud.
- b) Área específica: Odontología.
- c) Especialidad: Periodoncia
- d) Línea o tópico: Microbiología

1.3.2. Operacionalización de variables

VARIABLES	INDICADORES	SUB INDICADORES	INSTRUMENTO
Producción de biofilm de <i>C. albicans</i>	Aerobio facultativo	Biopeliculas	Peso seco de biofilm
Viabilidad de <i>C. albicans</i>	Aerobio facultativo	Células	Unidades Formadoras de Colonia
Morfología microbiana	Aerobio facultativo	1. Levadura 2. Pseudohifa 3. Hifa	Microscopia electrónica de barrido

1.3.3. Interrogantes básicas

- a) ¿Influirá la aerobiosis facultativa (CO₂ al 15%) en la producción de biofilm de la *Candida albicans*?
- b) ¿Influirá la aerobiosis facultativa (CO₂ al 15%) en la viabilidad de la *Candida albicans* ?
- c) ¿Influirá la aerobiosis facultativa (CO₂ al 15%) en la morfología de la *Candida albicans*?

1.3.4. Taxonomía de la investigación

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	Por la técnica de recolección	Por el tipo de dato	Por el N° de mediciones de la variable dependiente	Por el N° de grupos	Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Experimental	Prospectivo	Longitudinal	Descriptivo	Laboratorial	Experimental	Experimental

1.4. Justificación

1.4.1. Novedoso

Estudios previos determinaron la presencia de *Candida albicans* en bolsas periodontales en relación a eso, la novedad del presente trabajo de investigación es que se expondrá a la *Candida albicans* a un medio de aerobiosis facultativo y evaluaremos la influencia en la producción de biofilm, viabilidad y en su morfología aportando así un conocimiento diferente a un aspecto ya estudiado.

1.4.2. Relevancia actual

En las últimas décadas, estudios revelan un aumento en la prevalencia de la periodontitis en la población adulta latinoamericana (70%) . En este trabajo de investigación aportamos conocimientos de relevancia e importancia para poder así dar nuevas luces de investigación en bien de la Odontología moderna.

1.4.3. Factibilidad

Es factible realizar este poyecto de investigación debido a que se cuenta con el acceso a las unidades de estudio, recursos, tiempo para la investigación, infraestructura adecuada y presupuesto, lo que lo convierte en un trabajo viable.

1.4.4. Interés Personal

Es de mi interés, obtener el Título Profesional de Cirujana Dentista.

2. MARCO CONCEPTUAL

2.1. *Candida albicans*

Como un microorganismo local polimórfico oportunista describiremos al hongo *C. albicans*, que forma parte de la familia sacomicetos y su forma de reproducción es asexual por gemación, lo que consiste en una división del cuerpo del progenitor (1). Es disfórmico, se desarrolla de una forma diversa en respuesta a estímulos ambientales, por lo que su característica principal es evadir los mecanismos de defensa que esten en relación con la inmunidad celular del huésped(1). Lo podemos encontrar en la microbiota del área mucocutánea, gastrointestinal y genitourinaria, este comensal oportunista bajo ciertas condiciones y en el hospedero susceptible, tiene la capacidad

de causar tanto infecciones superficiales como sistémicas, convirtiéndose así en el hongo patógeno principal del ser humano (2).

Se considera que su hábitat principal en la cavidad oral es la lengua y puede colonizar sitios como la mucosa oral, los tejidos gingivales, la dentina y las bolsas periodontales, afectando en los procesos inflamatorios por los distintos factores de virulencia, proliferándose y liberando exoenzimas que promueven la degradación de tejidos (2).

2.1.1. Morfología

Tradicionalmente presentan la formas de levaduras, donde presenta un aspecto de células redondeadas u ovoides de aproximadamente de 4 -6 μm por 6- 10 μm de tamaño. Cuando presenta forma de hongo filamentosos, produce hifas verdaderas y pseudohifas(3).

En agar Sabouraud , macroscopicamente se observa con bordes regulares y centro algo prominente, crece formando colonias blandas, blancas, de un aspecto cremoso y lisas(4).

2.1.2. Factores de virulencia

Son las habilidades con las que los diferentes agentes patógenos llegan a producir la infección, invasión y modulación de la respuesta inmune a su favor(5). Los factores de virulencia de este patógeno oportunista abarcan su adherencia a las células del hospedero, la secreción de enzimas degradativas y por último el cambio de morfología así mismo permite la colonización en la mucosa oral y en las bolsas periodontales(6).

a) Adherencia

La adhesión a las células del huésped es crucial para el inicio y mantenimiento de la relación de comensal, además de ayudar a la colonización de las células epiteliales, endoteliales, factores solubles, matriz extracelular y materiales inertes(5).

Existen dos mecanismos que establecen uniones de distintas naturaleza unos de carácter físico – químico que aproximan el patógeno a la superficie del hospedero, como la hidrofobicidad, y otros de naturaleza

específica que comprometen la apariencia de adhesinas y receptores en el sustrato(6).

b) Enzimas degradativas secretadas

Se encuentran a dos grandes familias de enzimas degradativas secretadas, donde describimos a las aspartil proteinasas (SAP, codificadas por 10 genes) y a las fosfolipasas (PL)(5).

Las primeras mencionadas, pueden estar incorporadas en la pared celular y sirven para que la *Candida albicans* pueda hidrolizar proteínas del hospedero como colágeno, laminina, fibronectina, mucina, lacto-ferrina e inmunoglobulinas(5). De esta manera llegan a invadir entre las células epiteliales, nutrirse y así poder evadir la respuesta inmune(5).

c) Cambio de morfología

La *C. albicans*, es polimorfo, lo que nos dice que puede cambiar su morfología de levadura, redonda u ovoide a elongada y filamentosa (hifa y pseudohifa), lo que le concede mayor virulencia, capacidad de evadir el sistema inmune y de anular la respuesta proinflamatoria (7). Las hifas verdaderas, se desarrollan en la presencia de suero a 37°C, pH de 7 y de una concentración de CO₂ de 5,5%, diferentes estímulos para el crecimiento unicelular son temperaturas más bajas, ph más ácido, ausencia de suero y altas concentraciones de glucosa (7).

La forma de levadura, es de mucha utilidad para facilitar la diseminación del hongo en el torrente sanguíneo al adherirse a las células endoteliales, por otro lado la hifa es responsable de la invasión celular (7). Se han estudiado sobre las señales ambientales para inducir el cambio de morfología; la *C. albicans*, en contacto con medios abióticos o células del hospedero provocan el desarrollo de hifas (tigmotropismo) y la inducción paralela de las adhesinas asociadas a ellas (7).

Este cambio morfológico depende también de la densidad celular, quiere decir, si es menor de 10⁶ células/mm se inducirá a la morfología de hifa, esto se conoce como efecto del tamaño del inóculo(5).

2.1.3. Formación de biopelículas

La mayoría de patologías causadas por la *C. albicans* están relacionadas con la producción de biofilm, entre las que se encuentra la enfermedad periodontal, patología profundamente relacionada con este hongo(8). Su presencia forma parte de un factor esencial para el desarrollo de infecciones, debido que, posibilita la interacción ya sea por sinergia, antagonismo, coagregación con microorganismos que se pueden hallar en la placa dental(8).

Las biopelículas, por su parte, evitan que los microorganismos puedan evadir los mecanismos de defensa del huésped y resistan la acción de los fármacos antimicrobianos, por otro lado también están relacionados en mantener la salud regulando el sistema inmune y evitando la expansión de los microorganismos patógenos(8).

2.2. Periodontitis

Esta enfermedad periodontal, se define como multifactorial crónica inflamatoria, asociada con biopelículas de placa disbiótica, que orientan a respuestas inflamatorias destructivas de forma continua del tejido que le proporciona soporte a la pieza dentaria (9). La periodontitis se ve relacionada con una gama diversa de bacterias gram-negativas y grampositivas, levaduras patógenas que involucran la salud del huésped, las que habitan agrupadas en gran parte en la lengua, paladar, saliva y mucosa oral (9).

En el desarrollo de esta enfermedad, se forman bolsillos profundos en el tejido periodontal, en donde se pueden alojar microorganismos anaerobios(10). Dichos microorganismos llegan a desencadenar la liberación crónica de mediadores inflamatorios, como por ejemplo citocinas, prostaglandinas, y enzimas de neutrófilos y monocitos(10). Esta inflamación resultante compromete el ligamento periodontal, las encías, el hueso alveolar también existe la pérdida progresiva de inserción clínica e inicia la pérdida ósea alveolar evaluada radiográficamente, se profundizan las bolsas periodontales y así mismo se hacen existentes grandes profundidades de sondaje, movilidad y migración patológica(10).

2.2.1. Clasificación

El pronóstico de esta patología es de utilidad para el manejo de decisiones clínicas, por lo que es de suma importancia tener una clasificación precisa de los subtipos de condiciones según la severidad, complejidad y distribución (11).

En 2017 se realizó un taller mundial copatrocinado por la Academia Americana de Periodoncia (AAP) y la Federación Europea de Periodoncia (FEP) donde expertos periodontales se congregaron para revisar, actualizar y presentar una nueva clasificación, hoy la más aceptada (11):

2.2.1.1. Estadios

- Estadio I: Periodontitis inicial
Pérdida de inserción clínica interdental en el sitio de mayor pérdida de 1 a 2 mm, pérdida ósea radiográfica menos de 15% del tercio coronal de la raíz, sin pérdida dentaria por periodontitis. Profundidades al sondeo menores o iguales a 4 mm, la mayoría con pérdida ósea horizontal(12).
- Estadio II: Periodontitis moderada
Pérdida de inserción clínica interdental en el sitio de mayor pérdida de 3 a 4 mm, pérdida ósea radiográfica de 15% a 33% del tercio coronal de la raíz, sin pérdida dentaria por periodontitis(12). Profundidades al sondeo iguales o mayores a 5 mm, la mayoría con pérdida ósea horizontal(12).
- Estadio III: Periodontitis severa con potencial para pérdida dental adicional
Pérdida de inserción clínica interdental en el sitio de mayor pérdida igual o mayor a 5 mm, pérdida ósea radiográfica extendiéndose a la mitad o al tercio apical de la raíz, con pérdida dentaria por periodontitis menor o igual a 4 dientes(12). Asimismo de la complejidad del estadio II, profundidades al sondeo mayores o iguales a 6 mm, pérdida ósea vertical mayor o igual a 3mm,

involucración. De furcación clase II o III, defecto moderado del reborde(12).

- Estadio IV: Periodontitis avanzada con potencial. Para pérdida de la dentición

Pérdida de inserción clínica interdental en el sitio de mayor pérdida igual o mayor a 5 mm , pérdida ósea radiográfica extendiéndose a la mitad o al tercio apical de la raíz, con pérdida dentaria por periodontitis igual o mayor a 5 dientes(12). Asimismo de la complejidad del estadio III, necesidad de rehabilitación compleja debido a: disfunción masticatoria, trauma oclusal secundario (movilidad dentaria grado 2 o mayor), defecto severo del reborde , colapso de la mordida, migración, vestibularización, menos de 20 dientes remanentes(12).

2.2.1.2. Extensión y distribución

- Localizada: < 30% de los dientes involucrados
- Generalizada: >30% de los dientes involucrados
- Patrón incisivo - molar

2.2.1.3. Grados

- A (tasa de progresión lenta):
Sin evidencia de pérdida ósea radiográfica o pérdida de inserción clínica en más de 5 años, gran cantidad de depósitos de biopelícula con bajos niveles de destrucción, pérdida de hueso por año $\leq 0.25\%$ (13).
- B (tasa de progresión moderada)
Evidencia de pérdida ósea radiográfica o pérdida de inserción clínica menor de 2 mm en más de 5 años, destrucción acorde con los depósitos de biopelícula, pérdida de hueso por año $\leq 0.25\%$. – 1.0%(13).

- C (tasa de progresión severa)
Evidencia de pérdida ósea radiográfica o pérdida de inserción clínica igual o mayor a 2 mm en más de 5 años, la destrucción excede las expectativas esperadas para los depósitos de biopelícula, falta de respuesta esperada a las terapias estándar de control bacteriano, pérdida de hueso por año >1.0 (13).

2.2.2. Factores de riesgo

- **Verdaderos factores de riesgo:** factor ambiental, biológico asociado o de comportamiento confirmado por una secuencia temporal en estudios longitudinales(14). Entonces a mayor exposición, mayor porcentaje de desarrollar la enfermedad y a menor exposición, menor probabilidad de adquirir enfermedad (Tabaco y diabetes) (14).
- **Indicadores de riesgo:** factores de riesgo potenciales, factores causales, biológicamente plausibles, sólo demuestran asociación a periodontitis en estudios transversales(Estrés, osteoporosis, obesidad, higiene oral) (14).
- **Determinantes de riesgo:** factores de susceptibilidad , factores de riesgo no modificables (Edad, sexo, aza, genotipo, estatus socioeconómico) (14).
- **Predictores de riesgo:** Factores biológicos indicativos de enfermedad , pero no forman parte de la cadena causal de la enfermedad(14). Se asocian a mayor probabilidad de padecer la enfermedad (Sangrado al sondaje) (14).

2.3. Bolsa periodontal

Definición de la bolsa periodontal, es una profundización patológica del surco gingival y es la característica clínica más relevante de las enfermedades periodontales(15), esta profundización del surco se puede dar por:

- Movimiento coronal del margen gingival
- Desplazamiento apical de la unión gingival
- Combinación de los dos, antes mencionados

2.3.1. Clasificación

2.3.1.1. Bolsa gingival (relativa o falsa)

También conocida como pseudobolsa, se forma gracias al agrandamiento gingival, sin aparente destrucción de los tejidos periodontales subyacentes, dicho surco se hará de mayor profundidad debido al mayor volumen de encía(16).

2.3.1.2. Bolsa periodontal (absoluta o verdadera)

Definida como la profundización patológica del surco gingival, en otras palabras, es una fisura patológica entre la pared interna de la encía y la superficie del diente(16). Presenta destrucción de los tejidos periodontales de soporte, presenta movilidad y la exfoliación de las piezas dentarias en estados avanzados(16),son:

- **Supraóseas**

Conocidas también como supracrestales o supraalveolar, el patrón de destrucción ósea es horizontal del hueso subyacente, radiográficamente se llega a observar lesiones incipientes(15).

- **Intraóseas**

También nombradas infraóseas, subcrestal o intraalveolar, en relación al hueso alveolar adyacente el fondo de la bolsa periodontal es apical, por lo que la bolsa lateral se describe. Entre la superficie dental y el hueso alveolar. En este caso el patrón de la destrucción ósea es angular o vertical(15).

2.3.2. Características clínicas

- Presenta encía marginal engrosada de color rojo azulado
- Hemorragia gingival
- Supuración
- Formación de diastema
- Movilidad de la pieza dentaria
- Superficies radiculares expuestas

- Pérdida paulatina de la encía interdental

2.3.3. Patogénesis

La bolsa periodontal se forma inicialmente con la inflamación del tejido conectivo del surco gingival posteriormente se produce el exudado celular y el líquido inflamatorio va a generar la degeneración del tejido conectivo circulante y también de las fibras gingivales(17). Las fibras de colágeno son destruidas de forma apical al epitelio de unión, ahora los componentes que ocupan el área son las células inflamatorias y el edema(18).

La parte coronal del epitelio de unión se va a desprender de la raíz y va migrar en sentido apical, por lo que el tejido pierde cohesión y se desprenderá de la superficie dental, por consiguiente el fondo de surco cambia apicalmente y una mayor porción del surco será ocupada por el epitelio bucal y esa es la estructura de la bolsa(18).

2.3.4. Histopatología

Existen características microscópicas de suma importancia que están presentes, como los cambios en la pared del tejido blando y los cambios degenerativos de la bolsa a lo largo de la pared lateral(17). En la microtopografía de la pared gingival, expuesto al microscopio, en la bolsa periodontal se puede observar áreas ovales alargadas irregulares, que miden aproximadamente entre 50 y 200 nm(17), tales como:

- Área de reposo relativo
- Área de acumulación bacteriana con depresiones en la superficie epitelial
- Área de leucocitos
- Área de interacción entre leucocitos y bacterias
- Área de descamación epitelial intensa
- Ulceración con tejido conectivo exuesto
- Área de hemorragia

2.4. Biofilm en la cavidad oral

Tanto en la cavidad oral y en la orofaringe se presenta un sistema de estructuras que debido a su forma, textura, temperatura, niveles de oxígeno y diferentes mecanismos de autolimpieza, hacen posible la existencia de diversas especies microbianas que van actuar protegiendo al hospedero, y estas son mayormente conocidas como biofilm (19). Actualmente se han descrito más de 700 especies bacterianas que forman parte de la microbiota bucal normal, su presencia es necesaria y hace posible el equilibrio necesario para el mantenimiento del estado de salud (20).

La cavidad oral tiene un ecosistema conformado por organismos que son fisiológicamente distintos, los que coexisten exitosamente ya que poseen mecanismos adaptativos y gracias a la presencia de sitios que posibilitan su adhesión como la lengua, la superficie de los dientes, surco gingival, entre otros (20).

En algunas condiciones de diferente naturaleza, hay alteraciones cuantitativas de la flora comensal y los microorganismos pueden llegar a proliferar de tal manera que atentan contra el equilibrio huésped – parásito y exponen las capacidades defensivas del primero, tal es el caso de las colonizaciones bacterianas que dan origen a las enfermedades gingivales y periodontales (19).

El biofilm se forma cuando las bacterias flotantes encuentran una superficie y se adhieren a ella, seguidamente desarrollan una cubierta polisacárida protectora (21). Además se le considera como un conjunto de biomasa con microcirculación, que hace posible que las diferentes comunidades bióticas se complementen nutricionalmente (21). La resistencia ante las defensas del huésped y los antibióticos se le confiere a que es una unidad englobada en polisacáridos extracelulares (21).

2.4.1. Fases de la formación del biofilm

Se divide en 3 fases:

- Formación de la película adquirida
- Colonización inicial o primaria
- Colonización secundaria y maduración

2.4.2. Etapas en el ciclo vital del biofilm

Es un proceso dinámico que puede ser dividido en tres momentos:

- Adhesión

El sustrato tiene que ser adecuado para su absorción reversible y posteriormente la adhesión irreversible de la bacteria a la superficie. La adhesión de bacterias será más fácil en superficies más ásperas, más hidrofóbicas y recubiertas por películas condicionantes como la película adquirida(22).

- Crecimiento

Una vez adherida, comenzará a dividirse y las células hijas se extienden formando una microcolonia. Asimismo, comienzan a elaborar un exopolisacárido que constituye la matriz del biofilm y se comienza a desplegar(23).

- Separación o desprendimiento

Luego de que alcanzó la madurez, se liberan de la matriz para colonizar nuevas y diferentes superficies, con lo que finaliza el proceso de formación y desarrollo(23).

2.4.3. Composición y arquitectura

Principalmente estructuradas por grandes colonias de bacterias sésiles incrustadas en una matriz, también conformada por gran parte de exopolisacáridos y en menor cantidad encontramos macromoléculas (polisacáridos, ácidos nucleicos y proteínas) (24). La arquitectura no es sólida, los microorganismos viven en torres celulares en forma tridimensional. Estos torres están conformados por distintas microcolonias de distintas bacterias, tanto aeróbicas como anaeróbicas(24).

2.4.4. Resistencia bacteriana que proporciona el biofilm

Las biopelículas son muy resistentes a los antibióticos, ya que la penetración del medicamento es lenta e incompleta, debido a la resistencia que forma la barrera de exopolisacáridos(25). La resistencia que proporciona la estructura nos explica la importancia de la desorganización mecánica de esta estructura antes

de la prescripción indiscriminada de antibióticos durante el tratamiento para las enfermedades periodontales (25).

2.4.5. Ubicación subgingival del biofilm

El medio ambiente que proporciona el surco gingival puede influir en el desarrollo del biofilm, la forma y estructura del surco gingival y de la bolsa periodontal los convierten en los sitios menos accesibles a las actividades de limpieza por lo que se convierten en zonas retentivas y contribuyen a la formación de un medio estancado, donde los organismos que no pudieron adherirse a superficies dentarias tienen la oportunidad de colonizar(26).



3. ANÁLISIS ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

3.1. Antecedentes Internacionales

TÍTULO: “Las condiciones anaeróbicas tienen una gran influencia en la formación de la clamidospora de *Candida albicans*”

AUTORES

Shannon Williams, Ian Cleary, Derek Thomas

RESUMEN

La candidiasis representa ahora la cuarta infección nosocomial más frecuente tanto en los EE. UU. como en todo el mundo. *Candida albicans* es una amenaza cada vez más común para la salud humana como consecuencia del SIDA, la terapia con esteroides, el trasplante de órganos y tejidos, la terapia contra el cáncer, los antibióticos de amplio espectro y otros defectos inmunológicos. Desafortunadamente, estas infecciones tienen una morbilidad inaceptablemente alta, tasas de mortalidad y importantes repercusiones económicas (costo directo total estimado de aproximadamente 2 mil millones de dólares en 1998 solo en hospitales de EE. UU.). Este patógeno puede crecer tanto en formas de levadura como de filamento y el potencial patógeno de *C. albicans* está íntimamente relacionado con ciertos procesos clave, incluida la filamentación. Las chlamydosporas se consideran una forma inactiva de *C. albicans* que sigue siendo poco estudiada. Las chlamydosporas se han utilizado ampliamente como herramienta de diagnóstico para separar a *C. albicans* y *C. dublininensis* de otras especies de *Candida*. Más recientemente, se han desarrollado medios que utilizan la formación de chlamydosporas para separar a *C. albicans* y *C. dublininensis* entre sí. La formación de clamidosporas puede ser estimulada por condiciones hipóxicas, pero solo en tipos de medios específicos limitados. Aquí, mostramos que las condiciones anaeróbicas son suficientes para impulsar la formación de clamidosporas en *C. albicans* en la superficie del agar rico en nutrientes (27).

Palabras clave: *Candida albicans*; Chlamydospore; Filamentación; Hipoxia.

DOI: 10.1007/s12223-022-01018-8

TÍTULO: “Evaluación fenotípica del efecto de la anaerobiosis en algunos atributos de virulencia de *Candida albicans*”

AUTORES

Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa, Rodrigo Nunes Rached, Sérgio Aparecido Ignácio, Rosimeire Takaki Rosa, Wander José da Silva, Joyce Yick Yee Yau, Lakshman Perera Samaranayake

RESUMEN

La suposición actual de que *Candida albicans* es un organismo anaeróbico facultativo ha sido ampliamente aceptada desde que su recuperación de los sitios anóxicos se hizo común. Sin embargo, el vínculo entre la anaerobiosis y la virulencia sigue siendo incierto. Este estudio investigó la hidrofobicidad diferencial de la superficie celular (CSH) utilizando una técnica de partición de hidrocarburos/agua y analizó las tasas de secreción diferencial de proteasas secretoras de aspartil (Saps), esterasa, condroitinasa y hemolisinas de cepas de *C. albicans* recuperadas de bolsas periodontales y sitios intraorales no relacionados con el periodontium. Para las pruebas enzimáticas, todas las cepas de ambos conjuntos se cultivaron en condiciones aeróbicas y anaeróbicas y las células cosechadas se inocularon en medios de cultivo normales o pre-reducidos adecuados en presencia o ausencia de oxígeno molecular, respectivamente. Los resultados mostraron que no se percibían variaciones para la CSH y la condroitinasa ($P > 0,05$). Las tasas de secreción de esterasa y hemolisinas disminuyeron fuertemente en un entorno anóxico ($P < 0,0001$). Sin embargo, se detectó un incremento constante ($P < 0,0001$) en la secreción de Sap cuando se cultivaron en condiciones anaeróbicas. Sobre la base de estos resultados, se sugiere que la concentración de oxígeno en la atmósfera que rodea a las células ejerce una influencia variable en los atributos de virulencia de *C. albicans* (28).

DOI: 10.1099/jmm.0.2008/001107-0

TÍTULO: “Formación de biopelícula in vitro de especies de Candida albicans y no albicanas en condiciones dinámicas y anaeróbicas”**AUTORES**

Zaw M Thein ,Yuthika H Samaranayake, Lakshman P Samaranayake

RESUMEN

La comprensión del comportamiento del biofilm de las especies de Candida en diferentes condiciones ambientales es clave para el desarrollo de medidas preventivas efectivas para las infecciones por candida. Por lo tanto, en este estudio evaluamos el impacto del entorno ambiental en la formación de biopelícula de Candida utilizando placas de microtitura de poliestireno y fondo plano de 96 pozos. Se compararon un total de 20, que comprenden 10 aislados clínicos cada uno de Candida albicans y especies no albicanas de Candida, por su capacidad de formación de biopelículas tanto en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, como por condiciones estáticas y dinámicas. Se utilizó un ensayo de reducción de XTT para cuantificar el crecimiento sesil. La formación de biopelícula de los 10 aislados de C. albicans difería significativamente entre los estados dinámicos y estáticos en ambas condiciones atmosféricas ($P < 0,05$). Para las especies de Candida no albicanas, se observó una diferencia significativa en el crecimiento del biopelícula entre los estados dinámicos y estáticos solo cuando se incubaron aeróbicamente ($P < 0,05$), y no se observó ninguna diferencia significativa en la formación de biopelículas entre las condiciones aeróbicas y anaeróbicas. La microscopía electrónica de barrido reveló que C. albicans produjo una biopelícula compacta multicapa incrustada en una cantidad notablemente mayor de matriz polimérica extracelular en condiciones aeróbicas/dinámicas en comparación con las condiciones anaeróbicas/estáticas. Nuestros datos indican que la formación de biopelículas de C. albicans y especies no albicanas de Candida está modulada por las condiciones hidrodinámicas y los gradientes de oxígeno ambiente. Sin embargo, se requiere más trabajo para dilucidar completamente cómo las biopelículas de Candida persisten dentro del entorno oral bajo presiones ecológicas tan desafiantes (29).

DOI: 10.1016/j.archoralbio.2007.01.009

TÍTULO: “La anaerobiosis y el suero promueven la formación de micelio por Candida albicans en colonias con agar TSBV”**AUTORES**

U. R. Dahle, I. Olsen

RESUMEN

Después del tratamiento periodontal a largo plazo con tetraciclina, puede surgir una superinfección con Candida. El entorno reducido y el transudato sérico de la bolsa periodontal pueden promover dicha infección. El presente estudio in vitro se realizó para determinar si se promovió la transformación levadura-micelio en un aislado periodontal fresco en condiciones anaeróbicas y en presencia de suero. C. albicans, aislado de un paciente con periodontitis refractaria tratada con tetraciclina, se cultivó de forma anaeróbica o aeróbica con TSBV o agar dextrosa de Sabouraud a 29 grados C o 37 grados C durante 72 horas, con un pH del medio de 5,6 o 7,2. El medio TSBV también se probó con su suero de caballo o extracto de levadura eliminado. El crecimiento micelial se registró visualmente y mediante microscopía electrónica estéreo y de barrido. El cultivo anaeróbico a 29 grados C o 37 grados C en TSBV proporcionó un micelio abundante en ambos pH. Después del cultivo aeróbico, la fase micelial fue menos pronunciada y más abundante a un pH 7,2 que a 5,6. El TSBV sin suero o extracto de levadura produjo más micelio después del cultivo anaeróbico que después del cultivo aeróbico, aunque menos que cuando se incluyeron ambos componentes. El medio de Sabouraud proporcionó micelio escaso después del cultivo anaeróbico, independientemente del pH, y ningún micelio después del cultivo aeróbico (30).

DOI: 10.3109/00016359109041139

TÍTULO: “Inactivación selectiva de heterocariones de *Candida albicans* por anaerobiosis”**AUTOR**

Un Sarachek

RESUMEN

Los heterocariones (hets), pero no los monocariones de *Candida albicans*, mueren cuando se cultivan anaeróbicos en un medio mínimo. Sus tasas de inactivación aumentan con la disminución de las temperaturas de crecimiento de 37 grados C a 25 grados C. A 10 grados C, sin embargo, la anaerobiosis no es letal y suprime la inactivación que normalmente ocurre entre los hets cultivados aeróbicamente a esa temperatura. La muerte de hets por anaerobiosis puede ser alterada significativamente por ciertos aminoácidos o intermedios de la respiración oxidativa proporcionados exógenamente. El ácido aspártico solo promueve la inactivación, mientras que la alanina, el ácido glutámico o la lisina individualmente no tienen efectos. Sin embargo, el glutamato y la lisina combinados ofrecen una ligera protección contra la inactivación, mientras que el aspartato y el glutamato combinados, con o sin lisina, son altamente protectores: la actividad de la combinación aspartato-glutamato está completamente negada por la adición de alanina. Otros aminoácidos comunes no tienen efectos en las respuestas a la anaerobiosis, aparte de la capacidad, cuando se combinan, de aliviar el antagonismo de la alanina para la combinación de aspartato y glutamato. Las supervivencias anaeróbicas también se ven reforzadas por el ácido oxalacético o el ácido alfa-cetoglutarico, y aún más por una combinación de estos dos intermedios. Las resistencias a la inactivación provocadas por las combinaciones de oxalacetato alfa-cetoglutarato o aspartato-glutamato no son aditivas. Estas relaciones se interpretan para indicar que la inactivación de hets por el crecimiento anaeróbico se debe en gran medida, si no exclusivamente, al agotamiento de sus contenidos de ácido oxalacético y ácido alfa-cetoglutarico para las biosíntesis de aminoácidos, y a la incapacidad única de las células het para reponer esos ácidos cetogénicos en el posterior regreso a las condiciones aeróbicas. Las observaciones son consistentes con las indicaciones anteriores de que las mitocondrias formadas por hets son funcionalmente anormales (31).

DOI: 10.1007/BF00436678

3.2. Antecedentes Locales

TÍTULO: “Presencia de Especies de Candida en Bolsas Periodontales de Pacientes Adultos en la Clínica Odontológica de la Universidad Católica de Santa María Arequipa – 2018”

AUTOR

Paul Andre Guzman Villegas

RESUMEN

El presente trabajo titulado “presencia de especies de Candida en bolsas periodontales de pacientes adultos en la clínica odontológica de la Universidad Católica de Santa María – 2018” busca conocer los tipos de Candida presentes en las bolsas periodontales y cuál es el tipo de Candida que predomina en las bolsas periodontales. Se buscó a 20 pacientes con enfermedades periodontales sin tratamiento previo a los cuales con un raspador se procedió a extraer muestras de las bolsas periodontales más profundas sembrándolas con un hisopo estéril en placas Petri pequeñas con CHROMagar para Candida. Estas placas se colocaron en la estufa para el correcto crecimiento de las colonias de Candida spp a una temperatura de 36.5 °C de 2 a 3 días. Los resultados obtenidos fueron positivos demostrando la existencia de especies de candida en bolsas periodontales, según los indicadores del chromagar para candida que son: • Candida albicans Verde • Candida tropicalis Azul metálico • Candida krusei Rosa • Otras especies Blanca a malva Se demostró que en las bolsas periodontales encontramos un predominio de la especie Candida Tropicalis al mostrar un color azul metálico con halos violetas. Palabras claves: Bolsas Periodontales, Especies de Candida SPP (32).

DOI: <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/8144>

3.3. Antecedentes Nacionales

TITULO: “Presencia de Candida albicans en bolsas periodontales de pacientes con periodontitis en el centro odontológico de la Universidad de San Martín de Porres”

AUTOR

Milagritos Kaet Moreno Sosa

RESUMEN

Determina la presencia de Candida albicans en bolsas periodontales de pacientes con periodontitis en el centro odontológico de la universidad de San Martín de Porres. Estudio observacional, analítico y transversal, se obtuvieron 81 muestras constituidas por 61 bolsas periodontales de pacientes diagnosticados con periodontitis según la nueva clasificación de enfermedades periodontales y peri implantarias del 2017 y 20 muestras obtenidas a nivel de surco gingival en pacientes sanos considerados como grupo de control. A cada bolsa se le tomó una muestra con cono de papel N°40 y luego fue colocado en Caldo Sabouraud Dextrosa para su transporte al laboratorio, donde fue cultivado en Agar Sabouraud Dextrosa por 48h a 37°C. Posteriormente se realizó tinción a las colonias y prueba de tubo germinal para la confirmación de la presencia de Candida albicans. De las 81 muestras obtenidas, 12 (14.8%) presentaron presencia de Candida albicans, de las cuales 6 (18.8%) pertenecían al grupo de profundidad de bolsa de 4-6 mm y las otras 6 (20.7%) pertenecían al grupo de >6mm. No se observó presencia de Candida albicans en los pacientes del grupo control. Se encontró presencia de Candida albicans en bolsas periodontales de 4-6 mm y >6mm de pacientes con periodontitis. Al comparar la presencia de Candida albicans según profundidad de las bolsas periodontales no se encontró diferencia significativa estadísticamente. En pacientes con salud periodontal no se encontró presencia de Candida albicans (33).

DOI: <https://hdl.handle.net/20.500.12727/5913>

4. OBJETIVOS

- Determinar como influye la aerobiosis facultativa (CO₂ al 15%) en la producción de biofilm de la *Candida albicans*.
- Determinar como influye la aerobiosis facultativa (CO₂ al 15%) en la viabilidad de la *Candida albicans*.
- Determinar como influye la aerobiosis facultativa (CO₂ al 15%) en la morfología de la *Candida albicans*.

5. HIPÓTESIS

Dado que en las bolsas periodontales profundas hay microambientes de aerobiosis estricta y aerobiosis facultativa. Es probable que la aerobiosis facultativa influya en la producción de biofilm, en la viabilidad y en la morfología de la *Candida albicans*.



CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1. Técnica

En este trabajo de investigación se utilizará la técnica observacional laboratorial y microscópica, como se muestra en el siguiente cuadro:

Variable	Indicadores	Técnica
Peso seco de biofilm <i>de C. albicans</i>	- En medio aerobio facultativo	Observación laboratorial
Viabilidad de <i>C. albicans</i>	- En medio aerobio facultativo	Observación laboratorial
Morfología de la <i>C. albicans</i>	- Formación de levaduras, hifas o pseudohifas	Observación microscópica

1.1.1. Descripción de la técnica:

Se trabajará con una cepa de *C. albicans* ATCC y cuatro cepas aisladas de bolsas periodontales profundas, las cuales serán distinguidas usando CHROMagar. Acto seguido se colocarán en caldo Sabraud y se llevarán a una incubadora a 37°C al 15% de CO₂ por 72 horas en condiciones de aerobiosis facultativa. Después de este tiempo, se evaluará la producción de biofilm, su viabilidad y su morfología.

1.1.2. Diseño investigativo:

- a) Tipo: Laboratorial
- b) Esquema básico de diseño: Experimental

1.2. Instrumentos

- Autoclave
- Mechero
- Balanza

1.3. Materiales

- Placas petri
- Cepa de candida albicans
- Cepa de candida albicans aisladas de bolsas peridontales profundas
- Guantes descartables
- Barbijo
- Pinzas

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1. Ubicación espacial

2.1.1. Ámbito general

La investigación se realizará en la ciudad Arequipa

2.1.2. Ámbito Específico

Se llevará acabo en los laboratorios de microbiologia de la Universidad Católica de Santa María.

2.2. Ubicación Temporal

El presente trabajo de investigación se llevará acabo desde el mes de Abril hasta el mes de Agosto del año 2024.

2.3. Unidades de Estudio

- Grupo experimental 1: Candida ATCC
- Grupo experimental 2: Candidas aisladas de bolsas periodontales

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN

3.1. Organización

Preparación de las unidades de estudio: Preparación de la cepa de la Candida albicans.

3.2. Recursos

3.2.1. Recursos económicos:

- El presupuesto para la recolección de datos y procesamiento de la información serán propios del investigador

3.2.2. Recursos humanos

- Investigador: Milagros Pampa Chuquicaña
- Asesor: Dr. Gustavo Obando Pereda

3.2.3. Recursos físicos :

- Laboratorio de química de proteínas del Vicerrectorado de investigación F - 401

3.2.4. Recursos institucionales:

- Universidad Católica de Santa María
- Biblioteca de la Universidad Católica de Santa María

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

4.1. Plan de procesamiento

Análisis de datos de la tabla de tabulación.

4.2. Plan de análisis

El Análisis estadístico ANOVA de una vía.

4.3. Cronograma de trabajo

ACTIVIDAD	2024				
	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO
Aprobación del proyecto de investigación	x				
Recolección de datos	x				
Interpretación de resultados		x			
Análisis y discusión de resultados		x			
Elaboración del informe final			x		
Defensa de tesis					x



CAPÍTULO III RESULTADOS

1. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

TABLA N °1

Frecuencia Estadística de los datos obtenidos - Peso Seco de producción de biofilm

N MUESTRAL	ATCC	BP1	BP2	BP3	BP4
Mínimo	0.0088	0.0113	0.0111	0.0105	0.0095
25% Percentil	0.0088	0.0113	0.0111	0.0105	0.0095
Mediana	0.0089	0.0114	0.0113	0.0115	0.0098
75% Percentil	0.0092	0.0121	0.0119	0.0119	0.0102
Máximo	0.0092	0.0121	0.0119	0.0119	0.0102
Media	0.008967	0.0116	0.01143	0.0113	0.009833
Desviación estándar	0.000208	0.000436	0.000416	0.000721	0.000351
Error estándar	0.00012	0.000252	0.00024	0.000416	0.000203

Nota. Matriz de Registro y Control

La tabla N° 1 determina los valores descriptivos en gramos de peso seco de biofilm en ATCC, BP1, BP2, BP3 y BP4. Con un N muestral de 5 entes de estudio se obtiene que, para el ATCC, un valor mínimo de 0.0088, una mediana de 0.0089 y un máximo de 0.0092; Así mismo observamos que posee una media de 0.008967 con una desviación estándar de 0.000208 y un error estándar de 0.00012. Con un percentil del 25% de 0.0088 y un percentil del 75% de 0.0092.

Para la BP1, un valor mínimo de 0.0113, una mediana de 0.0114 y. un máximo de 0.0121; Así mismo observamos que posee una media de 0.0116 con una desviación estándar de 0.000436 y un error estándar de 0.000252. Con un percentil del 25% de 0.0113 y un percentil del 75% de 0.0121.

Para la BP2, un valor. mínimo de 0.011, una mediana de 0.0113 y un máximo de 0.0119 ; Así mismo observamos que posee una media de 0.01143 con una desviación estándar de 0.000416 y un error estándar de 0.00024. Con un percentil del 25% de 0.0111 y un percentil del 75% de 0.0119

Para la BP3, un valor mínimo de 0.0105, una mediana de 0.0115 y un máximo de 0.0119; Así mismo observamos que posee una media de 0.0113 con una desviación estándar de

0.000721 y un error estándar de 0.000416. Con un percentil del 25% de 0.0105 y un percentil del 75% de 0.0119

Para la BP4, un valor mínimo de 0.0095, una mediana de 0.0098 y un máximo de 0.0102; Así mismo observamos que posee una media de 0.009833 con una desviación estándar de 0.000351 y un error estándar de 0.000203. Con un percentil del 25% de 0.0095 y un percentil del 75% de 0.0102.



TABLA N° 2

Frecuencia Estadística de los datos obtenidos - Unidades Formadoras de Colonia

N MUESTRAL	ATCC	BP1	BP2	BP3	BP4
Mínimo	5.699	6.161	6.398	6.38	6.398
25% Percentil	5.699	6.161	6.398	6.38	6.398
Mediana	5.74	6.29	6.407	6.431	6.407
75% Percentil	5.778	6.342	6.423	6.47	6.415
Máximo	5.778	6.342	6.423	6.47	6.415
Media	5.739	6.265	6.409	6.427	6.406
Desviación estándar	0.0396	0.09317	0.01287	0.04495	0.008517
Error estándar	0.02287	0.05379	0.007429	0.02595	0.004917

Nota. Matriz de Registro y Control

La tabla N° 2 determina los valores descriptivos en gramos de UFC en ATCC, BP1, BP2, BP3 y BP4. Con un N muestral de 5 entes de estudio se obtiene que, para el ATCC, un valor mínimo de 5.699, una mediana de 5.74 y un máximo de 5.778; Así mismo observamos que posee una media de 5.739 con una desviación estándar de 0.0396 y un error estándar de 0.02287. Con un percentil del 25% de 5.699 y un percentil del 75% de 5.778.

Para la BP1, un valor mínimo de 6.161, una mediana de 6.29 y un máximo de 6.423; Así mismo observamos que posee una media de 6.265 con una desviación estándar de 0.09317 y un error estándar de 0.05379. Con un percentil del 25% de 6.161 y un percentil del 75% de 6.342.

Para la BP2, un valor mínimo de 6.398, una mediana de 6.407 y un máximo de 6.423; Así mismo observamos que posee una media de 6.409 con una desviación estándar de 0.01287 y un error estándar de 0.007429. Con un percentil del 25% de 6.398 y un percentil del 75% de 6.423.

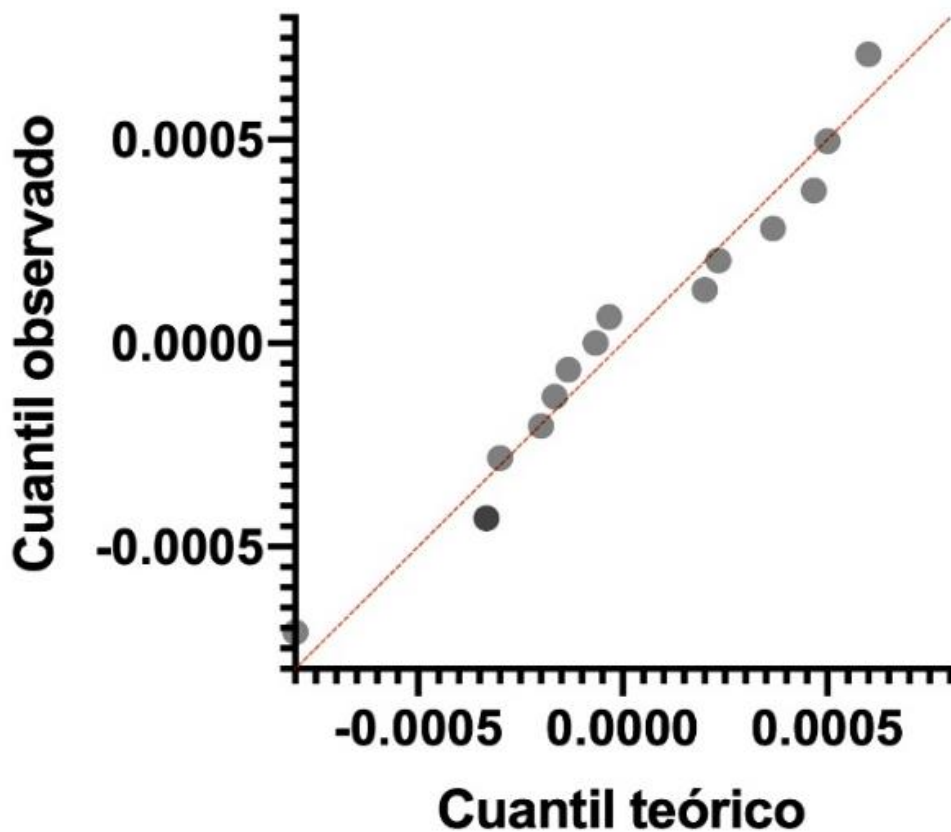
Para la BP3, un valor mínimo de 6.38, una mediana de 6.431 y un máximo de 6.47; Así mismo observamos que posee una media de 6.427 con una desviación estándar de 0.04495 y un error estándar de 0.02595. Con un percentil del 25% de 6.38 y un percentil del 75% de 6.47.

Para la BP4, un valor mínimo de 6.398, una mediana de 6.407 y un máximo de 6.415; Así mismo observamos que posee una media de 6.406 con una desviación estándar de 0.008517 y un error estándar de 0.004917. Con un percentil del 25% de 6.398. y un percentil del 75% de 6.415.



GRÁFICO N°1

Linea de Progresión – Peso seco de producción de biofilm

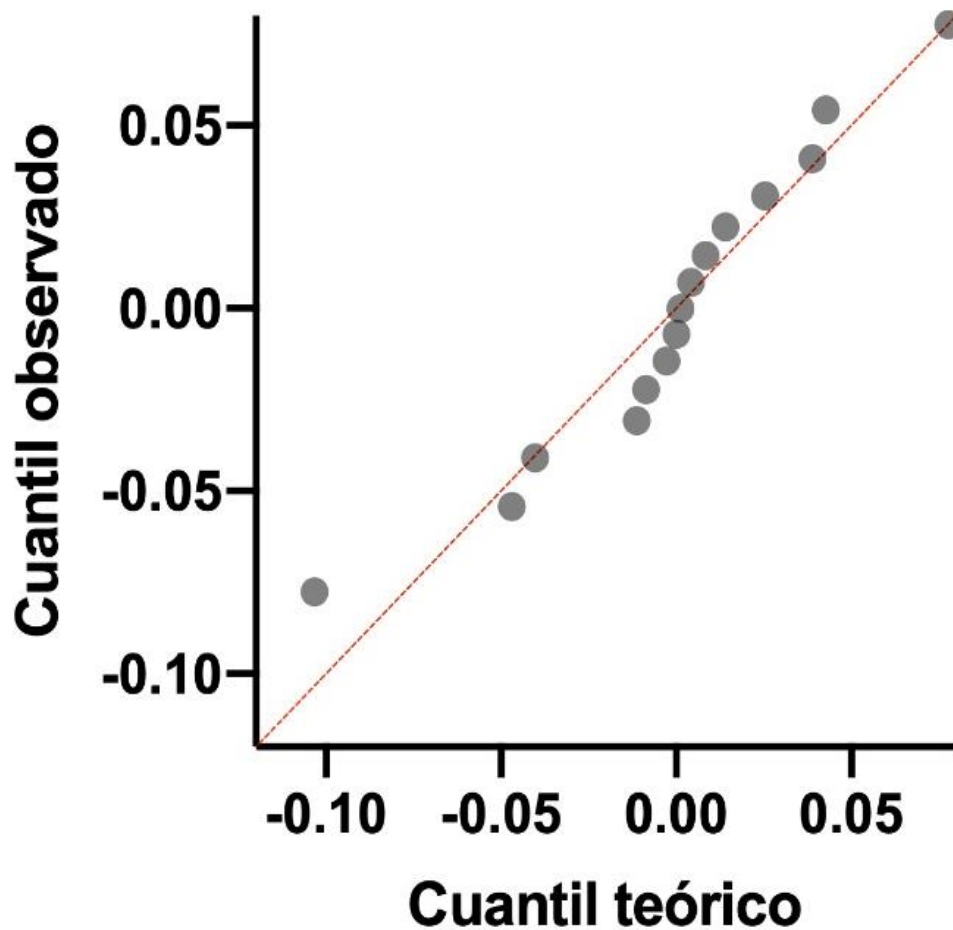


Nota. Matriz de Registro y Control

En el gráfico N° 1 se observa que según la distribución normal, los datos obtenidos se muestran homogéneos por lo cual se concluye que los datos obedecen a una distribución normal para uso de una prueba paramétrica.

GRÁFICO N°2

Línea de Progresión - Unidades Formadoras de Colonia



Nota. Matriz de Registro y Control

El gráfico N° 2 nos muestra que los datos son homogéneos, esto debido a que se observa una línea de progresión positiva, ya que los datos representan consistencia a lo largo del estudio, se decide utilizar una estadística paramétrica.

TABLA N°3

Prueba estadística ANOVA - Peso Seco de producción de biofilm

ANOVA summary	
F	19.42
P valor	<0.0001
P valor gráfico	***
Significante?	Yes
R ²	0.8859

Nota. Matriz de Registro y Control

Se presenta los resultados de la prueba ANOVA entre los grupos, la que indica que si hay una diferencia significativa con un P valor <0.0001. Con un. R² = 0.8859.

TABLA N° 4

Prueba estadística TUKEY - Peso Seco de producción de biofilm

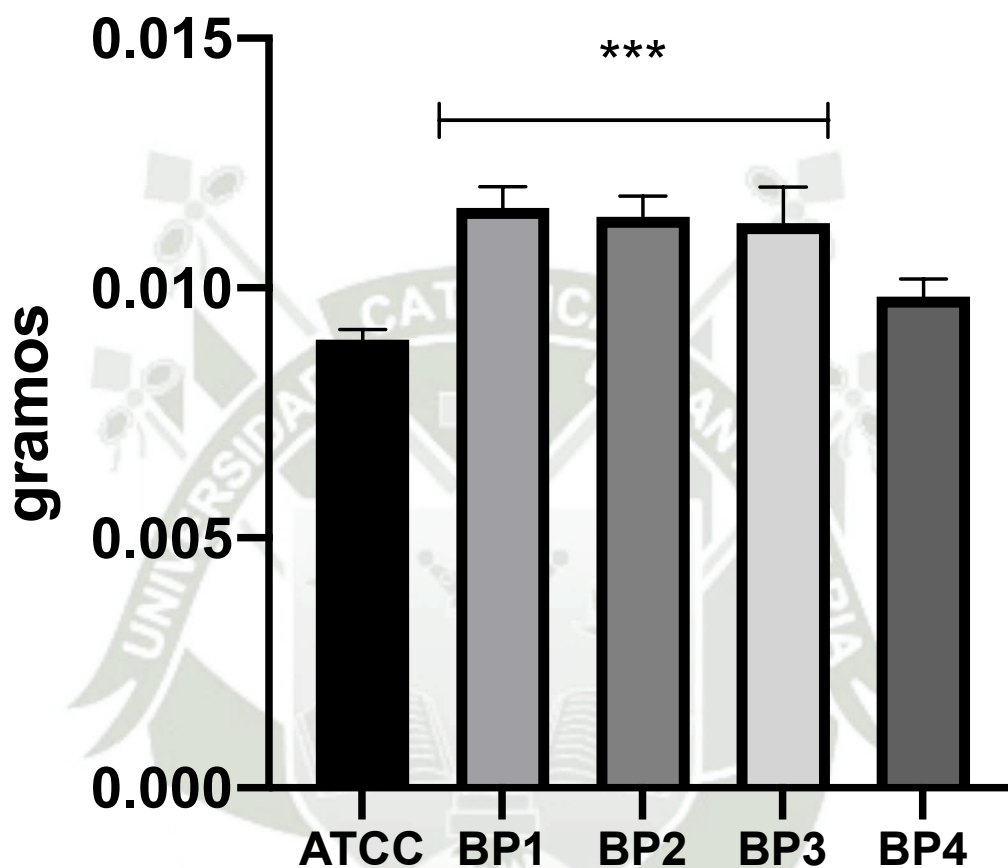
Comparación múltiple de Tukey	Diferencia de medias	Gráfico	P valor
ATCC vs. BP1	-0.002633	***	0.0003
ATCC vs. BP2	-0.002467	***	0.0005
ATCC vs. BP3	-0.002333	***	0.0007
ATCC vs. BP4	-0.0008667	ns	0.2166

Nota. Matriz de Registro y Control

La tabla N°4 contiene las diferencias que existen comparando el peso seco de *C.albicans* ATCC y *C.albicans* aisladas de bolsas periodontales, por lo que nos muestra que, aplicando la prueba estadística de Tukey entre ATCC y BP1 hubo diferencia significativa de < 0.0003, al igual que la comparación entre ATCC y BP2 que presentó una diferencia de < 0.0005, así mismo entre ATCC y BP3 que si bien hubo diferencia < 0.0007 no es tan significativa. Por lo contrario de la comparación entre ATCC y BP4 donde no se presentó diferencia.

GRÁFICO N° 3

Histograma - Peso Seco producción de biofilm



Nota. Matriz de Registro y Control

El siguiente gráfico muestra el peso seco de la producción biofilm , donde se observa la diferencia significativa entre ATCC y BP1 , BP2, BP3. A diferencia de ATCC y BP4 donde no se presentó una diferencia.

TABLA N°5

Prueba estadística ANOVA - Unidades Formadoras de Colonia

ANOVA summary	
F	102.7
P valor	<0.0001
P valor gráfico	****
Significante?	Si
R ²	0.9762

Nota. Matriz de Registro y Control

Se presenta los resultados de la prueba ANOVA entre los grupos, la que indica que si existe una diferencia estadística altamente significativa con un P valor <0.0001. Con un R² = 0.9762.

TABLA N°6

Prueba estadística TUKEY- Unidades Formadoras de Colonia

Comparación múltiple de Tukey	Diferencia de medias	Gráfico	P valor
ATCC vs. BP1	-0.5254	****	<0.0001
ATCC vs. BP2	-0.6701	****	<0.0001
ATCC vs. BP3	-0.688	****	<0.0001
ATCC vs. BP4	-0.6673	****	<0.0001

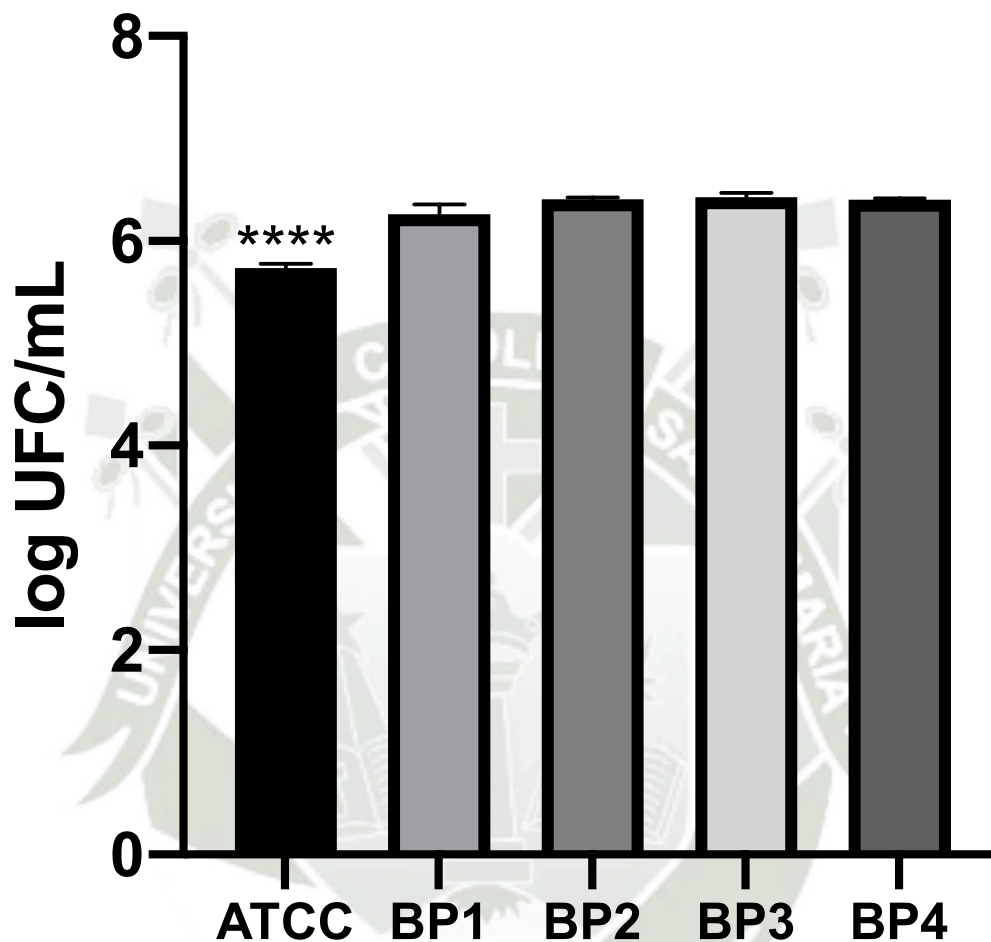
Nota. Matriz de Registro y Control

La tabla N°6 contiene las diferencias que existen comparando la formación de unidades formadoras de colonia entre *C.albicans* ATCC y *C.albicans* aisladas de bolsas peridontales, por lo que nos muestra que, aplicando la prueba estadística Tukey entre ATCC y BP1 hubo una diferencia estadísticamente significativa de <0.0001 al igual que entre ATCC y BP2 , entre ATCC y BP3 y también entre ATCC y BP4 que presentaron una estadística significativa de <0.0001.

Es decir, la formación de UFC es significativamente mayor en *C.albicans* aisladas de bolsas peridontales a diferencia de *C.albicans* ATCC.

GRÁFICO N° 4

Histograma - Unidades Formadoras de Colonia

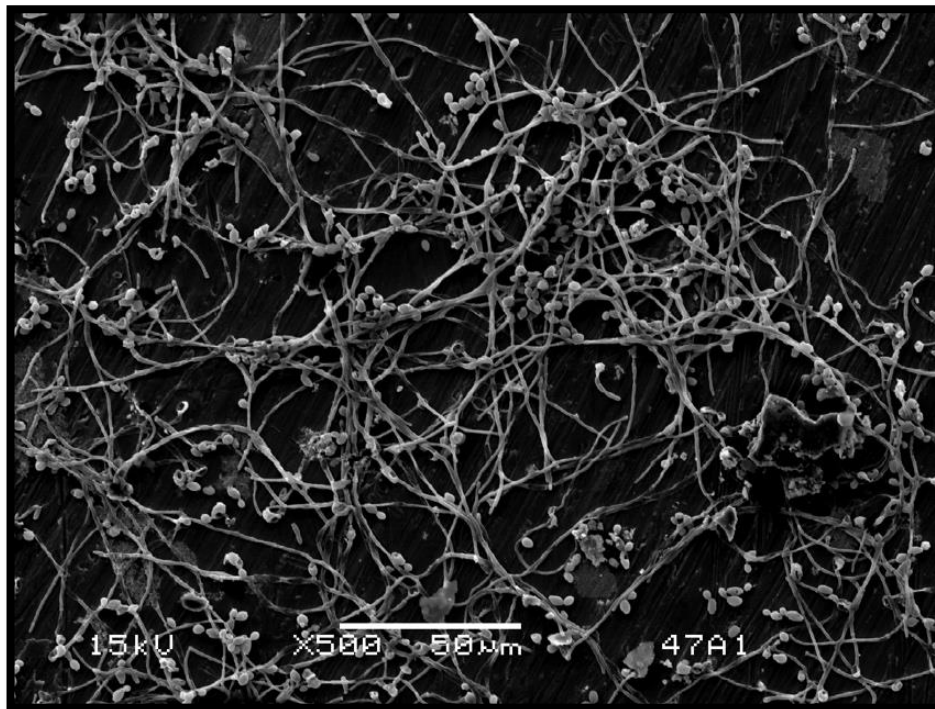


Nota. Matriz de Registro y Control

El grafico representa la formación de unidades formadoras de colonia, donde se observa que hay una diferencia significativa entre *C.albicans* ATCC y *C.albicans* aisladas de bolsas periodontales.

FIGURA N° 1: ATCC

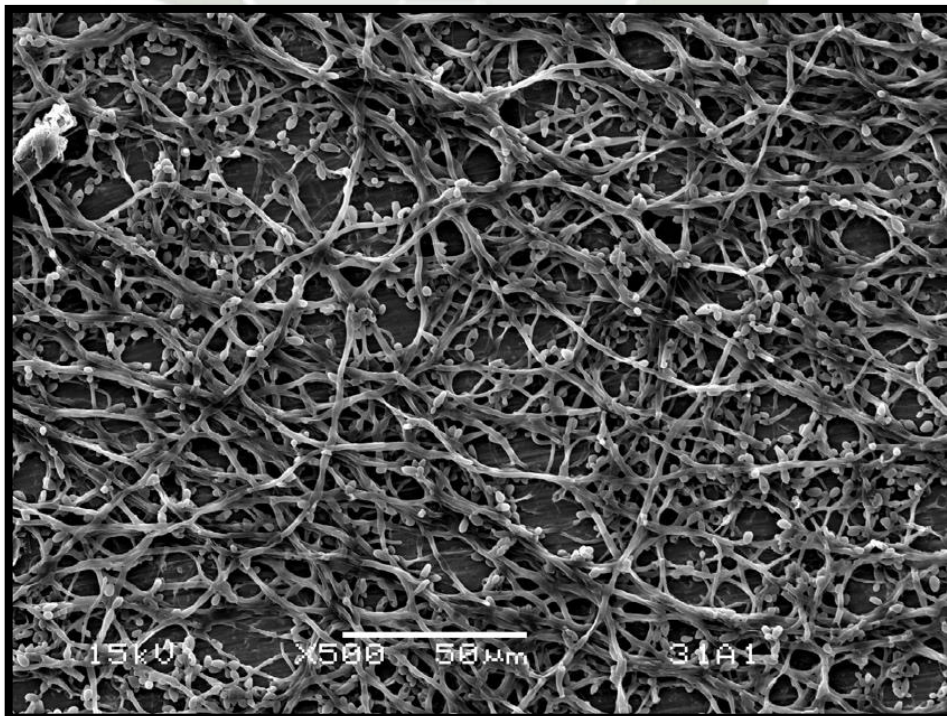
Verifíquese la presencia de levaduras, hifas y pseudohifas



Nota. Matriz de Registro y Control

FIGURA N° 2: BP1

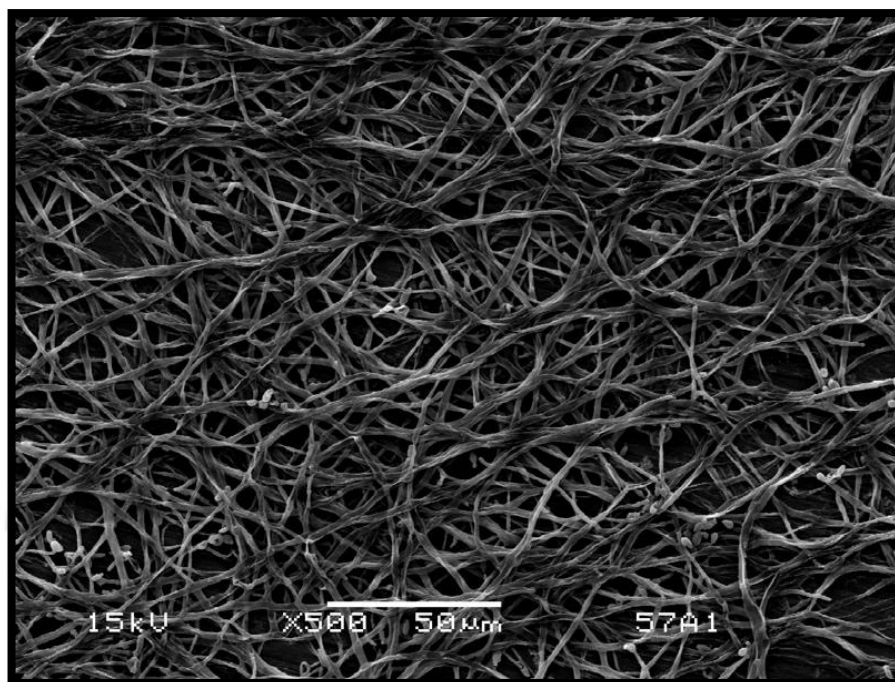
Verifíquese la presencia de hifas



Nota. Matriz de Registro y Control

FIGURA N° 3: BP2

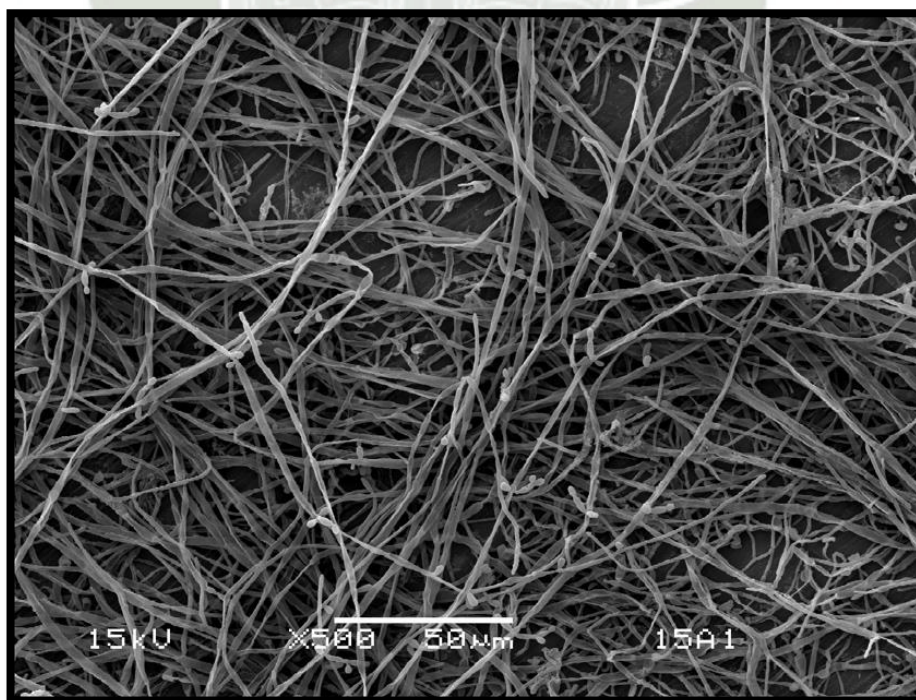
Verifiquese la presencia de hifas



Nota. Matriz de Registro y Control

FIGURA N° 4: BP3

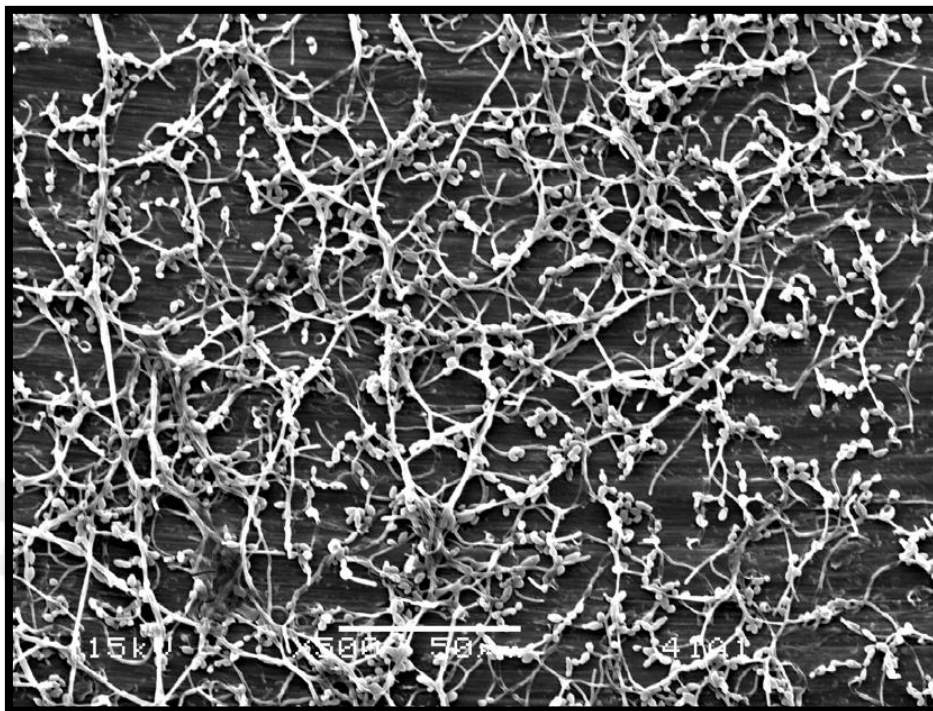
Verifiquese la presencia de hifas



Nota. Matriz de Registro y Control

FIGURA N°5: BP4

Verifíquese la presencia de hifas y levaduras



Nota. Matriz de Registro y Control

2. DISCUSIÓN

Como patógenos oportunistas describimos a las levaduras, que pueden persistir por mucho tiempo en diferentes nichos orales sin manifestaciones clínicas; sin embargo cuando su entorno cambia, sus factores de virulencia desencadenan enfermedades en pacientes comprometidos por procesos sistémicos o por procesos patológicos locales. Las bolsa periodontal es un medio favorable para la germinación de *C. albicans* y el crecimiento de sus hifas, las cuales tienen una gran capacidad para adherirse a las células huésped y penetrar en los tejidos.

En la investigación que realizó Milagritos K. Moreno Sosa se ha descrito la presencia de *C. albicans* en bolsas periodontales de 4 – 6 mm y > 6 mm, lo que nos llevó a pensar que la *Candida albicans* podría crecer y desarrollarse en ambientes aeróbicos facultativos. Al igual que la investigación de Paul A. Guzmán Villegas que estudió los tipos de *Candida* en bolsas periodontales y cuál es la especie que predomina, donde se mostró 3 tipos de *Candida* (*C. albicans*, *C. Tropicalis* y *C. krusei*) y el predominio de *C. Tropicalis*, antecedentes que le dan fundamento y base a nuestro trabajo de investigación.

En la investigación que realizó Zaw M. Thein. et al, sobre la formación de biopelícula in vitro de especies de *Candida albicans* y no *albicans* en condiciones dinámicas y anaeróbicas se concluyó que, la formación de biopelículas de *C. albicans* y especies no *albicans* de *Candida* está modulada por las condiciones hidrodinámicas y los gradientes de oxígeno ambiente ya que la microscopía electrónica de barrido reveló que *C. albicans* produjo una biopelícula compacta multicapa incrustada en una cantidad notablemente mayor de matriz polimérica extracelular en condiciones aeróbicas/dinámicas en comparación con las condiciones anaeróbicas/estáticas (29). El presente estudio de investigación muestra que las *Candida albicans* estudiadas desarrollan más cantidad de biofilm en comparación a la *Candida albicans* ATCC, siendo además que muestran casi en la mayoría la morfología de hifas más que levaduras. Estos resultados pueden ser explicados debido a que en este estudio, las *C. albicans* fueron aisladas de bolsas periodontales, las cuales podría poseer algunas características más virulentas que las *C. albicans* empleadas en el estudio de Zaw et al, las cuales fueron aisladas de otro tipo de condiciones.

Según el estudio de Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa et al, sobre la evaluación fenotípica del efecto de la anaerobiosis en algunos atributos de virulencia de *Candida albicans* se concluye que, las diferentes condiciones atmosféricas pueden ejercer una influencia considerable sobre los atributos de virulencia de *C. albicans* (28). Apoyamos estos resultados ya que analizando los factores estudiados; podemos inferir que, relacionando la mayor producción de biofilm de cepas aisladas de bolsas periodontales respecto a la ATCC, el mayor crecimiento de unidades formadoras de colonia (UFC) respecto a la ATCC, y como predominio de hifas en su morfología, sugerimos un mayor factor de virulencia de las cepas aisladas de bolsas periodontales en estas condiciones.

Así mismo Shannon Williams et al, estudió las condiciones anaeróbicas como una gran influencia en la formación de clamidosporas de *Candida albicans* en donde se obtuvo que la formación de clamidosporas puede ser estimulada por condiciones hipóxicas, pero solo en tipos de medios específicos limitados, se mostró que las condiciones anaeróbicas son suficientes para impulsar la formación de clamidosporas en *C. albicans* en la superficie del agar rico en nutrientes (27). En esta investigación muestra que hay un predominio en la morfología de hifas en condiciones de aerobiosis facultativa lo que nos lleva a deducir que es por eso que se activa su factor de virulencia en estas condiciones. Los resultados se explican debido a que las *C. albicans* estudiadas fueron aisladas de bolsas periodontales y expuestas a un medio diferente, y en el estudio de Shannon Williams et al, fueron aisladas de otro tipo de condiciones y fueron expuestas a un medio específico limitado.

En el presente trabajo de investigación como hallazgo principal se muestra que la *C. albicans* puede desarrollarse en condiciones de aerobiosis facultativa, ya que en los estudios realizados se observa una mayor producción de biofilm, y el predominio de hifas en su morfología.

3. CONCLUSIONES

PRIMERA:

Teniendo en cuenta todos los aspectos estudiados en el presente trabajo de investigación, se concluye que la aerobiosis facultativa influye en la producción de biofilm, de manera que, se mostró mayor peso seco de biofilm en la BP1, BP2 Y BP3 respecto a la ATCC y a la BP4 .

SEGUNDA:

Podemos concluir que la aerobiosis facultativa influye en la viabilidad de la *C. albicans* ya que se mostró un mayor crecimiento de UFC en las cuatro cepas aisladas de bolsas periodontales (BP1,BP2,BP3 Y BP4) respecto a la ATCC , que presentó un menor crecimiento de UFC.

TERCERA. :

Teniendo en cuenta los resultados de la microscopia electrónica de barrido podemos concluir que la aerobiosis facultativa influye en la morfología de la *C. albicans* mostrando una mayor producción de hifas en BP1,BP2,BP3 respecto a la ATCC y a la BP4.

4. RECOMENDACIONES

PRIMERA:

Se recomienda a la comunidad universitaria realizar más estudios demostrando la presencia de más especies de levaduras en bolsas peridontales.

SEGUNDA:

Se recomienda al Profesional como tratamiento farmacológico la utilización de antifúngicos además de antibióticos para pacientes con tratamiento periodontal.

TERCERA:

Se recomienda a estudiantes de odontología realizar más estudios sobre el mecanismo y biología de la *C.albicans* en bolsa periodontal, enfocada en cómo y de qué se alimenta y cuál es su participación en el microbioma de la bolsa periodontal.

CUARTA:

Se recomienda a la comunidad universitaria estudiar los factores de crecimiento que se encuentran en una bolsa periodontal, imprescindibles para la viabilidad y crecimiento de la *C.albicans*.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pereira R, Dos Santos Fontenelle RO, de Brito EHS, de Morais SM. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *J Appl Microbiol*. 2021;131(1):11-22.
2. Ponde NO, Lortal L, Ramage G, Naglik JR, Richardson JP. *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. *Crit Rev Microbiol*. 2021;47(1):91-111.
3. Kadosh D. Regulatory mechanisms controlling morphology and pathogenesis in *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol*. 2019;52:27-34.
4. Poulain D. *Candida albicans*, plasticity and pathogenesis. *Crit Rev Microbiol*. 2015;41(2):208-17.
5. Talapko J, Juzbasic M, Matijevic T, Pustijanac E, Bekic S, Kotris I, et al. *Candida albicans*-The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *J Fungi (Basel)*. 2021;7(2).
6. Lopes JP, Lionakis MS. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence*. 2022;13(1):89-121.
7. Wang Y. Looking into *Candida albicans* infection, host response, and antifungal strategies. *Virulence*. 2015;6(4):307-8.
8. Gulati M, Nobile CJ. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes Infect*. 2016;18(5):310-21.
9. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int Dent J*. 2021;71(6):462-76.
10. Kavarthapu A, Gurumoorthy K. Linking chronic periodontitis and oral cancer: A review. *Oral Oncol*. 2021;121:105375.
11. Papapanou PN, Kornman KS. Periodontitis Classification. *J Am Dent Assoc*. 2020;151(3):159.
12. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018;89 Suppl 1:S159-S72.
13. Daraqel B, Yingying T, Zheng L. Flash-free and conventional adhesive ceramic brackets in patients undergoing orthodontic treatment: A systematic review and meta-analysis. *Orthod Craniofac Res*. 2023;26(1):1-12.
14. Van Dyke TE, Sheilesh D. Risk factors for periodontitis. *J Int Acad Periodontol*. 2005;7(1):3-7.
15. Donos N. The periodontal pocket. *Periodontol 2000*. 2018;76(1):7-15.
16. Leira Y, Martin-Lancharro P, Blanco J. Periodontal inflamed surface area and periodontal case definition classification. *Acta Odontol Scand*. 2018;76(3):195-8.

17. Bosshardt DD. The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontol 2000*. 2018;76(1):43-50.
18. Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis*. 2000;6(3):138-51.
19. Arweiler NB, Netuschil L. The Oral Microbiota. *Adv Exp Med Biol*. 2016;902:45-60.
20. Chervinets VM, Chervinets YV, Leont'eva AV, Kozlova EA, Stulov NM, Belyaev VS, et al. The microbiome of oral cavity patients with periodontitis, adhesive and biofilm forming properties. *Klin Lab Diagn*. 2021;66(1):45-51.
21. Kwon HM, Yamauchi A, Uchida S, Preston AS, Garcia-Perez A, Burg MB, et al. Cloning of the cDNA for a Na⁺/myo-inositol cotransporter, a hypertonicity stress protein. *J Biol Chem*. 1992;267(9):6297-301.
22. Alvarez S, Leiva-Sabadini C, Schuh C, Aguayo S. Bacterial adhesion to collagens: implications for biofilm formation and disease progression in the oral cavity. *Crit Rev Microbiol*. 2022;48(1):83-95.
23. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes Infect*. 2000;2(13):1599-607.
24. Zijngé V, van Leeuwen MB, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmur R, et al. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS One*. 2010;5(2):e9321.
25. Mosaddad SA, Tahmasebi E, Yazdani A, Rezvani MB, Seifalian A, Yazdani M, et al. Oral microbial biofilms: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38(11):2005-19.
26. Chevalier M, Ranque S, Precheur I. Oral fungal-bacterial biofilm models in vitro: a review. *Med Mycol*. 2018;56(6):653-67.
27. Shannon Williams IC, Derek Thomas. Anaerobic conditions are a major influence on *Candida albicans* chlamyospore formation. *Folia Microbiol (Praha)*. 2023.
28. Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa RNR, Sérgio Aparecido Ignácio, Rosimeire Takaki Rosa, Wander José da Silva, Joyce Yick Yee Yau, Lakshman Perera Samaranayake. Phenotypic evaluation of the effect of anaerobiosis on some virulence attributes of *Candida albicans*. *J Med Microbiol*. 2008.
29. Zaw M Thein YHS, Lakshman P Samaranayake. In vitro biofilm formation of *Candida albicans* and non-*albicans* *Candida* species under dynamic and anaerobic conditions. *Arch Oral Biol*. 2007.
30. Olsen URDaI. Anaerobiosis and serum promote mycelium formation by *Candida albicans* in colonies on TSBV agar *Acta Odontol Scand*. 1991;49:41-5.
31. Sarachek U. Selective inactivation of heterokaryons of *Candida albicans* by anaerobiosis. *Mycopathologia* 1987;99:31-9.
32. Guzman Villegas PA. Presencia de Especies de *Candida* en Bolsas Periodontales de Pacientes Adultos en la Clinica Odontologica de la Universidad Catolica de Santa Maria Arequipa – 2018. 2018:72.

33. Moreno Sosa MK. Presencia de *Candida albicans* en bolsas periodontales de pacientes con periodontitis en el centro odontológico de la Universidad de San Martín de Porres. 2019:41.



6. ANEXOS

6.1. ANEXO 1: Ficha de recolección de datos

	PESO (gramos)	SECO	UFC/ml
ATCC			
Paciente N°1			
Paciente N°2			
Paciente N°3			
Paciente N°4			

6.2. ANEXO 2: Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM:

Arequipa, 18 de marzo del 2024

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

Esimado Doctor Luis Ponce Soto, por medio de la presente yo, Milagros Pampa Chuquicaña, identificada con el DNI n° 72469993 y el código de alumno 2019223962, quiero solicitar la autorización para trabajar en el Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM para la realización de mi proyecto de Tesis titulado: “ INFLUENCIA DE LA AEROBIOSIS FACULTATIVA EN LA PRODUCCIÓN DE BIOFILM, VIABILIDAD Y MORFOLOGÍA DE CANDIDA ALBICANS EN LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA – AREQUIPA 2024 ” para optar por el título de Cirujano Dentista en la UCSM.

Ruego a usted acceder a mi solicitud.

Atentamente:



Pampa Chuquicaña, Milagros

DNI 72469993



DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIZACIÓN

El que suscribe *Professor 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: “ INFLUENCIA DE LA AEROBIOSIS FACULTATIVA EN LA PRODUCCIÓN DE BIOFILM, VIABILIDAD Y MORFOLOGÍA DE CANDIDA ALBICANS EN LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA – AREQUIPA 2024” se realizará por la Alumna: Milagros Pampa Chuquicaña y docente Dr. Gustavo 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, 25 de marzo del 2024.

Atentamente,



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

vrinvestigacion@ucsm.edu.pe

Teléfono: 382038. Anexo 1111

Universidad Católica de Santa María de Arequipa – Perú

6.3. ANEXO 3: Secuencia fotográfica

Figura N°1: Se realizó la rehabilitación de las cepas de *Candida albicans* ATCC y de las cepas de *Candida albicans* aisladas de bolsas periodontales

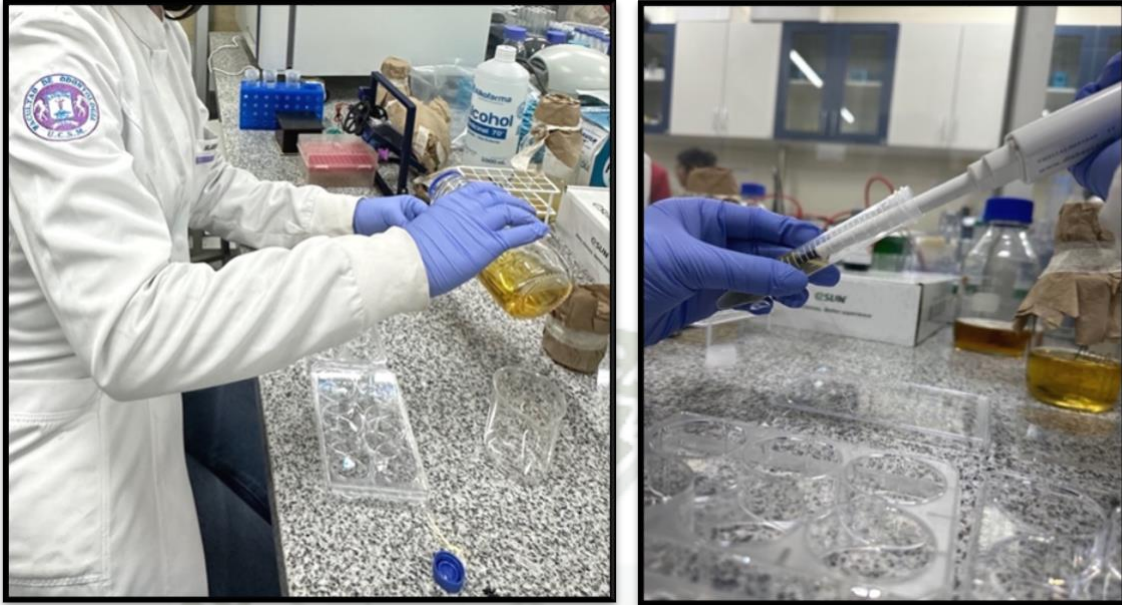


Figura N°2: Preparación del inóculo

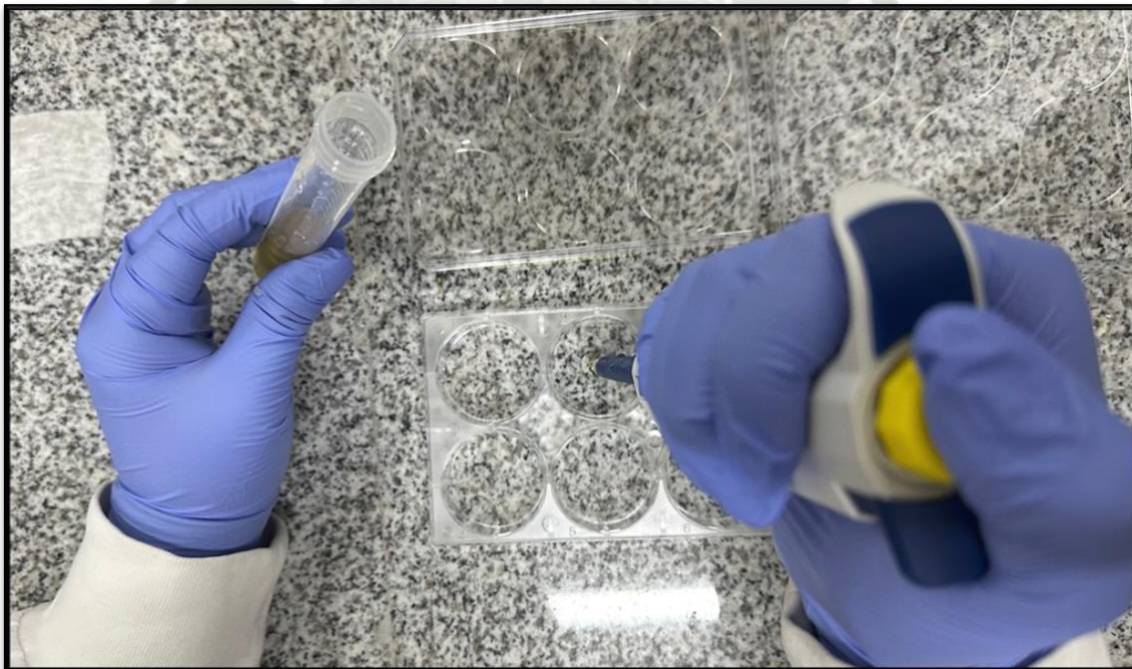


Figura N°3: Se realizó la colocación del inóculo en las placas de cultivo

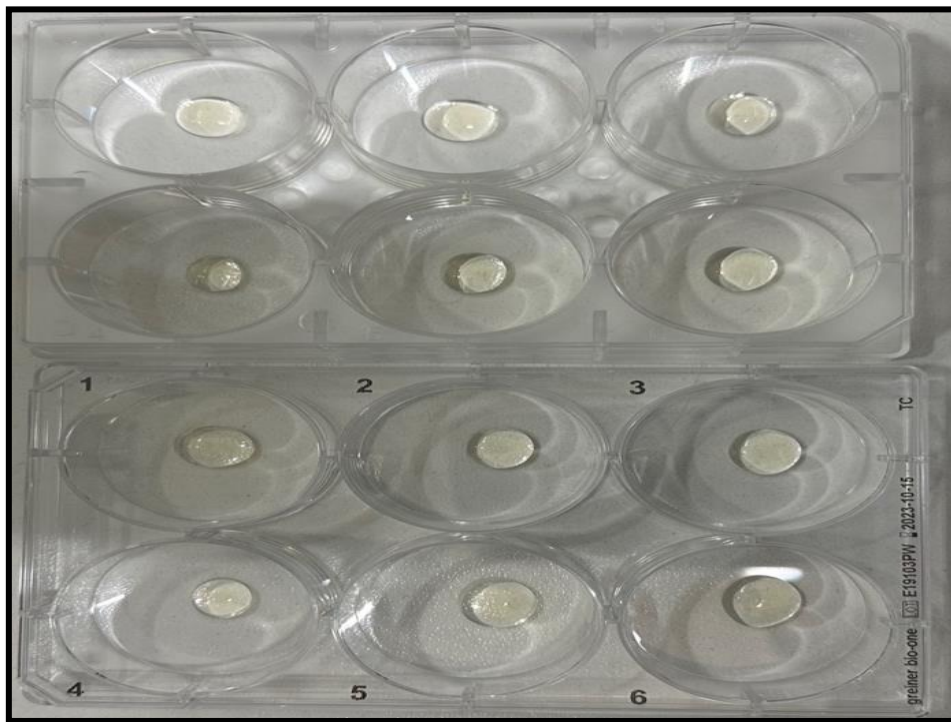


Figura N°4: Se realiza la colocación del caldo BHI



Figura N°5: Se realiza la colocación a la estufa a 37°C al 15% de CO₂ por 72 horas

