

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



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

Tesis presentada por la Bachiller:

**Paniagua Caira Daniela Giuliana**

**ORCID: 0009-0007-0207-7502**

para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

**Asesor:**

**Ph.D. Ponce Soto Luis Alberto**

**ORCID: 0000-0001-5976-2913**

**Arequipa - Perú**

**2024**

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**

**ODONTOLOGIA**

**TITULACIÓN CON TESIS**

**DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR**

Arequipa, 23 de Abril del 2024

**Dictamen: 011517-C-EPO-2024**

Visto el borrador del expediente 011517, presentado por:

**2019100832 - PANIAGUA CAIRA DANIELA GIULIANA**

Titulado:

**CAPACIDAD CARIOGÉNICA DE LA CANDIDA ALBICANS: ESTUDIO IN VITRO, AREQUIPA 2024**

Nuestro dictamen es:

**APROBADO**

Grado académico a optar:

**CIRUJANO DENTISTA**

**29286016 - ALVARADO ACO ALBERTO ARMANDO  
DICTAMINADOR**



**29242362 - GALLEGOS VARGAS HERBERT MARIO  
DICTAMINADOR**



**29238358 - SALAS ROJAS MONICA HILDA CLEOFE  
DICTAMINADOR**



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

## ORIGINALITY REPORT

6%

SIMILARITY INDEX

5%

INTERNET SOURCES

1%

PUBLICATIONS

4%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1 [repositorio.ug.edu.ec](https://repositorio.ug.edu.ec) 1%  
Internet Source

2 [www.scielo.org.ve](http://www.scielo.org.ve) 1%  
Internet Source

3 Submitted to Universidad Señor de Sipan 1%  
Student Paper

4 [repositorio.unsch.edu.pe](https://repositorio.unsch.edu.pe) 1%  
Internet Source

5 [dspace.otalca.cl](https://dspace.otalca.cl) 1%  
Internet Source

6 [www.ucsm.edu.pe](http://www.ucsm.edu.pe) 1%  
Internet Source

7 Submitted to Universidad Técnica de Machala 1%  
Student Paper

Exclude quotes Off

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography Off

### *Dedicatoria*

*Dedico la presente tesis:*

*A **Dios** por ser mi guía y darme el valor para poder vencer los obstáculos que se presentan a lo largo de este camino, por su enorme amor y nunca dejarme sola.*

*A mis padres **María** y **Juan** por ser mi ejemplo de perseverancia, por siempre impulsarme a ser mejor en todos los sentidos, pero sobre todo a ser un gran ser humano que es lo más importante; por todo el esfuerzo que realizan día a día para que mis sueños se realicen, por el amor brindado cada día de mi existencia.*

*A mis hermanas **Glenda** y **Pamela**, por ser mi ejemplo de nunca rendirme y seguir sus pasos como profesional, por ayudarme en momentos difíciles en los que pensé que no podía y hacerme ver que ninguna tarea es imposible siempre con una sonrisa.*

*A mi **abuelita Aurora** por sus sabios consejos y acompañarme a lo largo de mi vida.*

*A mi **abuelita Vicky** por demostrarme su cariño y confiar en mí, aunque ahora no este conmigo sé que me guía desde el cielo.*

## Agradecimientos

*Agradezco a mis padres, por todo su amor y apoyo en momentos positivos y negativos, sin ellos nada de esto sería posible, por todo el sacrificio que hacen para que yo sea profesional y pueda desenvolverme en la vida, son la razón de mi existencia, agradezco a mis hermanas y familiares por no dejarme sola y enseñarme muchísimas cosas valiosas que valoro bastante, por la empatía conmigo en todo momento.*

*Agradezco a Emily y Milagros por confiar en que siempre lograría mis sueños, confiando en mis conocimientos a pesar de estar lejos nunca dudaron de mí.*

*Agradezco a Romi por ser la mejor amiga e impulsarme siempre a ser la mejor.*

*A mis docentes que me dieron todo su conocimiento y siempre quisieron que sus alumnos fueran mejores que ellos, por enseñarnos con amor y paciencia, al laboratorio Química de Proteínas por brindarme su confianza, apoyo e impulsarme a ser mejor, porque el conocimiento es infinito.*

*A mis amigas y amigos por ser realmente personas con las que uno puede compartir, llorar, reír, etc. Por siempre apoyar en momentos difíciles de la carrera profesional porque sin amigos todo hubiera sido más difícil, en estos cinco años de formación nos hicimos familia. Gracias Infinitas.*



**El éxito no se trata de cuanto dinero tengas,  
sino de la diferencia que haces en la vida de  
otras personas**

**Michelle Obama**

## RESUMEN

La *Candida albicans* es uno de los microorganismos que hospedan la cavidad bucal en la mayoría de individuos sanos e inmunocomprometidos colonizando sitios mucosos y también han sido aislados con alta frecuencia en lesiones de caries en niños; muy pocos estudios enfocan el papel que desempeña la *Candida albicans* en la patogenicidad del biofilm debido a que la mayoría de estudios mencionan que la *Cándida albicans* solo es responsable de potenciar la cariogénicidad del *Streptococcus Mutans*. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar la capacidad cariogénica de la *Candida albicans* en un estudio in vitro.

La investigación se realizó en 12 discos de piezas de bovino de 1cm de diámetro, divididos en 4 grupos, 3 sub grupos y también la cepa del microorganismo de *Candida albicans*; cada grupo está conformado por 3 discos. Los discos fueron colocados en una placa de tejidos de 6 pocillos en grupos de 3, previamente el microorganismo *Candida albicans* fue incubado y reactivado en Agar Sabouraud. En una placa Petri se colocó 80 uL del microorganismo sobre nueve de los discos (Escala 0.5 MacFarland) y se dejó 60 minutos a 37° en la estufa. Después de eso, se trasladó a una placa de cultivo de 6 pocillos dividiéndolos en los grupos correspondientes y añadiendo al control negativo que no fue inoculado, los grupos fueron divididos por días de control, retirando 2 discos de cada grupo y utilizando el indicador de caries Sable Seek realizando la tinción para su posterior vista microscópica; 1 disco de cada grupo es sometido a microscopia electrónica de barrido. Finalmente, los datos se procesaron utilizando ANOVA bidireccional con la prueba post hoc de Tukey y el valor de  $P < 0.001$  se consideró estadísticamente significativo.

Los datos mostraron que *Candida albicans* es capaz de desarrollar caries sin la presencia de ningún microorganismo cariogénico; las diferencias significativamente mayores se evidencian entre los días 7-14 en donde se observa un aumento de área revelada en un 35% interpretando como pico a los primeros 14 días y posterior a ellos se observan cambios, pero no con tanta magnitud.

Podemos concluir que la *Candida albicans* posee capacidad cariogénica, desmineralizando al esmalte dental, por lo tanto, no es solo un patógeno que afecta únicamente a la mucosa de la cavidad bucal, sino que también afecta a los tejidos duros del diente.

La importancia clínica que presenta esta investigación revela la importancia de un nuevo enfoque en los tratamientos que en la actualidad se tienen para combatir a la enfermedad de

caries; esto debido a que la *Candida albicans* es un patógeno con la capacidad de provocar caries dental y debe ser incluido en uno de los agentes causales de la caries.

Palabras Clave: *Candida albicans*, caries, *Streptococcus Mutans*.



## ABSTRACT

*Candida albicans* is one of the microorganisms that host the oral cavity in the majority of healthy and immunocompromised individuals, colonizing mucosal sites and has also been isolated with high frequency in caries lesions in children; Very few studies focus on the role that *Candida albicans* plays in the pathogenicity of the biofilm and these mention that *Candida albicans* is only responsible for enhancing the cariogenicity of *Streptococcus Mutans*. The objective of this research work is to evaluate the cariogenic capacity of *Candida albicans* in an in vitro study.

The research was carried out on 12 discs of bovine pieces of 1cm in diameter, divided into 4 groups and 3 subgroups, as well as the strain of the *Candida albicans* microorganism; Each group is made up of 3 discs. The discs were placed in a 6-well tissue plate in groups of 3, previously the *Candida albicans* microorganism was incubated and reactivated in Sabouraud Agar; In a Petri dish, 80 uL (0.5 MacFarland Scale) was placed in nine of the disks and left for 60 minutes at 37° in the oven. After that, it was transferred to a 6-well culture plate, dividing them into the corresponding groups and adding the negative control that was not inoculated. The groups were divided by control days, removing 2 discs from each group and using the Sable caries indicator. Seek staining is performed for subsequent microscopic view; 1 disc from each group is subjected to scanning electron microscopy. Finally, the data were processed using two-way ANOVA with Tukey's post hoc test and the value of  $P < 0.001$  was considered statistically significant.

The data showed that *Candida albicans* is capable of developing cavities without the presence of any cariogenic microorganism; The significantly greater differences are evident between days 7-14, where an increase in revealed area is observed by 35%, interpreting the first 14 days as a peak and changes observed after them, but not with such magnitude.

We can conclude that *Candida albicans* has cariogenic capacity, demineralizing tooth enamel, therefore it is not just a pathogen that only affects the mucosa of the oral cavity.

The clinical importance of this research reveals the importance of a new approach in the treatments currently available to combat caries disease; This is because *Candida albicans* is a pathogen with the capacity to cause dental caries and must be included in one of the causative agents of caries.

Keywords: *Candida albicans*, caries, *Streptococcus Mutans*.

## ÍNDICE

<b>DEDICATORIA</b>	
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	
<b>RESUMEN</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPITULO I.....</b>	<b>3</b>
<b>I. PLANTEAMIENTO TEORICO.....</b>	<b>4</b>
<b>1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>4</b>
<b>2. MARCO CONCEPTUAL:.....</b>	<b>7</b>
<b>2.1. Caries Dental.....</b>	<b>7</b>
<b>2.2. Microbiología de la caries:.....</b>	<b>8</b>
<b>2.3. Streptococcus Viridans:.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4. Levaduras: Candida albicans.....</b>	<b>16</b>
<b>3. ANÁLISIS ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1. INTERNACIONALES:.....</b>	<b>20</b>
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
<b>5. HIPÓTESIS.....</b>	<b>23</b>
<b>CAPITULO II.....</b>	<b>24</b>
<b>II. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL.....</b>	<b>25</b>
<b>1. TÉCNICA, INSTRUMENTO Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>2. INSTRUMENTO.....</b>	<b>27</b>
<b>3. CAMPO DE VERIFICACIÓN.....</b>	<b>29</b>
<b>4. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....</b>	<b>30</b>
<b>5. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
<b>CAPITULO III.....</b>	<b>32</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>39</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>40</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>42</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>45</b>
<b>ANEXO N°1.....</b>	<b>46</b>
<b>ANEXO N°2.....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXO N°3.....</b>	<b>51</b>

ANEXO N°4.....	53
ANEXO N°5.....	55
ANEXO N°6.....	66



## INTRODUCCIÓN

Una de las enfermedades bucales más frecuente es la caries dental según la OMS, se realizó un informe en donde se obtuvo que la enfermedad de caries dental afecta a 2500 millones de personas y que los casos siguen en aumento, tres de cada cuatro habitantes con caries se encuentran en países con ingresos medianos y bajos por lo que indica que el acceso a tratamientos odontológicos tanto de prevención como de atención no se brindan cuando se necesitan. En el Perú las cifras son más elevadas ya que el 90.4% de peruanos presenta caries dental y el 85% presenta enfermedad periodontal, se tiene como causa principal a los malos hábitos de higiene y deficiente información de prevención; no se le da prioridad a las enfermedades bucales a pesar de que el sistema estomatológico es muy importante y puede llegar a agravar los problemas sistémicos de los pacientes.

Su etiología es multifactorial por lo que se debe enfocar tratamientos a los diversos factores que puedan desencadenar la enfermedad de caries; su etiología microbiológica según la mayoría de estudios enfocan a el *Streptococcus Mutans* familia del Streptococcus Viridans, especies de Lactobacillus, bifidobacterias y Prevotella como implicados en la formación de caries dental también actualmente se están realizando estudios que incluyen al microorganismo *Candida Albicans* como causante de la cariogenicidad del biofilm.

La enfermedad de caries en resumen se produce cuando se da una reducción del pH de la cavidad oral favoreciendo de esta manera a los diversos procesos de desmineralización de la pieza dentaria, haciendo que exista una mayor susceptibilidad a la colonización de microorganismos cariogénicos.

En la actualidad se vienen realizando estudios donde se asocia la acción mutua entre la flora bacteriana y la *Candida albicans* en la formación del biofilm, investigando la posibilidad de que la presencia de *Candida albicans* sea un factor de riesgo a la enfermedad de caries dental.

La *Candida albicans* es la especie principalmente aislada en humanos, está presente en la mucosa oral entre el 5-50% de individuos sin patología alguna, su presencia en las mucosas es considerada normal pero cuando existen factores como sistema inmune debilitado, flujo salival disminuido, medicamentos que afecten al organismo y otros, pueden ocasionar que la *Candida albicans* se vuelva patógena, se tiene conocimiento que este microorganismo es acidogénico y heterofermentativo especialmente cuando existen

carbohidratos en altas concentraciones, por lo que se puede asociar a este microorganismo como patógeno en la formación de caries dental. En consecuencia, de esto es importante investigar la presencia de *Candida albicans* en el biofilm y si realmente es participe del desarrollo de la caries dental.

Resultados de algunos estudios sugieren que los individuos con presencia de *Candida albicans* tiene una mayor prevalencia de la enfermedad de caries dental, a diferencia de aquellos individuos que no tienen estos microorganismos en la cavidad bucal.

Este estudio investigativo esta enfocado en estudiar el papel que desempeña la *Candida albicans* como patógeno de la caries dental, esto debido a que se sabe muy poco sobre el poder desmineralizante del biofilm asociado a la *Candida albicans* aislada de otros patógenos. Comprende tres capítulos, en el primer capítulo se desarrolla el marco conceptual que nos ilustra literatura y antecedentes para poder comprender el tema, en el segundo capítulo se desarrolla el planteamiento operacional en el cual se describe las especificaciones de como se lleva a cabo el estudio y finalmente en el tercer capítulo se desarrolla el resultado obtenido junto con las conclusiones y la discusión.



## I. PLANTEAMIENTO TEORICO

### 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1. DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA:

La caries es una de las principales enfermedades que se presenta en la cavidad bucal la cual destruye las estructuras duras del tejido dentario. Muchos estudios se han enfocado en la etiología multimicrobiana, teniendo como principal microorganismo responsable al *Streptococcus Mutans* que es un streptococcus del grupo viridans, sin embargo, en la literatura se ha podido corroborar también la presencia de levaduras como la *Candida albicans*, la cual se encuentra en la flora normal de la boca. El presente proyecto de investigación trata de determinar la capacidad cariogénica de la *Candida albicans* utilizando un modelo in vitro con dientes bovinos, en el cual observaremos si la misma *Candida albicans* es capaz de destruir tejidos duros del tejido dentario por si sola.

#### 1.2. ENUNCIADO DEL PROBLEMA

“CAPACIDAD CARIOGÉNICA DE LA CANDIDA ALBICANS:  
ESTUDIO IN VITRO, AREQUIPA 2024”

#### 1.3. DESCRIPCION DEL PROBLEMA:

##### a) Área de Conocimiento:

- Área General: Ciencias de la Salud
- Área Específica: Odontología
- Especialidad: Cariología
- Línea O Tópico: Microbiología

**b) Operacionalización de variables:**

VARIABLES	INDICADORES	SUBINDICADORES	INSTRUMENTO
<b>Variable estímulo: Independiente</b>	Candida albicans		
<b>Variable Respuesta: Dependiente</b>	Dientes bovinos	Aparición de mancha blanca	Sustancia Reveladora: Revela o no revela

**c) Interrogantes básicas:**

**General**

- ¿Cuál es la capacidad cariogénica de la *Candida albicans* en dientes bovinos?

**Específicas:**

- ¿La sustancia reveladora de caries expondrá mancha blanca producida por *Candida albicans*?
- ¿La *Candida albicans* provocará la interrupción de la continuidad del esmalte utilizando microscopia electrónica de barrido?

**d) Taxonomía de la investigación**

**Abordaje:** Descriptivo

**Por el ámbito de recolección:** Laboratorial

**Por injerencia del investigador:** Observacional

**Por el tipo de dato:** Cualitativo

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

#### 1.4. JUSTIFICACIÓN

**1.4.1. Importancia Científica:** El presente trabajo de investigación presenta relevancia científica porque se quiere demostrar que la *Cándida albicans* produce caries, para que cuando se presente un paciente niño o adulto se tenga también una terapia para combatir no solo el *Streptococcus Mutans* sino también la *Candida albicans* que son microorganismos que también están presentes en la microbiota bucal.

**1.4.2. Originalidad:** El presente trabajo de investigación tiene una originalidad específica porque por el momento no hay antecedentes investigativos previos demostrando que la *Candida albicans* produzca caries dental.

**1.4.3. Utilidad:** El presente trabajo de investigación es de importante utilidad debido a que su finalidad es demostrar la capacidad cariogénica de la *Candida albicans* para integrarlo en la etiología de la caries dental y en el futuro se pueda tener un enfoque específico para su tratamiento.

**1.4.4. Viabilidad:** Este trabajo es viable porque existen las condiciones propicias para llevar a cabo este estudio, teniendo la disponibilidad de laboratorio, equipos, materiales, conocimiento y tiempo.

**1.4.5. Interés personal:** El presente trabajo de investigación me permitirá obtener el título profesional de Cirujano Dentista.

## 2. MARCO CONCEPTUAL:

### 2.1. Caries Dental

La enfermedad de caries dental es un problema de salud que presenta la mayoría de la población tanto en niños y adultos, en los últimos años es descrita como una enfermedad multifactorial, es decir que no solo tiene un contribuyente de aparición, sino que es necesario que existan más factores contribuyentes para que se pueda producir la enfermedad de caries afectando así la salud oral (1). Por lo tanto según la literatura para el inicio y progresión de la caries intervienen simultáneamente factores los que son agrupados en una Triada de Keyes que menciona tres factores que predisponen a la enfermedad de caries y posteriormente es modificada con el fin de añadir mejoras convirtiéndose así en una enfermedad tetrafactorial (2), los que son:

- Huésped
- La dieta.
- Microorganismos.
- Tiempo

**a. Huésped:** En este factor se encuentran las características que presenta el individuo ya que cada organismo es diferente y eso interviene en la respuesta inmune y por consecuente en la susceptibilidad de si el diente es o no susceptible a caries ya que también depende de la composición y cantidad de saliva que el individuo presente en boca. Las enfermedades sistémicas y sus tratamientos pueden afectar los tejidos de la cavidad bucal y por consiguiente predisponer al diente a caries (3).

**b. La dieta:** La alimentación también es un factor importante para predisponer la aparición de caries, debido a que una dieta rica en carbohidratos y azúcares principalmente, contribuyen al proceso carioso (4).

**c. Microorganismos:** Estos se presentan en la forma de placa dental que son diversos microorganismos, células y restos de comida, también

denominado biofilm con un concepto mas desarrollado considerando que es la forma de crecimiento de las bacterias fijadas a una superficie (1).

Los microorganismos son activos participantes en el desarrollo de la caries asi también en su progresión, estos son provocados por el desnivel del Ph que se produce después de la ingesta de alimentos principalmente carbohidratos y azucares que estan generalmente presentes en la dieta del ser humano, provocando así la disolución del componente orgánico del tejido dental y desmineralizando el componente inorgánico afectando al tejido dental duro del diente.

**d. Tiempo:** Se considera al factor del tiempo ya que estudios han demostrado que al estar el biofilm en contacto con una superficie se adhiere y a mayor tiempo que el biofilm este en contacto con el diente es mayor la probabilidad de que madure desestabilizando el equilibrio del Ph y por consecuencia acidifica el medio y produce la desmineralización del esmalte. Es así que se debe desorganizar el biofilm en el menor tiempo posible ya que no se puede desorganizar con fuerzas fisiológicas, sino que es necesario utilizar fuerzas mecánicas y en muchas ocasiones se deja mucho tiempo en la boca este componente (1, 3).

## 2.2. Microbiología de la caries:

### 2.2.1. Definición:

La microbiota de la cavidad bucal es un componente muy importante para la boca, debido a que brinda protección contra la invasión y posterior colonización de bacterias extrínsecas, que pueden interferir en el salud óptima generando factores de riesgo para afectar la salud sistémica (5).

Se tiene conocimiento que las enfermedades más comunes de la cavidad bucal son la caries, gingivitis y periodontitis y estas son causadas por microorganismos que están organizados en forma de biofilm; por lo que se adhiere a cualquier superficie que le permita no desprenderse (6). El ecosistema de la cavidad bucal llega a desequilibrarse por sobrecarga o inmunología débil del individuo y esto compromete la salud local y/o sistémica. A causa de lo antes dicho es que para la prevención de la

caries es erradicar de manera mecánica el biofilm de las piezas dentarias y/o aparatos protésicos u ortodónticos mediante un adecuado cepillado con la técnica correcta y de manera continua, disminuyendo la posibilidad de tener las enfermedades ya mencionadas (6).

La microbiota oral comprende una parte importante de la microbiota humana general, teniendo una ubicación diversa: saliva, paladar, mejillas, lengua, dientes; así también gran variedad de microorganismos orales aún no están estudiados lo suficiente. Se estima que la lengua alberga la mayor parte de la carga microbiana de la cavidad bucal y soporta una mayor densidad bacteriana y una microbiota más diversa que las otras superficies mucosas; El 30% de la población bacteriana detectable mediante estudios moleculares se encontró únicamente en la lengua (7).

En la superficie dental, específicamente en las zonas internas cercanas a la pulpa se encuentran microorganismos facultativos, es decir aquellos que son capaces de desarrollarse independientemente si existe oxígeno o se carece de el; en la literatura se considera al Streptococcus como la familia de microorganismo más predominante, causante de la enfermedad de caries y afectación pulpar (8).

En la superficie dental cercana a la encía, existe una mezcla de especies facultativas que ocasionan la enfermedad gingival por inflamación denominada “Gingivitis”; esta es provocada por el biofilm que si permanece en el tiempo llega a dañar el surco gingival produciendo la “Periodontitis” las especies anaerobias son las que predominan el contenido del biofilm (9).

En cuanto a las prótesis dentales, aparatos de ortodoncia u ortopedia, restauraciones y todo material artificial que se encuentre en la cavidad bucal para compensar alguna pérdida de las estructuras naturales en boca, alberga especies similares a las supragingivales; sin embargo, las placas protésicas pueden hospedar *Candida spp* y provocar estomatitis (10).

### 2.2.2. Formación del Biofilm:

La sucesión de la microbiota oral es un proceso continuo hasta lograr un grado de estabilidad, entonces al necesitarse un equilibrio se puede deducir que se necesita un ambiente estable para que los microorganismos se puedan colonizar en un huésped, es por eso la razón que en la saliva no se puede producir sucesión, las bacterias salivales invaden las células de la mucosa, pero a pesar de que en la literatura esta que los tejidos blandos son propensos a colonizaciones bacterianas en un 80% no se manifiesta ninguna patología debido a que una característica importante es que las células del tejido de la mucosa se descaman y se degluten de una forma similar a la saliva, en consecuencia de esto se concluye que, sobre las superficies mucosas solo existe una capa no patógena, por el contrario los tejidos duros quedan enseguida cubiertos por una película asociada a una colonización bacteriana, posterior a esta fase constantemente la microbiota de la película cambia día a día, este proceso se denomina sucesión (11).

Durante 7 días se desarrolla hasta formarse una “Flora primaria inmediata” que se encuentra dominada por el Streptococcus en donde se desarrolla una comunidad anaeróbica de bacilos gramnegativos (11). Debido a diferentes localizaciones, así como a diversos factores exógenos que influyen, se desarrolla placa de diferente espesor y composición bacteriana, no sólo a escala macroscópica sino también a un nivel microecológico, en relación con el O<sub>2</sub>-tensión, pH local, estructura de la matriz y la disponibilidad de sustancias nutritivas (12). Consecuencia de esto es que se desarrollan subsistemas que tienen ubicaciones y patrones específicos para desarrollar afecciones a la cavidad oral.

### 2.2.3. Fases de Desarrollo del Biofilm:

Existen varias fases distintas, estas se pudieron estudiar y definir gracias a la microscopia de barrido laser confocal en el esmalte. La invasión es la primera fase la cual se caracteriza por la formación de la película

descrita anteriormente como una película de enlace y en muchas ocasiones las bacterias ya están visibles (13).

Colonización; se denomina así a la segunda fase en donde se incluyen temas de la adhesión bacteriana su crecimiento en forma de una “colonización plana”. La tercera fase es la maduración, es cuando se conforma un equilibrio entre el crecimiento y descomposición concomitante a través de la erosión y por último el crecimiento y desprendimiento de la película mediante por el cual los grupos de células se mueven para adherirse en otras extensiones (13).

Socransky et al. confirmaron el evento de una sucesión en la microbiota oral para la placa subgingival, utilizando técnicas de biología molecular, los autores evaluaron y agruparon diversos "habitantes" bacterianos de aproximadamente 13.000 muestras de placa en los llamados "complejos" (14, 15). Denominaron primero a un 'complejo amarillo' que estaba compuesto principalmente por estreptococos, que según otros autores demostraron representar a los primeros colonizadores (11, 15).

En un segundo 'complejo naranja' se agruparon diversas especies, siendo la más importante *Fusobacterium nucleatum*. Esta especie tiene una alta capacidad de coagregarse con otras bacterias (11), como resultado se logran unir las especies del 'amarillo' anterior con las del 'complejo rojo' tardío; este último complejo denominado “complejo rojo” está formado por *P. gingivalis*, *Tannerella forsythus* y *Treponema denticola* los que están fuertemente asociados con el mantenimiento y empeoramiento de la periodontitis (15). Curiosamente, *Fusobacterium nucleatum* demostró ser la especie anaerobia más frecuente en la boca de los bebés al año de edad un hallazgo que encaja perfectamente con el concepto del papel crucial de *Fusobacterium nucleatum* en la coagregación intergenérica y la formación de biopelículas (11). En resumen, se produce una sucesión de especies principalmente facultativas (en parte implicadas en la caries dental) a una comunidad cada vez más anaerobia (15).

### 2.3. Streptococcus Viridans:

Se les conoce comúnmente como Streptococcus orales, esto debido a su vinculación con su habidad en la cavidad oral; pero también se desarrollan en el tracto intestinal y urinario (16).

Las investigaciones a cerca de los Streptococcus viridans han dado el conocimiento de que existen 1426 cepas de streptococcus, diversas especies las cavidades orales y faríngeas, la flora bacteriana que se encuentra en la zona de la orofaringe tiene como componente primordial a los Streptococcus orales, sin embargo, se mencionó anteriormente que no se ubican en toda la cavidad bucal de manera uniforme, sino que tienen zonas de mayor adhesión (16).

Si bien existe la dificultad para poder reconocer a todas las especies que existen en la cavidad oral debido a diversos factores, se reconocen 60 especies y 12 subespecies dentro de los Streptococcus viridans, existe una clasificación según el análisis de ADNr 16S por lo que se dividen en cuatro grupos (17), estos son:

- S. Mutans
- S. Salivarius
- S. Anginosus
- S. Mitis

Respecto al Streptococcus mitis es el que contiene mayor número de especies de streptococcus orales (17).

Los Streptococcus Viridans pueden sobrevivir a cambios ambientales repentinos, especialmente al pH en la placa dental; el pH normalmente oscila entre 6,0 y 6,5. Una vez que los Streptococcus Viridans consiguen acceso al torrente sanguíneo que tiene un pH de 7,3, se activa un promotor sensible al pH y se expresa la metionina sulfóxido reductasa (MsrA). La función de MsrA es otorgar protección contra el estrés oxidativo, maximizando así el crecimiento (16).

Los estreptococos orales son comensales normales de la boca humana y desempeñan un papel en la resistencia a la colonización por otras especies

bacterianas como los estafilococos. Sin embargo, ofrece un conjunto de material genético que puede sufrir una combinación de genes con otras bacterias, incluidas especies patógenas, y dar lugar a la aparición de cepas resistentes (18).

En estudios realizados se obtiene el resultado de que los *Streptococcus Viridans* presentes en la cavidad oral y faríngea logran destruir el desarrollo de cocos y bacilos que pertenezcan al grupo Gram positivo, pero no tienen responsabilidad en cuanto a las bacterias Gram Negativas.

### 2.3.1. *Streptococcus Mutans*:

Es considerado uno de los principales agentes etiológicos de la enfermedad de caries, se adhiere y desarrolla en el biofilm presente en las estructuras dentales, también se ha investigado que tiene responsabilidad en los casos de endocarditis y junto con otros microorganismos están involucrados en otras patologías adicionales extraorales. En los últimos 40 años las investigaciones se han centrado en entender cual es el mecanismo que utiliza el organismo para la formación del biofilm que se adhiere a las superficies dentales, su metabolismo rápido con la variedad de carbohidratos que contiene la dieta del individuo y la manera de sobrevivir a una gran variedad de factores desfavorables del ambiente que se han encontrado en el biofilm oral (5).

El hábitat natural de *Streptococcus Mutans* es la cavidad bucal humana, con más especificidad, la placa dental, corresponde a ser una biopelícula de múltiples especies que se forma en las superficies duras del diente (19). Se ha aceptado en gran medida que el potencial cariogénico de *Streptococcus Mutans* reside en tres atributos centrales: el primer atributo corresponde a la capacidad de sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares de glucano a partir de sacarosa que ayudan en la colonización permanente de superficies duras y en el desarrollo de la matriz polimérica extracelular in situ, el segundo atributo corresponde a la capacidad de transportar y metabolizar una amplia gama de carbohidratos en ácidos orgánicos (acidogenicidad) y

el tercer atributo corresponde a la capacidad de prosperar en condiciones de estrés ambiental, particularmente pH bajo (aciduridad) (20).

Las cepas de *Streptococcus Mutans* se pueden llegar a clasificar en cuatro grupos serológicos que son el Grupo c, Grupo e, Grupo f y Grupo k según la composición del polisacárido de ramnosa-glucosa de la superficie celular, y aproximadamente el 75% de las cepas separadas de la placa dental pertenecen al serotipo c. aproximadamente el 20% al serotipo e, y el 5% restante se clasifica como serotipos f o k (21).

Especies como el *Streptococcus Mutans*, desempeñan un papel importante en la etiología de la caries dental. Son bacterias acidogénicas y tolerantes a los ácidos. Casi todos los azúcares pueden fermentarse, lo que da como resultado una rápida producción de ácidos carboxílicos de cadena corta tras el metabolismo de los carbohidratos. Estos ácidos tienen la capacidad de desmineralizar el esmalte dental, lo que luego provoca caries dental (22). El paso principal en la caries dental es la adherencia de las células bacterianas a la superficie del esmalte.

Los *Streptococcus Mutans* producen polisacáridos extracelulares a partir de sacarosa con el apoyo de la glucosiltransferasa. La pegajosidad de los polisacáridos estimula la adhesión a las superficies de los dientes. Además, estos polisacáridos extracelulares son esenciales para la construcción de biopelículas, donde las bacterias muestran diferentes características fenotípicas. En una biopelícula, las bacterias logran obtener protección contra el estrés ambiental; oxidasa, antibióticos, etc. alterando la expresión genética e intercambian su información genética (22).

### **2.3.2. Factores de Virulencia del Streptococcus Mutans**

En el caso del *Streptococcus Mutans*, los factores de virulencia involucrados en la producción de caries son:

- 1. Acidogénicidad:** el *Streptococcus Mutans* puede fermentar los azúcares de la dieta para originar principalmente ácido láctico como

producto final del metabolismo. Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental (23).

**2. Aciduricidad:** Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo (23).

**3. Acidofilicidad:** El *Streptococcus Mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones ( $H^+$ ) fuera de la célula (23).

**4. Síntesis de glucanos y fructanos:** Por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles llegan a ayudar a la bacteria a adherirse al diente y ser usados como reserva de nutrientes (24).

Las glucosiltransferasas catalizan la hidrólisis de dos moléculas de sacarosa en sus monosacáridos constituyentes: la alfa-D-glucosa y beta-D-fructuosa. Las moléculas de glucosa resultantes, son polimerizadas por enlaces alfa (1-6), alfa (1-4) o alfa (1-3) y forman los glucanos extracelulares bacterianos y se liberan dos moléculas de fructuosa (25).

De acuerdo con las características de solubilidad de su producto, las glucosiltransferasas se clasifican en:

- a. GTF-S, éstas son las responsables de sintetizar el dextrano, que es un glucano que posee predominantemente uniones lineales alfa (1-6), es soluble en agua y de aspecto globular.
- b. GTF-I, es responsable de sintetizar un glucano insoluble y fibrilar con predominio de uniones alfa (1-3)
- c. GTF-SI, Tiene la función de sintetizar ambos tipos de glucanos.<sup>4</sup>

El *Streptococcus Mutans* secreta los tres tipos de glucosiltransferasas. Al producto de la GTF-I y la GTF-SI, con predominio alfa (1-3), se le denomina Mutano. Su insolubilidad en agua, viscosidad y aspecto fibrilar, lo involucra en los fenómenos de adherencia, agregación y acumulación bacteriana en la placa dental.

De esta manera la capacidad de producir Mutano, está involucrada en el poder cariogénico del *Streptococcus Mutans* (26).

**5. Producción de dextranasa:** Las bacterias tienen la posibilidad de sintetizar y liberar enzimas glucanohidrolasas, como la dextranasa y la mutanasa. Estas se disponen en la superficie de las células bacterianas en contacto con el glucano, lo hidrolizan y facilitan así el paso de los productos de la hidrólisis hacia el interior de la misma. Por tanto, los glucanos extracelulares pueden ser usados por las bacterias como fuente de energía. Además de movilizar reservas de energía, esta enzima también puede regular la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano (27).

#### **2.4. Levaduras: *Candida albicans***

La *Candida albicans* tiene como definición ser un hongo que pertenece a la familia Ascomycota, este se presenta como un genoma diploide y su reproducción es de manera asexual en un proceso llamado gemación es decir separación del mismo en una porción pequeña hasta desarrollarse en uno nuevo. Tiene una característica muy importante que le permite evitar los mecanismos de defensa del sistema inmunológico del huésped, esta característica presente es que *Candida albicans* es dimórfico; tanto en forma de hongo y levadura. En laboratorio su medio de crecimiento es el Agar Sabouraud que le permite crecer y formar sus colonias para que sean apreciadas en el microscopio.

*Candida Albicans* está presente en el ser humano sin tener alguna complicación dependiendo del sistema inmunológico del huésped, por lo que un sistema inmunológico sano mantiene controlados a los hongos, por el contrario, si está afectado llegan a reproducirse y causar infecciones en distintas partes del cuerpo y de distintas maneras. La boca posee muchos nichos para la colonización por parte de esta especie, incluyendo entre otros células epiteliales, prótesis dental y células bacterianas de la flora bucal residente. En promedio según la literatura indica que *Candida albicans* coloniza entre el 5-50% de la mucosa oral en individuos sanos.

#### 2.4.1. Factores de Virulencia de *Candida albicans*:

Al igual que otros patógenos, la virulencia en *Candida albicans* incluye reconocimiento del anfitrión, la unión del organismo a las células huésped, a las proteínas de la célula huésped o a los competidores microbianos (coagregación) probablemente previene o al menos reduce el grado de eliminación por parte del huésped. Además, se han utilizado varias enzimas degradativas demostrando que promueve la virulencia. Intuitivamente la invasión debería verse facilitada por la transición entre las células de levadura y el crecimiento filamentoso (morfogénesis) en comparación con el crecimiento isotrópico (unicelular, levadura). De hecho, esta última afirmación es parcialmente cierta, pero se han observado otros mecanismos, incluida la "persorción" de células de levadura en la mucosa intestinal hacia los tejidos internos, así como la fagocitosis inducida por células esofágicas humanas (28).

Entre sus factores de virulencia se incluyen las adhesinas, la transformación morfogénica del microorganismo de la fase levaduriforme a la fase filamentosa, la secreción de enzimas como proteasas y fosfolipasas y la inmunomodulación de los mecanismos de defensa del hospedero (28).

El reconocimiento de receptores celulares en el hospedero por *Candida albicans* es sumamente importante para su supervivencia; la evolución de este microorganismo de comensal a patógeno es el resultado de su habilidad para colonizar células epiteliales en la mucosa y seleccionar adicionalmente otros atributos que promuevan su invasión (29).

Después del fenómeno de adherencia, se establecen interacciones entre el hongo y el hospedero que son críticas para el balance entre la salud y la enfermedad. *Candida albicans* es capaz de acoger diversas formas que indudablemente constituyen un mecanismo de adaptación a su ambiente y la forma micelial es considerada más virulenta que la fase levaduriforme. Se postula que la habilidad de *Candida albicans* para formar tubos germinales es su mayor factor de virulencia. Un tubo

germinal se define como una extensión filamentosa de una célula levaduriforme que mide alrededor de la mitad del ancho y tres a cuatro veces el largo de la célula; muestras obtenidas de tejidos animales y humanos enfermos casi siempre contienen hifas, pseudohifas y levaduras, sin embargo, se piensa que el tubo germinal es más adherente a las superficies de las mucosas (30).

El potencial patógeno de *Candida albicans* difiere considerablemente debido a que no son un componente pasivo del proceso infeccioso, sino que poseen una serie de factores de virulencia. No existe un único factor que pueda ser considerado individualmente como responsable de la patogenicidad, sino que se ha propuesto una combinación de diferentes factores que contribuyen a una o más etapas de la infección. (31)

Los principales factores de virulencia de *Candida albicans*, que han sido bien estudiados son: Primero la capacidad de adherencia de las levaduras a diferentes superficies; consiste en el reconocimiento e interacción entre las adhesinas (moléculas presentes en la pared celular) de la levadura, y receptores presentes en la superficie de las células del hospedero. Son múltiples las adhesinas y los mecanismos de adherencia que utilizan las levaduras, lo que reflejaría la variedad de sitios que estos microorganismos pueden invadir. Segundo es la producción de enzimas extracelulares, que son proteinasas y fosfolipasas específicas de cada cepa, lo que explica la diferencia en la virulencia entre diferentes aislamientos. El tercer factor de virulencia es la producción de hifas y pseudohifas, esto ocasiona el aumento de la capacidad invasiva de la levadura, la capacidad de adherencia, aumenta la resistencia a la fagocitosis, aumenta el poder killer sobre las células del hospedero (31)

El cuarto factor de virulencia es el denominado “Switching” o variabilidad fenotípica y antigénica, consiste en el cambio fenotípico que es la alteración reversible en el fenotipo. A diferencia de lo que ocurre en otros microorganismos, en la especie *Candida albicans* este cambio fenotípico es pleiotrópico, afectando a la vez varios parámetros

morfológicos y fisiológicos y a un número determinado de factores de virulencia. Por último y sumamente importante es la producción de biopelículas esto consiste en la formación de biopelículas sobre las superficies colonizadas también *Candida albicans* es capaz de producir estas biopelículas en prótesis orales u otros dispositivos ajenos al organismo, afectando negativamente la salud del paciente, e incluso llega a ocasionar el fracaso de prótesis debido a que crea nichos en los mencionados dispositivos. Por otro lado, es importante tener presente que estas películas, suelen presentar una marcada resistencia al tratamiento con protocolos antifúngicos convencionales (31).

*Candida albicans* al infectar empieza a crear las hifas y crear la biopelícula lugar en el cual llegan más fácil los nutrientes utilizándose de manera más eficaz, este normalmente se crea en la matriz extracelular.

Los factores desencadenantes de la enfermedad son generalmente modificaciones en los mecanismos de defensa del huésped, los cuales, secundariamente, inducen transformaciones en el comportamiento del hongo. Las manifestaciones clínicas y la severidad de la infección están en relación con la naturaleza y el grado de compromiso de las defensas normales del huésped (29).

#### **2.4.2. Formación de caries por *Candida albicans*:**

Existen varias características de este microorganismo que se relacionan con la cariogénicidad; la membrana plasmática genera ATPasa, que bombea activamente protones fuera de la célula (32), provocando una extraordinaria alta tolerancia a los ácidos y permite una rápida acidificación extracelular; Además, *Candida albicans* expulsa ácidos orgánicos, principalmente pirúvico ( $pK_a = 2,39$ ) y ácido acético ( $pK_a = 4,75$ ), de estos el primero es incluso más potente que el ácido láctico ( $pK_a = 3,86$ ) para disminuir el pH de un ambiente ya intensamente acidificado. Estudios investigativos sobre la velocidad de formación de ácido a partir de glucosa por *Candida albicans* y los lactobacilos orales en condiciones de un pH estable dieron como resultado una

acidogenicidad similar de ambos microorganismos. (33) Además, *Candida albicans* se adhiere a la hidroxiapatita recubierta de saliva (34) y se une al colágeno nativo o desnaturalizado. Se demostró que la aspartil proteasa secretada por hongos es capaz de degradar el colágeno dentinario en condiciones ácidas (35). A pesar de que las características descritas anteriormente indican *Candida Albicans* es un potente patógeno de caries, su importancia a menudo se ha negado ya que las unidades de hongos formadoras de colonias generalmente representan solo un pequeño porcentaje de la microbiota total. Por otra parte, la biomasa de *Candida albicans* es mucho más grande que los de bacterias como los *streptococcus* (33).

### 3. ANÁLISIS ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

#### 3.1. INTERNACIONALES:

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

###### Abstracto

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

de caries por *Candida albicans*. Sin embargo, los animales alimentados con una dieta que contenía un 20% de ambos azúcares no mostraron diferencias con los controles no infectados. La levadura no generó caries de superficie lisa. Este estudio proporciona evidencia experimental de que *Candida albicans* es capaz de causar caries oclusal en ratas en un índice elevado. (36)

**DOI:** 10.1159/000324809

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

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

Abstracto

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

albicans y *C. parapsilosis* indujeron la desmineralización del esmalte dental. (37)

DOI: 10.1016/j.micpath.2016.09.003

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

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

Abstracto

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

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

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

1,83]). La calidad de la evidencia de la mayoría de los estudios (n = 21) se calificó como regular.

**Conclusiones:** Estos resultados sugieren que, independientemente de la edad o el sitio de muestra, los individuos con presencia de *Candida spp.* tienen una mayor prevalencia de caries dental en comparación con individuos sin estos microorganismos en la cavidad bucal. (38)

**DOI:** 10.1016/j.archoralbio.2020.104876

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

#### 4. OBJETIVOS

##### 4.1. Objetivo general

- Determinar la capacidad cariogénica de la *Candida albicans* en dientes bovinos.

##### 4.2. Objetivos específicos

- Determinar la presencia de mancha blanca por medio de revelador.
- Determinar la interrupción de la continuidad del esmalte por *Candida albicans* utilizando microscopia electrónica de barrido.

#### 5. HIPÓTESIS

Dado que la caries es una enfermedad multimicrobiana, la cual produce la destrucción de tejido dentario. Es probable que la *Candida albicans*, la cual pertenece a la microbiota oral pueda producir por si sola caries.



# **CAPITULO II**

## **PLANTEAMIENTO OPERACIONAL**

## II. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

### 1. TÉCNICA, INSTRUMENTO Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

#### 1.1. Técnica

En el presente trabajo de investigación se realiza con la técnica de observación laboratorial, como se ilustra en el siguiente cuadro:

Variable	Indicadores	Técnica
Candida albicans	- Revela caries - No revela caries	Observación laboratorial
Diente Bovino	- Aparición de mancha blanca. - Verificación de interrupción de continuidad del esmalte mediante microscopia de barrido	Observación laboratorial

#### 1.1.1. Especificación:

Para el presente proyecto de investigación se observa si la *Cándida albicans* es capaz de producir caries en dientes de bovino. Como un resumen del procedimiento realizado, empezamos cultivando la *Cándida albicans* en el laboratorio, después se realizó discos de diente de bovino en medidas posteriormente detalladas. Se colocó los discos previamente sembrados con Cándida en pozos con medio agar Sabouraud 6ml para conservar la Cándida y se evaluó los resultados en la pieza dentaria en días de control.

Se observó si existe o no caries con material revelador y posterior vista en el microscopio electrónico. Cuando tuvimos todos los resultados los manejamos y sintetizamos.

#### 1.1.2. Descripción de la Técnica:

- Se utilizaron 12 discos de diente de bovino de 1 cm de diámetro con 1-2 mm de espesor.
- Se desinfecto la cabina de seguridad para realizar cada procedimiento debido a que así hemos asegurado el aislamiento de cualquier otro microorganismo.
- Se tuvo la cepa de *Candida albicans* incubada y se revitalizo con Agar Sabouraud.
- Se colocó suspensiones de 80 uL del microorganismo sobre los discos a excepción de 3 de ellos que serán denominados nuestro “control negativo” en una placa Petri y se dejaron durante 60 minutos.
- Pasado el tiempo los discos se depositaron en placas de cultivo de tejidos de 6 pocillos en donde se colocó 3 discos en cada pocillo previamente enjuagados y fueron sumergidos en 6 ml de caldo Agar Sabouraud y colocados a 37°C en la estufa.
- Cada 3 días se revisó la cantidad de caldo que tienen los pocillos y se aumentó nuevamente cuando fue necesario.
- A los 7 días se realizó el primer control, utilizando indicador de caries Sable Seek de la marca Ultradent.
- Se retiraron 2 discos del pocillo y se lavaron 3 veces con agua destilada, se dejó secar en una placa Petri durante 10 minutos.
- Se retiro el tercer disco del pocillo se lavó y se separó para MEB.
- Se procedió al pintado de los 2 discos con el indicador de caries en toda la superficie del esmalte y se dejó actuar durante 1 minuto.
- Después del tiempo, los discos se lavaron con agua destilada tres veces.
- Después del lavado se observó si el indicador de caries ha desaparecido o no por completo y se anotó en la ficha de recolección de datos.
- Cada disco revelado fue llevado al microscopio electrónico para ser observado con más detalle.

- Luego el tercer disco de cada grupo fue separado en una placa Petri sin revelar, para así ser llevado a microscopia electrónica de barrido.
- Se guardaron los discos revelados en placas Petri rotulados de cada control en la estufa del laboratorio a 37°C.
- Este procedimiento tuvo 3 controles en donde se observó si se revela o no caries dental.
- Se repite el procedimiento en cada control.

### 1.1.3. Diseño Investigativo:

- a) **Tipo:** Laboratorial
- b) **Esquema básico Diseño:** Experimental

## 2. INSTRUMENTO

### 2.1. Instrumento documental

#### Estructura del documento:

MEDICIÓN	VARIABLES INVESTIGATIVAS	EJES	INDICADORES
Controles pasados los 7 – 14 – 21 días	Aparición de caries por <i>Candida albicans</i>	I	Revela caries No revela caries

#### Modelo del Instrumento:

Como instrumento documental se utilizó: La Ficha de recolección de datos. Cuya estructura esquemática es la siguiente:

## INSTRUMENTO DE MEDICIÓN

Grupo experimental: \_\_\_\_\_

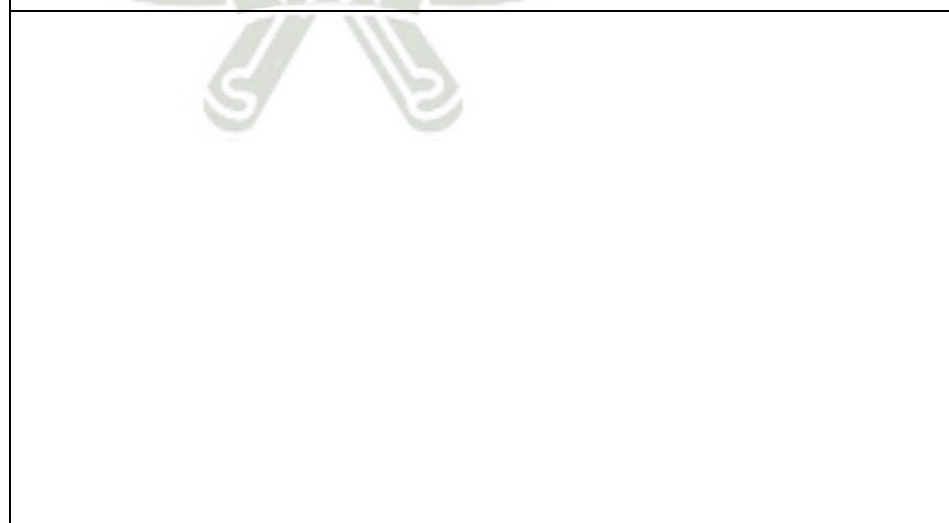
Disco N° \_\_

Reveló caries	
No reveló caries	

### FOTOGRAFÍA DE MICROSCOPIA (ESTEREOSCOPIO)



### FOTOGRAFÍA DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO



### 2.1.1. Instrumentos Mecánicos:

- Microscopio
- Estufa
- Autoclave
- Cabina de bioseguridad
- Micropipeta
- Frascos de vidrio
- Matraces
- Cámara fotográfica

### 2.1.2. Materiales:

- Pinzas
- Placas Petri
- Agua destilada
- Cepa de *Candida albicans* ATCC 2091
- Discos de diente de bovino de 1cm de diámetro y 1-2 mm de espesor
- Campo de trabajo
- Hisopos
- Barbijos
- Gorros
- Guantes
- Placa de 6 pocillos
- Caldo de cultivo Agar Sabouraud
- Revelador Sable Seek Ultradent

## 3. CAMPO DE VERIFICACIÓN

### Ubicación Espacial

#### 3.1. Ámbito General

La investigación se realizó en el ámbito general de Arequipa urbana en las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María.

#### 3.2. Ámbito Específico:

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

## Ubicación Temporal

La investigación descrita se efectuó en el primer semestre del 2024

## Unidades de Estudio

### a. Unidades de Análisis

Doce discos de 1cm de diámetro y de 1-2 mm de espesor de dientes de bovino.

### b. Muestra

Distribución estratificada de la muestra:

GRUPOS	N°	N° MEB
GE1 (control negativo)	3	
GE2 (Grupo experimental 7 días)	2	1
GE3 (Grupo experimental 14 días)	2	1
GE4 (Grupo experimental 21 días)	2	1

### c. Identificación de grupos

Se utilizaron 4 grupos de estudio GE1, GE2, GE3, GE4 y dentro de ellos 3 subgrupos SG2, SG3, SG4 que serán llevados a Microscopia Electrónica de Barrido.

### d. Igualación cualitativa

- **Criterios incluyentes de los casos:**

No corresponde

- **Criterios excluyentes de los casos:**

No corresponde

## 4. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 4.1. Organización

- Se obtuvo la aprobación del proyecto de tesis.

- Se presentó la solicitud de autorización para la utilización de laboratorio.
- Se adquirió los materiales.
- Se realizó la parte experimental en el laboratorio.

#### 4.2. Recursos

##### a. Recursos Humanos

Investigadora: Daniela Giuliana Paniagua Caira

Asesor: PhD. Luis Alberto Ponce Soto

##### b. Recursos Físicos:

- Laptop con acceso a internet.
- Programa estadístico Graph Pad Prisma v.8
- Paquete Microsoft Office Word, Excel y Power Point

##### c. Recursos Institucionales

Instalaciones de los laboratorios y biblioteca virtual de la Universidad Católica de Santa María

##### d. Recursos Financieros

El presente trabajo de investigación fue financiado por la autora.

### 5. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

#### 5.1. Plan de Procesamiento de datos


El ordenamiento de los datos fue de tipo computarizado utilizando el programa Microsoft Word, Excel y Graph Pad Prisma v.8 para el análisis de resultados.

#### 5.2. Plan de Análisis de los Datos

##### a. Tratamiento Estadístico

#### CUADRO DE TRATAMIENTO ESTADISTICO

Variable	Indicadores	Escalas de medición	Análisis y medición	Pruebas Estadísticas
Producción de caries por Cándida Albicans	Mancha blanca	Intervalo continuo	Estadística de apreciación crítica	ANOVA II VIA

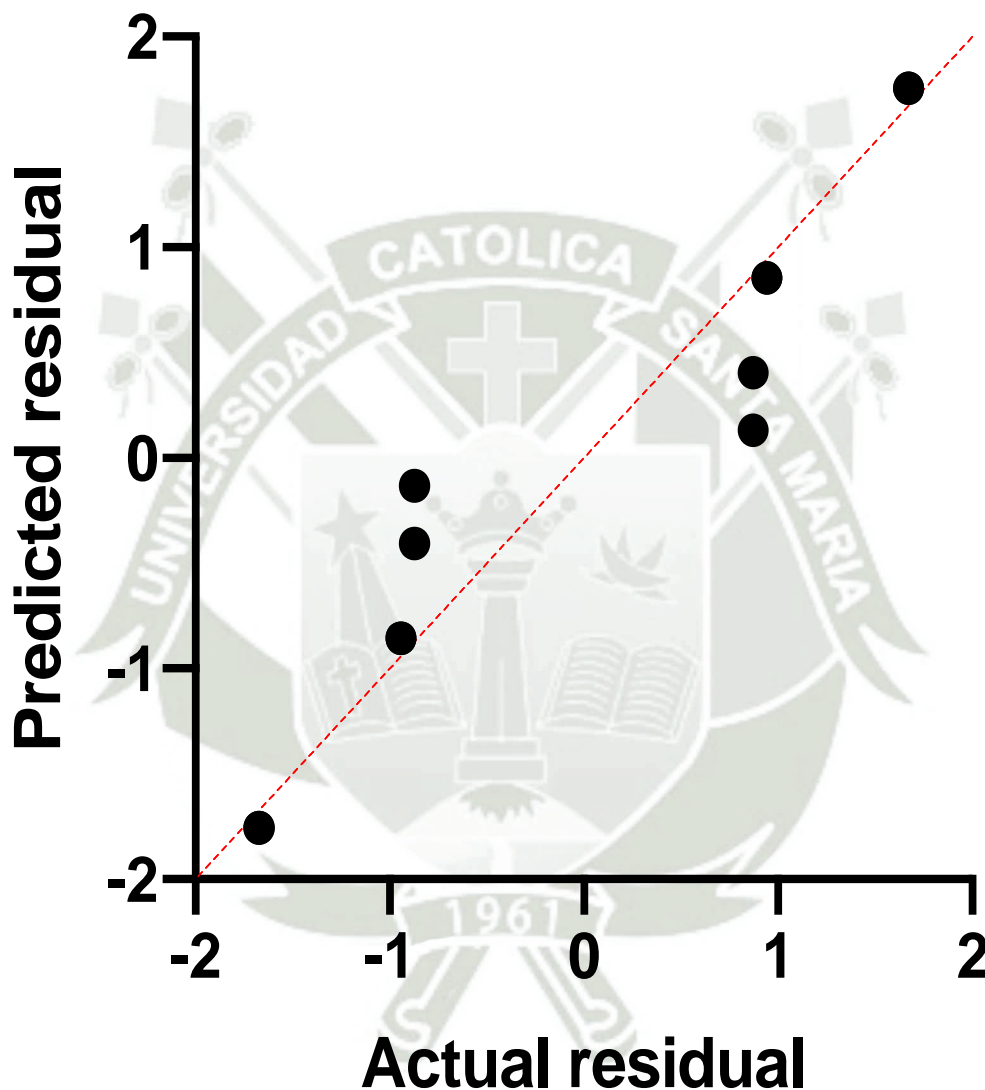


# **CAPITULO III RESULTADOS**

GRAFICO N°1

Línea de Progresión

# QQ plot



**Nota. Matriz de Registro y Control**

En el presente gráfico nos muestra que los datos son homogéneos, esto debido a que se presenta una línea de progresión positiva, por lo que nuestros datos están representando consistencia a lo largo del estudio siendo así que usamos una estadística paramétrica.

**TABLA N°1**

**Capacidad cariogénica de *Candida albicans* mostrando la diferencia entre Área revelada y sin Revelar con el Tiempo**

<b>TABLA ANALIZADA</b>	<b>DATA 1</b>			
ANOVA RM bidireccional	Coincidencia: En toda la fila			
Asume esfericidad	Si			
Alpha	0.05			
<b>FUENTE DE VARIACIÓN</b>	<b>% DE VARIACIÓN TOTAL</b>	<b>P VALOR</b>	<b>RESUMEN DEL VALOR P</b>	<b>SIGNIFICANCIA</b>
<b>Factor de Fila x Tiempo</b>	28.74	0.0005	***	Si
<b>Factor de Fila</b>	1.626E-19	0.9799	ns	No
<b>Tiempo</b>	71.09	<0.0001	****	Si
<b>Sujeto</b>	1.195E-17	>0.9999	ns	No

**Nota. Matriz de Registro y Control**

La tabla N°1 muestra ambas áreas, el área revelada y sin revelar, con el tiempo determinando que, si existe diferencia entre el tiempo y las áreas reveladas como con las no reveladas.

**TABLA N°2**

**Comparación de la Capacidad Cariogénica y Exposición de Mancha Blanca por  
*Candida Albicans* en el Tiempo**

<b>NUMERO DE FAMILIAS</b>	2				
<b>NUMERO DE COMPARACIONES POR FAMILIA</b>	3				
<b>ALPHA</b>	0.05				
<b>PRUEBA DE COMPARACIONES MULTIPLES DE TUKEY</b>	<b>DIFERENCIA MEDIA</b>	<b>95.00% CI DE DIFERENCIA.</b>	<b>¿POR DEBAJO DEL UMBRAL?</b>	<b>RESUMEN</b>	<b>VALOR P AJUSTADO</b>
<b>S/R</b>					
7 días vs. 14 días	24.3	19.02 al 29.57	Si	****	<0.0001
7 días vs. 21 días	37.88	32.61 al 43.16	Si	****	<0.0001
14 días vs. 21 días	13.59	8.311 al 18.86	Si	***	0.0005
<b>Revelado</b>					
7 días vs. 14 días	-24.3	-29.57 al -19.02	Si	****	<0.0001
7 días vs. 21 días	-37.88	-43.16 al -32.61	Si	****	<0.0001
14 días vs. 21 días	-13.59	-18.86 al -8.311	Si	***	0.0005

**Nota. Matriz de Registro y Control**

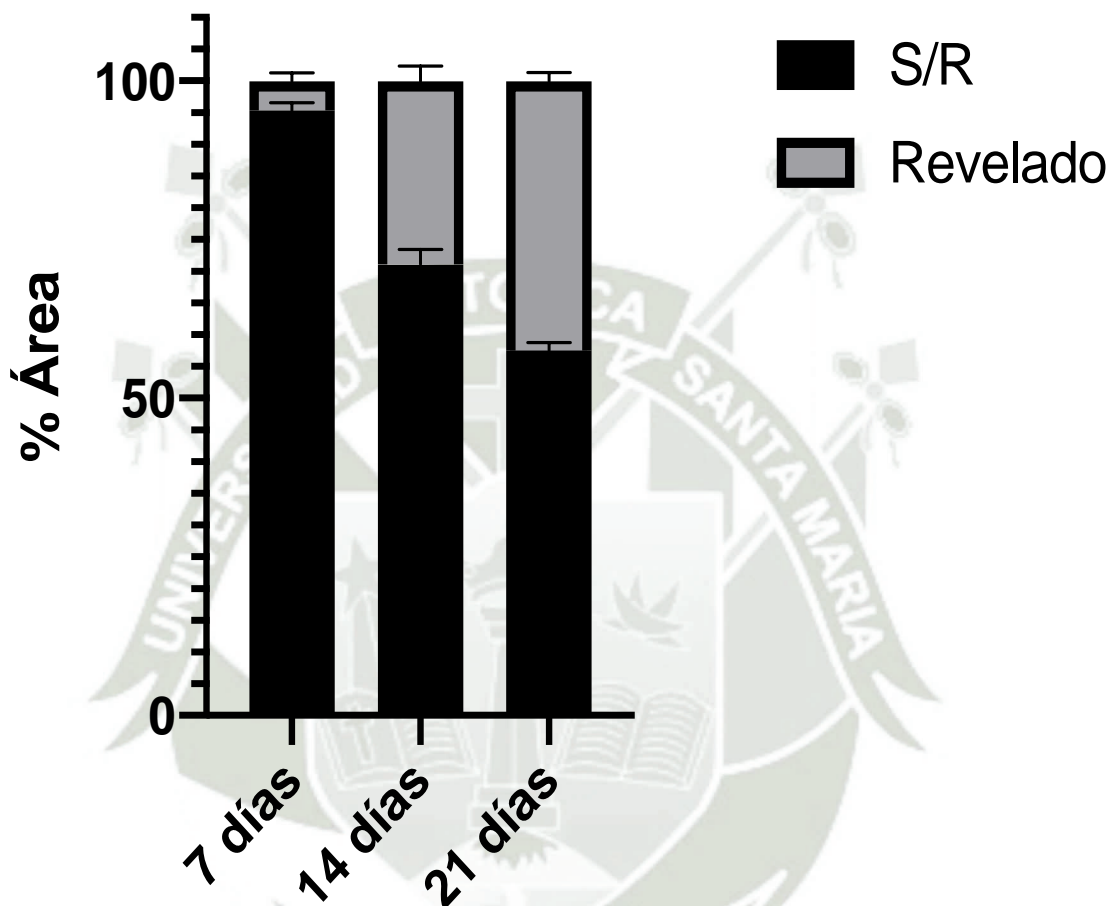
La tabla N°2 contiene las diferencias que existen comparando los tiempos de control con el área revelada y sin revelar, por lo que nos muestra que, aplicando la prueba estadística Tukey en el área sin revelar entre 7 y 14 días hubo diferencia estadísticamente significativa <0.0001 al igual que entre los días 7 y 21 que presento estadística significativa <0.0001, a diferencia de los días entre 14 y 21 que si bien hubo diferencia 0.0005 no es tan significativa como se dio en los días previos.

Es decir, el área sin revelar disminuyo relevantemente comparando los días 7 – 14 y 7-21 a diferencia de la comparación que se dio entre 14 – 21 días que el área sin revelar no disminuyo de manera considerable.

En consecuencia, en el área revelada hubo un aumento relevantemente en los días 7 – 14 y 14 – 21 y en comparación entre los días 14 y 21 aumenta el área revelada pero no de manera significativa.

GRAFICO N°2

Capacidad Cariogénica de *Candida Albicans* en el Tiempo

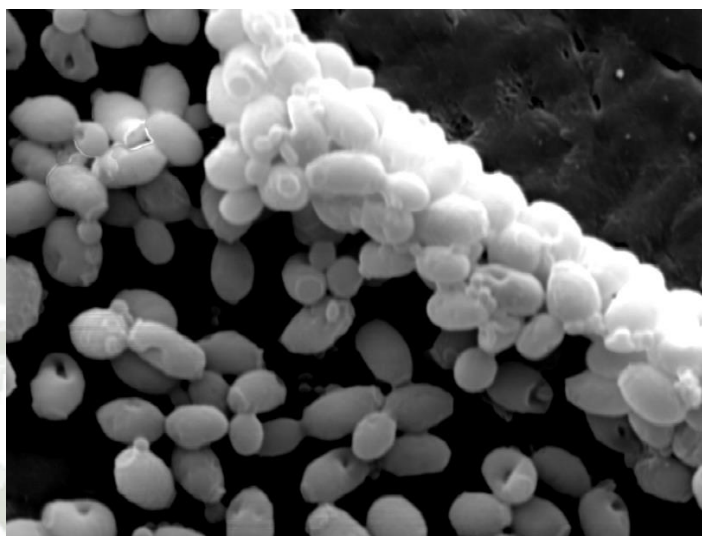


Nota. Matriz de Registro y Control

El gráfico N°2 muestra que el área revelada y sin revelar se modifican ambas con el tiempo; se interpreta que en los días 7 – 14 es en donde existe la diferencia más significativa, ya que en el control posterior hubo diferencia, pero no tan significativa como la que se muestra en los primeros 14 días.

### FIGURA N°1

#### MEB - Control Siete Días

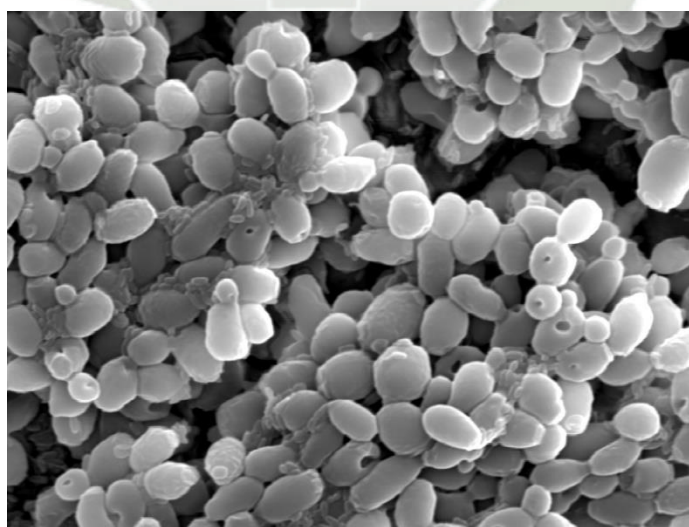


#### Nota: Matriz de Registro y Control

Biofilm formado por *Cándida Albicans* produciendo caries de esmalte en el primer control de 7 días mostrado en microscopia electrónica de barrido a 20.000 aumentos.

### FIGURA N°2

#### MEB - Control Catorce Días

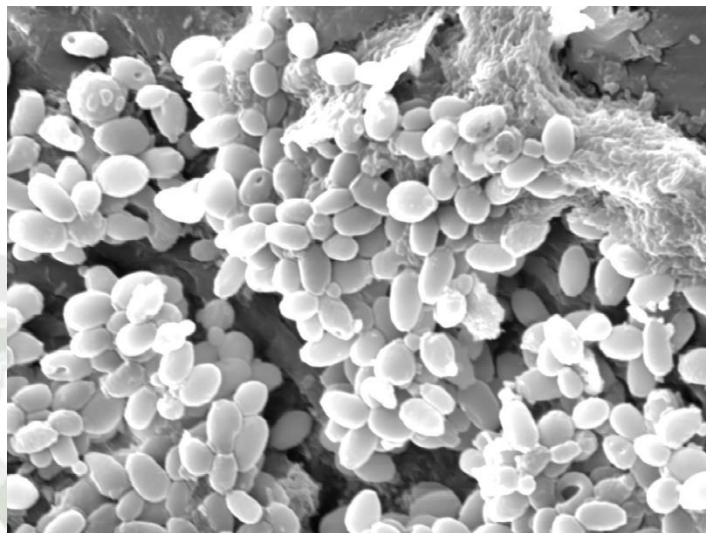


#### Nota: Matriz de Registro y Control

Biofilm complejo formado por *Cándida Albicans* produciendo caries de esmalte en el segundo control de 14 días en microscopia electrónica de barrido a 20.000 aumentos

### FIGURA N°3

#### MEB - Control Veintiún Días



#### **Nota: Matriz de Registro y Control**

Biofilm con más complejidad formado por *Cándida Albicans* produciendo caries de esmalte en el tercer control de 21 días en microscopía electrónica de barrido a 20.000 aumentos.

## DISCUSIÓN

Los hallazgos del presente estudio mostraron que *Candida Albicans* separadamente tiene la capacidad de adherirse a la superficie del esmalte y colonizar la superficie dental, causando daños a la estructura dura del diente; en el estudio de Caroline de Abreu Brandi, se investigó el potencial desmineralizante del biofilm dental añadido con *Candida albicans* y parapsilosis aislado de niños en edad preescolar con y sin caries, donde mencionan que *Candida albicans* y *Candida parapsilosis* indujeron la desmineralización del esmalte por lo cual coincidimos con esa información, sin embargo el estudio concluye que estas especies potencian la acción del biofilm cariogénico (37) lo que no concordamos con el término “potencia” ya que la presente tesis demuestra que *Candida albicans* es capaz de producir cariogénicidad en el biofilm.

Gustavo Eidt realizó una revisión sistemática y metaanálisis de *Cándida* y caries dental en niños adolescentes y adultos en donde se obtuvo que la presencia de caries en personas que hospedan *Candida albicans* fluctúa entre un 27.7% y 100% resultado mayor que en los individuos no hospederos de *Candida albicans*, también que de manera autónoma al lugar de ubicación de la muestra o edad, las personas que tienen presente a *Candida albicans* tienen una mayor presencia de caries dental comparado con aquellas personas sin la presencia de este (38) Concordamos con este resultado debido a que *Candida albicans* al tener potencial cariogénico ocasiona una mayor prevalencia de caries; la razón de esto es desconocida debido a que se desconoce el factor de virulencia de *Candida albicans* responsable de la formación de caries, sin embargo, la característica como su naturaleza acidúrica, su capacidad fermentativa de azúcares, su capacidad de desarrollo de biopelículas robustas e incluso es capaz de producir enzimas que degradan el colágeno hacen importante su papel como responsable de la enfermedad de caries.

Asimismo, Kinkle investigó caries dental en ratas asociada a *Candida albicans* y uno de sus resultados proporcionan evidencia experimental de que *Candida albicans* es capaz de causar caries oclusal en ratas en un índice elevado; si bien no enfocan ni resaltan a *Candida albicans* con el papel cariogénico que debería, si aceptan la capacidad de producción de caries en zonas oclusales (36). El presente estudio de investigación apoya estos resultados teniendo en cuenta que se observó que la *Candida albicans* por si sola produce mancha blanca es decir, desmineralización del esmalte dental y el mayor porcentaje se da en los primeros 14 días mientras que posterior a estos el área revelada se da en menor porcentaje.

## CONCLUSIONES

### **PRIMERA:**

Teniendo en cuenta todos los aspectos analizados en el presente estudio, se concluye que la *Candida albicans* tiene la capacidad de cariogénicidad de manera aislada, lo que significa que independientemente del *Streptococcus mutans* es capaz de formar una biopelícula cariogénica.

### **SEGUNDA:**

Con los resultados obtenidos podemos concluir que la sustancia reveladora expone mancha blanca producido por *Candida albicans*. En los primeros 7 días aparece la mancha blanca y se observa la mayor diferencia de área revelada en los días entre 7 a 14 días, por lo tanto, con estos resultados podemos decir que la formación de mancha blanca ocurre con mayor potencia en los primeros 14 días.

### **TERCERA:**

Teniendo los resultados de la microscopia electrónica de barrido podemos concluir que se presenta una interrupción en la continuidad del esmalte ocasionado por el biofilm cariogénico que forma la *Candida albicans*.

### **CUARTA:**

Podemos concluir que el microorganismo *Candida albicans* es capaz de provocar la enfermedad de caries independientemente de otros microorganismos, tiene por si sola la capacidad cariogénica que provoca la desmineralización del esmalte y debe de ser considerada en la etiología bacteriana de la caries dental.

## RECOMENDACIONES

### **PRIMERA:**

Se recomienda a futuros tesisistas investigar a profundidad el tema de la capacidad cariogénica de la *Cándida albicans* puesto que se desconoce el componente que presenta este microorganismo para producir caries, a diferencia del *Streptococcus Mutans* que se conoce que la matriz de exopolisacárido (EPS) es considerada un determinante de virulencia del biofilm cariogénico.

### **SEGUNDA:**

Se recomienda realizar más investigaciones sobre la capacidad cariogénica de *Cándida albicans*, en distintas concentraciones de glucosa porque conocer el ambiente en el que se desarrolla la cariogenicidad de la *Cándida albicans* es muy importante para tratamientos preventivos esto con el antecedente del estudio realizado por Kinkle en 2009 se afirma que *Cándida albicans* depende de altas concentraciones de azúcares en la dieta para producir ácido y por lo tanto la progresión de la caries se da en cuanto a la proporción de sacarosa y glucosa en la dieta.

### **TERCERA:**

Se recomienda investigar terapias de tratamiento a nivel preventivo que no solo se enfoque en el *Streptococcus Mutans* sino que incluyan a la *Cándida Albicans* como agentes causales de la enfermedad de caries dental, combatiendo así la progresión de la enfermedad.

### **CUARTA:**

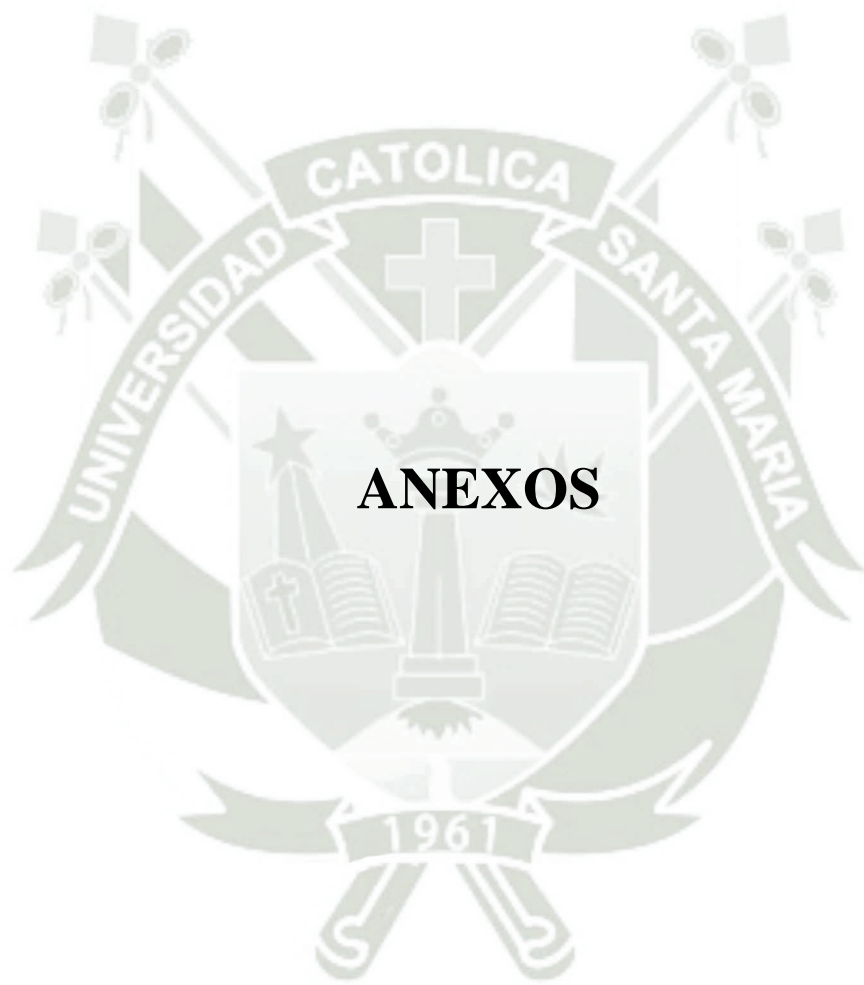
Se recomienda a la Facultad de Odontología potenciar la investigación profundizando así conocimientos nuevos y con relevancia internacional.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17030.
2. Tanzer JM. Dental caries is a transmissible infectious disease: the Keyes and Fitzgerald revolution. *J Dent Res*. 1995;74(9):1536-42.
3. Mathur VP, Dhillon JK. Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. *Indian J Pediatr*. 2018;85(3):202-6.
4. Asokan S, Nuvvula S. Diet and dental caries - The psychological perspective! *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2023;41(1):1-2.
5. Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol*. 2014;63(2):127-35.
6. Williams DM. Global oral health inequalities: the research agenda. *Adv Dent Res*. 2011;23(2):198-200.
7. Marsh PD, Do T, Beighton D, Devine DA. Influence of saliva on the oral microbiota. *Periodontol 2000*. 2016;70(1):80-92.
8. Baty JJ, Stoner SN, Scoffield JA. Oral Commensal Streptococci: Gatekeepers of the Oral Cavity. *J Bacteriol*. 2022;204(11):e0025722.
9. Pita PP, Rodrigues JA, Ota-Tsuzuki C, Miato TF, Zenobio EG, Giro G, et al. Oral Streptococci Biofilm Formation on Different Implant Surface Topographies. *Biomed Res Int*. 2015;2015:159625.
10. Hofling JF, Anibal PC, Obando-Pereda GA, Peixoto IA, Furletti VF, Foglio MA, et al. Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. *Braz J Biol*. 2010;70(4):1065-8.
11. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol*. 2000;54:413-37.
12. Marsh PD, Bradshaw DJ. Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol*. 1995;15(3):169-75.
13. Ehrlich GD, Arciola CR. From Koch's postulates to biofilm theory. The lesson of Bill Costerton. *Int J Artif Organs*. 2012;35(10):695-9.
14. Haffajee AD, Socransky SS. Microbiology of periodontal diseases: introduction. *Periodontol 2000*. 2005;38:9-12.
15. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998;25(2):134-44.

16. Abranches J, Zeng L, Kajfasz JK, Palmer SR, Chakraborty B, Wen ZT, et al. Biology of Oral Streptococci. *Microbiol Spectr*. 2018;6(5).
17. Okahashi N, Nakata M, Kuwata H, Kawabata S. Oral mitis group streptococci: A silent majority in our oral cavity. *Microbiol Immunol*. 2022;66(12):539-51.
18. Jakubovics NS, Yassin SA, Rickard AH. Community interactions of oral streptococci. *Adv Appl Microbiol*. 2014;87:43-110.
19. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr*. 2019;7(1).
20. Krzysciak W, Jurczak A, Koscielniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33(4):499-515.
21. Nakano K, Ooshima T. Serotype classification of *Streptococcus mutans* and its detection outside the oral cavity. *Future Microbiol*. 2009;4(7):891-902.
22. Forssten SD, Bjorklund M, Ouwehand AC. *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. *Nutrients*. 2010;2(3):290-8.
23. Krol JE, Biswas S, King C, Biswas I. SMU.746-SMU.747, a putative membrane permease complex, is involved in aciduricity, acidogenesis, and biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol*. 2014;196(1):129-39.
24. Rozen R, Steinberg D, Bachrach G. *Streptococcus mutans* fructosyltransferase interactions with glucans. *FEMS Microbiol Lett*. 2004;232(1):39-43.
25. Wang R, Wang Y, Lei Z, Hao L, Jiang L. Glucosyltransferase-modulated *Streptococcus mutans* adhesion to different surfaces involved in biofilm formation by atomic force microscopy. *Microbiol Immunol*. 2022;66(11):493-500.
26. Barrientos S, Rodriguez A. Production of glucosyltransferase B and glucans by *Streptococcus mutans* strains isolated from caries-free individuals. *Acta Odontol Latinoam*. 2011;24(3):258-64.
27. Senpuku H, Yonezawa H, Yoneda S, Suzuki I, Nagasawa R, Narisawa N. SMU.940 regulates dextran-dependent aggregation and biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *Mol Oral Microbiol*. 2018;33(1):47-58.
28. Shepherd MG, Poulter RT, Sullivan PA. *Candida albicans*: biology, genetics, and pathogenicity. *Annu Rev Microbiol*. 1985;39:579-614.
29. Wang Y. Looking into *Candida albicans* infection, host response, and antifungal strategies. *Virulence*. 2015;6(4):307-8.

30. Odds FC. Morphogenesis in *Candida albicans*. *Crit Rev Microbiol*. 1985;12(1):45-93.
31. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013;4(2):119-28.
32. Bowman BJ, Bowman EJ: H<sup>+</sup>-ATPasas de mitocondrias, membranas plasmáticas y vacuolas de células fúngicas. *J Miembro Biol* 1986;94: 83– 97.
33. Klinke T, Kneist S, de Soet JJ, Kuhlisch E, Mauersberger S, Forster A, Klimm W: Producción de ácido por cepas orales de *Candida albicans* y lactobacilos. *Caries Res* 2009;43:83–91.
34. Cannon RD, Nand AK, Jenkinson HF: Adherentes enencia de *Candida albicans* a los componentes de la saliva humana adsorbidos en hidroxiapatita. *Microbiología* 1995;141:213–219
35. Hagihara Y, Kaminishi H, Cho T, Tanaka M, Kaita H: Degradación del colágeno de la dentina humana por una enzima producida por la levadura *Candida albicans*. *Arco Oral Biol* 1988;33: 617–619.
36. Klinke T, Guggenheim B, Klimm W, Thurnheer T. Dental caries in rats associated with *Candida albicans*. *Caries Res*. 2011;45(2):100-6
37. Caroline de Abreu Brandi T, Portela MB, Lima PM, Castro GFBA, Maia LC, Fonseca-Gonçalves A. Demineralizing potential of dental biofilm added with *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* isolated from preschool children with and without caries. *Microb Pathog*. 2016;100:51-55.
38. Eidt G, Waltermann EDM, Hilgert JB, Arthur RA. *Candida* and dental caries in children, adolescents and adults: A systematic review and meta-analysis. *Arch Oral Biol*. 2020 Nov;119:104876. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020:104876.





**ANEXO N°1**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Grupo experimental: \_\_\_\_\_

Disco N° \_\_\_\_


Reveló caries	
No reveló caries	

#### FOTOGRAFÍA DE MICROSCOPIA (ESTEREOSCOPIO )



#### FOTOGRAFÍA DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO





**ANEXO N°2**  
**CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA USO**  
**DE LABORATORIO**

**Anexo N°1: Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM:**

Arequipa, 15 de marzo del 2024

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

Estimado Doctor Luis Ponce Soto, por medio de la presente yo, Paniagua Caira Daniela Giuliana, identificada con el DNI n° 70834703 y código de alumno 2019100832, deseo solicitar la autorización para trabajar en el Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM para la realización de mi proyecto de tesis titulado: **“CAPACIDAD CARIOGÉNICA DE LA CANDIDA ALBICANS: ESTUDIO IN VITRO, AREQUIPA 2024”**; para lograr mi objetivo de obtener el título de Cirujano Dentista.

Ruego a usted acceder a mi solicitud.

Atentamente:



---

Daniela Giuliana Paniagua Caira

DNI: 70834703



Vicerrectorado de  
Investigación

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIZACION

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

### DECLARO:

Que el trabajo de Investigación denominado: “**CAPACIDAD CARIOGÉNICA DE LA CANDIDA ALBICANS: ESTUDIO IN VITRO, AREQUIPA 2024**”, se realizará por la Alumna: **Paniagua Caira Daniela Giuliana** y docente Dr. **Ponce Soto Luis Alberto** en las instalaciones del laboratorio de Química de Proteínas, bajo mi supervisión.

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

Arequipa, 18 de Abril del 2024.

Atentamente,



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

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

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

Teléfono: 382038. Anexo 1111

Universidad Católica de Santa María de Arequipa – Perú



**ANEXO N°3**  
**CERTIFICACIÓN DE LA CEPA**  
**CANDIDA ALBICANS**

## DECLARACIÓN JURADA

El que suscribe *Dr. Gustavo Alberto Obando Pereda* con DNI N°40022316:

### DECLARO BAJO JURAMENTO:

Que, la cepa de *Cándida albicans*, utilizada en el Trabajo de Tesis de la Bachiller **Daniela Giuliana Paniagua Caira**, es ATCC 2091, tal cual fue solicitada a la firma GENLAB, de acuerdo a la cotización en adjunto.

Declaro para los fines solicitados la presente información.

Arequipa, 17 de Abril del 2024.



*Dr Gustavo Alberto Obando Pereda*  
DNI 40022316  
DOCENTE INVESTIGADOR



**ANEXO N°4**  
**CONSTANCIA DE MEB**



Vicerrectorado de  
Investigación

# CONSTANCIA

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

## DECLARO:

Que el trabajo bajo la ejecución del proyecto Temático: "**Presencia de especies de *Cándida sp*, en lesiones orales: Caracterización Estructural, Funcional y Factores de Virulencia**", a cargo del Dr. Gustavo Alberto Obando Pereda, del cual se desprende el Trabajo de Tesis: "**Capacidad Cariogénica de *Candida albicans*: Estudio in vitro, Arequipa 2024, ejecutado por la Bachiller en Odontología: Daniela Giuliana Paniagua Caira, siendo que, el trabajo sobre microscopia electrónica de barrido, se ha realizado, bajo mi supervisión.**

Se expide la presente constancia para los fines debidos.

Arequipa, 22 de Abril del 2024.

Atentamente,



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

ORCID: [0000-0001-5976-2913](https://orcid.org/0000-0001-5976-2913)

<https://orcid.org/0000-0001-5976-2913>

Other IDs

Scopus Author ID: 8987609300

ResearcherID: B-1328-2017.

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

Teléfono: 382038. Anexo 1111

Universidad Católica de Santa María de Arequipa – Perú

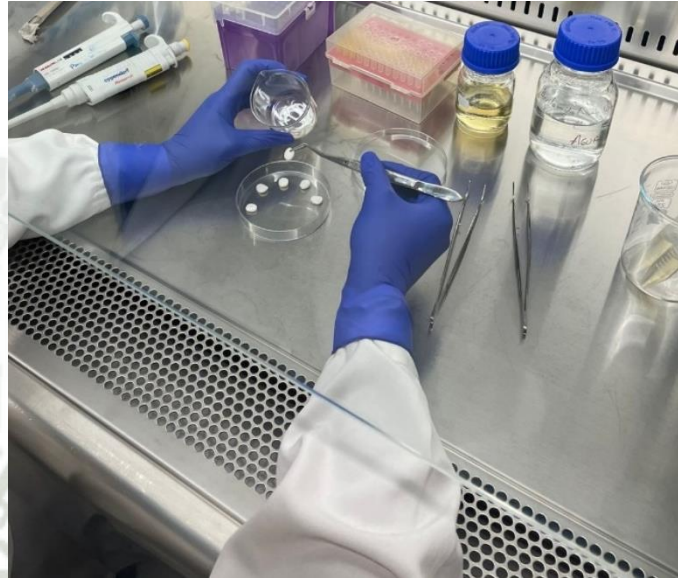


**ANEXO N°5**  
**SECUENCIA FOTOGRÁFICA**

## SECUENCIA FOTOGRAFICA

**Figura N°1**

Em la cabina de bioseguridad haciendo la distribución de 9 discos de diente de bovino.



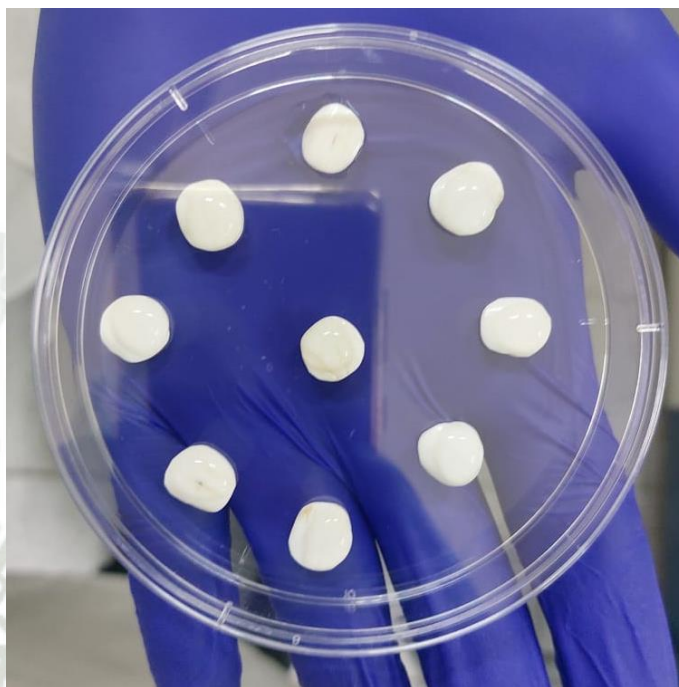
**Figura N°2**

Previamente se revitalizo la cepa con agar Sabouraud y se colocó en suspensiones de 80uL a cada disco con el uso de una micropipeta.



### Figura N°3

Los 9 discos con la suspensión de *Cándida Albicans* sobre el esmalte dental listos para llevar a la estufa a 37°C durante 60 minutos



### Figura N°4

Enjuague de los discos y colocación en las placas de cultivo de tejidos de 6 pocillos.



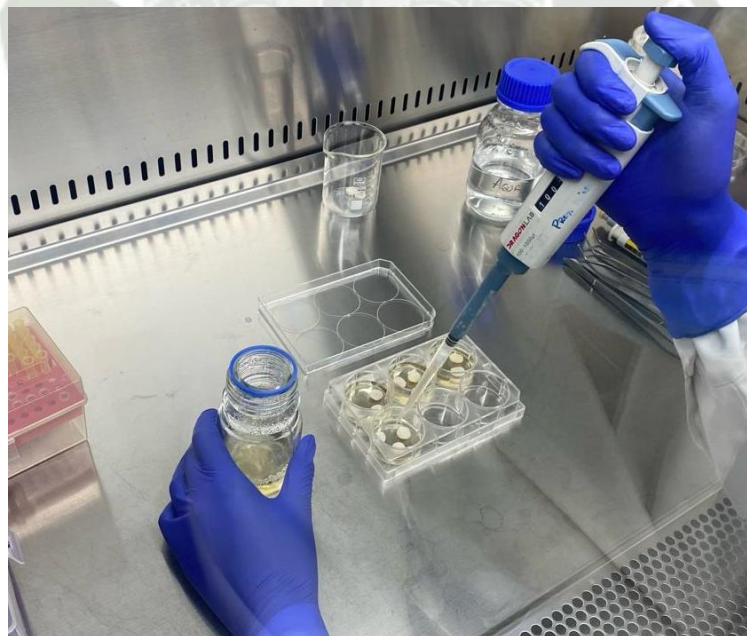
**Figura N°5**

Discos en las placas de cultivo de tejidos de 6 pocillos.



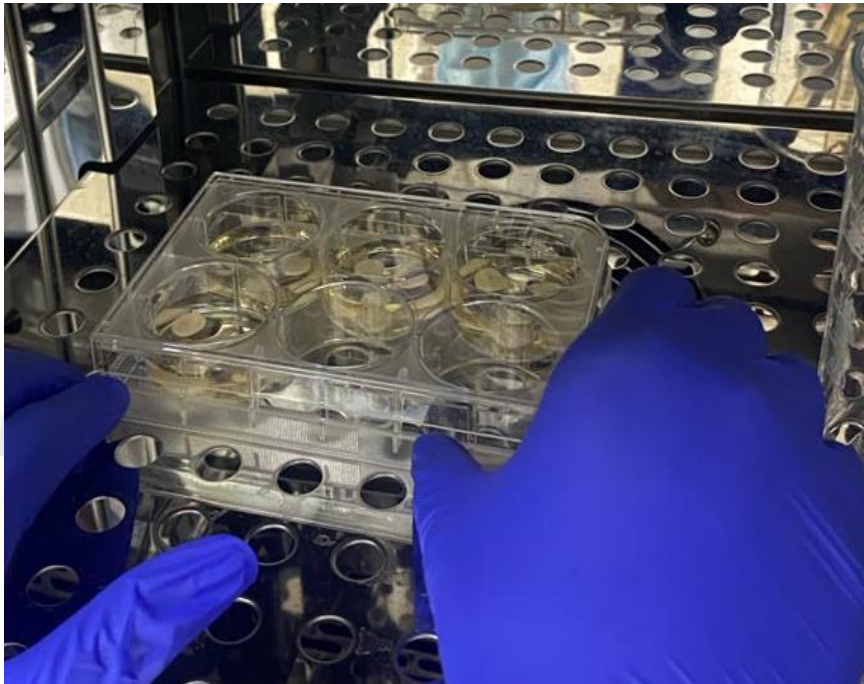
**Figura N°6**

Colocación de caldo Agar Sabouraud en cada pocillo.



### Figura N°7

Placa de tejidos de 6 pocillos con los discos y el caldo de cultivo colocados en la estufa a 37°C



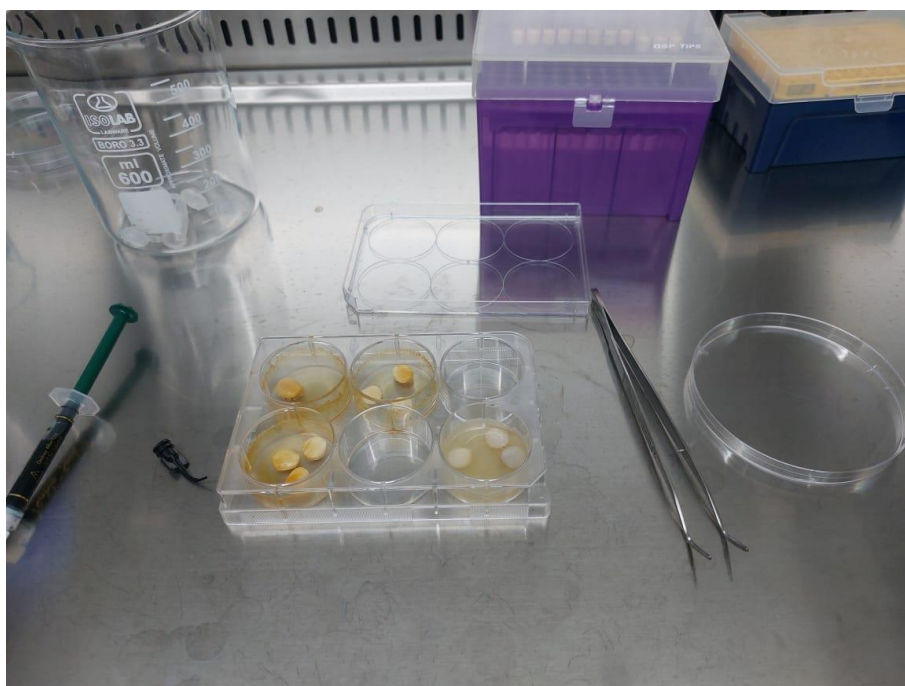
### Figura N°8

Revelador Sable Seek de la marca Ultradent.



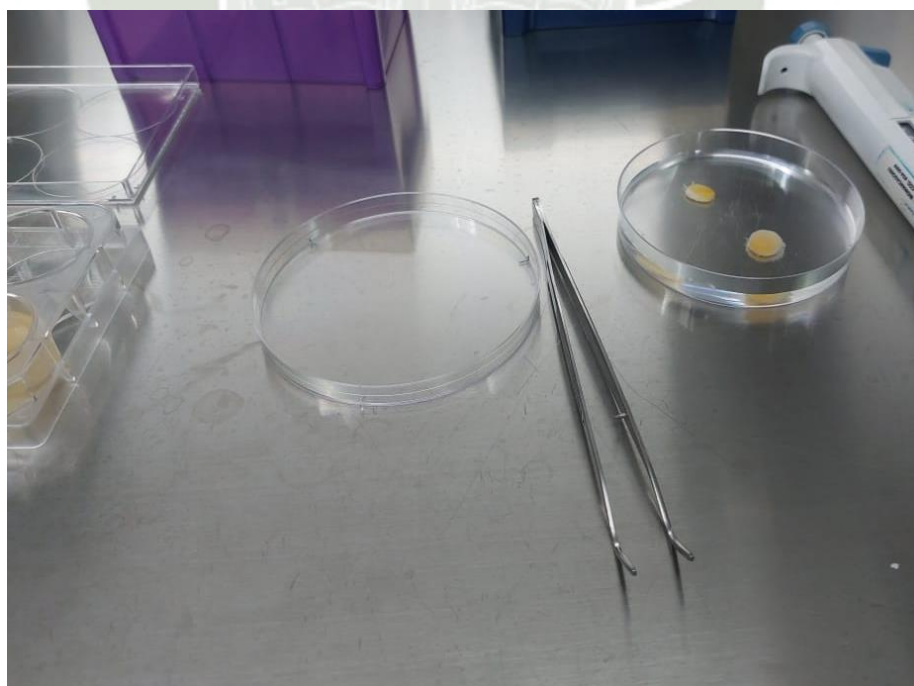
### Figura N°9

### Control respectivo en la cabina de seguridad



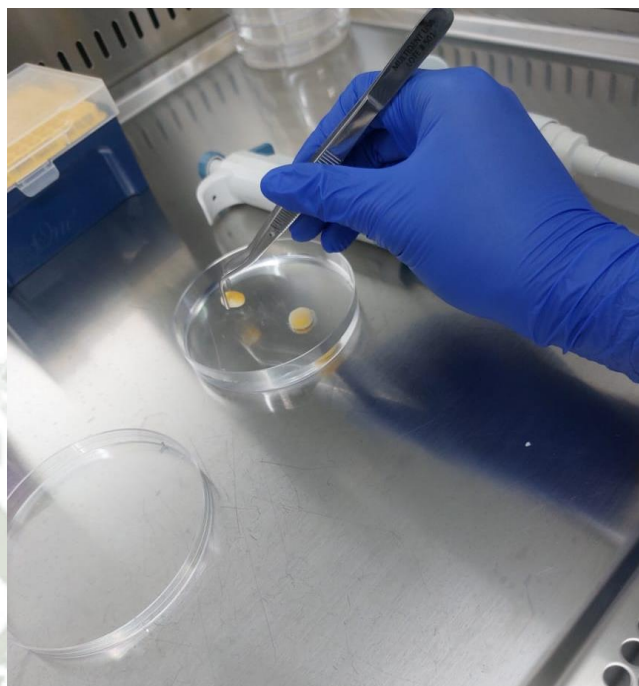
**Figura N°10**

G2 retiro de 2 discos llevados a agua destilada y el disco del Sub grupo 2 separado para ser lavado y guardado para MEB.



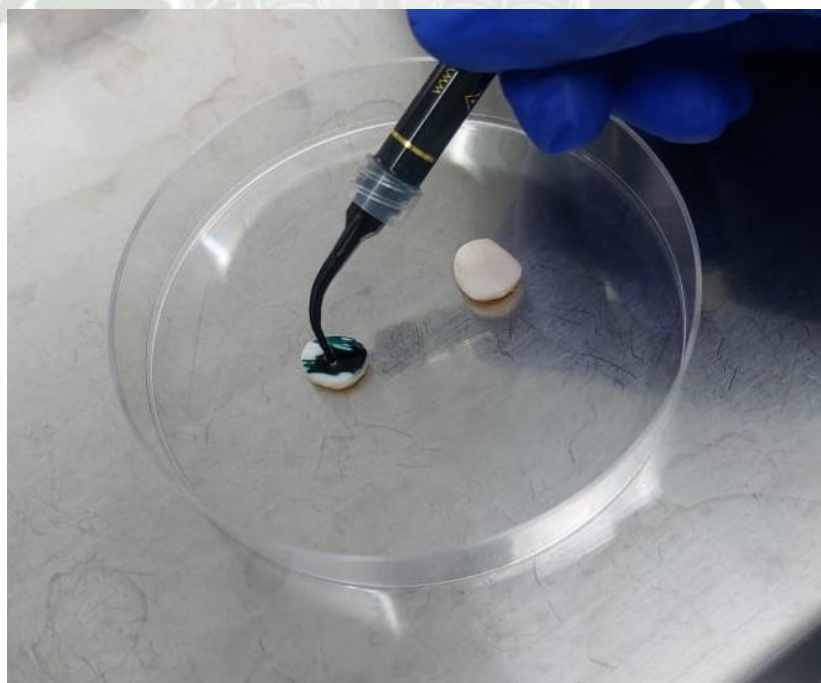
**Figura N°11**

Lavado de los discos del G2 en agua destilada.



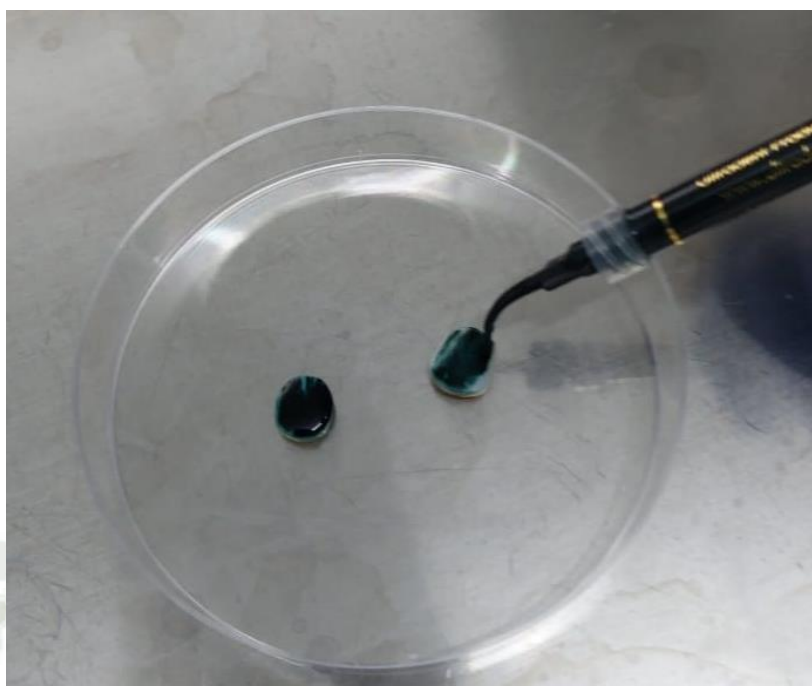
**Figura N°12**

Pintado de los discos con el revelador de caries Sable Seek.



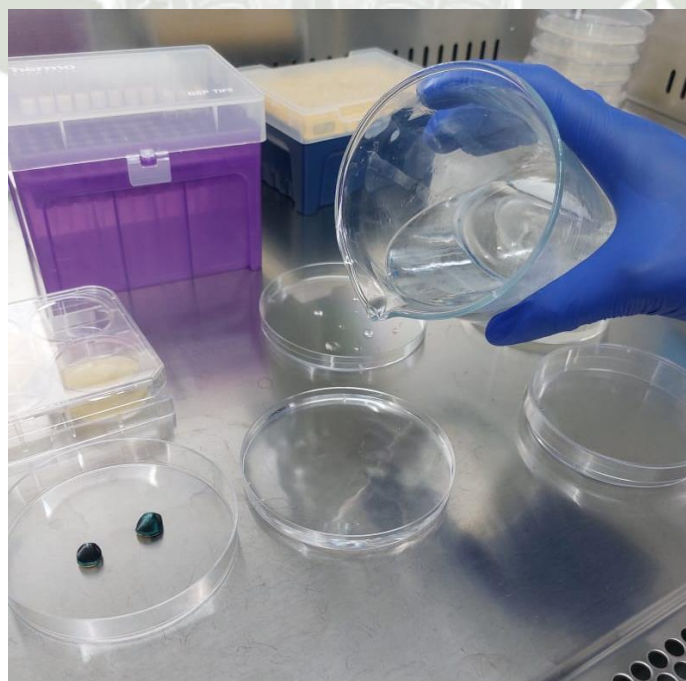
**Figura N°13**

Pintado de los discos con el revelador de caries Sable Seek.



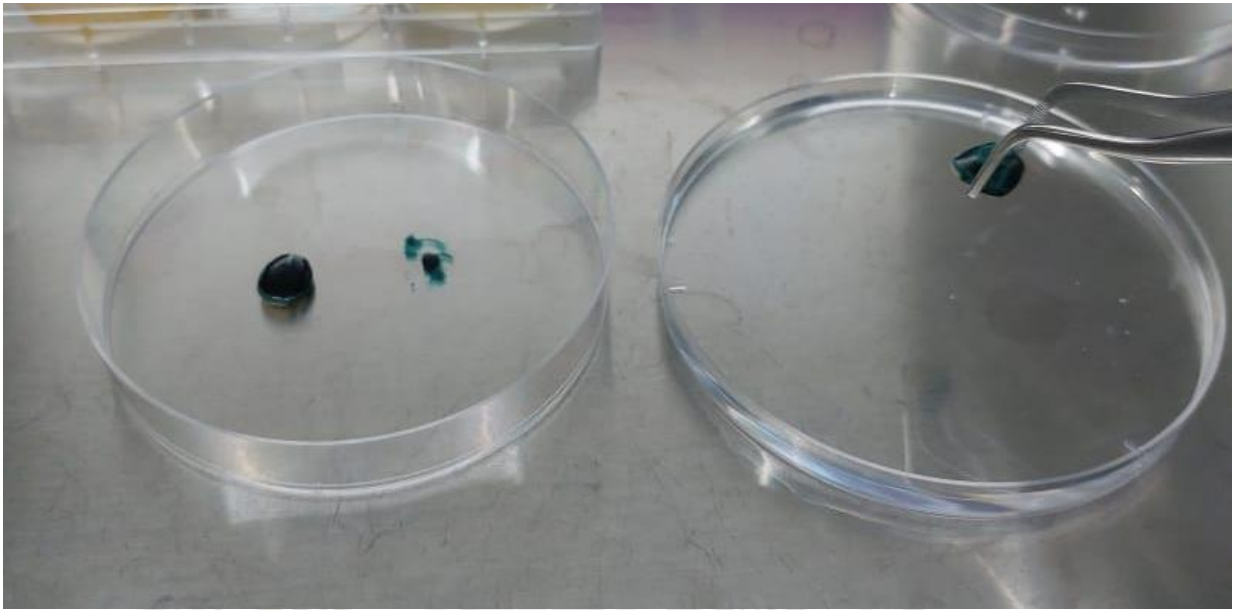
**Figura N°14**

Agua destilada para el lavado de los discos.



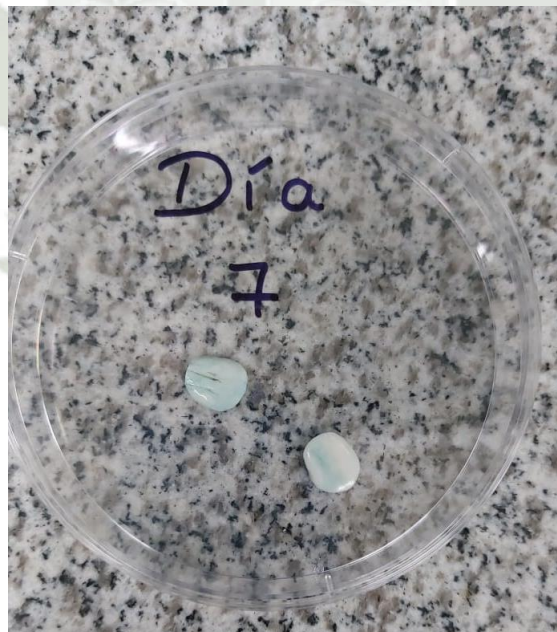
**Figura N°15**

Lavado de los discos pintados con revelador de caries en agua destilada.



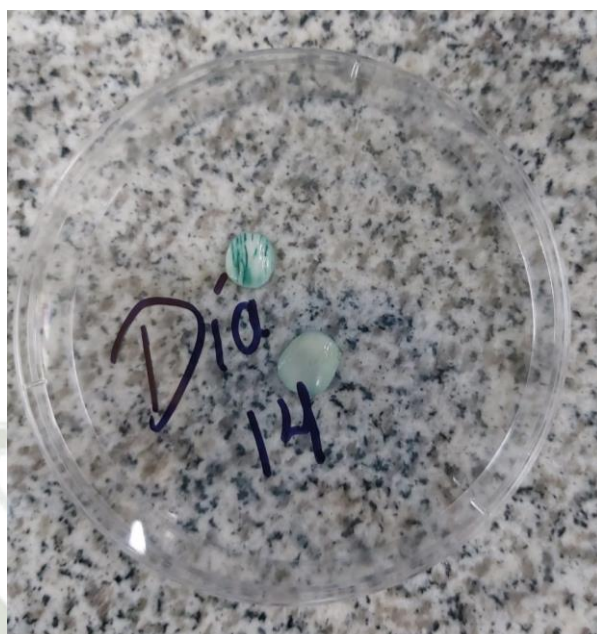
**Figura N°16**

Discos del G2 control de 7 días marcados con revelador de caries en una placa Petri rotulada.



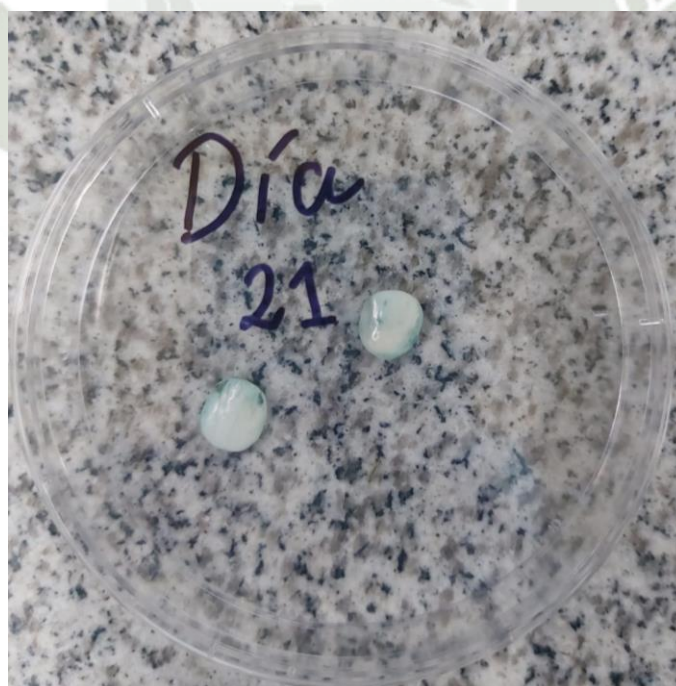
**Figura N°17**

Discos del G3 control de 14 días marcados con revelador de caries en una placa Petri rotulada.



**Figura N°18**

Discos del G4 control de 21 días marcados con revelador de caries en una placa Petri rotulada



**Figura N°19**

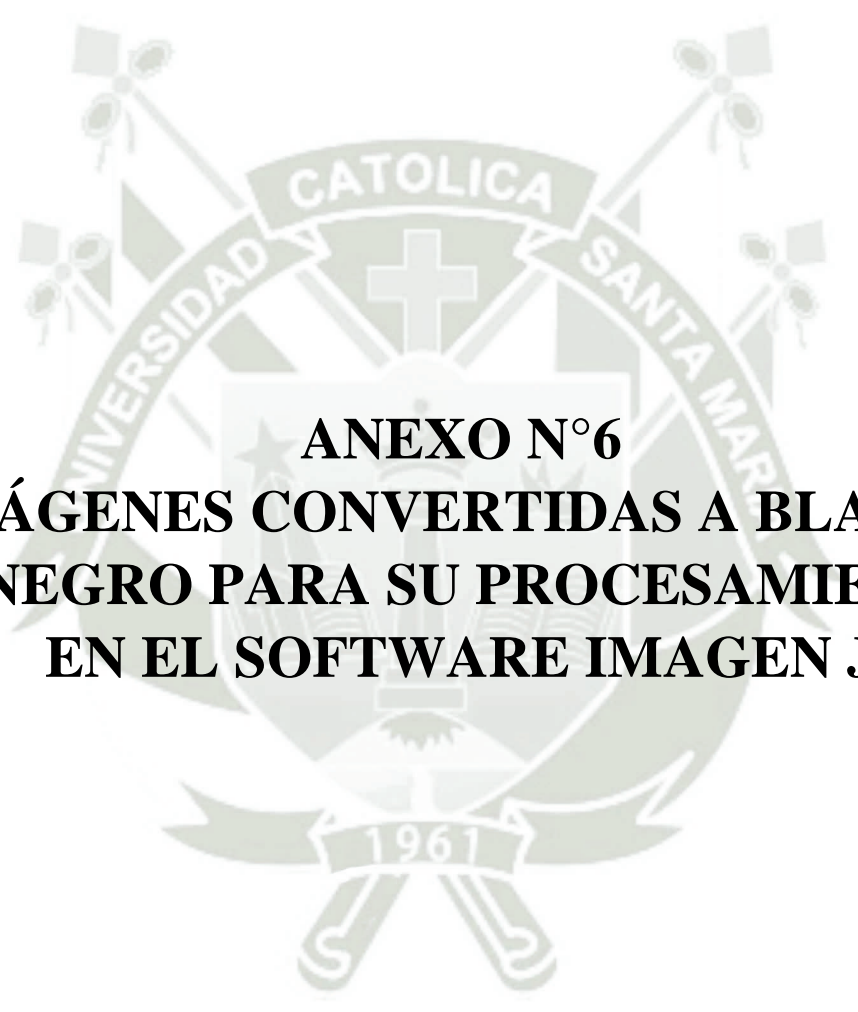
Subgrupos de los 3 grupos de control para MEB. (SG2, SG3, SG4)



**Figura N°20**

Almacenamiento de las muestras.

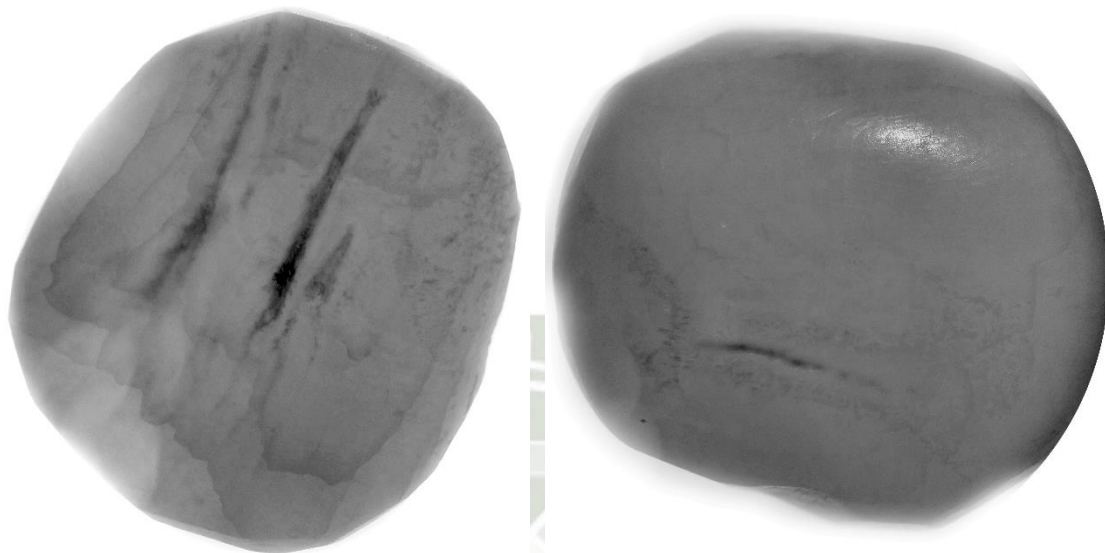




**ANEXO N°6**  
**IMÁGENES CONVERTIDAS A BLANCO**  
**Y NEGRO PARA SU PROCESAMIENTO**  
**EN EL SOFTWARE IMAGEN J**

**Figura N°1**

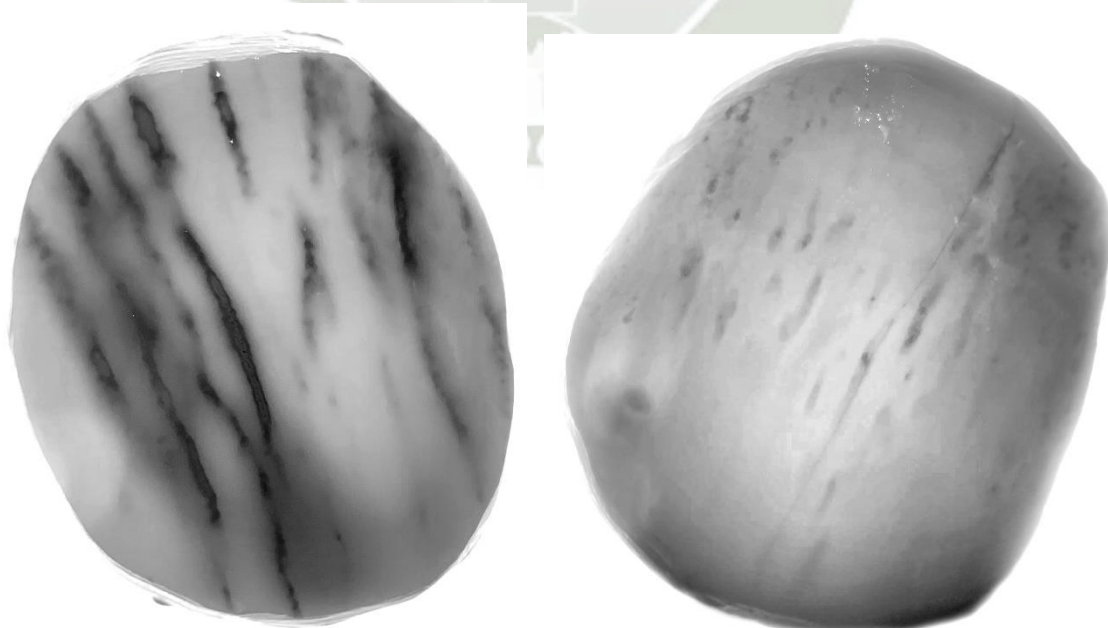
Fotografía de microscopio (Estereoscopio) día 7.



**Nota: Matriz de Registro y Control**

**Figura N°2**

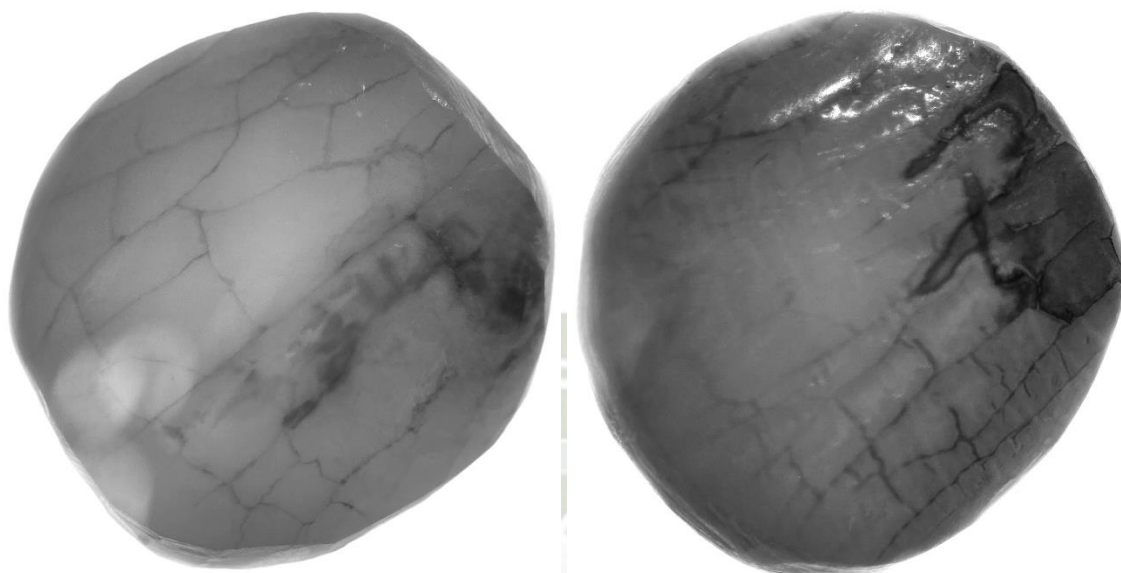
Fotografía de microscopio (Estereoscopio) día 14



**Nota: Matriz de Registro y Control**

**Figura N°3**

Fotografía de microscopio (Estereoscopio) día 21



**Nota: Matriz de Registro y Control**

