REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Odontología

Escuela Profesional de Odontología

ESTUDIO IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE UN QUESO ARTESANAL CON CEPAS PROBIOTICAS: *SACCHAROMYCES BOULARDII, LACTOBACILLUS CASEI, LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*; SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CANDIDA ALBICANS, EN LOS LABORATORIOS DE LA UCSM, AREQUIPA 2016

Tesis presentada por la Bachiller:
Nina Flores, Yulitza Jackeline
Para optar el Título Profesional de
Cirujana Dentista

Asesora:
Mg. Barriga Flores, María del Socorro

Arequipa- Perú

2019

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
URB. SAN JOSE S/N - UMACOLLO

DR GUSTAVO OBANDO PEREDA

BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 001

Vista la solicitud que presenta don (ña **NINA FLORES, YULITZA JACKELINE** sobre el dictamen de la Tesis titulada **"ESTUDIO IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE UN QUESO ARTESANAL CON CEPAS PROBIOTICAS: SACCHAROMYCES BOULARDII, LACTOBACILLUS CASEI, LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS; SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CANDIDA ALBICANS, EN LOS LABORATORIOS DE LA UCSM, AREQUIPA 2016 "** y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra el JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR HUGO TEJADA PRADELL
MGTER ALBERTO ALVARADO ACO
DR GUSTAVO OBANDO PEREDA

Arequipa, 09 DE ENERO del 2019

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARÍA
DR. HERBERT GALLEGOS VARGAS
Decano de la Facultad de Odontología

INFORME

Sr Dr Herbert Gallegos, Decano de la Facultad de Odontología.

Habiendo revisado la tesis y habiendo hecho las correcciones sugeridas, doy pase para su defensa

Arequipa, 2018 16/01

(5154) 382038 (5154) 252542 ucsm@ucsm.edu.pe http://www.ucsm.edu.pe

0012226

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
URB. SAN JOSE S/N - UMACOLLO

DR HUGO TEJADA PRADELL

BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 001

Vista la solicitud que presenta don (ña **NINA FLORES, YULITZA JACKELINE** sobre el dictamen de la Tesis titulada **"ESTUDIO IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE UN QUESO ARTESANAL CON CEPAS PROBIOTICAS: SACCHAROMYCES BOULARDII, LACTOBACILLUS CASEI, LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS; SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CANDIDA ALBICANS, EN LOS LABORATORIOS DE LA UCSM, AREQUIPA 2016 "** y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra el JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR HUGO TEJADA PRADELL
MGTER ALBERTO ALVARADO ACO
DR GUSTAVO OBANDO PEREDA

Arequipa, 09 DE ENERO del 2019

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
DR. HERBERT GALLEGOS VARGAS
Decano de la Facultad de Odontología

INFORME

Sr. Decano:

Habiendose realizado las modificaciones sugeridas por el suscrito, cumplo con emitir dictamen favorable al presente Borrador de Tesis, a fin que continue con su trámite correspondiente. para obtener el grado académico de Cirujano Dentista.

Sin otro particular agradezco la atención que le merezca la presente.

Atte.

Dr. Hugo Tejada Pradell

COD. 0290

Arequipa, 2018. 14-01-19

(5154) 382038 (5154) 252542 ucsm@ucsm.edu.pe http://www.ucsm.edu.pe

0012222

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
URB. SAN JOSE S/N - UMACOLLO

MGTER ALBERTO ALVARADO ACO

BOLETA DE DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS Nro 001

Vista la solicitud que presenta don (ña **NINA FLORES, YULITZA JACKELINE** sobre el dictamen de la Tesis titulada **"ESTUDIO IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE UN QUESO ARTESANAL CON CEPAS PROBIOTICAS: SACCHAROMYCES BOULARDII, LACTOBACILLUS CASEI, LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS; SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CANDIDA ALBICANS, EN LOS LABORATORIOS DE LA UCSM, AREQUIPA 2016 "** y en concordancia con la Ley Universitaria 30220, y el Art. 13 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Odontología, se nombra el JURADO DICTAMINADOR para que en el lapso de ocho a diez días, se sirvan evaluar el dictamen correspondiente

DR HUGO TEJADA PRADELL
MGTER ALBERTO ALVARADO ACO
DR GUSTAVO OBANDO PEREDA

Arequipa, 09 DE ENERO del 2019

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
DR. HERBERT GALLEGOS VARGAS
Decano de la Facultad de Odontología

INFORME

- Modificar Introducción
- Especificar Mejor el Resumen
- Especificar Mejor el Marco Teorico (generalidades del queso)
- Especificar Mejor los Antecedentes Internacionales
- Especificar Mejor los Antibiogramas

Arequipa 15-01-19

Es de pase para su sustentación

Arequipa, 2018 - 21-01

(5154) 382038 (5154) 252542 ucsm@ucsm.edu.pe http://www.ucsm.edu.pe

0012225

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Dedicatorias

A Dios, por permitirme continuar a pesar de las adversidades.

A mi querida madre Nelia, por su amor, fortaleza y apoyo incondicional.

A mi hermana Karen por siempre apoyarme y confiar en mí.

A mi esposo Gustavo, por su amor, compresión e infinita paciencia.

A mi hija, Alessa la razón de mi vida.

A mi familia por incentivarme a perseverar siempre.

.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Agradecimientos

A Dios por ser mi fortaleza y mi guía.

A mi querida madre Nelia, por su amor y apoyo incondicional, me enseñó a nunca rendirme y seguir siempre adelante.

A mi hermana Karen y su novio Miguel por incentivarme a seguir con mi formación profesional.

A mi esposo Gustavo y mi hija Alessa, por su amor incondicional en todos estos años.

A mis amigas, Daniela y Magnito, por acompañarme y brindarme su apoyo en este proceso.

.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

"La mayor gloria no es nunca caer, sino levantarse siempre."

Nelson Mandela

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

RESUMEN

Esta investigación tiene como objetivo fundamental evaluar la eficacia del efecto inhibitorio in vitro de un queso artesanal enriquecido con cepas probióticas de *Saccharomyces boulardii, Lactobacillus casei y Lactobacillus acidophilus,* sobre el crecimiento de *Candida albicans.* El cual es un hongo causante de la candidiasis oral y otras infecciones que se diseminan por el organismo llegando a ser incluso fatal.

El estudio correspondiente fue de corte experimental, prospectivo, transversal, comparativo y de nivel experimental, para el cual se diseñaron tres grupos, uno por cada probiótico, con 10 repeticiones respectivamente.

Para la realización de este trabajo se dispuso de cepas certificadas ATCC 10231 de *Candida albicans,* la cual fue activada e inoculada en los medios de cultivo: Agar Sabouraud, Caldo de tioglicolato, Agar sangre, se procedió a replicar las bacterias en las placas petri posteriormente se colocó los discos de inhibición que contenían los probióticos, mediante el método de Kirby – Bauer o discos de difusión, se incubaron en la cámara de anaerobiosis a 37°C y 6% de CO_2 por el lapso de 24 horas.

Se realizó las lecturas de los halos de inhibición e interpretación de resultados, utilizando un calibrador de Vernier o una regla milimetrada.

Los resultados evidenciaron la efectividad inhibitoria de los probióticos mencionados sobre el crecimiento de *Candida albicans,* donde el queso artesanal inoculado con *Saccharomyces boulardii* presentó mayor efectividad inhibitoria.

Palabras clave:

Probióticos, candidiasis oral, *Saccharomyces.boulardii, Lactobacillus casei y Lactobacillus acidophilus*

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ABSTRACT

The main objective of this research is to evaluate the efficacy of the in vitro inhibitory effect of an artisan cheese enriched with probiotic strains of *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*, on the growth of *Candida albicans*. Which is a fungus that causes oral candidiasis and other infections that spread through the body to become even fatal.

The corresponding study was of experimental, prospective, transversal, comparative and experimental level, for which three groups were designed, one for each probiotic, with 10 repetitions respectively.

To carry out this work, ATCC 10231 certified strains of Candida *albicans* were available, which was activated and inoculated in the culture media: Sabouraud agar, Thioglycolate broth, Blood agar, the bacteria were then replicated in the petri dishes. the inhibition discs containing the probiotics were placed, using the Kirby - Bauer method or diffusion discs, were incubated in the anaerobiosis chamber at 37° C and 6% CO_2 for a period of 24 hours.

The readings of the inhibition halos and interpretation of results were made, using a Vernier caliper or a millimeter ruler.

The results showed the inhibitory effectiveness of the mentioned probiotics on the growth of Candida *albicans*, where the artisanal cheese inoculated with *Saccharomyces boulardii* presented greater inhibitory effectiveness.

Key words:

Probiotics, oral candidiasis, *Saccharomyces.boulardii, Lactobacillus casei y Lactobacillus acidophilus.*

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal posee una flora bacteriana propia, cuyo conjunto de microorganismos incluye arqueas, hongos, virus y protozoos, y más de 700 diversas especies de bacterias, es una de las zonas más diversas del cuerpo humano en cuanto a composición se refiere. Además, es la vía de entrada de los microorganismos del tracto gastrointestinal**.**

Cuando existe equilibrio entre los microorganismos que constituyen la microbiota oral y los tejidos que forman parte del ecosistema, se utiliza el término de 'eubiosis'. Sin embargo, cuando este equilibrio se rompe, se puede desarrollar una enfermedad, en este caso el término utilizado es el de 'disbiosis' (1).

Durante la disbiosis se produce un crecimiento excesivo de microorganismos patógenos entre ellos el desarrollo de un hongo levaduriforme llamado *Candida albicans* agente responsable de la candidiasis.

La *Candida albicans* está presente en alrededor del 35% de los casos de Estomatitis protésica aproximadamente, de ahí que se llame en muchas ocasiones Candidiasis protésica o Candidiasis subplaca, Se considera, una patología de origen multifactorial, que no puede ser atribuida a factores concretos, pero sí a un cúmulo de ellos, y la Candida representaría un factor sobreañadido al proceso, que tiene la prótesis como factor predisponente primario, ya que las condiciones de acidez y anaerobiosis producida por la prótesis favorecería la colonización por Candida y su desarrollo.

La estomatitis protésica es una patología que afecta a un gran número de los pacientes, y aunque la prevalencia varía según los estudios entre un 25-65%, se considera que alrededor del 50% de los portadores de prótesis removible pueden padecer la patología en algún momento. Se localiza con mayor frecuencia en el maxilar superior (paladar) que en la mandíbula (rebordes alveolares), y afecta a ambos sexos, con cierto predominio del sexo femenino (2).

Los probióticos son microbios vivos que pueden incluirse en la preparación de una amplia gama de productos, incluyendo alimentos, medicamentos, y suplementos dietéticos. Las especies de Lactobacillus y Bifidobacterium son las usadas más comunmente como

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

probióticos, pero la levadura Saccharomyces cerevisiae y algunas especies de E. coli y Bacillus también son utilizados como probióticos (3).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) los define como "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades apropiadas, confieren al huésped un beneficio para la salud".

La presente investigación fue realizada con el objetivo de comprobar la eficacia inhibitoria de algunos probióticos sobre la *Candida albicans.*

Para mejor entendimiento y organización, la tesis consta de tres capítulos. En el primer capítulo se desarrolla el planteamiento teórico, se aborda el problema, objetivos, marco teórico y la hipótesis. En el segundo capítulo se desarrolla el planteamiento operacional y recolección que consta en las técnicas, instrumentos y materiales, el campo de verificación, estrategias de recolección y manejo de los resultados. En el tercer capítulo se dan a conocer los resultados de la investigación mediante tablas y gráficas.

Finalmente, se incluye las conclusiones, recomendaciones, las referencias bibliográficas y anexos correspondientes.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ÍNDICE

RESUMEN ..... **viii**

ABSTRACT ..... **ix**

INTRODUCCIÓN ..... **x**

CAPITULO I PLANTEAMIENTO TEÓRICO **1**

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN 2
   1.1. Determinación del problema 2
   1.2. Enunciado del Problema 2
   1.3. Descripción del Problema 2
      1.3.1. Área del conocimiento 2
      1.3.2. Operacionalización de Variables: 3
      1.3.3. Interrogantes Básicas 3
      1.3.4. Taxonomía de la investigación 3
   1.4. Justificación 4
2. OBJETIVOS 5
3. MARCO TEÓRICO 6
   3.1. Conceptos Básicos 6
      3.1.1. Microbiología oral 6
      3.1.2. Generalidades de los hongos 6
      3.1.3. Definición y clasificación de la *Candida* spp. 8
      3.1.4. Especie *Candida albicans* 9
      3.1.5. Candidiasis 10
      3.1.6. Generalidades del queso 20
      3.1.7. Probióticos 23
      3.1.8. Probióticos y su relación con la Odontología 34
      3.1.9. Efecto de los probióticos sobre la candidiasis 36
      3.1.10. Medios de Cultivo 36
   3.2. Revisión de Antecedentes Investigativos 40
4. HIPÓTESIS 44

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPITULO II PLANTEAMIENTO OPERACIONAL 45
1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN 46
1.1. Técnica 46
1.2. Instrumentos 47
1.3. Materiales 47
2. CAMPO DE VERIFICACIÓN 48
2.1. Ámbito Espacial 48
2.2. Ámbito Temporal 48
2.3. Unidades de Estudio 48
2.4. Cuantificación de los casos 49
3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS 50
3.1. Organización 50
3.2. Recursos 50
4. ESTRATEGIA PARA MANEJO DE DATOS 51
4.1. Nivel de sistematización 51
4.2. Nivel de estudio de datos 51

CAPITULO III RESULTADOS 53
PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS 54
DISCUSIÓN 61

CONCLUSIONES 62
RECOMENDACIONES 63

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 64

ANEXOS 71

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1 Mediciones de los halos de inhibición para las cepas probióticas sobre la Candida 54

TABLA 2 Estadística descriptiva de los halos de medición para cada cepa probiótica..... 55

TABLA 3 Pruebas de normalidad..... 59

TABLA 4 Análisis de varianza de un factor..... 60

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 Efecto de inhibición (mm) de las cepas probióticas sobre la Candida 56

GRÁFICO 2 Histograma de la cepa Saccharomyces boulardii 57

GRÁFICO 3 Histograma de la cepa Lactobacillus acidophilus..... 58

GRÁFICO 4 Histograma de la cepa Lactobacillus casei..... 58

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1 Factores sistémicos predisponentes 13

CUADRO 2 Factores locales predisponentes..... 13

CUADRO 3 Antibioticoterapia con Probióticos..... 29

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

I. PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Determinación del problema

Es importante confirmar que la mala higiene y el uso inadecuado de las prótesis dentales, prótesis somáticas y pacientes con inmunodeficiencias, pacientes sometidos a terapias antineoplásicas son los factores más importantes para el desarrollo de microorganismos patógenos causantes de lesiones e infecciones en la mucosa bucal, como la especie Candida siendo la más común *Candida albicans.*

Las candidiasis o candidosis son las infecciones micóticas orales más frecuentes. Actualmente su incidencia está en aumento en los países subdesarrollados y desarrollados debido a diferentes factores facilitadores antes ya mencionados. La candidiasis oral no es una enfermedad mortal, aunque provoca molestias de diferente grado, altera el gusto, haciendo desagradable y dolorosa la ingesta lo que conlleva a la disminución del apetito del paciente (4).

En la actualidad estudios realizados confirman que la administración de probióticos en cantidades adecuadas ejercen su acción sobre los diversos microorganismos de la cavidad oral.

1.2. Enunciado del Problema

Estudio in vitro del efecto antibacteriano de un queso artesanal con cepas probioticas: *Saccharomyces boulardii, Lactobacillus casei, Lactobacillus acidophilus;* sobre el crecimiento del *candida albicans,* en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016.

1.3. Descripción del Problema

1.3.1. Área del conocimiento

- **a. Área General** : Ciencias de la Salud
- **b. Área Específica** : Odontología
- **c. Especialidad** : Rehabilitación Oral
- **d. Línea o tópico** : Prostodoncia clínica

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.3.2. Operacionalización de Variables:

VARIABLE	INDICADORES	SUB INDICADORES
INDEPENDIENTE **VI_1** *Saccharomyces boulardii* **VI_2** *L. Casei* **VI_3** *L. Acidophilus*		
DEPENDIENTE Halo de inhibición de crecimiento in vitro del *Candida albicans*	Formación del halo de inhibición	Medida en mm

1.3.3. Interrogantes Básicas

a. ¿Cuál será el efecto inhibitorio del queso artesanal enriquecido con *saccharomyces boulardii*, sobre el crecimiento del *Candida albicans*?
b. ¿Cuál será el efecto inhibitorio del queso enriquecido con *Lactobacillus Casei*, sobre el crecimiento del *Candida albicans*?
c. ¿Cuál será el efecto inhibitorio del queso enriquecido con *Lactobacillus Acidophilus*, sobre el crecimiento del *Candida albicans*?
d. ¿Cuál probiótico posee mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento del *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 nº de mediciones de la variable	Por el nº de muestras o poblaciones	Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Experimental	Prospectivo	Transversal	Comparativo	Laboratorio	Cuasi Experimental	Experi-mental

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.4. Justificación

a. Originalidad

Esta investigación posee originalidad debido a que no se tienen registros de datos previos y ésta propone ser una nueva alternativa de tratamiento odontológico.

b. Relevancia Científica

Ampliar los conocimientos que existen sobre la utilización de los probióticos, no sólo de forma preventiva sino también para el tratamiento de otras enfermedades de la cavidad oral, por lo que esta investigación espera ser un aporte para ampliar el conocimiento científico y ser una alternativa de tratamiento odontológico específicamente en el campo de la rehabilitación oral, ya que la presencia de dicha bacteria en pacientes de la tercera edad con prótesis dentales es alta.

c. Relevancia social

La presente investigación contribuirá a que la comunidad odontológica pueda prevenir y tratar enfermedades relacionadas específicamente contra ésta bacteria, ya que cualquier complicación en la rehabilitación implica problemas tanto para el odontólogo como para los pacientes.

d. Viabilidad

Las condiciones de este estudio son viables debido a que se cuenta con disponibilidad de los materiales, infraestructura, equipos y tiempo necesario para realizar la investigación pertinente.

e. Interés

El interés personal, la contribución e incremento de conocimientos que propone esta nueva alternativa, así como también optar por Título Profesional de Cirujano Dentista.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

2. OBJETIVOS

2.1. Determinar el efecto inhibitorio del Queso artesanal enriquecido con *saccharomyces boulardii*, sobre el crecimiento del *Candida albicans*, en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016.

2.2. Determinar el efecto inhibitorio del Queso artesanal enriquecido con *Lactobacillus casei* sobre el crecimiento in vitro del *Candida albicans*, en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016.

2.3. Determinar el efecto inhibitorio del Queso artesanal enriquecido con *Lactobacillus Acidophilus* sobre el crecimiento in vitro del *Candida albicans*, en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016.

2.4. Determinar que probiótico posee mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento in vitro del *Candida albicans*, en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Conceptos Básicos

3.1.1. Microbiología oral

La cavidad oral es una de las zonas anatómicas de nuestro organismo con mayor número y variedad de bacterias aerobias y anaerobias. Estos microorganismos interaccionan tanto entre sí como con el medio oral estableciendo un complejo ecosistema dinámico donde se pueden encontrar de forma simultánea bacterias residentes y transeúntes ocasionales (5).

La cavidad oral es un ambiente húmedo, el cual tiene una temperatura relativamente constante (34 a 36ºC), con un pH hacia la neutralidad en la mayoría de sus superficies, soporta el crecimiento de una gran variedad de especies. Este acúmulo bacteriano es resultado de la interacción entre el medio oral y la flora bacteriana, denominándolo placa dentobacteriana (6).

La flora oral del ser humano es altamente compleja y diversa, está compuesta por más de 300 especies bacterianas estables, incluyendo género protozoo, levaduras, micoplasmas, virus y bacterias, aunque no está completamente caracterizada. Varía de un sitio a otro, como las superficies dentales y la lengua, también puede variar entre los individuos (6).

3.1.2. Generalidades de los hongos

Los hongos son muy abundantes y ubicuos en la naturaleza; actualmente se encuentran registradas 72,000 especies. Tienen una gran diversidad de formas y tamaños y pueden vivir en los sustratos y condiciones ambientales más variadas; aprovechan elementos nutritivos muy simples y forman parte elemental de la vida del hombre y de otros organismos.

Los hongos son heterótrofos y se alimentan por absorción, están formados por células eucariotas y pueden ser uni o multinucleados. Son aerobios y la reproducción la efectúan ya sea por un mecanismo sexual, o por uno asexual. Los hongos unicelulares están representados por las levaduras, y los multicelulares por los hongos filamentosos (7).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Algunos investigadores clasifican a los organismos en siete reinos, clasificando a los hongos dentro del reino fungi.

Los organismos del reino fungi se divide, en seis phyla: Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota, Chytridiomycota, Oomycota y Basidiobolus. A los hongos con reproducción asexual se les denomina como mitopóricos.

Las células fúngicas contienen una membrana y una pared celular formada por varias capas. En el citoplasma se encuentran varios organelos comunes a todas las células. La mayoría de los hongos son microscópicos y la unidad anatómica fundamental es la hifa, que en los hongos unicelulares está representada por la levadura, de forma redonda u oval, que en el caso de las especies de Candida varía de 3 a 7 µm de diámetro. Las hifas generalmente miden de 3 a 20 µm de diámetro, el crecimiento es apical y tienden a ramificarse para formar el micelio (7).

A las estructuras de tipo asexual se les denomina conidios. En los hongos mitospóricos sólo se observa el tipo de reproducción asexual. Los conidios pueden denominarse de acuerdo con su origen en blásticos y tálicos, y de acuerdo con su forma en artroconidios, dictioconidios, blastoconidios, clamidoconidios, fialoconidios, poroconidios, aleurioconidios y aneloconidios. En los conodios blásticos, hay un proceso de neoformación por síntesis y lisis del material, y a partir de una porción de la célula conidiógena hay un agrandamiento del primordio. Posteriormente se forma el septo que va a delimitar del nuevo conidio, el cual se separa por un proceso de esquizólisis.

La mayoría de los conidios se forman de manera aislada directamente de la hifa, o bien a partir de un conidióforo, el cual es una estructura generalmente alargada que se forma por la transformación de la hifa y en cuyo extremo se producen los conidios (7).

El crecimiento y desarrollo del reino fungí depende mucho de una temperatura óptima que oscila entre los 20 y 30ºC, y puede llegar a los 45 ºC, hay excepciones con especies que crecen a 0 ºC y 55 ºC sin problema. La mayoría de hongos necesitan oxígeno para vivir y la humedad debe ser elevada entre 60% y 80%. Tienen la capacidad de subsistir en intervalos de pH muy amplios

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

la mayoría entre (6,0 - 6,5) esto significa que soportan más el medio acido que el alcalino. Es importante mencionar que los hongos tienen la propiedad de modificar el PH por medio de los ácidos orgánicos del alimento y los excretados por bacterias acidificantes los cuales utilizan como energía. En cuanto a la riqueza del sustrato los hongos no son exigentes en cuanto al punto nutricional, ya que ellos se nutren de la mayoría de azúcares, almidones y algunos compuestos lipídicos, sin embargo, el hierro y el zinc son importantes para el desarrollo de los hongos (7).

3.1.3. Definición y clasificación de la *Candida* spp.

El género *Candida* representa un grupo de levaduras comensales del hombre, con morfología oval o redondeada de 3 a 7 µm de diámetro, que se reproducen por blastoconidios, forman pseudomicelio y tienen capacidades de asimilación y fermentación de carbohidratos, no producen pigmento carotenoide, ni asimilan inositol, careciendo de capsula, habita en la piel, las mucosas, el tracto respiratorio alto, el tracto genitourinario y el tracto digestivo. Pueden transformarse en patógenos oportunistas, provocando candidiasis que en general, afecta a individuos inmunocomprometidos o inmunocompetentes (7).

La clasificación taxonómica de Candida se muestra de la siguiente manera:

- Reino: Fungi Filo: Ascomycota
- Subfilo: Saccharomycotina
- Clase: Saccharomycetes
- Orden: Saccharomycetales
- Familia: Saccharomycetaceae
- Género: Candida

El potencial patógeno de las levaduras varía en forma considerable, dependiendo de la especie siendo el microorganismo más virulento *Candida albicans*, la cual es la especie del género capaz de generar con mayor frecuencia enfermedades que resultan mortales en seres humanos. *C. tropicalis* es la segunda levadura de importancia en cuanto a su patogenicidad. *C. parapsilosis* también aparece con cierto grado de virulencia, asociada a micosis

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

oportunistas. Por otra parte, no todas las cepas de una misma especie presentan igual capacidad patogénica. Otras especies de *Candida* causan algunas infecciones, pero la debilidad del huésped debe ser muy marcada para permitir que estos microorganismos menos virulentos lo invadan (8).

En el sentido más estricto de la palabra, no existen levaduras patógenas por naturaleza; las que están relacionadas con enfermedad en el hombre o animales, son incapaces de producir infección en un individuo sano. Se deben presentar algunas alteraciones en las defensas celulares del huésped, en la fisiología, o en la composición de la flora normal para que pueda producirse la colonización, infección y la enfermedad por levaduras (8).

3.1.4. Especie *Candida albicans*

Es una levadura de forma redonda a oval (3.5-7 X 4-8 µm) que forma pseudohifas e hifas verdaderas, además de clamidoconidias numerosas clamidosporas unicelulares, redondas u ovaladas, con gruesa pared refringente (8-16 µm de diámetro), situadas al final de las hifas, seudohifas o laterales ubicadas sobre blastoconidios ovalados con colonias de crecimiento rápido, circulares, lisas, blancas o cremosas, pastosas y blandas, de bordes precisos, centro ligeramente prominente, con olor a levadura y tubo germinativo. Las colonias son blancas cremosas con un crecimiento de aproximadamente 3 días en medio Sabouraud a 37°C. En medio agar Staib desarrolla colonias lisas y brillantes microscópicamente se observan blastoconidias e hifas (9).

Es un patógeno fúngico oportunista, se encuentran en la flora gastrointestinal normal y en la mucosa oral de la mayoría de los humanos sanos. Sin embargo, en pacientes inmunocomprometidos, las infecciones del torrente sanguíneo a menudo causan la muerte, a pesar del uso de terapias antifúngicas. Los mecanismos moleculares subyacentes para la supervivencia dentro del cuerpo humano y la adaptación a diversos entornos son probablemente distintos, pero se superponen. Los factores dietéticos, como un exceso o deficiencia de ciertos nutrientes, pueden alterar la flora microbiana endógena. Los factores mecánicos, como un traumatismo o una lesión oclusiva, también pueden alterar el microambiente, agotar el sistema de "bacterias amigables" y permitir que el

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

hongo patógeno se haga cargo. Las personas inmunocomprometidas o inmunodeprimidas, incluidos los pacientes con SIDA, los recién nacidos y los receptores de trasplantes, también son particularmente susceptibles a las infecciones por hongos. La infección micótica sistémica más común es la candidiasis, que representa más de la mitad de estas micosis invasivas. Una sola especie, *C. albicans*, causa la mayoría de estas infecciones. Su éxito se debe en parte a su capacidad para vivir como un comensal benigno en una variedad de ubicaciones corporales, especialmente la cavidad oral, los genitales y el tracto gastrointestinal. Expresa varios rasgos críticos para la existencia en las superficies de la mucosa, donde se produce una interacción constante pero dinámica entre los mecanismos de defensa del huésped innato y adquirido. Las especies patógenas de C. *albicans* al igual que otros patógenos tiene la capacidad de adherirse y formar biopelículas, lo que les confiere mayor resistencia a antifúngicos (10).

3.1.5. Candidiasis

Los seres humanos viven en armonía relativa con una serie de virus, bacterias, parásitos y hongos que no causan enfermedades a las personas sanas cuyas defensas inmunológicas están intactas, pero estos microorganismos pueden aprovecharse de un sistema inmunitario debilitado. Las infecciones que ocasionan reciben el nombre de infecciones oportunistas, dentro de las cuales se encuentra la candidiasis, que es una infección fúngica causada por cualquiera de las especies del género *Candida*. Estos microorganismos habitualmente se encuentran formando parte de la flora basal de la cavidad oral en el individuo sano, la cual se transforma en patógena cuando existen factores favorecedores de su crecimiento, y pueden causar una afección superficial o profunda (11).

Las candidiasis son las infecciones micóticas orales más frecuentes y fue la afectación oral por *Candida* la primera forma clínica descrita históricamente. Actualmente su incidencia está en aumento en los países desarrollados debido a diferentes factores facilitadores como la generalización del uso de prótesis dentales, la xerostomía, las múltiples terapias con antibióticos, inmunosupresores, antineoplásicos e incluso la mayor supervivencia de los pacientes con inmunodeficiencias. De estar clásicamente asociada a la infancia

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

y a la ancianidad, esta enfermedad ha pasado a ser una manifestación común en otros grupos de pacientes como los infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o los sometidos a terapias inmunomoduladoras o antineoplásicas (12).

a. Candidiasis oral

La candidiasis oral afecta a una proporción significativa de la población, y afecta especialmente a los muy jóvenes, los ancianos y los inmunocomprometidos. Aproximadamente el 50 por ciento de las personas con dentaduras completas superiores sufrirán *Candida*- estomatitis asociada dentadura (candidiasis eritematosa crónica), y la candidiasis orofaríngea es altamente prevalente en pacientes con SIDA. Una proporción aún mayor de la población total (hasta el 60 por ciento) llevar C. *albicans* en la boca sin síntomas clínicos, pero por lo general la levadura están presentes en números bajos en comparación con las bacterias orales, se considera un colonizador habitual de las superficies mucosas de la boca, pero también puede encontrarse adherida a los dientes y a las prótesis dentales (13).

De un modo general la candidiasis oral puede ser definida como "la enfermedad del paciente enfermo", ya que siempre va a precisar de uno o varios factores facilitadores para poder provocar patología en la boca. Las especies de *Candida* son ubicuas y dentro de ellas es *Candida albicans* la que más comúnmente produce las infecciones orales, aunque también se han descrito otras como *Candida glabrata, Candida tropicalis, Candida parapsilosis*, etc. y recientemente *Candida dubliniensis*, específicamente en los pacientes infectados por VIH, y que es importante ya que está involucrada en los casos de resistencias a los antifúngicos (12).

Se ha estudiado la interaccion entre Streptococcus y *Candida* estableciendo una relación mutua potencial porque se incrementa la producción de exopolisacáridos (15).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Actualmente, las infecciones fúngicas o micosis están aumentando porque la población de riesgo (ancianos, pacientes con diabetes, infectados por el VIH, trasplantados, en tratamiento con quimioterapia o con antimicrobianos de amplio espectro) está creciendo.

b. Etiopatogenia

Se describen factores que predisponen la colonización y la infección por *Candida spp*. Que provienen de la virulencia del hongo y de la susceptibilidad del huésped.

Dentro de los primeros, como estados generales que favorecen la colonización, se encuentran:

- Pacientes VIH – SIDA
- Pacientes hospitalizados, sin importar la causa de hospitalización
- Pacientes diabéticos
- Pacientes oncológicos (16).

Estos factores enunciados, así como otros que se mencionan más adelante, son factores predisponentes en el hospedador que alteran el mecanismo homeostático normal, que provee la defensa contra la infección y que favorecen la transformación de la colonización asintomática en infección sintomática por las C. spp.

Odds en 1988 y luego Samaranayake en 1992, clasificaron estos factores predisponentes en sistémicos y locales. En los cuadros 1 y 2 se presentan estas clasificaciones (16).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CUADRO 1 Factores sistémicos predisponentes

FACTORES SISTÉMICOS PREDISPONENTES	
Estado fisiológico	Lactancia
	Vejez
Estado hormonal	Diabetes
	Hipotiroidismo
	Hipoparatiroidismo
	Hipoadrenocorticismo
Estado nutricional	Hipovitaminosis
	Desnutrición
Mecanismos inmunológicos alterados	Estados infecciosos
	Defectos de la inmunidad celular
	Defectos intrínsecos en las células inmunes
	Disminución del número de fagocitos

Adaptado de Martínez, B.; Manifestaciones orales; en Sepúlveda, C.; Afani, A.; SIDA, 2da. Ed.; Editorial Mediterráneo, Santiago de Chile, p. 293 - 313, 1997 (16).

CUADRO 2 Factores locales predisponentes

FACTORES LOCALES PREDISPONENTES	
De la mucosa	Cambios exógenos en el epitelio - Trauma - Oclusión local - Maceración
De la saliva	Cambios endógenos en el epitelio - Xerostomía - Terapia citotóxica - Radioterapia - Síndrome de Sjogren
	Cambios cualitativos - pH - Concentración de glucosa
Flora comensal	
Dieta rica en carbohidratos	

Adaptado de Martínez, B.; Manifestaciones orales; en Sepúlveda, C.; Afani, A.; SIDA, 2da. Ed.; Editorial Mediterráneo, Santiago de Chile, p. 293 - 313, 1997 (16).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

c. Clasificación

c.1. Clasificación clínica de la candidiasis

La presentación clínica de la Candidiasis oral permite clasificar las lesiones en: (Brady & Walker, 1996; Bagán & Ceballos, 1995; EC – Clearinghouse, 1993):

- Candidiasis agudas
  - Pseudomembranosa (muguet)
  - Eritematosa
- Candidiasis crónicas
  - Seudomembranosa
  - Eritematosa
  - Leucoplasia - candidiasis
  - Nodular
- Candidiasis asociadas a otras lesiones
  - Queilitis angular o perleche
  - Glositis romboidal media
  - Estomatitis por prótesis (16).

c.2. Candidiasis oral aguda pseudomembranosa

Es la forma más frecuente, también es denominada Muguet o algodoncillo. Se caracteriza por una inflamación de la mucosa con la formación de placas superficiales blanco amarillentas, que recuerdan a la leche cuajada. Estos acúmulos blanquecinos se desprenden fácil, espontáneamente durante la masticación o al frotarla con una gasa o un bajalengua, dejando una superficie mucosa erosionada, eritematosa, fácilmente sangrante. Las placas están constituidas por una mezcla de hifas, epitelio descamado y células inflamatorias. Comprometen difusamente la mucosa orofaríngea, pero su localización más frecuente es en la parte posterior de la cavidad bucal, en las mucosas palatina, lingual y yugal. La mucosa vecina a la lesión es normal. La sintomatología es variada desde nula a pérdida del gusto y disfagia. Esta infección es frecuente en los recién nacidos, porque su sistema inmunitario aún no está completamente desarrollado; en el adulto,

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

debido al empleo de antibióticos de amplio espectro, por deterioro de su sistema inmunitario o por el uso de inhaladores con corticoides, frecuente en los pacientes asmáticos y en el anciano por el uso de prótesis y xerostomía. Candidiasis oral crónica pseudomembranosa (16).

c.3. Candidiasis oral aguda eritematosa

También denominada atrófica, es menos aparente que la anterior. Se caracteriza por una lesión eritematosa erosiva, de tamaño variable, que puede sangrar espontáneamente, localizada en el dorso lingual o en la mucosa palatina preferentemente, aunque puede observarse en las otras superficies mucosas. Da sintomatología, el paciente relata que presenta la boca con la sensación de quemadura. Esto, generalmente se acompaña con pérdida difusa de las papilas filiformes. Al examen clínico, se observa la lengua depapilada y enrojecida. Se puede observar en pacientes que reciben inmunosupresores o en los que han recibido antibióticos de amplio espectro, donde se denomina lengua dolorosa antibiótica.

c.4. Candidiasis oral crónica seudomembranosa

Son lesiones de presentación clínica similar a la anterior, pero con más tiempo de evolución. Generalmente se trata de la forma aguda que luego se mantiene en el paciente. En el adulto que se medica con corticoides durante un tiempo prolongado, por ejemplo, en enfermedades autoinmunes, es donde se observa con mayor frecuencia.

c.5. Candidiasis oral crónica eritematosa

Se manifiesta como áreas rojas, bien delimitadas en mucosa yugal, lengua y paladar. No es sintomática y puede pasar desapercibida.

c.6. Leucoplasia-candidiasis

Forma de candidiasis en la que el microorganismo penetra en la mucosa bucal y provoca una lesión endurecida, elevada como placa blanquecina. Esta forma es la que con mayor frecuencia sufre cambios displásicos. Se discute si se trata de una leucoplasia infectada secundariamente por el

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

hongo. Si la lesión desaparece luego del tratamiento con antimicóticos, estaría demostrado que fue provocada por la *Candida spp*. Por el contrario, su permanencia indicaría que era primitivamente una leucoplasia.

Su localización es retrocomisural.

- **Forma nodular:** Es similar a las lesiones leucoplásicas. La Candidiasis nodular asienta generalmente en la zona retrocomisural. Su aspecto clínico es el de un nódulo que puede tener superficie hiperqueratinizada.

c.6. Candidiasis asociada con otras lesiones

- **Queilitis angular:** Es un intertrigo de la comisura labial. La lesión es generalmente bilateral, presenta una forma radiada, fisurada o erosiva, de color rojo vivo, recubierta por una costra y acompañada de sintomatología subjetiva de dolor urente, sensibilidad anormal al tacto y a la compresión. Es una lesión que se observa con frecuencia en pacientes con pérdida de la altura facial vertical por la ausencia de sus piezas dentales; aunque puede estar asociada con otras condiciones, como déficit de vitaminas. En el paciente desdentado, la comisura bucal está en contacto con la saliva y se convierte en un buen medio de crecimiento del hongo. Se debe establecer el diagnóstico diferencial con la manifestación cutánea mucosa del Herpes Simple u otras infecciones bacterianas.

- **Glositis romboidal mediana:** También denominada atrofia papilar central. Esta lesión se consideró, durante mucho tiempo, como un defecto del desarrollo. Su causa, se pensaba, era la persistencia del tubérculo impar, que no era cubierto por los procesos laterales. Luego se observó que la lesión no se encontraba en niños, que era una lesión del adulto y se la pudo relacionar con la *Candida albicans*. Se presenta como una lesión asintomática en la parte posterior del dorso de la lengua, de forma aproximadamente romboidal, bien delimitada y generalmente lobulada, eritematosa y la superficie lingual de esa zona está depapilada. Es frecuente que coincida con una lesión similar en el

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

paladar lo que se denomina lesión en espejo. Se la relaciona con el uso del tabaco y/o alcohol.

- **Estomatitis por prótesis:** En pacientes portadores de prótesis removibles es frecuente observar en el paladar la mucosa eritematosa con hiperplasia de forma granular. Si se realiza un estudio de la misma, en un porcentaje variable de casos se encuentra que hay *Candida spp*. Colonizándola. La etiología de la lesión es una prótesis desajustada, empleada durante las 24 horas del día y con malas condiciones de higiene. El microorganismo encuentra una mucosa en buenas condiciones para desarrollarse, siendo el factor que induce a los cambios morfológicos (16).

d. Métodos de diagnostico

El diagnóstico de cualquiera de las formas de candidiasis oral es fundamentalmente clínico y se basa en el reconocimiento de las lesiones clínicas que debe ser confirmado por la observación microscópica de *Candida* en las muestras orales y/o por su aislamiento en cultivo (17).

Los métodos de laboratorio establecen el criterio diagnóstico definitivo. Requieren la demostración del hongo en la lesión clínica. Se puede realizar por frotis, biopsia o cultivo. El frotis consiste en la toma de material de la zona lesional por raspado, que luego se extiende en un portaobjetos y es secado al aire. La toma biópsica de la lesión puede ser excisional o incisional. Las muestras así obtenidas, por uno u otro método, son coloreadas para la demostración del microorganismo con las técnicas de Gram y/o de PAS para su examen microscópico. Para el cultivo del hongo, se emplean placas de agar de Sabouraud con cloranfenicol o gentamicina, antibióticos que, al inhibir el crecimiento bacteriano, permiten el crecimiento del hongo. Otros medios de cultivo son los cromogénicos, en los cuales las colonias de C. spp. Se desarrollan con formas y colores especiales, lo que facilita su identificación. El método de Biggy, que permite diferenciar el crecimiento ya que las colonias de C. álbicans se

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

colorean de tono marrón. Este estudio es considerado específico para el hongo (12).

En el caso de *Candida*, su detección en la cavidad oral no es indicativa de infección al ser un comensal habitual. Para establecer el diagnóstico definitivo de candidiasis sería necesario descubrir la invasión tisular por *Candida*. Por este motivo un resultado negativo de un cultivo tiene más valor para excluir la infección candidiásica que los resultados positivos para confirmarla. Podemos decir que en ausencia de clínica compatible la positividad del cultivo no implica que estemos ante una candidiasis oral (12).

e. Tratamiento

El tratamiento de la candidiasis oral se basa en cuatro pilares, como bien señala Quindós:

- Realización de un diagnóstico precoz y certero de la infección.
- Corrección de los factores facilitadores o de las enfermedades subyacentes.
- Determinación del tipo de infección candidiásica.
- Empleo de fármacos antifúngicos apropiados.

Es fundamental la corrección de los factores tanto sistémicos como la diabetes, la neutropenia o la ferropenia, como locales como la higiene de las prótesis o la xerostomía.

El arsenal terapéutico disponible actualmente contra las micosis orales incluye un número no excesivo de agentes antifúngicos que presentan mecanismos de acción similares. La mayoría de los antifúngicos actúan sobre los esteroles de la membrana celular del hongo o contra los enzimas que regulan la síntesis de los ácidos nucleicos. Al ser *Candida spp*. células eucariotas similares a las de los mamíferos, estos fármacos interfieren también en las rutas metabólicas de las células humanas, por lo que presentan mayor toxicidad que muchos fármacos antibacterianos (12).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Las medidas locales se basan en el mejoramiento de las condiciones de higiene de la boca del paciente. Esto incluirá el cepillado de la lengua, del paladar, de las mejillas; el retiro de la prótesis y su aseo. También se pueden usar fármacos antifúngicos en forma de enjuagatorios (12). Algunos colutorios del tipo de la clorhexidina si son útiles desde un punto de vista preventivo (18).

Las medidas sistémicas requieren, por un lado, la identificación de cualquier enfermedad sistémica que pueda estar favoreciendo el desarrollo de la CO, ya que es necesario su tratamiento para lograr la curación e impedir la recidiva (16).

El mecanismo de acción de los fármacos más empleados como los antifúgicos poliénicos, la Anfotericina B y la nistatina, es por medio de la unión a los esteroles de la membrana de la *Candida spp*. alterando su permeabilidad y destruyendo al hongo. Otros fármacos como los azoles, imidazol, miconazol, ketoconazol y los triazoles, fluoconazol, itraconazol; inhiben la síntesis de ergosterol, triglicéridos y fosfolípidos de la membrana del retículo endoplásmico y de la mitocondria por su unión al citocromo P 450 del hongo e inhiben las funciones enzimáticas implicadas en la biosíntesis del microorganismo (16).

A pesar de la amplia variedad de posibilidades terapéuticas, existen aún dificultades en el tratamiento de la candidosis oral debido a alguna de las siguientes razones:

- La medicación tópica requiere de una aplicación prolongada, con la desventaja de que algunas drogas son desagradables, no consiguiéndose la aceptación y/o colaboración necesaria del paciente.
- La medicación sistémica no puede utilizarse de forma repetida o prolongada en el tiempo, debido a los efectos colaterales indeseables que puede producir, (náuseas, hepatotoxicidad, etc.)
- La resistencia a las drogas antifúngicas particularmente a los nuevos agentes orales como el fluconazol en pacientes con infección avanzada por VIH.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

El incremento en la incidencia de la candidosis oral, la resistencia del hongo y las limitaciones terapéuticas actuales, nos llevan a continuar buscando la medicación ideal (19).

3.1.6. Generalidades del queso

La elaboración de quesos artesanales como cualquier otro producto alimenticio se debe realizar con materia prima segura y de acuerdo a un plan de manufacturación, en este caso se realiza a partir de leche seleccionada de cabra o vaca, puede ser cruda o mínimamente tratada es decir pasteurizada, con la adición de diferentes agentes coagulantes

Generalmente el vehículo elegido eran leches fermentadas, ya que reunían varios factores, que las hacían aptas, en primer lugar para la experimentación y después para el trabajo, como es la facilidad y rapidez de producción y facilidad para mantener una serie de condiciones y también los beneficios nutricionales, como es la mejor digestibilidad de grasas y proteínas, por estar parcialmente digeridas, cuando llegan al estómago por los microorganismos de los cultivos con que se fermentan.

Últimamente se están llevando a cabo estudios con queso, ya que se cree es un mejor vehículo para estos microorganismos tan sensibles, por ser y presentar una estructura muy estable y adecuada por la matriz proteica que lo conforma; protegerá de forma adecuada los microorganismos probióticos de una serie de factores que los afectan, en su desarrollo y crecimiento, que son principalmente:

- Acidez Final.
- Oxígeno disuelto. (Sobre todo para las bifido bacterias).
- Composición química del medio.
- Concentración final de azúcares (Por la Presión Osmótica final).
- Prácticas de inoculación.
- Temperatura de incubación.
- Duración de la Fermentación y el Almacenamiento.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

El efecto sobre los microorganismos, de los factores anteriores, es menos agresivo, en el queso. El pH del mismo es mayor, que el que presentan las leches fermentadas o el yogurt, la matriz es más compacta, lo que hace que sí exista una mayor exclusión de oxígeno, por tanto genera una atmósfera más anaerobia, existe además en el queso un mayor contenido en grasa, que también ejerce una mayor protección de los microorganismos probióticos, por recubrimiento de los mismos por la grasa láctea; esto favorecerá la mayor resistencia y supervivencia, de los microorganismos, durante el almacenamiento y tránsito intestinal (20).

a. Transformación de la leche en queso

La transformación de la leche en queso comprende en general cuatro etapas, que son la coagulación, el desuerado, el salado y el afinado (21).

a.1. Pasteurización

Función de la Pasteurización: controlar y reducir posibles contaminaciones microbianas que pudieran haber existido durante el ordeñe, envasado y conservación de la leche. Culminado el periodo de pasteurización se enfría la leche hasta lograr una temperatura de 32-38º C. (22) momento en el cual se agrega el cuajo.

a.2. Coagulación

El Cuajo actuará sobre los componentes de la leche permitiendo la coagulación de la misma y su paso a estado sólido. La cantidad de cuajo a agregar depende de la fuerza del cuajo. Distribuir el cuajo uniformemente en el volumen total de leche.

Obtendremos dos productos:

Cuajada: es la caseína coagulada por acción del cuajo. Es lo que dará origen a la masa del queso. Se entiende por Masa del queso el producto obtenido de la elaboración del queso que luego de transcurrido el período de maduración.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Suero: Subproducto de la cuajada. Contiene sales, proteína Hidrosolubles, vitaminas, minerales, lactosa y algo de grasa (22).

a.3. Desuerado

Para la eliminación del exceso de suero que se produce, es necesario la colocación de ésta en moldes lo que nos facilitará el prensado. En el caso de los quesos caseros se colocan sobre una superficie plana para que el peso del mismo actué como prensa.

Esta acción nos permite dar al queso la consistencia que se desea.

a.4. Salado

El salado del queso se puede hacer de diferentes formas:

- *Salado en el suero*, se elimina parte del suero y se coloca la sal directamente sobre los granos de cuajada, en la tina de coagulación. Se agita por unos minutos y luego se procede con el desuerado, moldeado, prensado, etc. Generalmente se hace para quesos frescos.

- *Salado en la masa del queso*: se desuera y se coloca la sal a granel sobre los granos de cuajada, se amasan para permitir la distribución de la sal. En algunos casos la textura del queso cambia con este método de salar, consiguiéndose una textura granular y desmenuzable.

- *Salado sobre la superficie del queso:* se realizan uno o varis frotados con sal sobre la superficie de queso ya luego del moldeado y prensado. La sal por osmosis va migrando desde la superficie hacia el interior. Se favorece el salado en quesos de menor tamaño, porque la sal llega más rápidamente al centro.

- *Salado en salmuera*: la mayoría de los quesos se salan por este método. El queso ya moldeado se sumerge una solución saturada de sal (18 a 20%) preparada con agua potable la cual debe ser pasteurizada y mantenida a temperaturas de 8 a 10ºC. el tiempo que permanecerán los quesos sumergidos depende de su tamaño y del contenido de sal

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

deseado. Debe tomarse en cuenta que los quesos toman sal a la vez que pierden humedad, por lo cual la salmuera pierde fuerza, y debe ser estandarizada añadiendo más sal. Cada cierto tiempo debe ser filtrada y pasteurizada para asegurar su calidad microbiológica. Además, debe ser controlado su pH el cual varía por la liberación de ácido láctico de los quesos (23).

a.5. Maduración

Cuando el queso haya pasado por los procesos ya mencionados, se pueden colocar en estanterías para que oreen y maduren.

c.6. Conservación

Los quesos caseros pueden mantenerse a temperaturas aproximadas entre 12-14°C, ya que en temperaturas elevadas aumentan las pérdidas de humedad lo que ocasionaría una disminución en el peso del queso (23).

3.1.7. Probióticos

a. Historia de los probióticos

Hace un siglo, Elie Metchnikoff (científico ruso, premio Nobel, y profesor del Instituto Pasteur en Paris) postuló que las bacterias ácido lácticas (BAL) ofrecían beneficios a la salud que llevaban a la longevidad. Sugirió que la "autointoxicación intestinal" y el envejecimiento resultante podrían suprimirse modificando la microbiota intestinal y utilizando microbios útiles para sustituir a los microbios proteolíticos como Clostridium productores de sustancias tóxicas que surgen de la digestión de proteínas,

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

entre las que se encuentran fenoles, indoles, y amoníaco. Desarrolló entonces una dieta con leche fermentada por la bacteria, a la que denominó "bacilo búlgaro."

En 1917, antes del descubrimiento de Alexander Fleming de la penicilina, el profesor alemán Alfred Nissle aisló una cepa no patógena de Escherichia coli de las heces de un soldado de la Primera Guerra Mundial que no había desarrollado enterocolitis durante un brote grave de shigellosis. Los trastornos del tracto intestinal frecuentemente eran tratados con bacterias no patógenas viables, para cambiar o reemplazar la microflora intestinal. La cepa de Escherichia coli de Nissle 1917 es uno de los pocos ejemplos de un probiótico no BAL.

Henry Tissier (del Instituto Pasteur) aisló por primera vez una Bifidobactera de un lactante alimentado a pecho, a la que denominó Bacillus bifidus communis. Tissier postulaba que las bifidobacterias desplazarían a las bacterias proteolíticas que provocan la diarrea y recomendó la administración de bifidobacteria a lactantes que padecían de este síntoma (24).

El término "probiótico" fue introducido por primera vez en 1965 por Lilly y Stillwell; a diferencia de los antibióticos, se definió al probiótico como aquel factor de origen microbiológico que estimula el crecimiento de otros organismos. En 1989, Roy Fuller enfatizó el requisito de viabilidad para los probióticos e introdujo la idea de que tienen un efecto beneficioso para el huésped (24).

b. Definición de probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud o en la fisiología del hospedero (25).

Para que un probiótico sea ideal debe sobrevivir al tracto gastrointestinal. Llegando intacto al intestino se aloja allí para lo que necesita tener la propiedad de adherencia al epitelio para poder colonizarse y así aumentar la

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

acidez, lo que impide que se desarrollen bacterias que provocan enfermedad y por sobre todas las cosas, debe ser inocuo.

En la mayoría, los probióticos son bacterias ácido lácticas, que constituyen un importante porcentaje de la flora autóctona del intestino humano.

En 1989 Fuller define de esta manera el término probiótico: “Complemento alimenticio a base de microorganismos vivos y vitales que produce efectos beneficiosos sobre el organismo animal, mejorando el equilibrio microbiano intestinal” (26).

En el año 2002, la Food and Agricultural Organization (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) definen a los probióticos como productos que contienen microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, ejercen un efecto benéfico en la salud humana o animal. En suma, un agente probiótico ("para la vida"), puede ser definido como una formulación dietoterápica que contiene un número adecuado de micro-organismos vivos, los cuales poseen la capacidad de modificar la microbiota ejerciendo un efecto positivo y beneficioso para la salud (27).

Entre las bacterias probióticas más utilizadas para el consumo humano se encuentran las llamadas bacterias ácido lácticas (BAL), que incluyen a las siguientes: *Lactobacillus acidophilus*, L. plantarum, *L. casei*, *L. casei spp* rhamnosus, L. delbrueckii spp bulgaricus, L. fermentum, L. reuteri, Lactococcus lactis spp lactis, Lactococcus lactis spp. cremoris, Bifidobacterium bifidum, B. infantis, B. adolecentis, B. longum, B. breve, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, entre otros (28).

c. Efectos de los probióticos en diversas patologías

Los efectos de los Probíoticos son varios incluyendo la modificación de la flora evitando la colonización patógena, la prevención del desequilibrio de la flora intestinal, la reducción de la incidencia y duración de diarreas, el mantenimiento de la integridad de las mucosas, la modulación de la inmunidad al evitar la translocación bacteriana, la producción de vitaminas

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

como la B2, B6 y biotina, la asimilación de oligoelementos y la actividad antitumoral.

d. Efectos nutricionales

d.1. Intolerancia a la lactosa

Alrededor del 70% de la Población mundial, presenta intolerancia a la lactosa, relacionada con la disminución de la actividad de la lactasa en la mucosa intestinal, genéticamente determinada. La Lactosa no digerida es fermentada por la flora intestinal, con producción de agua, ácidos grasos y gas, que ocasionan síntomas como dolor abdominal, flatulencia y diarrea.

Los Probióticos contribuyen a mejorar la digestión de la lactosa y reducen la sintomatología por la mala absorción, gracias a que los Lactobacillus poseen una actividad enzimática (lactasa) que sigue funcionando en el intestino y permite la digestión del azúcar, lo cual permite que personas con intolerancia a la lactosa puedan consumir leche, fuente rica en proteínas, vitaminas y calcio; evitando los eventuales síntomas como la diarrea, dolor abdominal, flatulencia, etc.

Los Probióticos que actúan en la fermentación del yogur como Lactobacillus bulgaricus y S. thermophilus poseen la enzima. Los Lactobacillus y las bifidobacterias poseen un efecto favorecedor en la digestión de la Lactosa.

d.2. Reducción de los niveles de colesterol

Algunos Probióticos pueden ejercer efectos hipocolesteromiantes, es decir que contribuyen a la disminución del colesterol sanguíneo de tres maneras distintas:

- Utilizando el colesterol en el intestino y reduciendo así su absorción
- Aumentando la excreción de sales biliares
- Produciendo ácidos grasos volátiles en el colon que pueden ser absorbidos e interferir con el metabolismo de los lípidos en el hígado.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

d.3. Efectos protectores

Los Probióticos son microorganismos que estimulan las funciones protectoras del tracto digestivo, también son conocidos como bioterapeuticos, bioprotectores o bioprofilácticos, se utilizan para prevenir las infecciones entéricas y gastrointestinales. Para que un microorganismo pueda cumplir con esta función de protección tiene que poseer características tales como: Ser habitante normal del intestino, tener un tiempo corto de reproducción, ser capaz de producir compuestos antimicrobianos y ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda estar vivo en el intestino.

La protección de estos microorganismos se lleva a cabo mediante dos mecanismos: El antagonismo que impide la multiplicación de los patógenos y la producción de toxinas que impiden su acción patogénica. Este antagonismo está dado por la competencia por los nutrientes o los sitios de adhesión. Mediante la inmunomodulación protegen al huésped de las infecciones induciendo a un aumento de la producción Inmunoglobulinas, aumento de la activación de las células mononucleares y de los linfocitos.

Las bacterias ácido lácticas pueden colonizar transitoriamente el intestino y sobrevivir durante el tránsito intestinal, además, por su adhesión al epitelio, modifican la respuesta inmune local del hospedero. Ciertos Probióticos pueden estimular la inmunidad del individuo tanto a nivel intestinal como a nivel general, lo cual se traduce por una mayor producción de anticuerpos y una mejor defensa. Varios estudios sugieren que el consumo de Probióticos podría ayudar a regular las alteraciones del sistema inmune que se observan en casos de alergia y por lo tanto, a reducir los síntomas asociados con esta patología.

Ciertas bacterias lácticas protegen al intestino frente a los patógenos de diferentes maneras:

- Compitiendo por el espacio físico y por los nutrientes
- Produciendo sustancias antibióticas activas frente a estos patógenos
- Estimulando el sistema inmune del intestino

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

- Contribuyendo a la acidificación del contenido del colon, lo cual es desfavorable para el crecimiento de patógenos
- Inactivación de ciertas toxinas liberados por patógenos (29).

e. Mecanismo de acción de los probióticos

Se han propuesto varios mecanismos de acción en la efectividad de los probióticos para mejorar la resistencia del huésped contra organismos patógenos.

Producen sustancias antimicrobianas como ácido láctico y otros ácidos de cadena corta, metabolitos como peróxido de hidrogeno, diacetilo y bacteriocinas. Estos compuestos reducen el número de células viables, afectan el metabolismo bacteriano o la producción de toxinas.

En la industria alimenticia las BAL son utilizadas como:

- Conservadores biológicos por la producción de bacteriocinas que ejercen acción antibacteriana y contribuyen a la prevención de la descomposición de los alimentos.
- Disminuyen el pH intestinal favoreciendo el crecimiento de organismos beneficiosos.
- Aumentan la resistencia a la colonización por competir con patógenos para unirse a los sitios de adhesión en la superficie del epitelio intestinal. Algunas cepas han sido escogidas por su habilidad de adherencia a las células epiteliales como *Lactobacillus* spp.
- Compiten por nutrientes. Las bacterias ácido lácticas pueden utilizar los nutrientes consumidos por organismos patógenos.
- Estimulan la respuesta inmune. Evidencias recientes sugieren que la estimulación de la inmunidad innata y adquirida protege contra la enfermedad intestinal. Estos microorganismos pueden alertar al sistema inmune y favorecer el rechazo de agentes infecciosos estimulando la producción de inmunoglobulina A (IgA), activando macrófagos e incrementando interferón-gamma (IFN-gamma) y citoquinas proinflamatorias (30).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

f. Características de los probióticos

Los probióticos son microorganismos inofensivos lo que los hacen aptos y seguros para su consumo, pueden vivir por largos periodos de tiempo, incluso pueden resistir a condiciones ácidas, aunque no permanecen de forma fija, también poseen la capacidad de unirse a células epiteliales y pueden llegar a regular el sistema inmune, aumentando su capacidad para fabricar anticuerpos (31).

La mayor parte de estos microorganismos son bacterias ácido lácticas, que ayudan a la conservación de alimentos por fermentación, así los encontramos en el yogurt, leches, quesos y también en presentación de cápsulas como microorganismos liofilizados. La fermentación reduce el pH, así se evita la inoculación por bacterias patógenas (32).

CUADRO 3 Antibioticoterapia con Probióticos

PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS PROBIÓTICOS
- Seguridad total
- Inofensivo
- Resistencia a la acidez gástrica y secreciones pancreáticas
- Adhesión a células epiteliales
- Actividad antimicrobiana
- Inhibición de la adhesión de microorganismos patógenos
- Sensibilidad a los antibióticos
- Viabilidad alimentaria
- Cepas humanas
- Eficacia contrastada en ensayos clínicos

Fuente: (López Brea & Domingo, 2007). Revista Española de Quimioterapia. Págs. 170-181.

g. Formas de administración

En la actualidad, la evidencia sugiere que los probióticos se pueden aplicar al control de la caries dental. En particular, los géneros de Lactobacillus y Bifidobacterium, pueden ejercer efectos beneficiosos en la cavidad oral mediante la inhibición de Streptococcus y *Candida spp*.

Los probióticos han sido probados en contra de miembros específicos de la microbiota, a menudo debido al papel central de estos microorganismos en la caries dental, los probióticos se pueden utilizar como una medida de auto-

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

aplicación por vía oral proporcionados por los diferentes vehículos en una de las cuatro formas básicas:

- Concentrados añadidos a las bebidas (por ejemplo, el jugo de frutas),
- Inoculadas en fibra prebiótica que promueven el crecimiento de bacterias probióticas,
- Inoculadas en los alimentos lácteos o productos lácteos (por ejemplo, bebidas de leche, yogurt, queso) y
- Como células liofilizadas, secos envasados como suplementos dietéticos (comprimidos, masticar goma).

El consumo diario de productos de yogurt y productos lácteos, parece ser la forma más natural de la ingestión de las bacterias probióticas, teniendo en cuenta los beneficios nutricionales de estos alimentos La administración de Lactobacillus reuteri y Lactobacillus rhamnosus sugiere el descenso de los recuentos salivales de Streptococcus mutans (MS) y recientemente un estudio demostró in vitro la congregación Lactobacillus/MS especialmente de Lactobacillus paracasei y L. rhamnosus. Otro estudio muestra que cuatro cepas de Lactobacillus, comúnmente utilizados como probióticos, incluyendo L. rhamnosus, interfieren con la formación de biofilm con S. mutans in vitro. Más aún, un estudio clínico randomizado y controlado con 7 meses de seguimiento muestra una reducción de la incidencia de caries en un grupo de niños que consumieron leche con L. rhamnosus (33).

h. Bacterias acido lácticas

Las bacterias lácticas (BAL) son un grupo de microorganismos representadas por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. En general las BAL son cocos o bacilos Gram positivos, no esporulados, no móviles, anaeróbicos, microaerofílicos o aerotolerantes; oxidasa, catalasa y benzidina negativas, carecen de citocromos, no reducen el nitrato a nitrito y producen ácido láctico como el único o principal producto de la fermentación de carbohidratos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Además, las BAL son ácidos tolerantes pudiendo crecer algunas a valores de pH tan bajos como 3.2, otras a valores tan altos como 9.6, y la mayoría crece a pH entre 4 y 4.5, permitiéndoles sobrevivir naturalmente en medios donde otras bacterias no aguantarían la aumentada actividad producida por los ácidos orgánicos (34).

Las bacterias ácido-lácticas constituyen un vasto conjunto de microorganismos benignos, dotados de propiedades similares, que fabrican ácido láctico como producto final del proceso de fermentación. Se encuentran en grandes cantidades en la naturaleza, así como en nuestro aparato digestivo. Aunque se las conoce sobre todo por su labor de fermentación de productos lácteos, se emplean asimismo, para encurtir vegetales, en el horneado, en la panificación del vino, y para curar pescado, carne y embutidos.

Por sus características al ser procesadas y multiplicadas para su utilización como grupo comprenden un caldo de bacterias fermentadoras y productoras de ácido láctico, función por la que son empleadas en la industria para darle ciertas cualidades a los alimentos y protegerlos contra la acción de otros organismos dañinos.

Las especies bacterianas probióticas más ampliamente estudiadas pertenecen a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*

- Los *Lactobacillus* se consideran parte normal de biofilm oral y comprenden aproximadamente el 1%.
- Los *Bifidobacterium* se producen sólo en cantidades diminutas en el biofilm oral.

La atención se centra en estas especies porque se producen en la industria láctea y rara vez están implicadas en infecciones humanas. De hecho, estas bacterias muestran una relación simbiótica con los seres humanos. Están presentes en la membrana mucosa en las células epiteliales del intestino, inhibiendo el crecimiento y la fijación de bacterias patógenas mediante la producción de bactericidas, siendo una especie de recubrimiento protector de tejidos (34).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

i. Características de *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei es una especie de bacteria anaerobia Gram positiva que se encuentra en el intestino y boca de los humanos. Esta bacteria, productora de ácido láctico, se emplea en la industria láctea en la elaboración de alimentos probióticos (aquellos que contienen microorganismos vivos que pueden beneficiar la salud del organismo huésped). Se ha comprobado que esta especie particular de lactobacilo es muy resistente a rangos muy amplios de pH y temperatura, siendo además un complemento al crecimiento de *L. acidophilus*, un productor de la enzima amilasa (una enzima digestiva de carbohidratos en la saliva y en el jugo pancreático de mamíferos). Se cree que mejora la digestión y la tolerancia a la leche. Está demostrado que la variante GG ayuda a la recuperación de la diarrea en niños. Por esta razón se emplea en la elaboración de diversos alimentos funcionales.

L. casei ha sido empleado en numerosos trabajos de investigación como modelo para estudiar la fisiología y genética del género *Lactobacillus. L. casei* y especialmente la cepa tipo *L. casei subesp. casei* ATCC 393 se ha utilizado en estudios sobre la fermentación de la glucosa, lactosa, citrato y piruvato, caracterización molecular y estudios comparativos de la enzima L-lactato deshidrogenasa y el sistema proteolítico (35).

j. Características de *Lactobacillus Acidophilus*

El *Lactobacillus acidophilus* (también conocido como *L. acidophilus* o *acidophilus*) es un tipo de bacteria que se encuentra naturalmente en sus intestinos y es uno de los probióticos más conocidos (microorganismos beneficiosos que pueden promover la salud y proteger contra las infecciones).

El acidophilus pertenece a un grupo de bacterias llamadas bacterias del ácido láctico (o *Lactobacillus*) por su capacidad de convertir azúcares en ácido láctico y peróxido de hidrógeno, sustancias que inhiben el crecimiento de bacterias indeseables en los intestinos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Se dice que los alimentos y los suplementos hechos con acidophilus ayudan a equilibrar las bacterias potencialmente dañinas que de otra manera podrían florecer en el intestino debido a enfermedades o antibióticos.

Además, el *acidophilus* se usa a veces para prevenir y / o tratar las siguientes afecciones de salud:

- Acné
- Vaginosis bacteriana
- Infección por Clostridium difficile
- Infección por *Candida*
- Diabetes
- Diarrea
- Infección por Escherichia coli
- Eccema
- Síndrome del intestino irritable (SII)
- Intolerancia a la lactosa
- Infección del tracto urinario (ITU)
- Infección de levadura

Las bacterias del ácido láctico se utilizan en la fabricación de muchos alimentos, como el yogur, el kéfir y el suero de leche. El acidophilus, en particular, se puede encontrar en el yogur que está hecho con cultivos de acidophilus vivos, otros productos lácteos fermentados como el kéfir y productos de soya fermentados como el miso y el tempeh. La cantidad de organismos vivos varía mucho de un producto a otro debido a las diferencias en los métodos de procesamiento (36).

k. Características del *saccharomyces boulardii*

Saccharomyces boulardii (S. boulardii) es una levadura natural no modificada genéticamente aislada de la corteza del árbol del litchi en Indochina. A efectos terapéuticos, es la forma liofilizada de *S. boulardii* la que se emplea como principio activo y se constituye como un medicamento probiótico puesto que se trata de un microorganismo vivo resistente a la

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

digestión que alcanza vivo el colon y que, cuando se ingiere en cantidades adecuadas, tiene un efecto beneficioso para la salud.

El mecanismo de acción mediante el cual ejerce sus efectos farmacológicos es múltiple e incluye:

- Modificación en la célula huésped de las vías de señalización implicadas en la respuesta pro inflamatoria y en la secreción hidroelectrolítica.
- Estimulación de las defensas inmunitarias del huésped
- Neutralización de las toxinas bacterianas
- Disminución de la adherencia de las bacterias a las células epiteliales intestinales
- Mantenimiento de la permeabilidad de la membrana
- Inhibición de la traslocación de los patógenos (37).

3.1.8. Probióticos y su relación con la Odontología

La cavidad oral proporciona un hábitat para una gran diversidad de microorganismos incluyendo bacterias, levaduras y virus; todos asociados con infecciones orales. Las bacterias son el componente predominante de esta microflora y la diversidad de especies que se encuentran en la cavidad oral refleja los variados tipos de hábitat para la colonización y la oportunidad de sobrevivir como biofilm. Sin embargo, el equilibrio entre esta microflora y el huésped puede ser interrumpido, lo que resulta en el desarrollo de enfermedades de las estructuras orales, tales como Caries dental, Gingivitis, Periodontitis, Halitosis, Candidiasis y Periimplantitis (38).

Los probióticos promueven la salud mediante la exclusión competitiva o positiva de las bacterias patógenas. Los estudios en la utilización de probióticos en cavidad bucal, para el control y/o prevención de enfermedades infecciosas bucales en humanos, requieren bacterias con gran potencial de competir por el sitio, inhibiendo el crecimiento de los micro-organismos patógenos y permaneciendo en el sitio de la cavidad bucal, además de tener influencia positiva en la respuesta del sistema inmunológico.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Desde un punto de vista dental, los *Lactobacillus* y los *Bifidobacterium* son acidogénicos y acidúricos, se consideran generalmente cariogénicos y podrían ser considerados como un riesgo para la salud dental. Sin embargo, la capacidad amortiguadora de los productos lácteos que contienen a estas bacterias contrarresta su acidez. Además, varios estudios han arrojado que *Lactobacillus* son mediadores tardíos de la progresión de la lesión de caries, debido a sus pobres propiedades de adhesión, por lo que no aumentan la incidencia de nuevas lesiones, aunque poco se sabe sobre el efecto que podrían tener en lesiones preexistentes**.** A esto podemos sumar el hecho de que varias especies de *Lactobacillus* se han aislado de bocas sanas. No obstante**,** es importante destacar, que no todas las cepas de los *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* son probióticos.

Actualmente existe un probiótico para uso odontológico que es un producto para la higiene bucal que combate la placa, la gingivitis y las bacterias cariogénicas mediante la combinación patentada de dos cepas de Lactobacillus reuteri. Es 100% natural, ya que reside en el tracto gastrointestinal en humanos y produce una sustancia antibiótica de amplio espectro llamada "reuterina", que en suficiente cantidad causa el efecto antimicrobiano deseado para mantener la microbiota intestinal intacta. Su uso diario está recomendado tanto en niños como en adultos para una higiene bucal óptima, para personas que estén atravesando momentos de mucho estrés y agitación, o para quienes tengan un riesgo elevado de problemas periodontales como embarazadas, diabéticos, fumadores o ancianos, y para personas que toman medicamentos que aumentan la sensibilidad de las encías como los anticonceptivos orales o los antihistamínicos.

Aunque la literatura muestra la asociación entre los probióticos y la salud de la boca, pareciendo ser una interesante herramienta terapéutica a considerar, se necesitan más estudios para acabar de comprender tanto su nivel de eficacia como sus mecanismos de acción. Hay algún aspecto que aún no ha sido claramente esclarecido en lo que se refiere a la adherencia de la bacteria probiótica sobre las superficies orales de manera prolongada y persistente para

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

formar parte de la bio-película, o bien si se produce un efecto inhibidor de las bacterias patógenas del probiótico después de su consumo (39).

3.1.9. Efecto de los probióticos sobre la candidiasis

Candida albicans es la causa más común de las infecciones fúngicas en la cavidad oral. En particular en personas de edad avanzada y pacientes inmunodeprimidos. Las bacterias probióticas se han utilizado para modificar el ecosistema microfloral y han demostrado cierto éxito como agente terapéutico para las enfermedades orales.

La ingesta diaria de queso suplementado con L. rhamnosus GG, L. rhamnosus LC705 y Propionibacterium freudenreichii ssp shermanii JS ha obtenido como resultado una reducción de la prevalencia de *C. albicans* y también un aumento de la salivación. Este último punto es un factor interesante ya que se sabe que el flujo salival disminuido es un factor de riesgo para la infección por *Candida* en las personas mayores.

Otro factor importante en relación a esta infección es que el hecho de que el sitio de colonización más alto para *Candida albicans* es proporcionado por la lesión cariosa, ya que la producción de ácidos favorece un nicho ecológico para este microorganismo.

Se ha visto en estudios In Vitro que la presencia de *Candida albicans* mejora la adherencia de S. mutans a la biopelícula oral y en la sustancia dental cariad. Por lo que sería lógico pensar que un mayor control de los patógenos de la caries dental con probióticos tendría como consecuencia adicional una disminución de la incidencia de *Candida albicans* (38).

3.1.10. Medios de Cultivo

Son preparados que intentan reproducir artificialmente las condiciones del hábitat natural de los agentes bacterianos. Sus componentes deben cubrir todas las necesidades nutricionales de las bacterias que se van a estudiar y deben incorporarse en una mezcla justa y equilibrada; esto permitirá su crecimiento y multiplicación, obteniéndose lo que se denomina un cultivo microbiano. La

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

inoculación del microorganismo (o la muestra clínica que contenga) en un medio de cultivo se denomina siembra.

No todas las bacterias tienen las mismas características nutricionales; hay algunas poco exigentes que crecen en la mayoría de los medios, otras que necesitan algunas sustancias en particular, otras que son más difíciles de cultivar e incluso las hay que no crecen en ningún medio conocido hasta la fecha. Composición. Hay una gran cantidad de sustancias que se añaden a los medios de cultivo, ya que como se ha señalado, deben satisfacer todas las necesidades nutricionales.

A continuación, se señalan las más importantes:

- Agua.
- Peptonas.
- Hidratos de carbono.
- Extracto de carne.
- Extracto de levadura.
- Suero o sangre de caballo o de carnero, líquido ascítico y vitaminas.
- Cloruro de sodio.
- Minerales y otras sustancias que los microorganismos no pueden sintetizar.
- Agentes solidificantes.

a. Clasificación de los medios de cultivo

Según su contenido

- Definidos o sintéticos
- No sintéticos o empíricos

Según su estado

- Líquidos
- Semisólidos
- Sólidos

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Según su utilización en el laboratorio

- Básicos o comunes
- Enriquecidos
- Selectivos (38).

Para el estudio de la sensibilidad *in vitro* de las bacterias, necesitamos comprender:

Rango

Es el intervalo de concentraciones de un antibiótico en el que se sitúa la sensibilidad de una serie de cepas pertenecientes a una misma especie bacteriana (p. ej.,0,125µg/ml– 64 µg/ml, indica que estudiando un conjunto de cepas de una misma especie, la más sensible es inhibida con la primera concentración y la más resistente con la segunda).

- **Media:** Corresponde a la concentración que por término medio inhibiría el crecimiento delas cepas estudiadas pertenecientes a una misma especie.
- **Concentración mínima inhibitoria (CMI):** Es la menor concentración del antimicrobiano, expresada en µg/ml o mg/l, que inhibe el crecimiento visible de un inóculo bacteriano estandarizado.
- **Concentración mínima bactericida (CMB):** Es la menor concentración de antibiótico, expresada en µg/ml o mg/l, que es capaz de matar al 99,9% de las bacterias de un cultivo estandarizado.
- **CMI 90 y CMI 50:** Es la concentración mínima de antimicrobiano, expresada en µg/ml o mg/l, que inhibe, respectivamente, el 90 o el 50% de los microorganismos estudiados (40).

Medios de cultivo para hongos

Las especies de *Candida* desarrollan habitualmente en la gran mayoría de los medios de cultivo empleados en los laboratorios de diagnóstico microbiológico (agar sangre, agar chocolate o inclusive aquellos usados para el aislamiento de bacilos gram negativos como el EMB o CLDE).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CHROMagar *Candida*, es un medio cromogénico que permite diferenciar en forma presuntiva las especies más frecuentemente involucradas en patología humana: C. *albicans* C. tropicalis y C. krusei las cuales desarrollan en él colonias de diferentes colores (verde, azul metálico y rosado, respectivamente). Según sus fabricantes, la especificidad en el reconocimiento de estas 3 especies es cercana al 99%. Este medio es ideal para poner de manifiesto la presencia de más de una especie de *Candida* en una muestra clínica.

La producción de tubos germinativos y de clamidosporas, son pruebas sencillas, económicas y al alcance de todos los laboratorios para identificar a C. *albicans*. que es la especie mayormente relacionada con patología fúngica humana. La producción de tubos germinativos es además una prueba rápida (puede evaluarse tras 2 a 4 horas de incubación) que puede emplearse como tamiz.

La producción de clamidosporas en medio de agar harina de maíz, agar Czapeck adicionado de Tween 80, agar arroz o agar patata-zanahoria, es más rentable para la confirmación de C. *albicans* cuando la prueba del tubo germinativo es negativa o presenta un resultado confuso, pero requiere un tiempo mayor para obtener los resultados.

Actualmente, existen técnicas de aglutinación que ofrecen una buena alternativa diagnóstica por su rapidez (5 minutos), sensibilidad y especificidad. Así, el test Bichro -Latex *albicans* utiliza partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales que reaccionan con antígenos de C. *albicans*.

El test Krusei color va dirigido a la identificación de C. krusei; una especia que adquiere relevancia como patógeno, teniendo en cuenta su resistencia al Fluconazol, droga antifúngica de elección en el tratamiento de muchas formas clínicas de candidiasis.

El test *Candida* Check posibilita identificar las especies más frecuentes en la práctica clínica y detectar los serotipos A y B de C. *albicans* (41).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.2. Revisión de Antecedentes Investigativos

a. Título: Elaboración de un queso tipo Petit - Suisse de leche de cabra, adicionado con *Lactobacillus casei* con probiótico.

Autor: Bautista Antonio, María Isabel.

Fuente: Tesis de maestría presentada al Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Veracruzana. Región Xalapa 2014.

Resumen: La leche de cabra es destinada principalmente a la elaboración de dulces y quesos, además su consumo aporta grandes beneficios a la salud. Por otro lado, los alimentos probióticos contienen microorganismos vivos específicos, con la particularidad de beneficiar la salud de quien los consume, *Lactobacillus casei* se encuentra entre las bacterias probióticas más utilizadas. Los principales vehículos de microorganismos probióticos son los lácteos y varios tipos de queso han sido investigados con el fin de determinar si son medios adecuados para su adición. Este estudio tiene como objetivo elaborar un queso petit–suisse a partir de leche de cabra adicionado con *Lactobacillus casei*, el cual sea aceptado sensorialmente y comparable a los encontrados comercialmente. Para ello se estandarizó el proceso para la elaboración de queso petit – suisse de cabra, y con probióticos, se examinó la influencia de los microorganismos utilizados sobre las características fisicoquímicas y sensoriales del queso, se formuló, evaluó sensorialmente y se realizó pruebas de estabilidad. Se produjeron dos tipos de queso, el tratamiento uno con cultivos lácticos iniciadores y el tratamiento dos con cultivos lácticos iniciadores + cultivo probiótico. El uso de los microorganismos probióticos en la fabricación del queso petit – suisse de la leche de cabra no influyó en las variables respuesta. La evaluación sensorial mostró que la formulación más aceptada para ambos petit-suisse fue la de sabor piña. Los resultados sugieren que es posible obtener un queso con propiedades funcionales y aceptado por los consumidores.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

b. Título: Detección de C*andida albicans* en pacientes portadores de prótesis superiores con diagnóstico clínico de estomatitis por prótesis dentales.

Autor: Clara Cecilia Ochoa U, Lina María Restrepo, Isabel Cristina Zuluaga V.

Fuente: Revista CES Odontología, Volumen 8 Nº2.

Resumen: Este estudio pretende determinar la prevalencia de *C. albicans* en pacientes con estomatitis por prótesis dental EPD. La muestra fue de 76 pacientes: 61(80.3%) tenían diagnóstico clínico de EPD y 15 (19.7%) presentaban mucosas normales. En 35 pacientes (5.1%) se detectó una regular o mala higiene bucal de la prótesis; 49 (80.3%) habían utilizado sus prótesis por más de 5 años y 41 (67.2%) las usaban 24 horas al día sin darles ningún tratamiento con sustancias antisépticas, con azul de lactofenol se comprobó la presencia del hongo en 38 pacientes (62.3%) en la muestra tomada de la mucosa y en 41 pacientes (67.2%) en la muestra tomada de la prótesis.

La prevalencia de *C. albicans* es mayor en pacientes con EPD que en pacientes sanos; los factores etiológicos más significativos son la mala higiene de la prótesis, la frecuencia de utilización, el material con que están confeccionadas y su mayor tiempo de uso (años).

c. Título: Efecto del consumo de leche enriquecida con probiótico en las características salivales de adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral, a 12 meses de iniciada la intervención.

Autor: Pulgar Bustos, Luis Alberto.

Fuente: repositorio.uchile.cl/handle/2250/142518.

Resumen: La población de adultos mayores ha presentado un importante incremento a nivel nacional y mundial. La lesión de la mucosa oral más prevalente en esta población es la estomatitis protésica (EP), definida como proceso inflamatorio crónico de la mucosa masticatoria, asociada al uso de prótesis removible (PR). Su etiología aún no está determinada, pero se asocia fuertemente a factores del hospedero y levaduras del género *Candida*. La

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

alteración de los parámetros bioquímicos salivales como pH, velocidad de flujo salival (VFS) y concentración total de proteínas en saliva ha sido relacionada con esta enfermedad, pudiendo jugar un rol en la patogenia de la EP. El uso de probióticos genera un efecto beneficioso en el sistema inmune, mejorando así la salud general, pero aún es escasa la información sobre su potencial rol en la cavidad oral. El propósito de este estudio fue analizar el efecto del consumo de un lácteo enriquecido con probiótico, durante 6 meses, en los parámetros salivales de adultos mayores portadores de PR con y sin EP a los 12 meses de iniciado el estudio. Material y Métodos: El estudio incluyó 43 adultos mayores, pertenecientes a un establecimiento de larga estadía para adultos mayores (ELEAM) o a la clínica de Prótesis Totales, de la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile (COUCH), todos portadores de PR con o sin EP, que consumieron el lácteo los primeros 6 meses. La muestra se dividió en 4 grupos: individuos con EP que consumieron el lácteo con probiótico, individuos con EP que consumieron el lácteo sin probiótico, individuos sanos que consumieron el lácteo con probiótico e individuos sanos que consumieron el lácteo sin probiótico. Se obtuvieron muestras salivales al inicio del estudio (T 0) y luego a los 12 meses (T 12), las cuales fueron analizadas para determinar VFS, pH y concentración total de proteínas en la saliva. Resultados: Hubo una disminución significativa en el pH de aquellos sujetos que consumieron el lácteo sin probiótico al T 12. En cuanto a la VFS, se observó una disminución significativa en ambos grupos de individuos con EP al T 12. En la concentración de proteínas totales en saliva hubo diferencias estadísticas en todos los grupos analizados al T 12. Conclusiones: No es posible comprobar un efecto del probiótico en el pH salival o VFS. Es posible relacionar el consumo de probiótico con un aumento en la concentración total de proteínas en saliva, sin embargo, para comprobar esta correlación son necesarios futuros estudios cualitativos que establezcan un perfil proteico de cada grupo estudiado.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

d. Título: Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano de los probióticos lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103) y bifidobacterium bifidum (ATCC 11863) contra streptococcus mutans (ATCC 25175) y streptococcus sanguinis (ATCC 10556)

Autor: De Lama Odría, María del Carmen.

Fuente: Repositorio de tesis Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC)

Resumen: Actualmente, existe un alto consumo de probióticos debido a su capacidad de combatir microorganismos patógenos. Pese a ello, existe poca evidencia científica del efecto de éstos sobre la microbiota oral. Objetivo: evaluar la capacidad antimicrobiana del Lactobacillus rhamnosus GG (LGG) y del Bifidobacterium bifidum frente a la bacteria cariogénica Streptococcus mutans y su antagonista Streptoccoccus sanguinis. Materiales y Métodos: para este estudio experimental in vitro, se utilizaron cepas de S. mutans (ATCC 27175), S. sanguinis (ATCC10556), LGG (ATCC 53103) y Bifidobacterium bifidum (ATCC 11863). Las dos primeras cultivadas en caldo Brain Heart Infusion (BHI) y las dos últimas en Man Rogosa Sharpe (MRS), incubadas en condiciones de anaerobiosis, a 37ºC, durante 72 horas. Se prepararon 4 grupos de estudio: prueba de inhibición de S. mutans por LGG y B. bifidum (grupo 1); de S. sanguinis por LGG y B. bifidum (grupo 2); de LGG por S. mutans y S. sanguinis (grupo 3) y de B. bifidum por S. mutans y S. sanguinis (grupo 4). El efecto inhibitorio se evaluó con la prueba de difusión con pocillos, los cuales contenían el inóculo de la bacteria seleccionada como agente antibacteriano. El agar BHI contenía el cultivo del microorganismo que se buscaba inhibir. La clorhexidina fue el control positivo del crecimiento bacteriano en agar y las bacterias periopatógenas los cultivos indicadores del efecto antibacteriano de los probióticos. Resultados: el LGG y el B. bifidum demostraron no tener un efecto antibacteriano frente al S. mutans y S. sanguinis. Conclusiones: los probióticos LGG y Bifidobacterium bifidum no poseen un efecto antibacteriano contra Streptococcus mutans y Streptococcus sanguinis, siendo de relevancia clínica para la adecuada elección de microorganismos para las nuevas estrategias preventivas de caries en base a terapias de reemplazo.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

e. Título: Obtención de cepas de *lactobacillus.* Caracterización *in-vitro* como potenciales probióticas.

Autores: José Andrés Mejía Rodríguez, Zarack Chacón Rueda, Balmore Guerrero Cárdenas, Julio Otoniel Rojas y Guillermo López Corcuera.

Fuente: Revista Scielo Año 2006.

Resumen: En el presente trabajo se aislaron trescientas sesenta cepas de microorganismos a partir de heces de niños lactantes y muestras vaginales de diez mujeres. Sólo veintidós se identificaron como *Lactobacillus*. Éstas fueron resistentes a condiciones hostiles como pH 3 y 0,30% de sales biliares. En los caldos de cultivo donde crecieron estas cepas se detectó actividad antimicrobiana contra: *Bacillus subtilis* ATCC 60519, *Candida albicans* ATCC 14053, *Escherichia Coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 y contra cepas bacterianas enteropatógenas como *Shigella Sonnei*, *Escherichia Coli* poli I y *Salmonella typhi* aisladas de infantes con diarrea. Se observó resistencia de las cepas de *Lactobacillus* a una mezcla de 1,25 µg de trimetropim y 23,75 µg de sulfametoxazol, pero todas fueron sensibles a 10 µg de ampicilina. Estas cepas pueden considerarse posibles probióticas de gran utilidad en la industria láctea.

4. HIPÓTESIS

Dado que, los probióticos son microorganismos que, administrados en cantidades adecuadas, brindan un beneficio en la salud del huésped, liberando componentes antimicrobianos, los cuales pueden inducir una acción antagonista contra organismos patógenos.

Es probable que, las cepas probióticas: *Saccharomyces boulardii, L. Casei y L. Acidophilus* tengan la capacidad de inhibir el crecimiento in vitro del *Candida albicans.*

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPITULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

II. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1. Técnica

a. Precisión de la técnica

Se realizará mediante la observación y medición microbiológica laboratorial.

b. Estructura del instrumento

VARIABLE	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Inhibición del *Candida albicans*	Medición	Ficha laboratorial de recolección de datos

c. Descripción de la técnica

- La técnica se caracterizará por la realización de un queso artesanal, al que se le adicionarán las cepas probióticas, conformando tres grupos de muestra.
- Se procederá a la reactivación de la cepa *C. albicans* y su siembra en caldos de cultivo para su crecimiento, las cuales se mantendrán en condiciones de anaerobiosis.
- Se realizará la prueba de sensibilidad antimicrobiana con discos de papel filtros estériles los que serán sumergidos con cada una de las muestras de queso con las cepas probióticas a investigar.
- Recolección de datos se procedió a la medición de los halos con un vernier y se registró todo en la ficha laboratorial.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.2. Instrumentos

a. Instrumento Documental:

a.1. Precisión del instrumento

Se utilizarán instrumentos de observación de tipo elaborado, denominado **FICHA LABORATORIAL.**

a.2. Estructura del instrumento

Medición Post test	Variable	Indicadores	ITEMS
24 horas	Crecimiento del *Candida albicans*	Formación del halo de inhibición	Medidas en mm.

a.3. Modelo del instrumento:

Se realizó una tabla específica por cada probiótico utilizado donde se anotó el tiempo en el que se hizo cada control y el tamaño del halo de inhibición.

1.3. Materiales

a. Instrumentos mecánicos

- Balón de vidrio de 1L
- Probetas de 500ml
- Asas de Col
- Tubos de ensayo de 15ml
- Tiras de papel filtro
- Placas Petri
- Mecheros
- Pinzas
- Gradillas
- Refrigeradora

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Autoclave
- Incubadora
- Cocina
- Cámara fotográfica

b. Materiales o insumos

- Agar Sabouraud
- Caldo de tioglicolato
- Agar sangre

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1. Ámbito Espacial

La investigación se llevó a cabo en la ciudad de Arequipa, en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María.

2.2. Ámbito Temporal

La investigación se llevó a cabo en Octubre y Noviembre del 2016.

2.3. Unidades de Estudio

a. Unidades de análisis

Muestras biológicas (Placas Petri).

b. Alternativa de manejo

Grupos.

c. Identificación de los grupos

La muestra total para la investigación es de tamaño 30, que se divide en tres submuestras de 10 unidades cada una.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

d. Control de los grupos

d.1. Criterios de inclusión

- Cepas de *Candida albicans* ATCC 10231
- Cepas de *Saccharomyces boulardii*
- Cepas de *Lactobacillus casei*
- Cepas de *Lactobacillus acidophilus*

d.2. Criterios de exclusión

- Cepa que haya sido manipulada y/o contaminada previa a su activación.
- Cultivos contaminados o que presenten morfología diferente a la normal.

2.4. Cuantificación de los casos

Para la comparación entre las tres cepas probióticas se empleará una prueba de análisis de Varianza.

Para obtener una muestra balanceada:

- Nivel de confiabilidad (1-α) del 95%, por lo que α=5%
- Nivel de potencia (1- β) de 80%
- Error máximo permitido (expresados en desviaciones estándar) Δ=1; es decir que el error máximo será igual a una desviación estándar de los datos.

Para calcular la muestra aplicamos la siguiente fórmula con sus parámetros correspondientes:

$$n = \frac{\lambda}{\Delta} =$$

Datos:

- $n =$ Tamaño de la muestra
- λ Lambda = 9.64
- Δ Delta = nivel de error

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Reemplazando:

$$n = \frac{\lambda}{\Delta} = \frac{9.64}{1} \approx 10$$

Entonces el número total de muestras por cada subgrupo es de 10, siendo 30 la muestra total para la investigación.

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1. Organización

- Autorización del coordinador del laboratorio de la Universidad Católica de Santa María.
- Coordinación con el encargado del laboratorio a utilizar.
- Preparación de las unidades de estudio.
- Formalización de las unidades de estudio.
- Recolección de datos.

3.2. Recursos

3.2.1. Recursos Humanos

Investigadora : Yulitza Jackeline Nina Flores.

Asesora : Dra. María del Socorro Barriga Flores.

3.2.2. Recursos Físicos

Laboratorios de la Universidad Católica de Santa María.

3.2.3. Recursos Económicos

El presupuesto para la investigación será aportado por la investigadora.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

4. ESTRATEGIA PARA MANEJO DE DATOS

4.1. Nivel de sistematización

4.1.1. Tipo de procesamiento

El procedimiento de datos se realizó manualmente.

4.1.2. Plan de procesamiento

a. Clasificación de datos

Toda la información obtenida se ordenó en una matriz de sistematización cuyo detalle aparecerá en los anexos.

b. Plan de recuento

Se realizó una matriz de datos y se contabilizó manualmente.

c. Plan de análisis de datos

Se realizó un análisis cuantitativo.

d. Plan de graficación

Se utilizó gráficos considerando la exigencia de los cuadros.

e. Plan de tabulación

Se emplearon cuadros simples, ajustados a las necesidades de análisis y a los objetivos.

4.2. Nivel de estudio de datos

4.2.1. Metodología de interpretación

La interpretación fue hecha en base a la comparación de datos y por la apreciación crítica.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

4.2.2. Modalidad interpretativa

Se realizó una interpretación subsiguiente a cada cuadro y una discusión global de los datos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPITULO III

RESULTADOS

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

TABLA 1 Mediciones de los halos de inhibición para las cepas probióticas sobre la *Candida*

Repeticiones	Formación del halo de inhibición (mm)		
	Saccharomyces boulardii	***Lactobacillus casei***	***Lactobacillus acidophilus***
1	23	9	21
2	23	8	18
3	17	10	18
4	19	10	17
5	15	13	18
6	18	10	17
7	17	9	17
8	18	9	20
9	16	10	16
10	24	11	22

En la Tabla N°1 se muestran los datos de las mediciones del efecto antibacteriano a través de los halos de inhibición de las cepas probióticas *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus* sobre el crecimiento de la cepa *Candida,* que ocasiona la Candidiasis.

1. **Análisis de la variable**
   - Variable: Efecto antibacteriano
   - Indicador: Halo de Inhibición (mm)
   - Tipo de variable: Cuantitativo
   - Escala de medición: Razón

2. **Estadística descriptiva**

   El análisis de la variable (mostrado en la Tabla N°2) se realizó haciendo uso de la estadística descriptiva para lo cual se utilizó el software Excel Office ®.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA 2 Estadística descriptiva de los halos de medición para cada cepa probiótica

	Saccharomyces boulardii	***Lactobacillus casei***	***Lactobacillus acidophilus***
Media	19	10	18
Error típico	1.01	0.43	0.62
Mediana	18	10	18
Moda	23	10	18
Desviación estándar	3.20	1.37	1.96
Varianza de la muestra	10.22	1.88	3.82
Coeficiente de variación	16.83	13.84	10.63
Curtosis	-1.19	2.40	-0.38
Coeficiente de asimetría	0.61	1.19	0.86
Rango	9	5	6
Mínimo	15	8	16
Máximo	24	13	22
Suma	190	99	184
Cuenta	10	10	10
Nivel de confianza (95.0%)	2.29	0.98	1.40

Según la Tabla N°2 los valores mínimo y máximo de la cepa *Saccharomyces boulardii* es de 15 y 24 con el mayor rango (9) entre las tres cepas, cabe destacar que ésta es la de mayor efecto antibacteriano; le sigue el *Lactobacillus acidophilus* que va entre 16 y 22 con un rango de 6 y para el *Lactobacillus casei* con valores de 8 y 13, respectivamente, con un rango de 5.

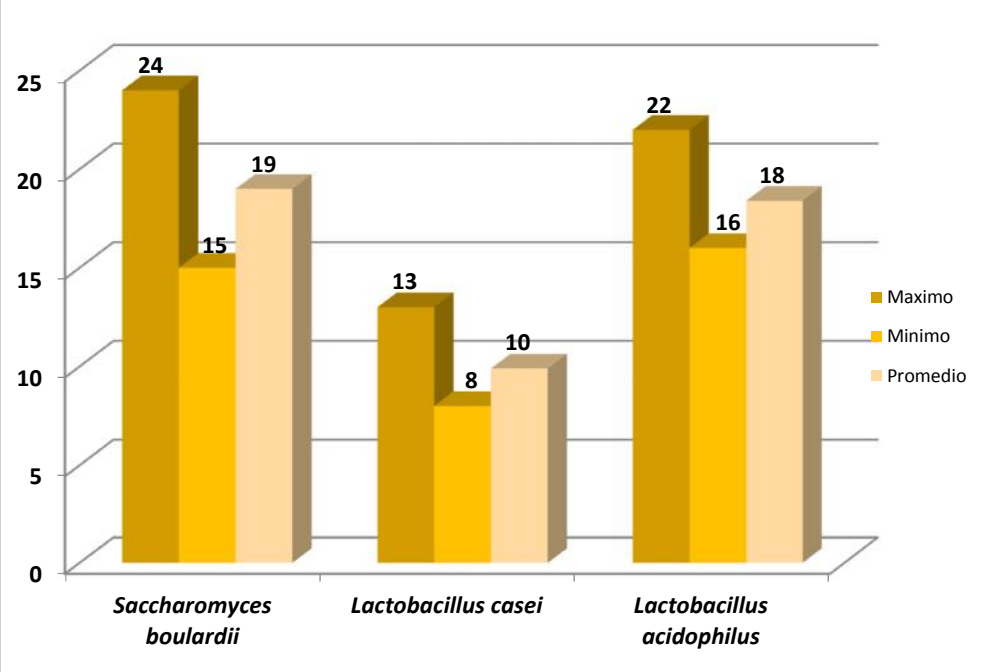
En el gráfico N°1 se muestra los valores máximos, mínimos y promedios del efecto de inhibición de las cepas probióticas *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus* sobre la *Candida spp*, donde se observa claramente que de las tres cepas la *Saccharomyces boulardii* es la de mayor efecto antibacteriano con un promedio de 19 mm, le sigue el *Lactobacillus acidophilus* con un halo de inhibición de 18 mm y finalmente la cepa del *Lactobacillus casei* con 10 mm, siendo el que posee el menor efecto antibacteriano.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

GRÁFICO 1 Efecto de inhibición (mm) de las cepas probióticas sobre la *Candida*



Las medidas de variabilidad de los datos indican una variación de los mismos con una desviación estándar de 3.20, 1.37 y 1.96 (es decir para *S. boulardii* si su media es 19 sus datos van entre 19±3.20), con una varianza de 10.22, 1.88 y 3.82 para las cepas *Saccharomyces boulardii, Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus,* respectivamente. Existiendo una mayor variación entre los datos de medición para el *Saccharomyces boulardii* con un 16.83% de variación entre sus datos ya que el intervalo de los datos es mayor (9), le sigue el *Lactobacillus casei* con 13.84% de variación y el de menor coeficiente de variación de 10.63% es para el *Lactobacillus acidophilus.*

El análisis de la distribución de los datos se determina mediante las medidas de tendencia central (media, mediana y moda) mostrados en la Tabla N°2, correspondiendo para el *Saccharomyces boulardii* una distribución asimétrica positiva o ligeramente sesgada a la derecha ya que su media es mayor que la mediana (19>18), adicionalmente poseen una curtosis platicúrtica con un valor de -1.19, es decir, en las colas de su curva hay más casos acumulados como se observa claramente en el Gráfico N°2.

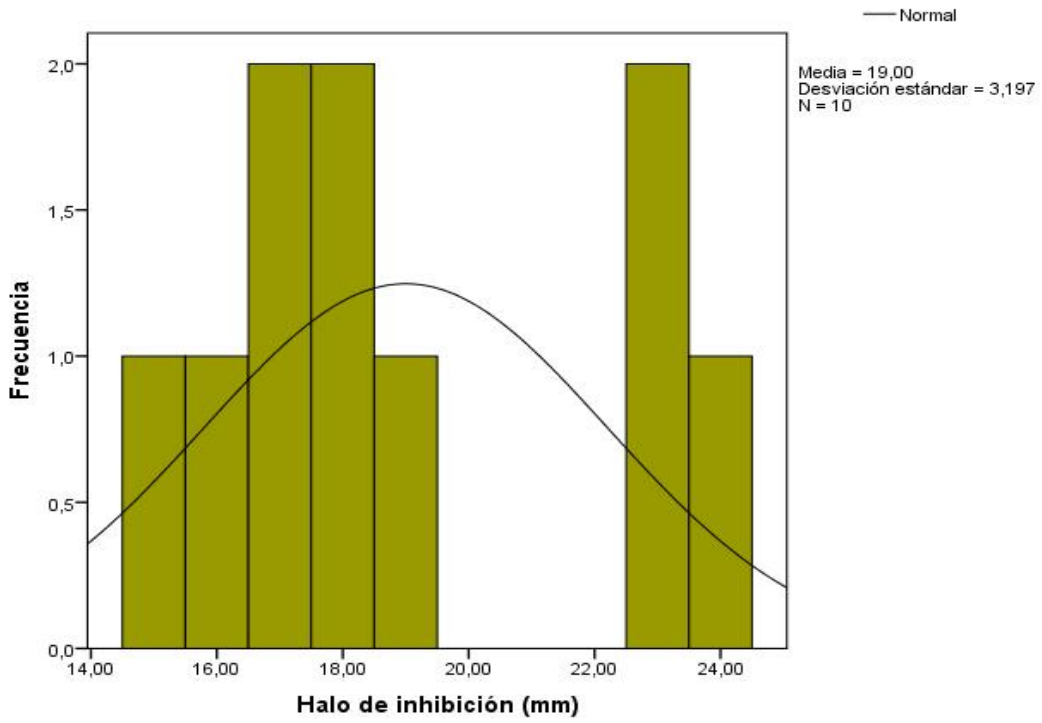
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Además, el valor de la moda, es decir aquel valor que más se repite, es 23 mm de halo de inhibición con una frecuencia de 2, lo que se observa en el gráfico N°2; sin embargo, es multimodal ya que hay un halo de inhibición de 17 mm y de 18 mm que también se repiten con una frecuencia de 2.

GRÁFICO 2 Histograma de la cepa *Saccharomyces boulardii*



Para el caso del *Lactobacillus acidophilus* su media, mediana y moda son iguales (18), por lo tanto, sus datos poseen una distribución simétrica bimodal con una curtosis platicúrtica de -0.38, lo que indica que hay valores acumulados en sus colas como se observa en el Gráfico N°3. Es bimodal ya que posee dos halos de inhibición que son los que más se repiten (17 y 18) con una frecuencia de 3 veces.

El mismo comportamiento de los datos se observa para el caso del *Lactobacillus casei*, donde su media, mediana y moda son iguales (10), es decir sus datos poseen una distribución simétrica. Sin embargo, para este caso solo hay un único valor que se repite más, es decir es, unimodal con un halo de inhibición de 10 mm que se repite con una frecuencia de 4 veces (Gráfico N°4). Su curtosis indica que es leptocúrtica (2.40), es decir, hay menos casos acumulados en las colas que en una distribución normal.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

GRÁFICO 3 Histograma de la cepa Lactobacillus acidophilus

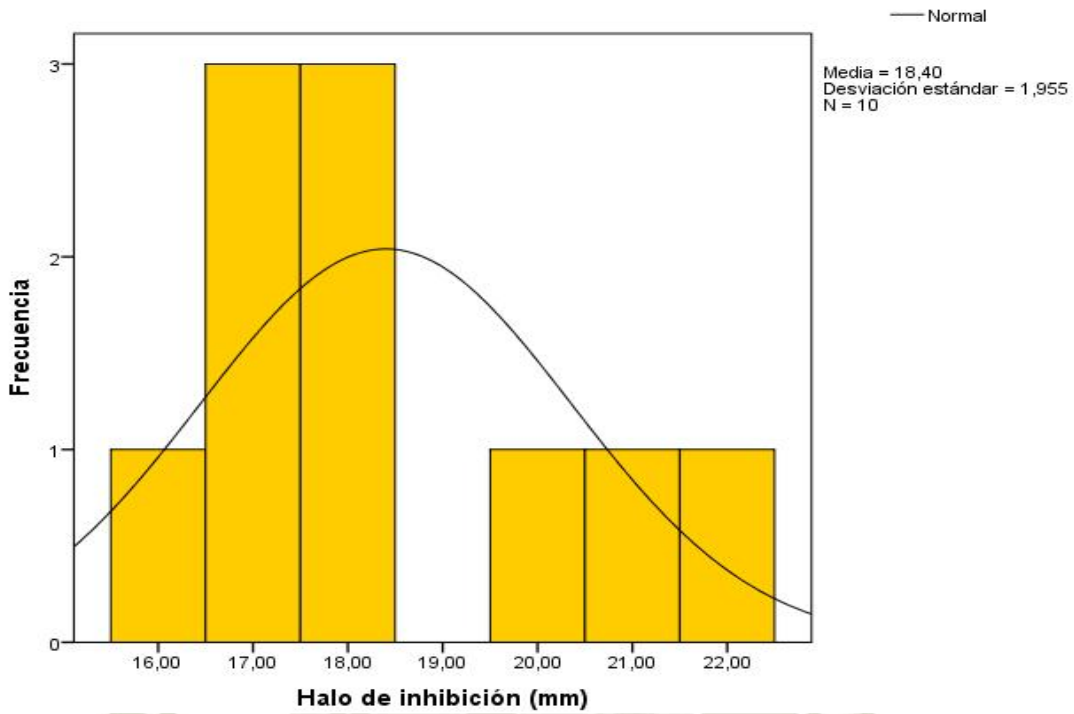
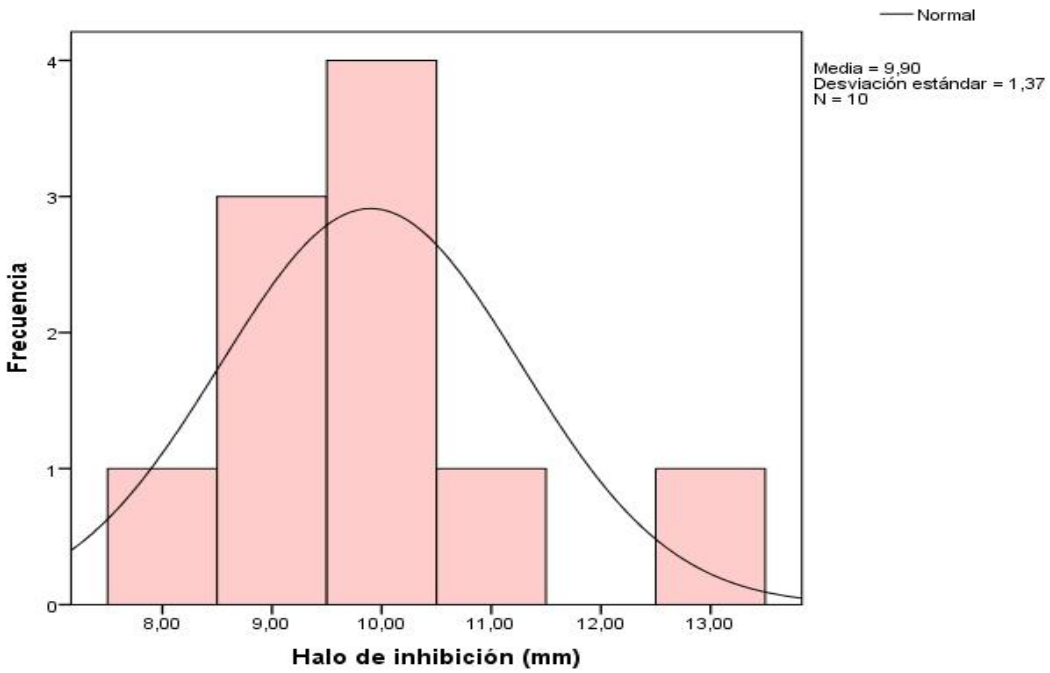


GRÁFICO 4 Histograma de la cepa Lactobacillus casei



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3. Evaluación de supuestos de normalidad y homogeneidad

Para determinar si existe diferencia significativa en la actividad antibacteriana de las tres cepas probioticas *Saccharomyces boulardii, Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*, se debe determinar previamente si los datos son normales y si hay homogeneidad en las varianzas.

En el software SPSS ® Statistics Versión 22 se realizó la prueba de Normalidad cuyo resultado se muestra en la Tabla N°3, donde si los valores de significancia (Sig.) son mayores que 0.05 (p), se acepta que los datos son normales. En la Tabla N°3 el valor de significancia de Shapiro-Wilk son mayores que 0.05 por lo que las cepas probióticas poseen una distribución normal (0.131; 0.142 y 0.157 > 0.05).

TABLA 3 Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
S.boulardii	,223	10	,174	,880	10	,131
L.casei	,271	10	,036	,883	10	,142
L.acidophillus	,281	10	,024	,887	10	,157
a. Corrección de significación de Lilliefors						

4. Análisis estadístico inferencial: ANOVA DE UN FACTOR

Para determinar si existe diferencia significativa en la actividad antibacteriana de las tres cepas probioticas *Saccharomyces boulardii, Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*, se realizó el análisis estadístico ANOVA DE UN FACTOR En el software Microsoft Excel ®. En la TABLA 3 se muestra el resultado.

- **Definición de Hipótesis:**

  Ho: No hay diferencia significativa entre las tres cepas probioticas frente a la cepa *Candida sp.*

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Hi: Si hay diferencia significativa entre algunas de las tres cepas probioticas frente a la *Candida sp.*.

TABLA 4 Análisis de varianza de un factor

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	*Cuenta*	*Suma*	*Promedio*	*Varianza*
Saccharomyces boulardii	10	190	19	10.22
Lactobacillus casei	10	99	9.9	1.88
Lactobacillus acidophilus	10	184	18.4	3.82

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*
Entre grupos	518.07	2	259.03	48.81	0.000000001	3.35
Dentro de los grupos	143.3	27	5.31			
Total	661.366667	29				

En la Tabla N°4 se muestran los valores de F y el valor critico de F, como el valor de F (48.81) es mayor que el valor critico de F (3.35) y el valor de p ($1x10^{-9}$) es menor a 0.01, por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa, es decir, si hay diferencia significativa en el efecto antibacteriano entre las tres cepas probióticas frente a la *Candida sp.* a un 95% de significancia.

De las tres cepas probioticas se observa un mayor halo de inhibición de crecimiento de la *Candida sp.* con la cepa *Saccharomyces boulardii* con un promedio de halo de inhibición de 19 ± 3.20 mm, le sigue el *Lactobacillus acidophilus* con 18 ± 1.96 mm y el de menor efecto antibacteriano es el *Lactobacillus casei* con 10 ± 1.37 mm.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tiene por finalidad aportar datos sobre el efecto inhibitorio de las cepas probióticas *L. acidophilus, S. boulardii, L. casei* sobre el crecimiento de *C. albicans*, uno de los principales patógenos en la candidiasis.

Estudios previos muestran que la levadura *Saccharomyces boulardii y* los probioticos de la familia lactobacillus presentan inhibición sobre la C. *albicans*, entre otras bacterias patógenas.

En el caso de *Saccharomyces boulardii* es una cepa probiótica que confiere muchos beneficios a las enterocolopatías humanas y se usa contra varios patógenos entérico como el *C. albicans*. Investigaciones muentran la influencia de las células de *S. boulardii* y su extracto de cultivo sobre la adhesión de *C. albicans* a las líneas celulares Caco-2 e Intestin 407, inhibiendo significativamente la adhesión de *C. albicans* a las líneas celulares epiteliales.

En esta investigación se usó como sustrato un queso artesanal enriquecido con agentes probioticos lo cual puede llevar a un crecimiento aumentado del *Saccharomyces boulardii,* observándose un mayor halo de inhibición de crecimiento con un promedio de 19 ± 3.20 mm sobre la *Candida spp.*

El *Lactobacillus acidophilus* con 18 ± 1.96 mm y el de menor efecto antibacteriano es el *Lactobacillus casei* con 10 ± 1.37 mm. En caso de este último se ha demostrado su acción en la protección contra candidiasis orales sujetas a inmunodeficiencias graves, pero usando *L. casei* inactivados mediante tratamiento térmico, lo cual induce a pensar que el mecanismo de acción está en parte vinculado a componentes antigénicos no desnaturalizados por el calor.

Las medidas de varianza de 10.22, 1.88 y 3.82 para las cepas *Saccharomyces boulardii, Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus,* respectivamente. Existiendo una mayor variación entre los datos de medición para el *Saccharomyces boulardii* con un 16.83% de variación entre sus datos ya que el intervalo de los datos es mayor, le sigue el *Lactobacillus casei* con 13.84% de variación y el de menor coeficiente de variación de 10.63% es para el *Lactobacillus acidophilus.*

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CONCLUSIONES

PRIMERA

Se observa que el *Lactobacillus acidophilus* presenta un efecto inhibidor sobre el crecimiento de *Candida albicans*, con un halo de inhibición de 18 ± 1.96 mm.

SEGUNDA

Se observa que el probiótico *Saccharomyces boulardii* presenta un efecto inhibidor sobre el crecimiento de *Candida albicans* con un halo de inhibición de 19 ± 3.20 mm.

TERCERA

Se observa que el *Lactobacillus casei* presenta un efecto inhibidor sobre el crecimiento de *Candida albicans*, con un halo de inhibición de 10 ± 1.37 mm.

CUARTA

Se observó que el probiótico que mayor halo de inhibición presentó fue *Saccharomyces boulardii.*

QUINTA

Se observa que existe diferencia significativa de los efectos antibacterianos entre las cepas frente al crecimiento de *Candida albicans.*

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

RECOMENDACIONES

PRIMERA

Se sugiere a los alumnos realizar una investigación a base de estos datos in vivo para poder evaluar los mecanismos de acción de estos probióticos en pacientes con prótesis, con el fin de comprobar sus efectos inhibitorios.

SEGUNDA

Se recomienda realizar más estudios in vitro buscando sinergismos con otros probióticos para potenciar sus efectos.

TERCERA

Se recomienda realizar estudios in vitro comparando el efecto de los probióticos con el efecto de antifúngicos.

CUARTA

Se sugiere a los alumnos realizar más investigaciones con otros sustratos diferentes al queso con el propósito de poder ofrecer un producto alternativo, comercial y accesible para todos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sevillano E., Eraso E. — OCW 2013. Internet: https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/7494/mod_resource/content/1/Material_de_estudio/Tema_2._Composicion_y_ecologia_de_la_microbiota_oral.pdf. Revisado 21-08-2016

2. Barata Caballero D. Estomatitis Protésica. Aspectos clínicos y tratamiento. Facultad de Ciencias de la Salud. Dpto. de Odontología. Universidad Europea de Madrid. S Págs. 622-627. Prof. dent., Vol. 5, Núm. 10, Diciembre 2002. Internet: http://www.coem.org.es/sites/default/files/revista/profesion/vol5-n10/articulo.pdf. Revisado 21-08-2016

3. Organización Mundial de Gastroenterología Guías prácticas: Probióticos y Prebióticos Mayo de 2008. Internet: http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/1182/19_probioticos_prebioticos_es.pdf. Revisado 23-08-2016

4. Aguirre Urizar José Manuel. Candidiasis orales. Revista Iberoamericana de Micología 2002; 19: pg17-21. Internet: http://www.reviberoammicol.com/2002-19/017021.pdf. Revisado 23-08-2016

5. Maestre Juan Ramón. Infecciones bacterianas mixtas de la cavidad oral Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Del Aire. Madrid. Enferm Infecc Microbiol Clin 2002; 20(2):98-101 Internet: file:///C:/Users/usuario/Downloads/S0213005X02727560.pdf. Revisado 21-06-2017

6. Baños Román Francisco Fernando, Refugio Aranda Jacobo. Placa dentobacteriana. Revista de la Asociación Dental Mexicana Número 1 Enero-Febrero 2003 Volumen 60 pg 34-36. Internet: https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2003/od031g.pdf. Revisado 21-06-2017

7. López Martínez R, Méndez Tovar Lj, Hernández Hernández F, Castañón Olivares R. Micología Médica; 2da ed; Editorial Trillas; México, 2004:99-111.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

8. López C, Girol L, Ramos L, Ramadan S, Bulacio L. 2005. Comparación de diferentes métodos para la identificación de especies del género Candida. Revista Argentina de Microbiología 37: 16-21.Internet: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=213016778003. Revisado 21-06-2017

9. López; R., Mouriño; R. comparación de dos métodos moleculares para la identificación rápida de especies del género Candida en muestras vaginales. 2010 REVISADO 14-09-2017

10. Biswas, S., Van Dijck, P., Datta, A. 2007. Environmental sensing and signal transduction pathways regulating morphopathogenic determinants of Candida *albicans*. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 71: 348- 376. Internet: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17554048. Revisado 14-09-2017

11. Morán López E. y Ferreiro Marín A; la candidiasis como manifestación bucal en el sida Rev Cubana Estomatol v.38 n.1 Ciudad de La Habana ene.-abr. 2001;38(1):25-32. Version impresa ISSN 0034-7507 versión On-line ISSN 1561-297X. Internet: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072001000100004. Revisado 14-09-2017

12. Cannon RD, Chaffin WL. Colonization is a crucial factor in oral candidiasis. J Dent Educ. 2001;65(8):785-787. Internet: http://www.jdentaled.org/content/65/8/785.long. Revisado 14-09-2017

13. Falsetta ML, Klein MI, Colonne PM, et al. Symbiotic relationship between Streptococcus mutans and Candida *albicans* synergizes virulence of plaque biofilms in vivo. Infect Immun. 2014;82(5):1968-1981. REVISADO 14-09-2017

14. Pérez Caffarena, M.; Cosetti Olivera, L.; Crestanello Nese, J. P. Actas Odontológicas AÑO I / VOLUMEN I / ENERO - JUNIO 2004 / 53 - 62 Candidiasis bucal. Internet: file:///C:/Users/usuario/Downloads/903-1-3496-1-10-20160222.pdf. Revisado 07-07-2018

15. Lazarde L J. Avilán B I,2 Candidiasis eritematosa de la cavidad bucal. reporte de un caso y revisión de la literatura. Internet:

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

https://www.actaodontologica.com/ediciones/2003/3/candidiasis_eritematosa_cavidad_bucal.asp. Revisado 07-07-2018

16. Ellepola AN, Samaranayake LP. Adjuntive use of chlorhexidine in oral candidiasis: minireview. Oral Dis 2001; 7: 211-216. Internet: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1601-0825.2001.70103.x?sid=nlm%3Apubmed&. Revisado 07-07-2018

17. Lopez SA, Salati N, Libeco F, Benitez MB, Morelatto RA, Astrada L, Masih D. Tratamiento antifúngico tópico en pacientes con Candidiasis crónica bucal. Estudio comparativo. Med Oral 2002, 7(4):260-70. Internet: http://www.medicinaoral.com/pubmed/medoralv7_i4_p260.pdf. Revisado 07-07-2018

18. Cevallos Giovana. Alimentos Funcionales: Prebióticos Probióticos Nutraceuticos Elementales (página 2). Internet: https://www.monografias.com/trabajos36/alimentos-funcionales/alimentos-funcionales2.shtml. Revisado 21-08-2016

19. Brule G., Lenoir J. 1990. El queso. Editor André Eck. Ediciones Omega, Barcelona, España. pp 3 – 20.

20. INTA EEA Chubut Ingrid Bain. Etapas del Proceso de Elaboración de quesos. Internet: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-etapas_del_proceso_de_elaboracin_de_quesos.pdf. Revisado 21-08-2016

21. Laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Leche, Universidad del Zulia. Fundamentos para la elaboración de quesos. Internet: http://www.revistavirtualpro.com/files-bv/20051201/20051201-013.htm. Revisado 21-08-2016

22. Schrezenmeir, J. and M. Vrese. 2001. Probiotics, prebiotics, and symbiotic-approaching a definition. Am J Clin Nut 73 (suppl) Issue 2, February 2001, Pages 361s–364s. Internet: https://academic.oup.com/ajcn/article/73/2/361s/4737561. Revisado 04-11-18

23. Oscar Cabrera Ordoñez. Producción de probióticos y bacteriocinas a partir de desechos agrícolas- Instituto Politécnico Nacional Enero, 2007. Internet: http://sappi.ipn.mx/cgpi/archivos_anexo/20060648_3123.PDF. Revisado 04-11-18

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

24. Zalba JI, Fernández AJ. Empleo de probióticos en odontología; NutrHosp. 2013; 28(1) 49-50. Internet: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000700012. Revisado 04-11-18

25. Marquina Domingo; Santos Antonio. Probióticos, prebióticos y salud. Dpto. de Microbiología III, Facultad de Biología. Universidad Complutense. 28040-Madrid. PDF. Internet: https://studyres.es/doc/2789967/probi%C3%B3ticos--prebi%C3%B3ticos-y-salud. Revisado 04-11-18

26. Castro Luz Angela, Consuelo de Rovetto M.D.2. Probioticos: Utilidad Clínica. Colombia medica > Vol 37, No 4 (2006). Internet: http://colombiamedica.univalle.edu.co/index.php/comedica/article/view/461/1047#2. Revisado 04-11-18

27. Rebolledo, M., Rojas, E., & Salgado, F. Efecto de dos probióticos que contienen cepas de Lactobacillus casei variedad rhamnosus y Lactobacillus johnsonii sobre el crecimiento in vitro de Streptococcus mutans. Int. J. Odontostomat. 2013 Octubre 7(3):415-419. Internet: https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijodontos/v7n3/art13.pdf. Revisado 17-11-18

28. Ramirez Jose Carmen, Ulloa Petra Rosas, Velasquez Martha Yanira. Bacterias lácticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Revista Fuente año 2, N° 7 abril – junio 2011 ISSN 2007 – 0713. Universidad Autónoma de Nayarit. Internet: http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-07/1.pdf. Revisado 17-11-18

29. Valdés Ortega, Felipe Alexis. Efecto de la educación en higiene oral y de la ingesta de un lácteo con probiótico en adultos mayores portadores de prótesis removible" Universidad De Chile Facultad De Odontología; Adscrito a Proyecto FONIS SA13I20116 Santiago - Chile 2017. Internet: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/143491/Efecto-de-la-educaci%C3%B3n-en-hiegiene-oral-y-de-la-ingesta-de-un-l%C3%A1cteo-con-probi%C3%B3tico-en-adultos.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Revisado 17-11-18

30. Frank J. Carr,Don Chill &Nino Maida. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. Journal -Critical Reviews in Microbiology - Volume 28, 2002 - Issue 4 Research Article. Pages 281-370 | Published online: 29 Sep 2008. Internet:

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1040-840291046759. Revisado 17-11-18

31. Casei L. Lactobacillus casei. Internet: https://es.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_casei. Revisado 17-11-18

32. Foromed Noticias de salud, nutrición, estilo de vida y todo lo necesario para estar informado sobre la salud y el bienestar que las personas necesitan día a día. Lactobacillus s: beneficios, usos, efectos secundarios y más -abril 9, 2018 Medicina Alternativa. Internet: http://foromed.com/lactobacillus-acidophilus-beneficios-usos-efectos-secundarios-y-mas/. Revisado 17-11-18

33. Buts Jean-Paul. Ejemplo de un medicamento probiótico: Saccharomyces boulardii liofilizada. Revista de Gastroenterología del Perú -Rev. gastroenterol. Perú v.25 n.2 Lima abr./jun. 2005. Internet: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292005000200007. Revisado 20-11-18

34. Claudia Fierro-Monti, Catalina Aguayo-Saldías , Francisca Lillo-Climent, Fernanda Riveros Figueroa. Rol de los Probióticos como Bacterioterapia en Odontología. Revisión de la Literatura. Odontoestomatología, vol. XIX, núm. 30, 2017--Facultad de Odontología - Universidad de la República. Internet: http://www.scielo.edu.uy/pdf/ode/v19n30/1688-9339-ode-19-30-00004.pdf. Revisado 23-11-18

35. Zalba Elizari J.I. y Flichy-Fernández A.J. Empleo de probióticos en odontología. Nutr. Hosp. vol.28 supl.1 Madrid ene. 2013. Internet: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000700012. Revisado 23-11-18

36. Claudia Fierro-Monti, Catalina Aguayo-Saldías, Francisca Lillo-Climent. Fernanda Riveros-Figueroa. Rol de los Probióticos como Bacterioterapia en Odontología. Revisión de la Literatura. Odontoestomatología, vol. XIX, núm. 30, 2017--Facultad de Odontología - Universidad de la República. Internet: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392017000300004. Revisado 23-11-18

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

37. Liébana Ureña. Microbiología Oral. 2a Edición J. pag 83 86

38. https://www.fba.org.ar/panel-gestion/InformeResultado/MI/mi32.pdf. Revisado 23-11-18

39. L.N. María Isabel Bautista Antonio Director: Dr. Micloth López del Castillo Lozano Xalapa Elaboración de un queso tipo petit - suisse de leche de cabra, adicionado con Lactobacillus casei como probiótico Tesis Para obtener el grado de Maestro en Ciencias Alimentarias Presenta: Universidad Veracruzana Instituto De Ciencias Básicas. 31 Enero, 2014. Internet: https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/42598/BautistaAntonioMIsabel2.pdf;jsessionid=B72185805B2C94D57FD818B889BE9352?sequence=2. Revisado 14-08-2016

40. Clara Cecilia Ochoa U, Lina Maria Restrepo, Isabel Cristina Zuluaga. Deteccion de candida *albicans* en pacientes portadores de protesis superiores con diagnostico clinico de estomatitis por protesis dentales. V Revista CES Odontología, Volumen 8 Nº2.1995. Internet: http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/1506. Revisado 14-08-2016

41. Pulgar Bustos, Luis Alberto. Efecto del consumo de leche enriquecida con probiótico en las características salivales de adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomattis protésica asociada a candidiasis oral, a 12 meses de iniciada la intervención. Adscrito a Proyecto FONIS SA13I20116 Santiago – Chile 2016. Internet: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/142518/Efecto-del-consumo-de-leche-enriquecida-con-probi%C3%B3tico-en-las-caracter%C3%ADsticas-salivales-de-adultos-mayores.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Revisado 14-08-2016

42. De Lama Odría, María del Carmen. Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano de los probióticos lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103) y bifidobacterium bifidum (ATCC 11863) contra streptococcus mutans (ATCC 25175) y streptococcus sanguinis (ATCC 10556)--: Repositorio de tesis Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC)- Fecha de publicación 19/11/2015. Internet: https://repositorioacademico.upc.edu.pe/handle/10757/582435?locale=en&language=en. Revisado 14-08-2016

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

43. José Andrés Mejía Rodríguez, Zarack Chacón Rueda, Balmore Guerrero Cárdenas, Julio Otoniel Rojas y Guillermo López Corcuera. Postgrado en Biotecnología de Microorganismos, Laboratorio de Biotecnología de Microorganismos. Dpto. de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela Rev. Cient. (Maracaibo) v.17 n.2 Maracaibo abr. 2007. Obtención de cepas de lactobacillus. Caracterización in-vitro como potenciales probióticas. Internet: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592007000200012. Revisado 15-08-2016

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXOS

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXO Nº 1: Autorización del uso de laboratorio

Universidad Católica de Santa María
(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ucsm@ucsm.edu.pe http://www.ucsm.edu.pe Apartado: 1350
AREQUIPA - PERU

UCSM–COORD.LAB–026-2016- 2016

NINA FLORES, YULITZA JACKELINE

Arequipa, 2016-10-20

Pase a los Asistentes de Laboratorio:

Sra: Sofia Aguilar. L. H-402 Horas Lunes a Viernes 7:00 - 11:00

Sra Doris Rodriguez L. H-402 Horas Martes, Jueves 14:00 - 15:00
Sabado 07:00 a 12:00

Se autoriza el uso del **LABORATORIO**.H-402., para que el Sr(a)(ta)(s) alumno(a)(s) de ODONTOLOGIA, pueda ejecutar el trabajo de investigación titulado:
"ESTUDIO IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE UN QUESO ARTESANAL CON CEPAS PROBIOTICAS: SACCHAROMYCES BOULARDII, CRECIMIENTO DEL CANDIDA ALBICANS, EN LOS LABORATORIOS DE LA UCSM, AREQUIPA, 2016", previa coordinación de horario.

Atentamente,

Dra. JESÚS MARÍA ZAMBRANO SALAS DE CALLE
COORDINADORA DE LABORATORIOS
Y GABINETES
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXO Nº 2: FICHA LABORATORIAL:

Muestras	Halo de inhibición (mm)		
	S. Boulardii	L. Casei	L. Acidophilus
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO Nº 3: MATRIZ DE SISTEMATIZACIÓN DE DATOS

Muestras	Halo de inhibición (mm)		
	S. Boulardii	L. Casei	L. Acidophilus
1	23	9	21
2	23	8	18
3	17	10	18
4	19	10	17
5	15	13	18
6	18	10	17
7	17	9	17
8	18	9	20
9	16	10	16
10	24	11	22

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXO N°4: SECUENCIA FOTOGRAFICA

Cepa certificada C. *albicans* (atcc 10231)

Pesado del caldo de tioglicolato

Calentado del caldo de Tioglicolato

Caldo de Tioglicolato inoculado con *C. albicans*

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Preparación de agar sangre con sangre al 5% posteriormente autoclavados

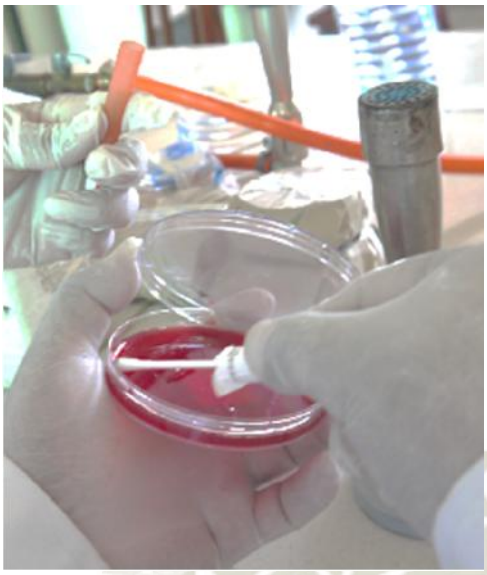
Plaqueado de Agar sangre

Siembra de *C. albicans* en gar sangre

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



Siembra de *C. albicans* en gar sangre

Crecimiento de *C. albicans*

Reactivación de *C. albicans en* tioglicolato

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Siembra de probióticos

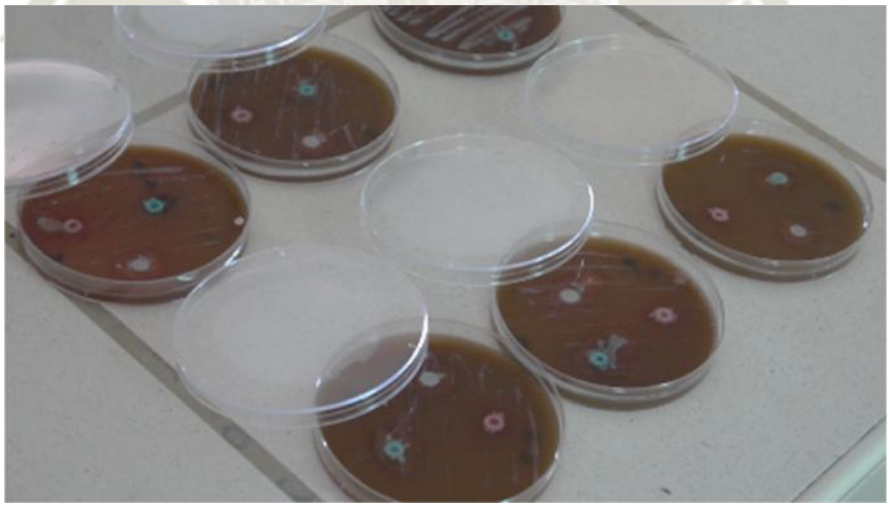
Replicación de probióticos en caldo de Tigliolato

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Colocación de los discos de difusión en cada siembra, posteriormente colocados en la cámara de anaerobiosis por 24 horas

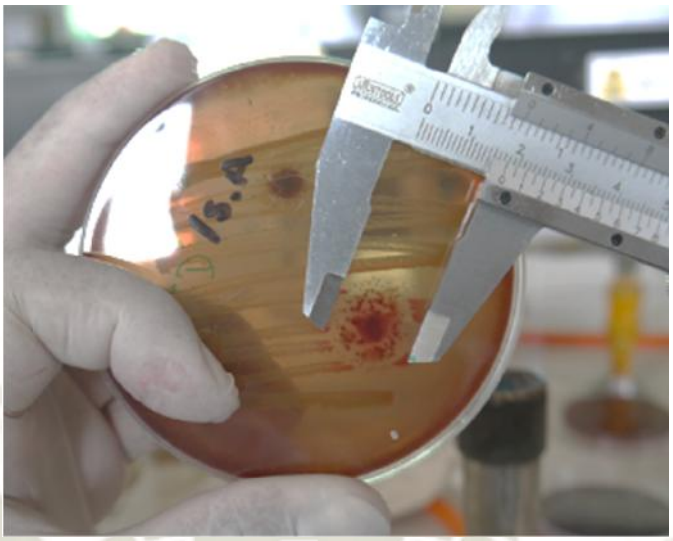


Halos de inhibición en *C. albicans* en sangre

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



Medición de halos de inhibición

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis