

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Odontología

Escuela Profesional de Odontología



**Efecto del sobrenadante de cultivo de Staphylococcus Aureus en la virulencia
de Candida Albicans – Arequipa 2024**

Tesis presentada por la Bachiller:

Chavez Borda, Emily Fiorella

ORCID: 0009-0006-7636-1971

para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Asesor (a):

Dr. Obando Pereda, Gustavo Alberto

ORCID: 0000-0001-6044-1551

Arequipa – Perú

2024

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ODONTOLOGIA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 25 de Julio del 2024

Dictamen: 012202-C-EPO-2024

Visto el borrador del expediente 012202, presentado por:

2019816162 - CHAVEZ BORDA EMILY FIORELLA

Titulado:

**EFFECTO DEL SOBRENADANTE DE CULTIVO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN LA VIRULENCIA
DE CANDIDA ALBICANS - AREQUIPA 2024**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

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

CIRUJANO DENTISTA

**29347686 - BALDARRAGO SALAS WILLMER JOSE
DICTAMINADOR**



**29328711 - CARDENAS VILCA TANIA ESTHER
DICTAMINADOR**



**44601950 - ALVARADO GOMEZ ALBERTO ARMANDO
DICTAMINADOR**



Efecto del sobrenadante de cultivo de Staphylococcus Aureus en la virulencia de Candida Albicans – Arequipa 2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

29%

INDICE DE SIMILITUD

29%

FUENTES DE INTERNET

13%

PUBLICACIONES

13%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

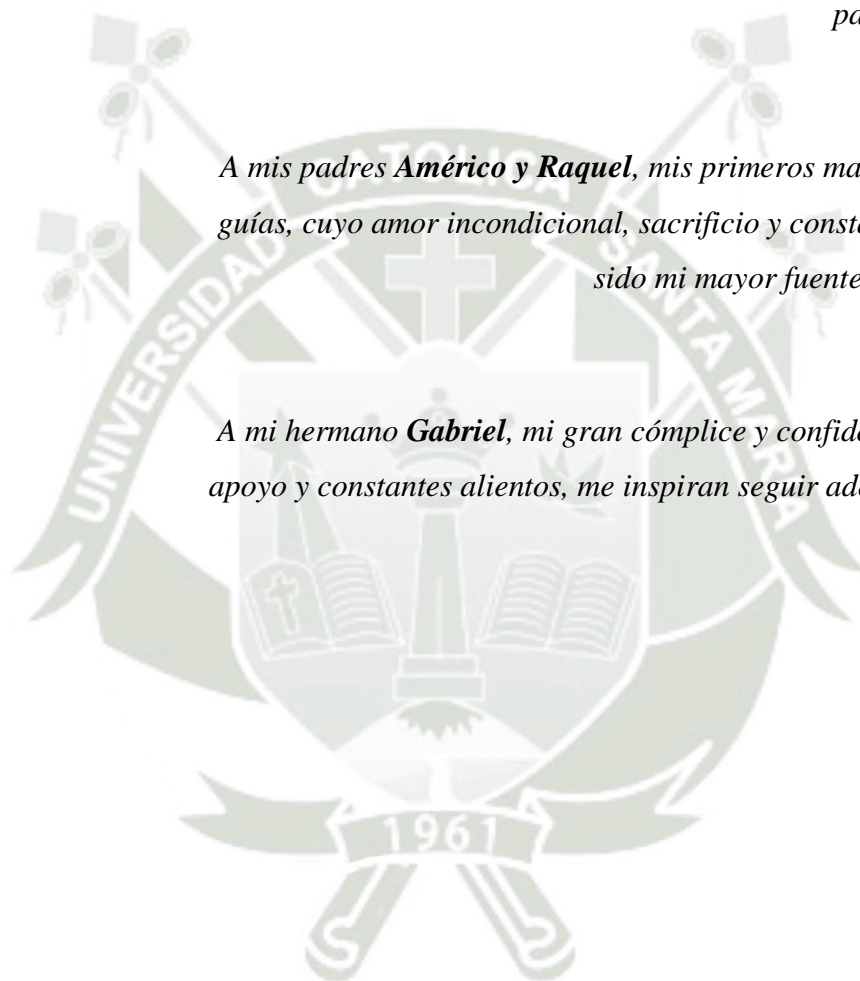
1	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	4%
2	www.cfsph.iastate.edu Fuente de Internet	2%
3	repositorio.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	1library.co Fuente de Internet	1%
5	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
6	link.springer.com Fuente de Internet	1%
7	repositorio.xoc.uam.mx Fuente de Internet	1%
8	research-information.bris.ac.uk Fuente de Internet	1%
9	ouci.dntb.gov.ua Fuente de Internet	

DEDICATORIA

*A **Dios**, por haber guiado cada paso de este camino, cuya mano siempre me ha sostenido y ha tejido los hilos de este esfuerzo con paciencia y amor.*

*A mis padres **Américo y Raquel**, mis primeros maestros y eternos guías, cuyo amor incondicional, sacrificio y constante apoyo, han sido mi mayor fuente de inspiración.*

*A mi hermano **Gabriel**, mi gran cómplice y confidente que, con su apoyo y constantes alientos, me inspiran seguir adelante cada día.*



AGRADECIMIENTOS

*A **Dios**, cuya guía y bendición han sido fundamentales en la superación de cada desafío a lo largo de mi vida.*

*A **mis padres**, por sus innumerables sacrificios y amor absoluto, por confiar en mis sueños y por estar siempre presentes en cada paso de mis logros.*

*A **mi hermano**, por su apoyo que ha sido fuente invaluable de fortaleza y motivación para mí.*

*A **mis docentes** que han sido parte de este proceso, por los conocimientos compartidos y ayuda esencial.*

*A mis amigas **Elena y Janny**, por su gran amistad y momentos compartidos durante toda esta etapa de mi vida.*

*A **Central Dentistas**, por sus conocimientos, paciencia y compromiso que fueron de gran ayuda en este gran paso de mi carrera profesional.*

EPÍGRAFE

"La diferencia entre lo ordinario y lo extraordinario es ese pequeño extra."

- Jimmy Johnson



RESUMEN

Objetivo: Esta investigación tiene por objeto determinar el efecto del sobrenadante de cultivo de *Staphylococcus aureus* de cavidad oral sobre la virulencia de *Candida albicans*.

Corresponde a un estudio de carácter experimental, prospectivo, de corte longitudinal, de tipo comparativo y de abordaje cuantitativo y cualitativo.

Método: Para la realización de esta investigación se inició con la extracción del sobrenadante de *Staphylococcus aureus* al cultivar esta bacteria procedente de la cavidad oral en caldo BHI (infusión cerebro corazón) durante 24 horas a 37 grados centígrados, para luego proceder a su centrifugación.

Posteriormente, tal sobrenadante obtenido se colocó en un porcentaje de 50/50 sobre la cepa de *Candida albicans* en una concentración 0.5 escala de McFarland y se cultivó durante 24, 48 y 72 horas en Agar Sabouraud, y al mismo tiempo se cultivó *Candida albicans* pura sin sobrenadante para comparar y verificar la morfología usando tinción gram y las unidades formadoras de colonia (agar Sabouraud). Posteriormente, se verificó la morfología, por medio de tinción gram y las unidades formadoras de colonia en el agar Sabouraud.

Resultados: Al tomar como base a los resultados de la prueba estadística aplicada, T de Student, las diferencias entre el grupo de muestras de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* y el grupo de muestras de *Candida albicans* puro son significativas.

Conclusiones: El sobrenadante de *Staphylococcus aureus* influye en la virulencia de la *Candida albicans*, al promover el cambio de morfología de levadura a hifa del hongo logrando aumentar su virulencia.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, sobrenadante, virulencia.

ABSTRACT

This research aims to determine the effect of culture supernatant of *Staphylococcus aureus* from the oral cavity on the virulence of *Candida albicans*.

It corresponds to an experimental, prospective, longitudinal, comparative study with a quantitative and qualitative approach.

To carry out this research, it began with the extraction of the *Staphylococcus aureus* supernatant by culturing this bacterium from the oral cavity in BHI broth (brain heart infusion) for 24 hours at 37 degrees Celsius, and then centrifuging it.

Subsequently, such supernatant obtained was placed in a 50/50 percentage on the *Candida albicans* strain at a concentration of 0.5 McFarland scale and was cultured for 24, 48 and 72 hours in Sabouraud Agar, and at the same time pure *Candida albicans* was cultured. without supernatant to compare and verify morphology using gram stain and colony forming units (Sabouraud agar). Subsequently, the morphology was verified by means of gram staining and the colony-forming units on Sabouraud agar.

Based on the results of the applied statistical test, Student's T, the differences between the group of *Candida albicans* samples with *Staphylococcus aureus* supernatant and the group of pure *Candida albicans* samples are significant, therefore the Supernatant of *Staphylococcus aureus* influences the virulence of *Candida albicans*, by promoting the change in morphology from yeast to hyphae of the fungus, increasing its virulence.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, supernatant, virulence.

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

EPÍGRAFE

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN 1

CAPÍTULO I:..... 2

PLANTEAMIENTO TEÓRICO..... 2

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN..... 3

1.1. **Determinación del problema**..... 3

1.2. **Enunciado del problema**..... 3

1.3. **Descripción del problema**..... 4

1.3.1. **Área de Conocimiento**..... 4

1.3.2. **Operacionalización de Variables**..... 4

1.3.3. **Interrogantes Básicas**..... 4

1.3.4. **Taxonomía de la Investigación**..... 4

1.4. **Justificación**..... 5

2. OBJETIVOS..... 5

3. MARCO CONCEPTUAL..... 6

3.1. **Conceptos Básicos**..... 6

3.1.1. **Cándida**..... 6

3.1.1.1. **Cándida Albicans**..... 6

3.1.1.2. **Características de la Cándida Albicans**..... 6

3.1.1.3. **Morfología**..... 6

3.1.1.4. **Pared Celular**..... 7

3.1.1.5. **Membrana Celular**..... 7

3.1.1.6. **Factores de virulencia de la *Candida albicans***..... 7

3.1.1.7.	<i>Candida albicans</i> en la Cavidad Bucal.....	8
3.1.1.8.	Factores predisponentes	8
3.1.1.9.	Clasificación.....	9
○	Candidiasis Pseudomembranosa:	9
○	Candidiasis Eritematosa o Atrófica Aguda:	9
○	Candidiasis eritematosa o atrófica crónica:.....	9
○	Candidiasis hiperplásica crónica:.....	9
3.1.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	10
a.	Características microbiológicas	11
b.	Medios de aislamiento.....	11
c.	Componentes de la superficie celular	11
d.	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la Meticilina (MRSA).....	12
3.1.3.	<i>Staphylococcus aureus</i> en la flora oral	14
3.2.	Antecedentes Investigativos.....	15
4.	HIPÓTESIS.....	19
	CAPÍTULO II:	20
	PLANTEAMIENTO OPERACIONAL.....	20
1.	TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN:	21
1.1.	Técnica.....	21
1.1.1.	Precisión de la técnica.....	21
1.1.2.	Esquematización	21
1.1.3.	Descripción de las técnicas	21
1.2.	Instrumentos	22
1.2.1.	Instrumento documental:.....	22
1.2.2.	Instrumentos mecánicos:.....	22
1.2.3.	Materiales de Verificación:	22
2.	CAMPO DE VERIFICACIÓN	23
2.1.	Ubicación espacial	23
2.2.	Ubicación temporal	23

2.3. Unidades de estudio.....	23
2.3.4. Control de grupos:	24
• Criterios de inclusión:.....	24
• Criterios de Exclusión:.....	24
3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	24
3.1. Organización.....	24
3.2. Recursos	24
4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS.....	25
4.1. Plan de procesamiento	25
4.1.2. Operaciones del procesamiento	25
4.2. Plan de Análisis de datos	25
CAPÍTULO III:	26
RESULTADOS	26
PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	27
DISCUSIÓN	45
CONCLUSIONES.....	48
RECOMENDACIONES.....	49
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
ANEXOS.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1.....	27
Estadística descriptiva para datos de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i>	27
Gráfico de la distribución de la probabilidad para datos de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i>	28
TABLA N° 2.....	29
Estadística descriptiva para datos de <i>Candida albicans</i> sin sobrenadante	29
TABLA N° 3.....	31
Estadística descriptiva para datos de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicans</i> sin sobrenadante	31
TABLA N° 4.....	33
Prueba paramétrica T de Student para datos de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicans</i> sin sobrenadante	33
TABLA N° 5.....	35
Morfología de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> a las 24 hrs .	35
TABLA N° 6.....	37
Morfología de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> a las 48 hrs .	37
TABLA N° 7.....	39
Morfología de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> a las 72 hrs .	39
TABLA N° 8.....	41
Morfología de <i>Candida albicans</i> sin sobrenadante a las 24, 48 y 72 hrs.	41
TABLA N° 9.....	43
Unidades formadoras de colonias de <i>Candida albicans</i> con Sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicans</i> sin sobrenadante para ver viabilidad.....	43

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1	28
Gráfico de la distribución de la probabilidad para datos de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i>.....	28
GRÁFICO N° 2	30
Gráfico de la distribución de la probabilidad para datos de <i>Candida albicans</i> sin sobrenadante	30
GRÁFICO N° 3	32
Gráfico de la distribución de la probabilidad para datos de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicans</i>.....	32
GRÁFICO N° 4	34
Histograma de la prueba T de Student para datos de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicans</i> sin sobrenadante	34
GRÁFICO N° 5	36
Porcentaje de morfología de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> a las 24 hrs	36
GRÁFICO N° 6	38
Porcentaje de morfología de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> a las 48 hrs	38
GRÁFICO N° 7	40
Porcentaje de morfología <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> a las 72 hrs	40
GRÁFICO N° 8	42
Gráfico de la distribución de la probabilidad para datos de morfología de <i>Candida albicans</i> sin sobrenadante a las 24 – 48 y 72 hrs.	42
GRÁFICO N° 9	44
Gráfico para datos obtenidos de Unidades Formadoras de Colonias de <i>Candida albicans</i> con sobrenadante de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicans</i> Pura	44

INTRODUCCIÓN

En las últimas investigaciones, se evidencia un aumento en el interés relacionado con infecciones de origen micótico, específicamente producidas por levaduras del género *Candida* en individuos inmunosuprimidos y médicamente comprometidos. Este género de hongos comprende más de 150 especies, sin embargo, dentro del gran conjunto de microorganismos que colonizan al ser humano, la especie presente en las membranas mucosas de la cavidad oral es la *Candida albicans*, además de encontrarse en el tracto gastrointestinal, las vías genitourinarias y en la piel (1).

Esta levadura comensal pertenece a este ecosistema en condiciones saludables, pero puede tornarse en un patógeno oportunista en condiciones favorables y dar inicio a infecciones, siendo la más común en el ámbito odontológico, la candidiasis oral (2). Esta enfermedad ha reaparecido con fuerza los últimos años a causa del uso indiscriminado e intensivo de antibióticos de amplio espectro (3).

En consecuencia, se empezó a estudiar acerca de la interacción entre *Candida albicans* con diferentes bacterias, o si su colonización depende de la comunidad bacteriana para comprobar si estas bacterias presentes en las biopelículas pueden regular positivamente la virulencia de *Candida albicans* durante las infecciones orales (4).

Uno de los microorganismos presentes en piel y membranas mucosas de los individuos, es el *Staphylococcus aureus* el cual puede estar relacionados en distintos tipos de infecciones como celulitis, osteomielitis, bacteremias, infecciones pulmonares, endocarditis, etc. Su presencia en la cavidad oral no ha sido ampliamente estudiada, pero si se sabe acerca de su presencia en la microbiota transitoria (5).

Por ende, el propósito de este estudio será comprobar la existencia de algún tipo de interacción entre esta bacteria y su facilitación el control de la infección por *Candida albicans*.



CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Determinación del problema

La cavidad bucal es considerada como puerta de entrada y canal de conexión entre el exterior y los sistemas digestivo y respiratorios, de este modo, el microbioma de la microbiota oral desempeña un papel imprescindible en el mantenimiento de un entorno oral en condiciones normales y estables (6), pues muchos de estos microbios son patógenos oportunistas, cuando el entorno de los permite y que podrían diseminar desde los nichos de la cavidad bucal al resto del organismo. Cuando existe una alteración en el equilibrio de la microbiota de la cavidad bucal, ya sea por factores exógenos o endógenos, se pueden producir enfermedades orales hasta sistémicas (7), producidas por estos factores oportunistas, siendo uno de los principales, la *Candida albicans*. Se trata de un hongo polimórfico con la capacidad de crecer en forma de levaduras y células pseudohifales relativamente inofensivas y del mismo modo, hifas invasivas dañinas (8), llegando a producir enfermedades como la candidiasis oral, candidiasis orofaríngea hasta candidemia al diseminarse por el torrente sanguíneo (9). En infecciones del torrente sanguíneo, uno de los agentes considerados causales es el *Staphylococcus aureus*, una de las especies bacterianas coaisladas más comunes (10).

Esta bacteria es considerada como Patógeno de Alta Prioridad por la OMS puesto que, es responsable de infecciones graves y aparición de cepas resistentes a antibióticos clínicamente importantes (11), siendo específicamente el *Staphylococcus aureus* resistente a la Meticilina (MRSA), pues ello se ha vuelto un desafío para los objetivos de los antimicrobianos. Un enfoque para la identificación de objetivos terapéuticos implica comprender cómo los microorganismos interactúan, se agregan y se comunican y saber si promueven la virulencia (12). Es por ello que, aun no existe información específica si los aislados de *Staphylococcus aureus* poseen influencia en la virulencia de la *Candida albicans*.

1.2. Enunciado del problema

EFFECTO DEL SOBRENADANTE DE CULTIVO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS
EN LA VIRULENCIA DE CANDIDA ALBICANS – AREQUIPA 2024

1.3. Descripción del problema

1.3.1. Área de Conocimiento

- Área General: Ciencias de la Salud
- Área Específica: Odontología
- Especialidad: Patología
- Línea o Tópico: Microbiología

1.3.2. Operacionalización de Variables

VARIABLE		INDICADORES	SUBINDICADOR
VE1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sobrenadante	<ul style="list-style-type: none"> - Levadura - Hifa - Pseudohifas
VR	<i>Candida albicans</i>	Unidad formadora de colonia Viabilidad Morfología Virulencia	

1.3.3. Interrogantes Básicas

- ¿Cuál es el efecto del sobrenadante de cultivo de *Staphylococcus aureus* en la virulencia de la *Candida albicans*?
- ¿Cuál es el efecto del sobrenadante de cultivo de *Staphylococcus Aureusen* la viabilidad de la *Candida albicans*?
- ¿Cuál es el efecto del sobrenadante de cultivo de *Staphylococcus Aureu* sen la morfología de la *Candida albicans*?

1.3.4. Taxonomía de la Investigación

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	Tipo de recolección	Tipo de dato que se planea recoger	Número de mediciones de la variable	Numero de muestra o población	Ámbito de recolección		
Cualitativo y cuantitativo	Observacional	Prospectivo	Longitudinal	Comparativo	Laboratorial	Experimental	Explicativo

1.4. Justificación

1.4.1. Originalidad

Este trabajo de investigación es original, pues no ha sido objeto de investigación, por ende, aun no hay suficiente conocimiento sobre la existencia de algún tipo de influencia que tiene el sobrenadante de *Staphylococcus aureus* en la virulencia de la *Candida albicans*.

1.4.2. Relevancia

En la actualidad, las enfermedades oportunistas han tomado gran relevancia, en especial por el hongo *Candida albicans*, el cual en condiciones favorables puede convertirse en un potencial patógeno. Por ello, es importante estudiar más de cerca su interacción con bacterias presentes en diferentes infecciones como lo es el *Staphylococcus aureus* y comprobar si este afecta y regular positivamente la virulencia de este patógeno de origen micótico.

1.4.3. Factibilidad

Esta investigación es factible por la disponibilidad de las unidades de estudio, el lugar donde se llevará a cabo la investigación, el tiempo que conllevará, la bibliografía, los recursos, los equipos materiales a utilizar y la asesoría.

1.4.4. Interés Personal

Para optar el título de profesional de Cirujano Dentista, así como también considerar esta investigación como un reto personal y académico.

2. OBJETIVOS

- Determinar la influencia del sobrenadante de *Staphylococcus aureus* en la virulencia de la *Candida albicans*.
- Determinar la influencia del sobrenadante de *Staphylococcus aureus* en la viabilidad de la *Candida albicans*.
- Determinar la influencia del sobrenadante de *Staphylococcus aureus* en la morfología de la *Candida albicans*.

3. MARCO CONCEPTUAL

3.1. Conceptos Básicos

3.1.1. Cándida

Este género comprende más de 150 especies, pero solo unas cuantas producen enfermedades en los individuos como lo son *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefir*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata* y *C. auris*. (13)

3.1.1.1. Cándida Albicans

Se trata de un hongo polimórfico con la capacidad de crecer como levadura, en células pseudohifales inofensivas relativamente y asimismo crecen como hifas dañinas e invasivas (14). Suele ser un patógeno inofensivo en la microbiota natural residiendo de forma asintomática en membranas mucosas de la cavidad oral, tracto gastrointestinal, reproductivo y la piel (15). Su patogenicidad está asociado a la presencia de factores predisponentes como antibióticos de amplio espectro, tratamiento con medicación inmunosupresora, anticancerígena, etc (16).

3.1.1.2. Características de la Cándida Albicans

Es una célula oval levaduriforme que mide de 2 a 4 micras que presenta finas paredes en su estado saprófito y de forma filamentosa de diversas longitudes, con extremos de forma redondeada de 3 a 5 micras de diámetro en su estado parasitario (14).

3.1.1.3. Morfología

Se presenta en diversas morfologías, como hifas pudiendo ser lineal y sinusoidal, una pseudohifa y en forma de clamidosporas. Después de la citocinesis, las pseudohifas se mantienen adheridas y generan micelios luego de varios ciclos de división celular al igual que las células hifales. Asimismo, la *Candida albicans* tiene tendencia a crecer en cultivos unicelulares, biopelículas y microcolonias (17). Se definen cada presentación del patógeno fúngico: *Candida albicans*.

- **Levadura:** Hongos unicelulares microscópicos formados principalmente por células aisladas con formas diferentes (ovoideas, alargadas, esféricas, etc), y en la cual existen algunas que forman cadenas celulares denominadas pseudohifas perteneciente a la familia *Candida* (18).
- **Pseudohifa:** Son alargadas cadenas de levaduras que se originan al no producirse una separación adecuada de las células después de la gemación (19).
- **Hifa:** Unidad fundamental de los hongos, son filamentos compuestos de una o varias células cilíndricas y alargadas cubiertas por una pared celular tubular compuesta de quitina, y juntos forman un micelio originando la colonización del hongo (20).
Pueden ser hifas septadas al tener segmentos, o hifas no septadas por ser de intervalos largos, también llamadas cenocíticas (19).

3.1.1.4. Pared Celular

Se encuentra constituida por quitina, glucano y proteínas y su principal función es la protección celular a condiciones estresantes del medio en el que se encuentran como la deshidratación, cambios osmóticos, de temperatura, así como la defensa inmune del huésped y adhesión celular a través de sus proteínas (Als1-7, Als9 y Hwp1) (21).

3.1.1.5. Membrana Celular

Estructura responsable de la comunicación celular con el entorno exterior, posee importantes esteroides para su estabilidad, rigidez y resistencia a factores estresantes. Uno de los esteroides fundamentales en la membrana celular de los hongos es el ergosterol. Esta membrana celular posee una bicapa de fosfolípidos con proteínas receptoras en ella. La *Candida albicans* usa la glucosa como fuente de carbono en su metabolismo y usa aminoácidos como fuente de nitrógeno (21).

3.1.1.6. Factores de virulencia de la *Candida albicans*

Dentro de estos factores se puede encontrar la transición morfológica de células de levadura a hifas, la expresión de invasinas y adhesinas en la superficie de la célula,

su capacidad de daño, formación de biopelículas y secreción de enzimas hidrolíticas (21).

La forma de levadura de la *Candida albicans* se presenta en el microbioma normal de los humanos, sin embargo, su transición a forma hifal es patógena por ser invasiva, se da la penetración celular activa y endocitosis inducida al tejido huésped (21).

La penetración activa depende de la actividad fúngica y en la endocitosis inducida se da por invasión hifal. Una de las vías de señalización envuelto en la formación hifal es la proteína quinasa A dependiente de AMPc (monofosfato de adenosina cíclico PKA) (21).

La candidalísina, péptido anfipático helicoidal, es una toxina hifa específica producido por las hifas de la *Candida albicans* dañando las células huésped y promoviendo el origen de una infección sistémica (22).

3.1.1.7. *Candida albicans* en la Cavidad Bucal

Este hongo se encuentra en las mucosas y es parte de la microbiota normal del 50% de las personas sanas (23), pero al convertirse en patógena produce la infección fúngica más común en la cavidad oral denominada Candidiasis (21).

La candidiasis oral se define como una infección de origen nicótico manifestándose comúnmente como un sobrecrecimiento superficial en las mucosas que puede propagarse por el torrente sanguíneo convirtiéndose en una infección potencialmente mortal (24).

3.1.1.8. Factores predisponentes

Pueden ser locales y sistémicos.

Acerca de los factores predisponentes locales que conducen a un crecimiento desmesurado de *Candida* o una variación en la expresión de sus factores de virulencia, pueden ser la falta de higiene oral, xerostomía, tabaquismo, uso de prótesis removibles, aparatos ortodónticos y uso de inhaladores de esteroides. También se incluyen los factores sistémicos, como la edad, antibioterapia, embarazo,

tratamiento oncológico, terapia con corticoesteroides sistémicos, patologías endocrinas, enfermedades autoinmunes, VIH, etc (21).

3.1.1.9. Clasificación

Se puede clasificar en candidiasis primaria donde la infección solo abarca la cavidad oral y área perioral, y en candidiasis secundaria cuando la infección pasa a comprometer sistémicamente al individuo. Clínicamente la candidiasis primaria se clasifica en: Candidiasis pseudomembranosa, eritematosa aguda, eritematosa crónica y e hiperplásica (25).

- **Candidiasis Pseudomembranosa:** Conocida también como “muguet” en lactantes, caracterizada por manchas y placas blandas con desprendimiento fácil al raspado que aparecen en superficie de mucosas labial, yugal, lengua, paladar duro, blando y orofaringe. Al raspado suave con hisopo o gasa, se expone una mucosa enrojecida subyacente acompañada de halitosis (26).
- **Candidiasis Eritematosa o Atrófica Aguda:** Conocida también como lengua dolorosa antibiótica, por manifestarse como una lesión dolorosa en el dorso lingual junto con depapilación de la mucosa y ser casi imposible la ingesta de alimentos calientes y picantes. Se relaciona con la terapia sistémica con antibióticos y sus efectos secundarios (21).
- **Candidiasis eritematosa o atrófica crónica:** Conocida también como como estomatitis protésica o palatitis protésica. Estas lesiones eritematosas crónicas comúnmente aparecen en el paladar en pacientes con prótesis dentales totales, generalmente son asintomáticas y se encuentra influenciado por la mala higiene oral y protésica (25).
- **Candidiasis hiperplásica crónica:** Sus lesiones aparecen en mucosa bucal y bordes laterales de la lengua caracterizada por infiltración profunda del tejido de la mucosa oral por las hifas del patógeno oportunista (25). Puede estar asociada al tabaquismo y si trasciende a ser maligna, se denominada leucoplasia por *Candida* (26).

3.1.2. *Staphylococcus aureus*

Es considerada una de las bacterias con más relevancia en el ámbito médico por su implicación en distintas enfermedades (27). Este patógeno humano pertenece a la familia *Micrococaceae*, género *Staphylococcus*, en el cual la mayoría de sus especies son colonizadores naturales de la piel y membranas mucosas de los humanos. Este coco gram positivo no forma esporas, produce catalasa coagulasa y crece de mejor forma en condiciones aerobias a pesar de ser un anaerobio facultativo (28). Es capaz de sobrevivir en condiciones ambientales no fisiológicas y de alto contenido salino por lo que lo hace bastante resistente y responsable de amplia gama de infecciones presente en abscesos, bacteriemias, infecciones pulmonares, celulitis, endocarditis y osteomielitis. Asimismo, puede producir intoxicación alimentaria por la liberación de sus enterotoxinas en los alimentos, así como el síndrome de shock tóxico si se libera superantígenos en la sangre (27).

Gran interés existe en la fácil diseminación de esta bacteria en el organismo, pues se debe a la gravedad de su virulencia. Su patogenicidad se relaciona con los componentes de su superficie (29) así como con la asociación entre los factores de virulencia y la reducción de las defensas del hospedero (30). La hialuronidasa, coagulasa, desoxirribonucleasa y lipasa son unas enzimas que, al sintetizarse por parte de este patógeno, mejora su patogenicidad logrando diseminarse a través del huésped (31).

Asimismo, la bacteria ha ido desarrollando resistencia contra los antibióticos siendo objeto de estudio la resistencia de *Staphylococcus aureus* a la Meticilina (MRSA). Estas cepas han conseguido un gen que les brinda tal resistencia a los antibióticos betalactámicos. Este grupo de microorganismos se ha convertido en un agente patógeno hospitalario (30) pues no mejora con la terapia antibiótica que usualmente se receta en infecciones por estafilococos, y se sabe que tiene capacidad de propagación a través de los huesos, sangre, articulaciones o cualquier otro órgano del cuerpo (32).

a. Características microbiológicas

Este género de bacterias se encuentra formado por cocos Gram positivos, con un diámetro que oscilan entre 0.5 a 1.5 μm , encontrándose como células únicas o agrupadas en cadenas cortas o en forma de racimos. Se trata de microorganismos no esporuladas, no móviles, algunas carecen de capsula y son anaerobias facultativas (33).

b. Medios de aislamiento

La mayoría de este género de microorganismos crecen después de un tiempo de incubación de 18 – 24hrs, logrando formar colonias de 0.5-1.5 mm de diámetro. Estas colonias se ven elevadas, lisas, con bordes enteros, de consistencia cremosa y de pigmentación amarillenta debido a la producción de carotenoides. El *Staphylococcus aureus* produce coagulasa, lo que lo diferencia de las demás especies, logrando ser capaz de coagular el plasma, ser resistente al calor y desarrollar su crecimiento en gran cantidad de NaCl al 7.5%. Asimismo, esta especie, logra su crecimiento en medios de cultivo no selectivos (agar chocolate, agar sangre, cerebro corazón infusión agar). Uno de los medios mas recomendables para muestras clínicas, es el agar sal manitol debido a su alto contenido de sal capaz de inhibir el crecimiento de bacterias Gram negativas. El *Staphylococcus aureus* fermenta el manitol generando un cambio de color de varia de rojo pálido a un color amarillento y así logrando su identificación presuntiva (34).

c. Componentes de la superficie celular

o Quorum-sensing (QS)

Los estafilococos han desarrollado sistemas de detección de Quorum logrando mejorar su capacidad de causar enfermedades y ocupar nichos dentro del huésped (35).

Este sistema tiene un gran impacto en el éxito del microorganismo patógeno durante la infección al controlar sus factores de virulencia y su fisiología. En esta especie

también es llamado con gen accesorio regulador (Agr), logra disminuir la expresión de diferentes proteínas de la superficie celular y aumenta la expresión de varios factores de virulencia secretados (35).

Estudios previos evidenciaron que la expresión de este gen accesorio regulador favorecía a la patogénesis estafilocócica en diversos modelos de infección, como los abscesos subcutáneos murinos y la artritis. Asimismo, la expresión de este Quorum parece estar involucrado en la invasión y apoptosis de las células epiteliales (36).

- **Cápsula**

También llamada slime o capsula mucoide. Esta facilita la adherencia de las bacterias a varias células. El *Staphylococcus aureus* posee dos componentes principales en la pared celular: El peptidoglicano y el ácido lipoteicoico, este último logra la adherencia gracias a su parte hidrófoba, mientras que el peptidoglicano, su parte covalente se une a las proteínas con función de adhesinas (11).

Este gran número de proteínas de superficie, sirven para sujetarse y ligarse a los tejidos del huésped facilitando así la internalización y la evasión del sistema inmune del mismo (35).

- **Biofilm**

Algunas cepas de *Staphylococcus aureus* producen una capa extracelular de polisacáridos llamada biopelícula o biofilm. Esta estructura extracelular facilita la adhesión de la comunidad bacteriana a diversas superficies. La biopelícula fue descrita por primera vez en *Staphylococcus coagulasa* negativo y está asociada con la colonización y persistencia de la bacteria en catéteres, prótesis y sondas. La biopelícula puede prolongar la infección y colonización, así como facilitar la diseminación en diferentes partes del cuerpo humano, siendo común en cepas hospitalarias y comunitarias (35).

- d. *Staphylococcus aureus* resistente a la Meticilina (MRSA)**

Existen cepas de este coco coagulasa positivo, que han desarrollado resistencia a los antibióticos betalactámicos, que incluyen a la metililina, oxacilina, penicilina y

amoxicilina. Estas cepas son heterogéneas genéticamente, existen unas que son epidémicas más frecuentes y prevalentes en los hospitales y existen otras esporádicas que no se propagan ampliamente (37).

- **Mecanismo de resistencia a la meticilina**

Los antibióticos betalactámicos, como las penicilinas y cefalosporinas, dañan las bacterias al inactivar las proteínas de unión a penicilina (PBP), que son enzimas esenciales para la construcción de la pared celular bacteriana. En los estafilococos, hay cuatro PBP nativas, todas las cuales pueden ser inactivadas por estos antibióticos. Esto debilita la pared celular, haciendo que las bacterias tratadas se vuelvan frágiles osmóticamente y más susceptibles a ser destruidas. La beta-lactamasa estafilocócica, una enzima que se adhiere al anillo beta-lactámico, confiere resistencia a la penicilina, pero no afecta a las penicilinas semisintéticas como la meticilina, oxacilina o cloxacilina (38).

La identificación del MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) se basa en la presencia del gen *mecA*; sin embargo, en algunos estudios no se analiza este gen y se define el MRSA a través de pruebas de susceptibilidad a los antibióticos. Cuando se utilizan estas pruebas de susceptibilidad como criterio para identificar el MRSA, es crucial ser extremadamente cauteloso, ya que ciertos métodos de prueba pueden sobreestimar la resistencia a la meticilina (39).

- **Tratamiento**

Muy pocos antibióticos son efectivos en el tratamiento de infecciones por MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) adquiridas en hospitales. Todas las cepas de MRSA se consideran resistentes a las penicilinas, cefemas, cefalosporinas y otros antibióticos betalactámicos (ampicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, piperacilina/tazobactam, ticarcilina/ácido clavulánico, y carbapenemasas), independientemente de los resultados de las pruebas de susceptibilidad. Además, las cepas de MRSA adquiridas en hospitales suelen ser resistentes a antibióticos comunes como aminoglucósidos, tetraciclina, macrólidos, cloranfenicol y fluoroquinolonas. Los antibióticos utilizados para tratar infecciones

graves por MRSA multirresistente incluyen vancomicina, así como fármacos más recientes como linezolid, tigeciclina, daptomicina y quinupristina/dalfopristina (40).

3.1.3. *Staphylococcus aureus* en la flora oral

Pacientes portadores de *Staphylococcus aureus* se han relacionado en casos de pacientes pediátricos, geriátricos, con enfermedades terminales, xerostomía, lesiones cariosas, prótesis fijas y removibles, periodontitis, neoplasias hematológicas y artritis reumatoide (41). Por otra parte, algunos estudios informan la cavidad bucal como un reservorio importante de este patógeno, siendo punto de partida óptima para su difusión dentro del organismo de individuos, por medio de procedimiento dentales invasivos (42), pero este tema ha estado desatendido bastante tiempo. Asimismo, hubo estudios donde se aislaron *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina de pacientes portadoras de prótesis dentales y con enfermedades bucales, esto podría deberse al uso generalizado de antibióticos profilácticos en el ambiente odontológico (43).

Aunque algunos estudios han informado sobre la presencia de *Staphylococcus aureus* en el entorno oral sano, su distribución específica en esa área del cuerpo humano aún no se conoce completamente. Es posible que esta bacteria forme parte de la microbiota oral residente, aunque en pequeñas cantidades. Investigaciones recientes han recolectado estafilococos de las placas bacterianas dentales tanto supragingivales como subgingivales (44). La literatura actual indica que las especies de estafilococos pueden ser encontradas con frecuencia en el entorno oral de niños y adultos, tanto en individuos sanos como en aquellos con enfermedades. Esto sugiere que la cavidad oral debe considerarse un posible medio de propagación de la bacteria a otras partes del cuerpo cuando se descartan otras fuentes evidentes (45).

3.2. Antecedentes Investigativos

Título: La alfa-hemolisina de *Staphylococcus aureus* obstruye el cambio de hifas de levadura y disminuye la patogenicidad en *Candida albicans*.

Autor: Yu X, Mao Y, Li G, Wu X, Xuan Q, Yang S, Chen X, Cao Q, Guo J, Guo J, Wu W.

Resumen: Esta investigación tuvo como objetivo estudiar la interacción entre la *Candida albicans* y bacterias para facilitar el control de la infección por este patógeno oportunista. Para determinar las posibles adhesinas de *Staphylococcus aureus* a las que se unía *Candida albicans*, se seleccionaron 25 cepas mutantes de *Staphylococcus aureus* diferentes basándose en una revisión de los componentes de la superficie microbiana que reconocen las moléculas de la matriz adhesiva en *Staphylococcus aureus*. La alfa-hemolisina (Hla), una proteína secretada por *Staphylococcus aureus*, causa daño a la pared celular e impide la transición levadura-hifas en *Candida albicans*. Mecánicamente, la estimulación de Hla desencadenó la formación de especies reactivas de oxígeno que dañaron la pared celular y las mitocondrias de *Candida albicans*. El ciclo celular se detuvo en la fase G0/G1, CDC42 se reguló negativamente y Ywp1 se reguló positivamente, lo que interrumpió el cambio de hifas de levadura. Posteriormente, se inhibió el desarrollo de hifas. En modelos de ratón, *Candida albicans* pretratado con Hla redujo la carga de *Candida albicans* en las infecciones de la piel y la mucosa vaginal, lo que sugiere que Hla puede inhibir el desarrollo de las hifas y reducir la patogenicidad de la candidiasis in vivo. (Systemic *Staphylococcus aureus* infection mediated by *Candida albicans* hyphal invasion of mucosal tissue) (46).

Título: El sobrenadante de *Streptococcus mutans* afecta la virulencia de *Candida albicans*

Autor: Maira Terra García, Jessica Diane Dos Santos, Paulo Henrique Fonseca del Carmo, Gabriela Vieira Mendes, Jonatas Rafael de Oliveira, Luciane Dias de Oliveira, Juliana Campos Junqueira

Resumen: *Candida albicans* provoca una variedad de manifestaciones clínicas a través de múltiples factores de virulencia que actúan simultáneamente para vencer el sistema

inmunológico e invadir los tejidos del huésped. Debido al número limitado de agentes antifúngicos disponibles, se requieren nuevas estrategias terapéuticas para la candidiasis. Estudios anteriores han demostrado que los metabolitos producidos por *Streptococcus mutans* provocan una disminución del número de células *Candida*. Aquí, por primera vez, evaluamos si las células de *Candida albicans* que sobrevivieron al pretratamiento con sobrenadante de *S. mutans* pueden modificar sus factores de virulencia y su capacidad para infectar larvas de *Galleria mellonella*. El sobrenadante de *Streptococcus mutans* (SM-S) se obtuvo filtrando el sobrenadante del cultivo de esta bacteria. Luego, las células de *Candida albicans* se trataron previamente con SM-S durante 24 h y las células supervivientes se evaluaron mediante ensayos in vitro e in vivo. *Candida albicans* pretratado con SM-S mostró una inhibición significativa del crecimiento de las hifas, un patrón de adhesión alterado y una capacidad deteriorada para formar biopelículas; sin embargo, su actividad proteolítica no se vio afectada. En los ensayos in vivo, las células de *Candida albicans* previamente expuestas a SM-S mostraron una capacidad reducida para infectar *G. mellonella* y una mayor cantidad de hemocitos circulantes. Por tanto, SM-S podría inhibir importantes factores de virulencia de *Candida albicans*, lo que puede contribuir al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para la candidiasis (47).

Título: ¿Influye el sobrenadante de *Streptococcus oralis* en la proliferación y virulencia de *Candida albicans*?

Autor: Loyse Martorano-Fernandes, Antônio Pedro Ricomini-Filho ,Altair Antoninha Del Bel Cury

Resumen: El objetivo de esta investigación fue evaluar la influencia del sobrenadante de *Streptococcus oralis* sobre la proliferación y virulencia de *Candida albicans*, para ello, el sobrenadante de *S. oralis* se obtuvo mediante filtración de cultivos de una noche. Se cultivaron cultivos de especies únicas o duales de *Candida albicans* y *S. oralis* en modelos planctónicos y basados en biopelículas. Se midió el crecimiento del cultivo planctónico y se recogieron biopelículas maduras formadas en discos de resina para medir la actividad metabólica de las biopelículas, la biomasa total y el recuento de células. La formación de hifas y el espesor de la biopelícula se analizaron mediante microscopía de barrido láser

confocal. Los datos se analizaron mediante una prueba ANOVA unidireccional seguida de la prueba posthoc de Tukey. Los resultados fueron que el sobrenadante de *S. oralis* no influyó en la proliferación de *Candida albicans* en cultivos planctónicos. Sin embargo, las biopelículas que contienen sobrenadante de *S. oralis* mostraron un mayor metabolismo celular que las biopelículas de monocultivo de *Candida albicans* y las biopelículas de cultivo dual de *Candida albicans* - *S. oralis* ($p < 0,05$). Aunque los sobrenadantes de *S. oralis* aumentaron la actividad metabólica de la biopelícula, no afectaron la biomasa total ni el recuento de células de *Candida albicans* ($p > 0,05$). Sin embargo, las imágenes de biopelículas revelaron una mayor formación de hifas de *Candida albicans* en biopelículas que contienen sobrenadante de *S. oralis* en comparación con las biopelículas de monocultivo de *Candida albicans*. Se llegó a la conclusión de que los metabolitos secretados en el sobrenadante de *S. oralis* pueden contribuir al metabolismo y la virulencia de *Candida albicans* (12).

Título: El sobrenadante de cultivo de *Enterococcus faecalis* promueve la morfogénesis hifal y la formación de biopelículas de *Candida albicans*

Autor: Qingsong Jiang , Qi Jing, Biao Ren, Lei Cheng, Xuedong Zhou, Wenli Lai , Jinzhi He, y Mingyun Li.

Resumen: *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* a menudo se aíslan de conductos radiculares infectados. La interacción entre estas dos especies no está lo suficientemente clara. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue investigar el efecto de *E. faecalis* sobre la formación de biopelículas, la morfogénesis de las hifas y la expresión del gen de virulencia de *Candida albicans*. Métodos: utilizamos el sobrenadante del cultivo de *E. faecalis* (CSE) para tratar las biopelículas de *Candida albicans* . Luego, se realizó tinción con cristal violeta y recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) para evaluar la biomasa de la biopelícula. Se aplicaron microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopio de barrido láser confocal (CLSM) para observar la morfología de los hongos. Posteriormente, la producción de sustancias exopoliméricas (EPS), la hidrofobicidad de la superficie celular (CSH) y la fuerza de adhesión de las biopelículas se investigaron mediante CLSM, ensayo de dos fases de agua-hidrocarburo y microscopía de fuerza atómica (AFM),

respectivamente. Finalmente, se midió la expresión de los genes de virulencia de *Candida albicans* (ALS1 , ALS3 , HWP1 y EFG1) mediante un ensayo de RT-qPCR. Resultados: La exposición a CSE promovió la formación de biopelículas y la morfogénesis de hifas de *Candida albicans* , aumentó la producción de EPS, CSH y la fuerza de adhesión de las biopelículas de *Candida albicans* y aumentó el nivel de expresión de EFG1 . Conclusiones: Nuestros datos indicaron que el CSE promovió la morfogénesis de las hifas y la formación de biopelículas de *Candida albicans* (48).

Título: Efecto del sobrenadante fermentado de *Lactobacillus delbrueckii* sobre la formación de biopelículas de *Candida albicans*

Autor: Lihua Chen ; Pengfei Ella ; Jinghong Yang ; Yilin Gu ; Xiyuan Tang ; Xiwen Wang ; Panwang ; Yong Wu

Resumen: Objetivo Investigar el efecto del sobrenadante fermentado de *Lactobacillus delbrueckii* sobre la biopelícula de *Candida albicans* y explorar su posible mecanismo y componentes efectivos. Métodos Se aisló *Lactobacillus delbrueckii* de cápsulas vaginales de *Lactobacillus* y se identificó mediante espectrómetro de masas y secuenciación. Se preparó sobrenadante fermentado de *Lactobacillus delbrueckii*. El efecto del sobrenadante fermentado de *Lactobacillus delbrueckii* sobre la biopelícula de *Candida albicans* se probó mediante el método de tinción de cristal violeta en microplacas y el método de modelado de tubos de cateterismo. Los cambios morfológicos de la biopelícula se analizaron mediante tinción de cristal violeta y tintes fluorescentes vivos/muertos. Los exopolisacáridos de la biopelícula de *Candida albicans* se midieron mediante el método de ácido sulfúrico - fenol y recuento de colonias en placa. El sobrenadante fermentado se trató con NaOH, catalasa, tipsina y proteinasa . K respectivamente. Luego se detectó el efecto del sobrenadante fermentado tratado sobre la formación de biopelículas de *Candida albicans*. Se utilizó ANOVA unidireccional o prueba de suma de rangos de Wilcoxon como análisis estadístico para datos cuantitativos. Resultados *Lactobacillus delbrueckii* se aisló e identificó exitosamente de Ding Junsheng. El sobrenadante fermentado de *Lactobacillus delbrueckii* podría inhibir significativamente y de forma dependiente de la dosis la formación de biopelículas de *Candida albicans* (F = 10,804, P = 0,000). Los cambios morfológicos

mostraron que el sobrenadante fermentado podría disminuir la formación de biopelículas. Cuando se trató con sobrenadante fermentado de *Lactobacillus delbrueckii*, Los expolisacáridos de la biopelícula de *Candida albicans* se inhibieron significativamente ($F = 17,140$, $P = 0,000$) y la capacidad de adherencia se redujo. En comparación con el sobrenadante fermentado no tratado ($A_{490} = 0,486 \pm 0,112$), el efecto de inhibición de la biopelícula del sobrenadante fermentado tratado con NaOH ($A_{490} = 0,675 \pm 0,095$), catalasa ($A_{490} = 0,577 \pm 0,118$), tpsina ($A_{490} = 0,600 \pm 0,044$) y proteinasa K ($A_{490} = 0,495 \pm 0,084$) solo disminuyeron ligeramente, pero en comparación con el grupo de control ($A_{490} = 1,079 \pm 0,158$), el sobrenadante fermentado tratado todavía mostró un efecto de inhibición de biopelícula significativo ($x^2 = 26.052$, $P = 0.000$), lo que sugirió que los componentes efectivos del sobrenadante fermentado eran ácido orgánico y una sustancia similar a la bacteriocina. Conclusiones El sobrenadante fermentado de *Lactobacillus delbrueckii* puede inhibir eficazmente la formación de biopelículas de *Candida albicans*. Los mecanismos de acción están relacionados con la disminución de expolisacáridos y la reducción de la adherencia. Los componentes funcionales del sobrenadante fermentado son posiblemente ácidos orgánicos y sustancias similares a las bacteriocinas (49).

4. HIPÓTESIS

Dado que *Staphylococcus aureus* es una bacteria que forma parte del ecosistema bucal tanto en individuos sanos como en aquellos con enfermedades, y puede estar presente en algunas infecciones bucales, y considerando que *Candida albicans* es un patógeno oportunista que también reside en la microbiota oral.

H₀: Es probable que el sobrenadante de *Staphylococcus aureus* no influya en la virulencia de la *Candida albicans*.

$$H_0: C_{SSA} - C_P = 0$$

H₁: Es probable que el sobrenadante de *Staphylococcus aureus* si influya en la virulencia de la *Candida albicans*

$$H_1: C_{SSA} - C_P > 0$$



CAPÍTULO II:
PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN:

1.1. Técnica

1.1.1. Precisión de la técnica

Se utilizó la técnica de la OBSERVACION EXPERIMENTAL LABORATORIAL a través del método viabilidad y morfología

1.1.2. Esquematización

VARIABLES	INDICADORES	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
Sobrenadante de <i>Staphylococcus Aureus</i>	Sobrenadante	Observación experimental laboratorial	Ficha laboratorial
Virulencia de <i>Candida albicans</i>	Unidad formadora de colonia Morfología (Levadura, hifa, pseudohifa)		

1.1.3. Descripción de las técnicas

Se cultiva *Staphylococcus aureus* en caldo BHI por 24 horas a 37°C, se centrifuga y se extraerá el sobrenadante, acto seguido se coloca en un porcentaje de 50/50 sobre *Candida Albicans* en una concentración 0.5 escala de McFarland y para luego cultivarlo por 24 – 48 y 72 horas, después de esos tiempos se verificará la morfología (tinción gram) y las unidades formadoras de colonia (agar Sabouraud)

Se cultivará *Candida albicans*, para el grupo de control, en una concentración 0.5 escala Mac Farland para posteriormente cultivarlo por 24 – 48 y 72 horas, al igual que el anterior grupo, en caldo Sabouraud puro. Finalmente, se verificará la morfología, por medio de tinción gran y las unidades formadoras de colonia en el agar Sabouraud.

1.2. Instrumentos

1.2.1. Instrumento documental:

- **Precisión del instrumento**

Se hará empleo de un solo instrumento de tipo elaborado denominado ficha de observación laboratorial para registrar la virulencia del sobrenadante de la bacteria.

- **Modelo del instrumento**

Figura en anexos

1.2.2. Instrumentos mecánicos:

- Microscopio
- Incubadora
- Autoclave
- Refrigeradora
- Estufa
- Mechero de Bunsen
- Matraz
- Pipetas
- Varilla de vidrio
- Frasco de vidrio
- Tubos de ensayo
- Pipeta eppendorf
- Balanza eléctrica
- Placa Petri

1.2.3. Materiales de Verificación:

- **Medios y reactivos**

- Cepa ATCC-29213 de *Staphylococcus Aureus*
- Cepa ATCC-10231 de *Candida albicans*
- Caldo BHI
- Caldo Sabouraud
- Agua destilada estéril

- **Materiales de escritorio:**

- Lapiceros
- Marcadores indelebles
- Regla milimetrada
- Cámara fotográfica
- Cinta masking tape
- Papel craft
- Material documental

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1. Ubicación espacial

2.1.1. **Ámbito general**

Universidad Católica de Santa María

2.1.2. **Ámbito específico:**

Laboratorio de la Universidad Católica de Santa María

2.2. Ubicación temporal

La investigación se realizó durante el semestre impar 2024

2.3. Unidades de estudio

2.3.1. **Alternativa**

Grupos

2.3.2. **Identificación de los grupos:**

GE1 : *Candida albicans*

GE2: *Candida albicans* con sobrenadante de bacteria *Staphylococcus Aureus*

2.3.3. **Formalización de los grupos**

GRUPO	Nº
GE1	12
GE2	12

2.3.4. Control de grupos:

- **Criterios de inclusión:**

- Cepa de ATCC- de *Staphylococcus Aureus*
- Cepa de *Candida albicans*

- **Criterios de Exclusión:**

- Cepa de *Staphylococcus aureus* contaminada por otros microorganismos.

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1. Organización

- 3.1.1. Autorización del director del laboratorio
- 3.1.2. Coordinación con el jefe del laboratorio
- 3.1.3. Obtención de cepas
- 3.1.4. Procedimiento de laboratorial

3.2. Recursos

3.2.1. Recursos Humanos

- **Investigador:** Emily Fiorella Chávez Borda
- **Asesor:** Gustavo Obando Pereda

3.2.2. Recursos Institucionales

Infraestructura y ambiente del laboratorio de la Universidad Católica de Santa María

3.2.3. Recursos Económicos

Autoofertado por la investigadora

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

4.1. Plan de procesamiento

4.1.1. Tipo de procesamiento

Manual y computarizado (Graph Pad Prism v8)

4.1.2. Operaciones del procesamiento

A. Clasificación

Se ordenará en una matriz de sistematización la información obtenida de la investigación como resultado de la aplicación del instrumento.

B. Codificación

Se empleó una codificación numérica

C. Recuento

Será de forma manual o matrices de conteo

D. Tabulación

Para los datos numéricos obtenidos se emplearon de tablas numéricas (por porcentaje)

E. Graficación

Se hizo uso de gráfico de barras e histogramas.

4.2. Plan de Análisis de datos

A. Tipo de Análisis:

Cuantitativo y cualitativo

B. Tratamiento estadístico:

Variables	Indicadores	Carácter estadístico	Escala de medición	Técnica de estadística descriptiva	Técnica de estadística inferencial
<i>Candida albicans</i>	UFC/ML	Cuantitativo	Proporcional	Paramétrica	T de Student
<i>S. Aureus</i>	Morfología	Cualitativo	Observacional	Frecuencia	Frecuencia



CAPÍTULO III: RESULTADOS

PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

TABLA N° 1

Estadística descriptiva para datos de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus*

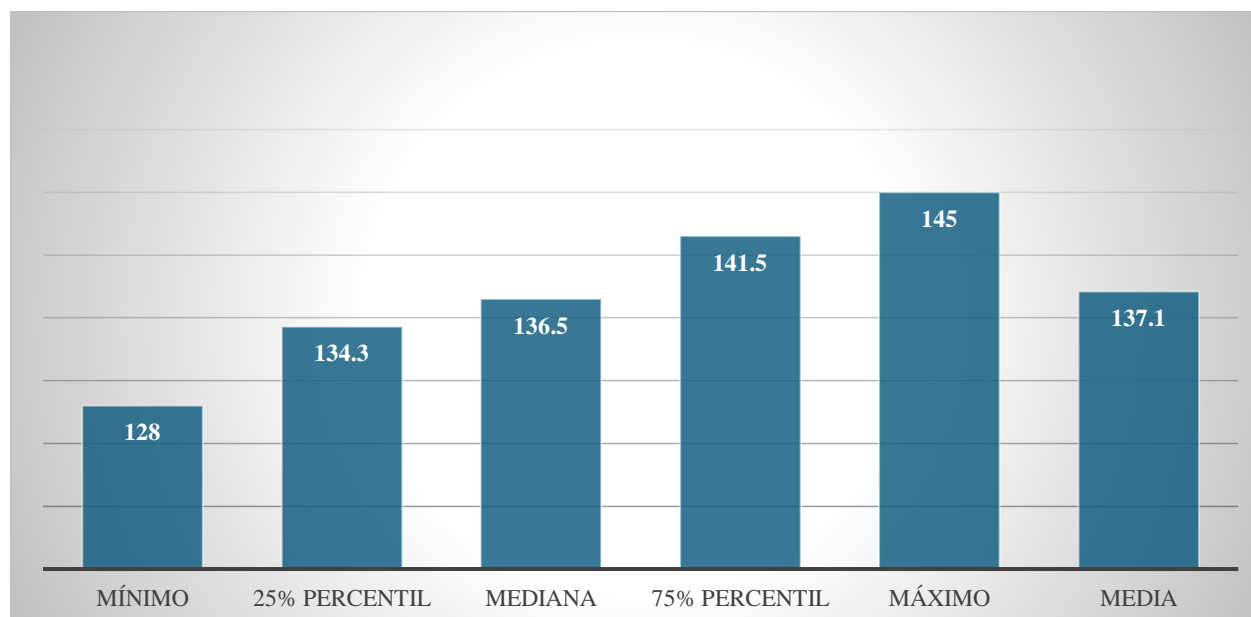
	UFC/ CaSa
N muestral	12
Mínimo	128
25% Percentil	134.3
Mediana	136.5
75% Percentil	141.5
Máximo	145
Media	137.1
Desviación estándar	4.621
Error estándar	1.334

En la tabla N° 1, nos muestra la estadística descriptiva para los datos obtenidos de *Staphylococcus aureus* en *Candida albicans*. Siendo la N muestral de 12, el valor mínimo fue 128, el valor máximo fue 145 y su mediana fue 136.5. Sobre los percentiles, el 25% percentil fue 134.3 y el 75% percentil fue 141.5.

La media obtenida fue 137.1, la desviación estándar de 4.621 y presentó un error estándar de 1.334.

GRÁFICO N° 1

Gráfico de la distribución de la probabilidad para datos de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus*



En el gráfico N° 1 muestra que siendo la N muestral = 12, el valor mínimo de los datos obtenidos fueron 128, el valor máximo fue 145, la mediana fue 136.5 y la media fue 137.1. Sobre los percentiles, el de 25% es 134.3 y el percentil de 75% es 141.5.

TABLA N° 2

Estadística descriptiva para datos de *Candida albicans* sin sobrenadante

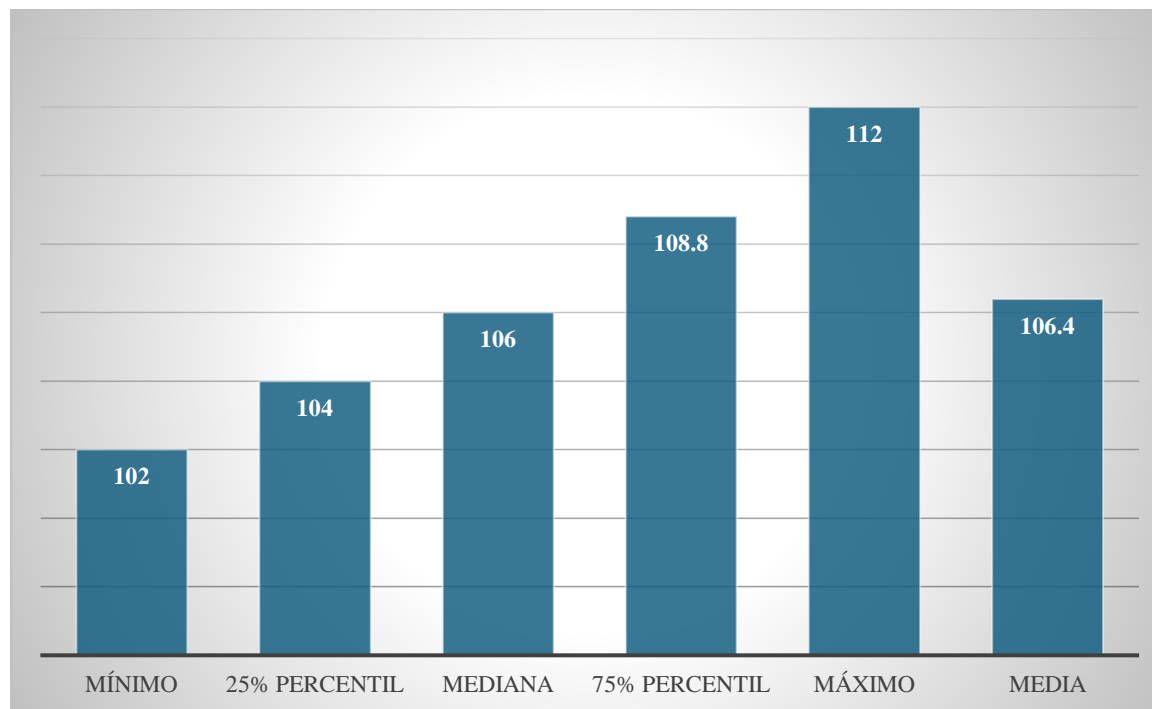
	UFC/Ca
N muestral	12
Mínimo	102
25% Percentil	104
Mediana	106
75% Percentil	108.8
Máximo	112
Media	106.4
Desviación estándar	3.315
Error estándar	0.9571

En la tabla N° 2, nos muestra la estadística descriptiva para los datos obtenidos de *Candida albicans* sin sobrenadante (pura). Siendo la N muestral de 12, el valor mínimo fue 102, el valor máximo fue 112 y su mediana fue 106. Sobre los percentiles, el 25% percentil fue 104 y el 75% percentil fue 108.8.

La media obtenida fue 106.4, la desviación estándar de 3.315 y presentó un error estándar de 0.9571.

GRÁFICO N° 2

Gráfico de la distribución de la probabilidad para datos de *Candida albicans* sin sobrenadante



En el gráfico N° 2 muestra que siendo la N muestral = 12, el valor mínimo de los datos obtenidos fueron 102, el valor máximo fue 112, la mediana fue 106 y la media 106.4. Sobre los percentiles, el de 25% es 104 y el percentil de 75% es 108.8.

TABLA N° 3

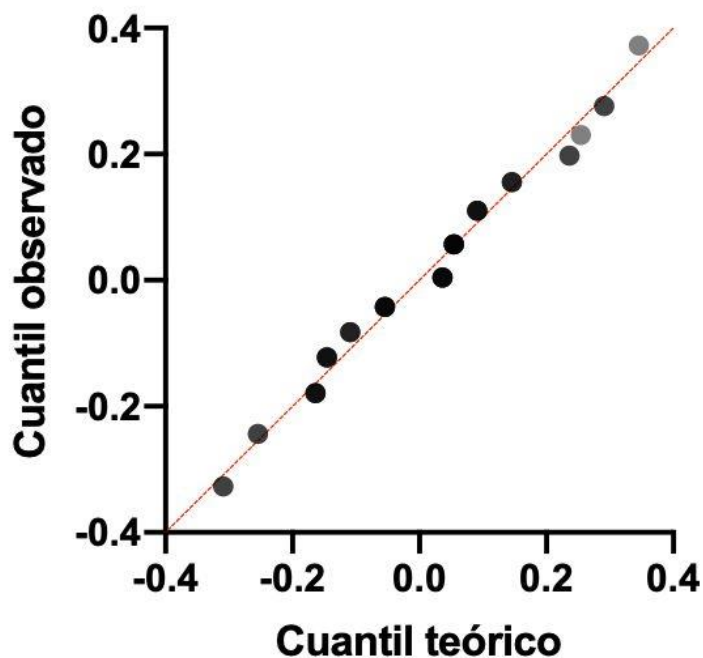
Estadística descriptiva para datos de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* sin sobrenadante

	UFC/ CaSa	UFC/Ca
N muestral	12	12
Mínimo	128	102
25% Percentil	134.3	104
Mediana	136.5	106
75% Percentil	141.5	108.8
Máximo	145	112
Media	137.1	106.4
Desviación estándar	4.621	3.315
Error estándar	1.334	0.9571

En la tabla N° 3 siendo el N muestral de 12 muestras para ambos grupos de unidades formadoras de colonias, se obtuvo que el grupo de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus*, un valor mínimo de 128, un percentil al 25% de 134.3, una mediana de 136.5, un percentil al 75% de 141.5 y un valor máximo de 145. Del mismo modo, se observó que este grupo posee una media de 137.1, una desviación estándar de 4.621 y un error estándar de 1.334. Para el grupo de *Candida albicans* pura, se obtuvo un valor mínimo de 102, un percentil al 25% de 104, una mediana de 106, un percentil al 75% de 108.8 y un valor máximo de 112. Asimismo, se observó una media de 106.4, una desviación estándar de 3.315 y un error estándar de 0.9571.

GRÁFICO N° 3

Gráfico de la distribución de la probabilidad para datos de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*



El gráfico N° 3 presenta los datos obtenidos siguiendo una distribución normal, por ende, los datos al presentarse homogéneos cumplen la distribución normal para su empleo de una prueba paramétrica.

TABLA N° 4

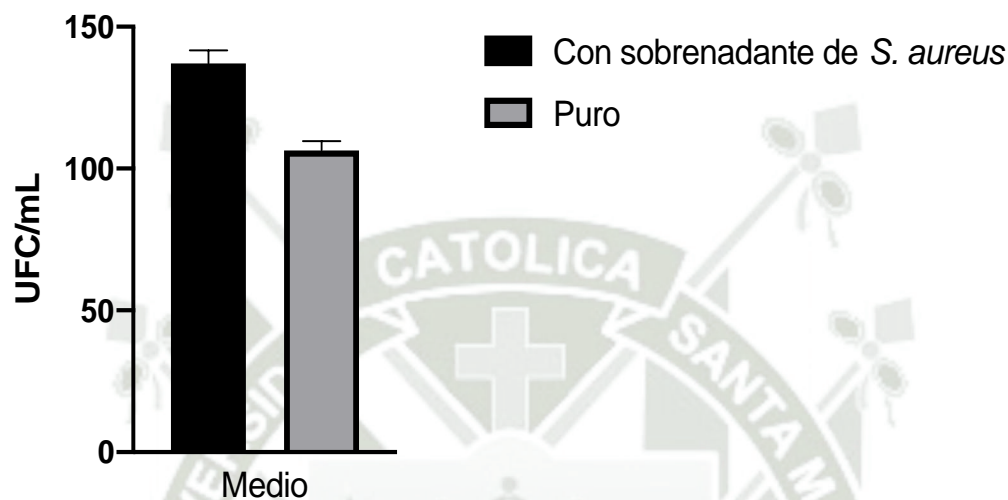
Prueba paramétrica T de Student para datos de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* sin sobrenadante

Tabla Analizada	Prueba no apareada
Column B	Puro
vs.	vs.
Column A	Con sobrenadante de <i>S. aureus</i>
Unpaired t test	
P valor	<0.0001
P valor gráfico	****
Es significativo? P<0.05	Si

Aplicando la prueba T de Student, comparando ambos grupos formadores de colonia, se obtuvo el P valor de <0.0001, lo cual indica que existe una diferencia muy significativa entre las medias de ambos grupos.

GRÁFICO N° 4

Histograma de la prueba T de Student para datos de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* sin sobrenadante



En el gráfico N° 4 se puede observar la diferencia significativa entre el grupo de las muestras de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* y el grupo de muestras de *Candida albicans* puro.

TABLA N° 5

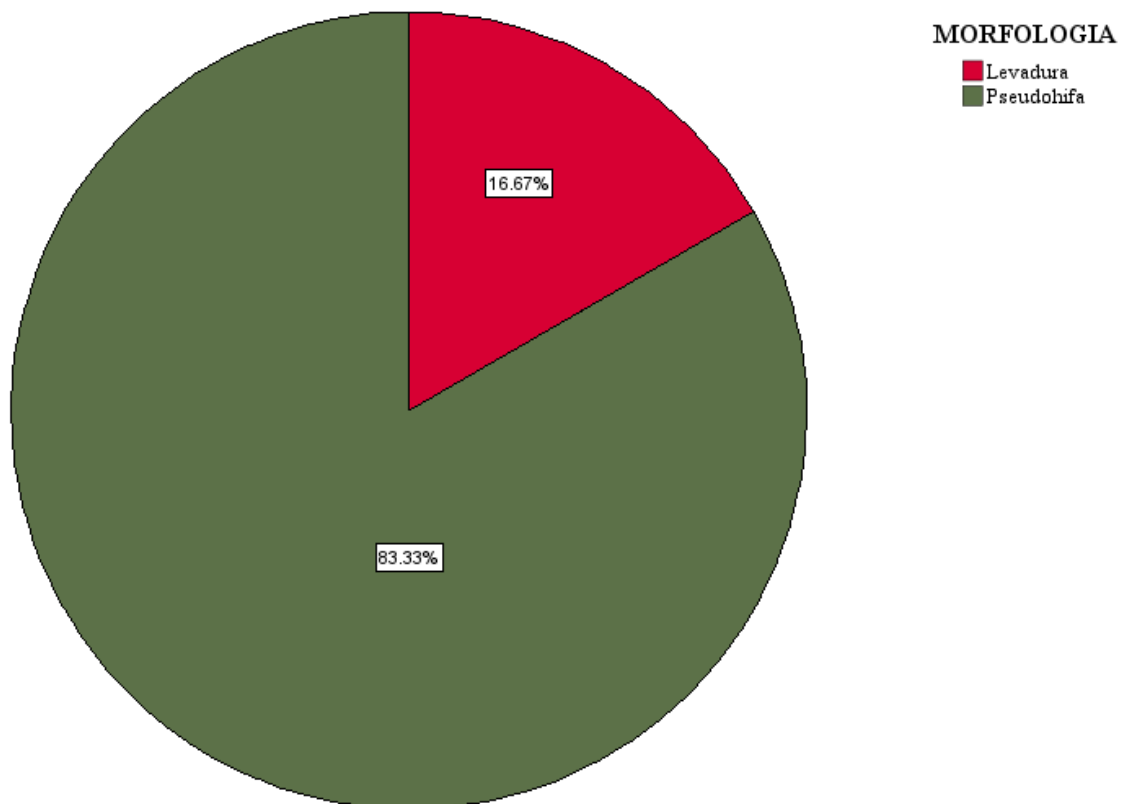
Morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* a las 24 hrs

U	MUESTRA	MORFOLOGIA
		24 HRS
1	CaSa	Pseudohifa
2	CaSa	Pseudohifa
3	CaSa	Pseudohifa
4	CaSa	Pseudohifa
5	CaSa	Pseudohifa
6	CaSa	Pseudohifa
7	CaSa	Levadura
8	CaSa	Pseudohifa
9	CaSa	Levadura
10	CaSa	Pseudohifa
11	CaSa	Pseudohifa
12	CaSa	Pseudohifa

La tabla N° 5 nos muestra la morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* incubadas durante 24 horas, en 10 de las 12 muestras se observó la formación de pseudohifas, mientras que las restantes presentaron la morfología de levadura.

GRÁFICO N° 5

Porcentaje de morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* a las 24 hrs



El gráfico N° 5, nos muestra el porcentaje de la morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* incubadas durante 24 horas. La morfología de pseudohifa del hongo se presentó en un 83.33% y la morfología de levadura se presentó solo en un 16.67%.

TABLA N° 6

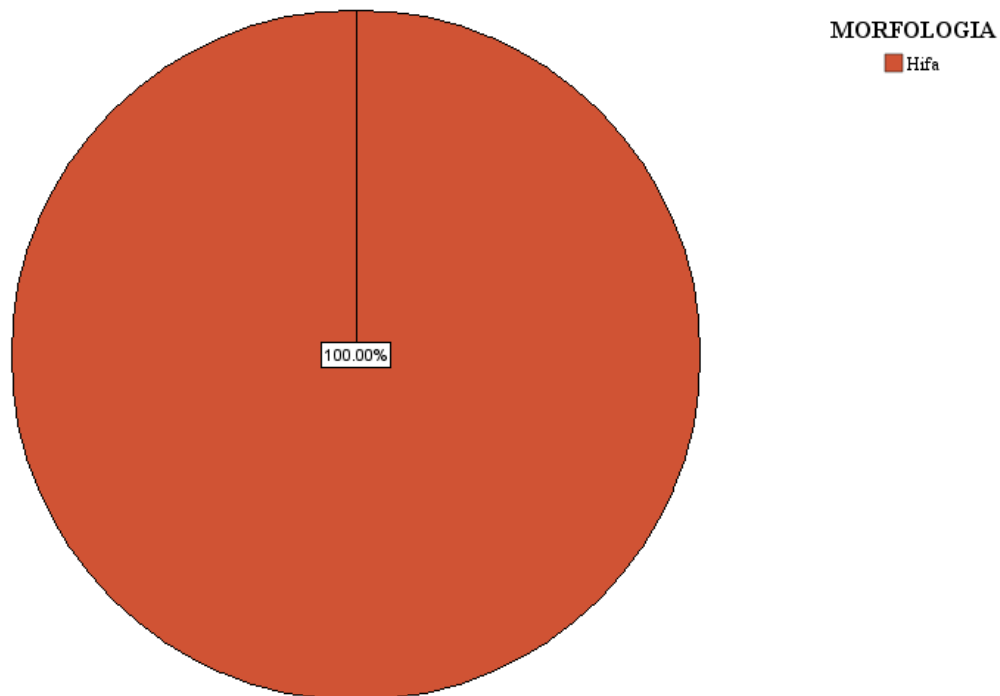
Morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* a las 48 hrs

U	MUESTRA	MORFOLOGIA
		48 HRS
1	CaSa	Hifa
2	CaSa	Hifa
3	CaSa	Hifa
4	CaSa	Hifa
5	CaSa	Hifa
6	CaSa	Hifa
7	CaSa	Hifa
8	CaSa	Hifa
9	CaSa	Hifa
10	CaSa	Hifa
11	CaSa	Hifa
12	CaSa	Hifa

La tabla N° 6 nos muestra la morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* incubadas durante 48 horas, en las 12 muestras se observó la formación de hifas.

GRÁFICO N° 6

Porcentaje de morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* a las 48 hrs



El gráfico N° 6, nos muestra el porcentaje de la morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* incubadas durante 48 horas. La morfología de hifa del hongo se presentó en un 100% de las muestras.

TABLA N° 7

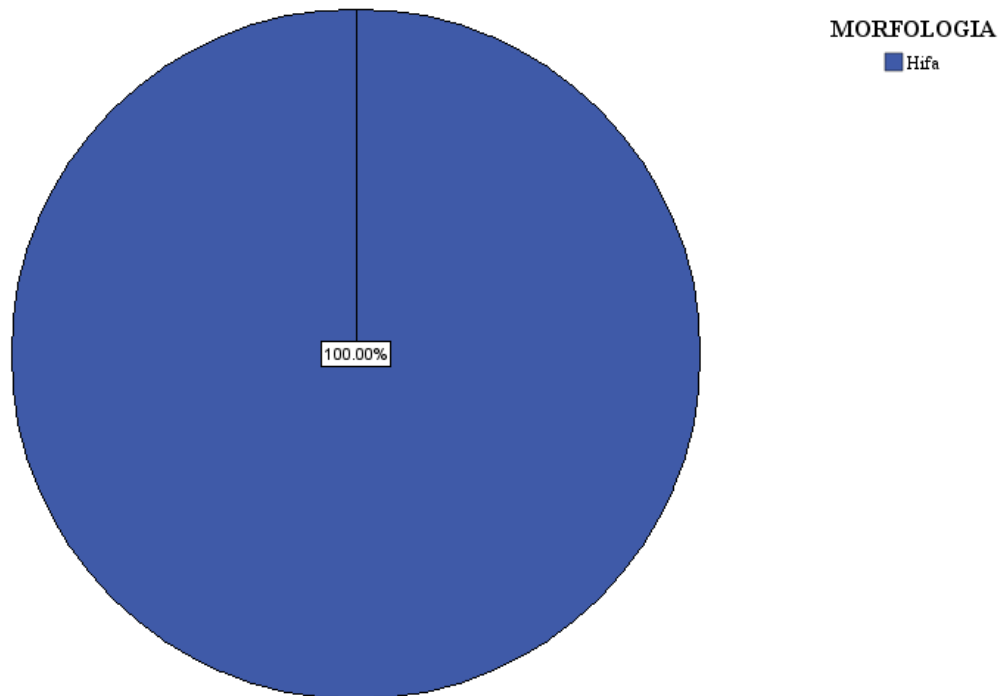
Morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* a las 72 hrs

U	MUESTRA	MORFOLOGIA
		72 HRS
1	CaSa	Hifa
2	CaSa	Hifa
3	CaSa	Hifa
4	CaSa	Hifa
5	CaSa	Hifa
6	CaSa	Hifa
7	CaSa	Hifa
8	CaSa	Hifa
9	CaSa	Hifa
10	CaSa	Hifa
11	CaSa	Hifa
12	CaSa	Hifa

La tabla N° 7 nos muestra la morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* incubadas durante 72 horas, en las 12 muestras se observó la formación de hifas.

GRÁFICO N° 7

Porcentaje de morfología *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* a las 72 hrs



El gráfico N° 7, nos muestra el porcentaje de la morfología de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* incubadas durante 72 horas. La morfología de hifa del hongo se presentó en un 100% de las muestras.

TABLA N° 8

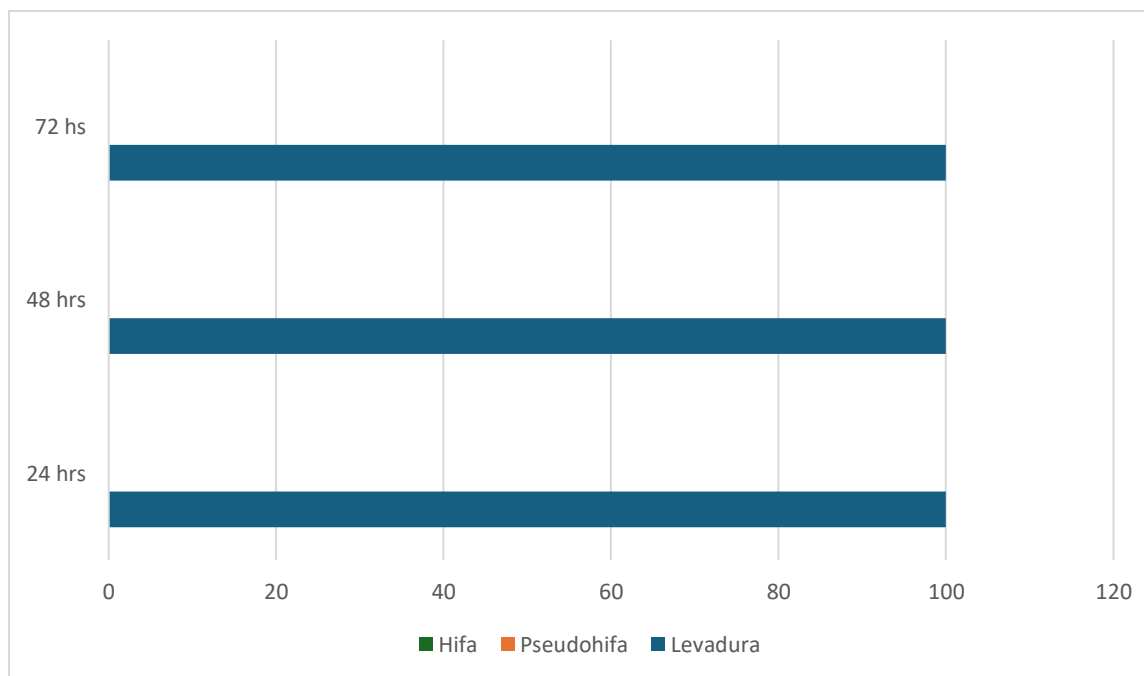
Morfología de *Candida albicans* sin sobrenadante a las 24, 48 y 72 hrs.

U	MUESTRA	MORFOLOGÍA		
		24 HRS	48 HRS	72 HRS
1	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
2	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
3	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
4	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
5	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
6	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
7	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
8	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
9	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
10	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
11	Ca	Levadura	Levadura	Levadura
12	Ca	Levadura	Levadura	Levadura

La tabla N° 7 nos muestra la morfología de *Candida albicans* sin sobrenadante (grupo control) incubada durante 24 – 48 y 72 horas, en las 12 muestras, a lo largo de los distintos tiempos de incubación, se observó solo la morfología de levadura.

GRÁFICO N° 8

Gráfico de la distribución de la probabilidad para datos de morfología de *Candida albicans* sin sobrenadante a las 24 – 48 y 72 hrs.



El gráfico N° 8, nos muestra el porcentaje de la morfología de *Candida albicans* sin sobrenadante de *Staphylococcus aureus* (grupo control) incubada durante 24 – 48 y 72 horas. La morfología de levadura del hongo se presentó en un 100% de las muestras a lo largo de los distintos periodos de incubación.

TABLA N° 9

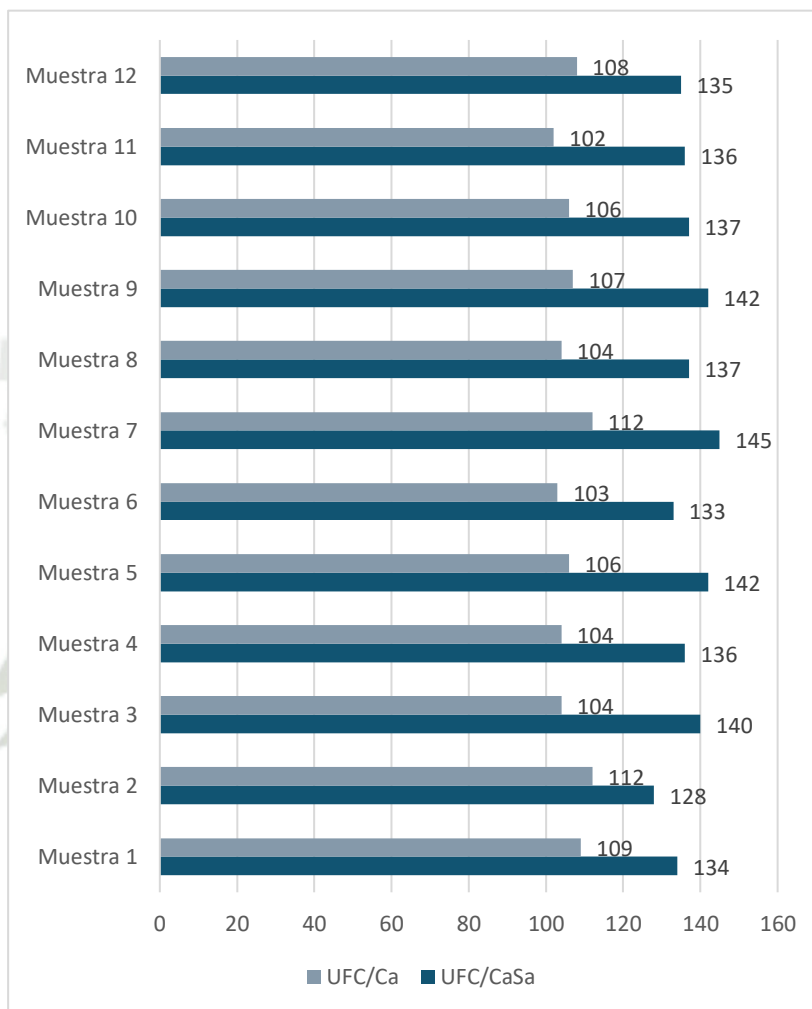
Unidades formadoras de colonias de *Candida albicans* con Sobrenadante de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* sin sobrenadante para ver viabilidad.

Muestra	UFC/ CaSa	UFC/Ca
1	134	109
2	128	112
3	140	104
4	136	104
5	142	106
6	133	103
7	145	112
8	137	104
9	142	107
10	137	106
11	136	102
12	135	108

En la tabla N° 9 se observan los datos obtenidos de las unidades formadoras de colonia en el Agar Sabouraud de las 12 muestras. Los resultados obtenidos al conteo de las UFC de *Candida albicans* son sobrenadante de *Staphylococcus aureus* se muestran en la segunda columna. Asimismo, en la tercera columna se muestran los datos obtenidos al conteo de las UFC de *Candida albicans* pura.

GRÁFICO N° 9

Gráfico para datos obtenidos de Unidades Formadoras de Colonias de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* Pura



El gráfico N°9 nos muestra los datos obtenidos los resultados obtenidos al conteo de las UFC de *Candida albicans* son sobrenadante de *Staphylococcus aureus* se muestran en la segunda columna. Asimismo, en la tercera columna se muestran los datos obtenidos al conteo de las UFC de *Candida albicans* pura.

Se observa que hay más UFC en las muestras de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* a comparación a las muestras de *Candida albicans* pura.

DISCUSIÓN

Candida albicans es un colonizador comensal frecuente en la cavidad oral, el tracto gastrointestinal, la vagina y la piel. En individuos inmunocompetentes este hongo se mantiene de forma inofensiva debido a las defensas innatas del huésped. No obstante, existen factores predisponentes que logran cambiar el entorno a uno donde se favorezca a la multiplicación de Cándida, como es el caso dado en personas inmunosuprimidas debido a la presencia de alguna enfermedad sistémica, uso de antibióticos de amplio espectro, uso de prótesis mucosoportadas, tabaco, edad, etc (50).

Al convertirse en un patógeno fúngico oportunista es capaz de causar infecciones, en especial a mucosas de la cavidad oral, dando lugar a la tan conocida Candidiasis Oral, con gran importancia en el ámbito odontológico. El cambio de comensal a patógeno dependerá de la unión de factores predisponentes del hospedador, factores dependientes del hongo y factores que modifican el microambiente de la cavidad oral (25).

No obstante, no es el único microorganismo colonizando la microbiota oral, pues existe gran número de bacterias comensales formando parte de este ecosistema, como lo es el caso del *Staphylococcus aureus* (19). Este último, forma parte de los principales patógenos nosocomiales con gran implicación en hospitalizaciones y 50 000 muertes cada año en EEUU (20). Pese a que su hábitat favorito son las mucosas de las fosas nasales, estudios recientes han demostrado a la cavidad oral como un ideal punto de partida para su difusión y transmisión (51), cuando se dan las condiciones necesarias para ello. Este coco gram positivo posee gran variedad factores de virulencia, destacándose polisacáridos capsulares, formación de biopelículas, componentes de la superficie microbiana, proteínas de unión al fibrinógeno (factor clumping) y toxinas (α y β), que lo convierten en un patógeno versátil y formidable, causante de una amplia gama de infecciones y otorgándole resistencia ante tratamientos antimicrobianos (41).

Entonces, siendo la cavidad bucal un reservorio importante de *Staphylococcus aureus*, y siendo a la vez lugar relevante de infección a causa del hongo *Candida albicans*, es importante averiguar el impacto que tiene esta bacteria en el crecimiento hifal del hongo, pues se sabe que juntos, dan lugar a una co- infección responsable de sepsis nosocomial e infección en el torrente sanguíneo causando una morbilidad y mortalidad graves en las personas (52).

Al tomar como base a los resultados de la prueba estadística aplicada, las diferencias entre el grupo de muestras de *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* y el grupo de muestras de *Candida albicans* puro son significativas, por ende, se puede deducir que el sobrenadante de *Staphylococcus aureus* influye en la virulencia de la *Candida albicans*.

Wu, et al (2021) reportaron que las infecciones del torrente sanguíneo mixtas producidas por una coinfección con *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus* produce una mayor mortalidad en pacientes inmunodeprimidos en comparación con el grupo de pacientes con infecciones del torrente sanguíneo monomicrobianos de *Candida albicans*. Pues, tras el análisis de las biopelículas in vitro y en modelos de pez cebra sustituto in vivo, se mostró que el *Staphylococcus aureus* aumenta considerablemente la formación de biopelículas de *Candida albicans* en términos de actividad y cantidad. Asimismo, se evidenció la protección de *Candida albicans* hacia el *Staphylococcus aureus* frente a agentes antimicrobianos como la vancomicina debido al β -glucano y que los principales genes de toxinas de la bacteria, incluidos hla (alfa hemolisina) y hlgB (gamma hemolisina) se encuentran regulados significativamente, lo que resulta en una alta mortabilidad. Este estudio coincide con los resultados de esta investigación, al concluir que *Staphylococcus aureus* aumenta la virulencia de *Candida albicans* en pacientes con infecciones del torrente sanguíneo, ello porque la interacción de ambos patógenos probablemente exacerba el daño tisular y la erosión durante la invasión hifal (52).

Sin embargo, los resultados discrepan del estudio realizado por Yu, et al (2023) donde se reportó que una de la proteína secretada por *Staphylococcus aureus*, la alfa-hemolisina, causó daño a la pared celular e impidió la transición levadura-hifas de *Candida albicans* reduciendo su virulencia tras emplear modelos de ratón. Estas diferencias pueden deberse a diversos factores como el origen de las cepas en estudio, las condiciones fisiológicas de los animales en estudio, los factores ambientales, entre otros, pues en el estudio de Yu, et al se utilizó Hla para tratar *Candida albicans* tanto en experimentos in vitro como in vivo, mientras que no se utilizó *Staphylococcus aureus* vivo (46).

Uno de los factores de virulencia de *Candida albicans* es su transformación de su morfología de levadura a hifa, el cual le confiere más capacidad de adherencia al hospedero y penetración a los tejidos queratinizados de este, el cual este estudio demostró la existencia de una influencia del *Staphylococcus aureus* en la morfología y crecimiento de *Candida albicans* aumentando su

virulencia al promover su morfología hifal. Es probable que esta conducta sea por la producción de proteínas autoinductoras (quorum sensing) del *Staphylococcus aureus* que son expresadas por este microorganismo cuando se encuentra en altas densidades, pues la virulencia de este microorganismo y sus respuestas metabólicas dentro de estas colonias, se coordinan a través de la detección de esta proteína, mediante su regulador de virulencia estafilocócica más estudiada, el gen accesorio Agr, permitiendo a las poblaciones de esta bacteria producir toxinas e incrementar su virulencia en respuesta a la densidad bacteriana (53).

De igual forma, Peters, et al (2012) evidenciaron en su investigación que existe un gen presente en las hifas de *Candida albicans*, la adhesina Als3p, receptor de superficie específico para *Staphylococcus aureus*, lo cual evidenciaría la fuerte unión existente de las células de esta bacteria a las hifas del hongo *Candida albicans* (54). Hecho que, podría explicar la necesidad del cambio a una morfología hifal en este hongo por parte del *Staphylococcus aureus*, induciendo a la producción de esta proteína inductora reportada en la investigación de Butrico, et al (53).

En el ambiente odontológico, según Chandra (55), el *Staphylococcus aureus* es uno de los patógenos más comunes dentro de las infecciones orofaciales de origen odontogénico, presentándose en infecciones orales como las periodontales y endodónticas como abscesos dentales y celulitis facial odontógena, esta última patología toma gran relevancia pues un estudio reciente evidencia el desarrollo de ésta a causa del hongo *Candida albicans* (56). Siendo así, al darse el caso del desarrollo de esta infección en un individuo, es probable la interacción de ambos microorganismos e inducir a un posterior aumento en la patogenicidad de este hongo al aumentar su virulencia causada por el *Staphylococcus aureus* y consecuentemente promover el desarrollo de algún tipo de candidiasis oral.

CONCLUSIONES

PRIMERO: El sobrenadante de *Staphylococcus aureus* aumenta la virulencia de la *Candida albicans*.

SEGUNDO: El sobrenadante de *Staphylococcus aureus* aumenta significativamente las UFC de la *Candida albicans* (viabilidad) en comparación con el grupo de control.

TERCERO: El sobrenadante de *Staphylococcus aureus* afecta la morfología de la *Candida albicans* al promover su transformación de levadura a hifa.

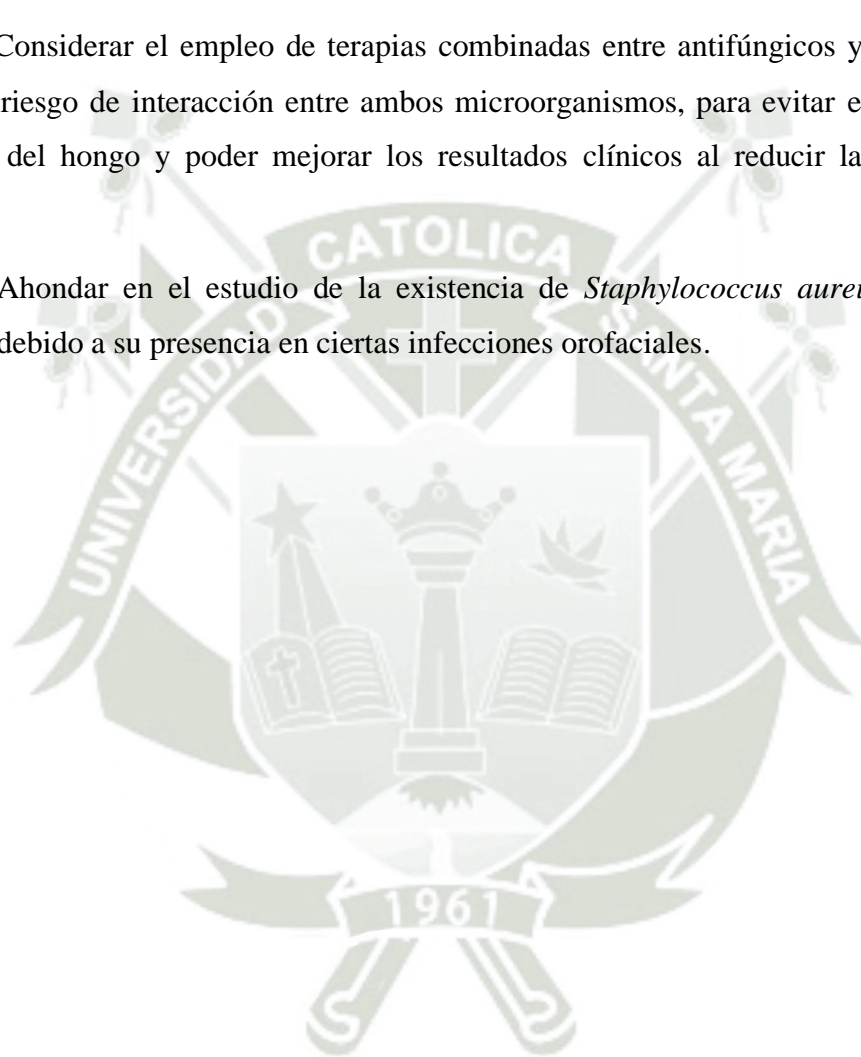


RECOMENDACIONES

PRIMERO: Investigar más a fondo acerca de los mecanismos implicados en la interacción del *Staphylococcus aureus* con *Candida albicans* que influye en el aumento de la virulencia de este último.

SEGUNDO: Considerar el empleo de terapias combinadas entre antifúngicos y antibióticos en pacientes con riesgo de interacción entre ambos microorganismos, para evitar el aumento de la patogenicidad del hongo y poder mejorar los resultados clínicos al reducir la carga de estas infecciones.

TERCERO: Ahondar en el estudio de la existencia de *Staphylococcus aureus* en la clínica odontológica, debido a su presencia en ciertas infecciones orofaciales.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

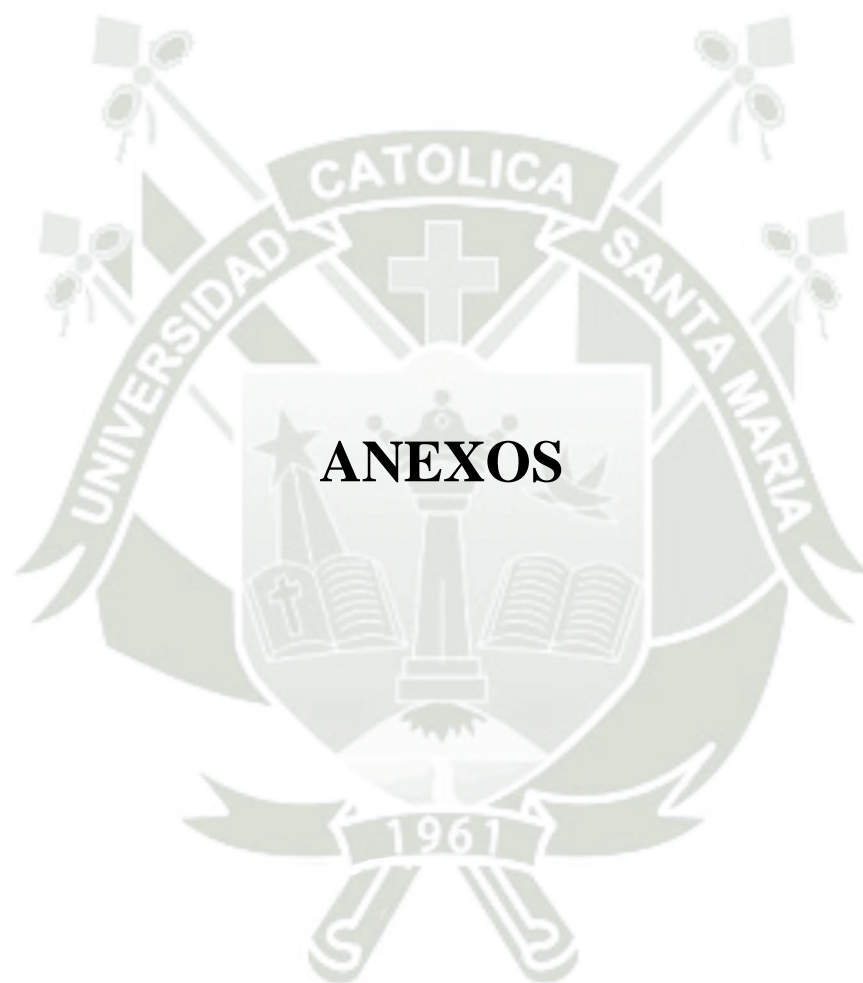
1. Poulain D. *Candida albicans*, plasticity and pathogenesis. *Crit Rev Microbiol*. 2015;41(2):208-17.
2. Hellstein JW, Marek CL. Candidiasis: Red and White Manifestations in the Oral Cavity. *Head Neck Pathol*. 2019;13(1):25-32.
3. Chen D, Li J, Pan T, Wu R, Tao Y, Lin H. The broad-spectrum antibiofilm activity of amyloid-forming hexapeptides. *Microb Biotechnol*. 2021;14(2):656-67.
4. Wall G, Montelongo-Jauregui D, Vidal Bonifacio B, Lopez-Ribot JL, Uppuluri P. *Candida albicans* biofilm growth and dispersal: contributions to pathogenesis. *Curr Opin Microbiol*. 2019;52:1-6.
5. Esberg A, Johansson L, Berglin E, Mohammad AJ, Jonsson AP, Dahlqvist J, et al. Oral Microbiota Profile in Patients with Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis. *Microorganisms*. 2022;10(8).
6. Madani M, Berardi T, Stoopler ET. Anatomic and examination considerations of the oral cavity. *Med Clin North Am*. 2014;98(6):1225-38.
7. Arweiler NB, Netuschil L. The Oral Microbiota. *Adv Exp Med Biol*. 2016;902:45-60.
8. Chen H, Zhou X, Ren B, Cheng L. The regulation of hyphae growth in *Candida albicans*. *Virulence*. 2020;11(1):337-48.
9. McCarty TP, White CM, Pappas PG. Candidemia and Invasive Candidiasis. *Infect Dis Clin North Am*. 2021;35(2):389-413.
10. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*. 1998;339(8):520-32.
11. Ahmad-Mansour N, Loubet P, Pouget C, Dunyach-Remy C, Sotto A, Lavigne JP, et al. *Staphylococcus aureus* Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. *Toxins (Basel)*. 2021;13(10).
12. Martorano-Fernandes L, Ricomini-Filho AP, Del Bel Cury AA. Does Streptococcus oralis supernatant influence on the proliferation and virulence of *Candida albicans*? *Arch Oral Biol*. 2023;154:105763.
13. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiol Rev*. 2012;36(2):288-305.

14. Gulati M, Nobile CJ. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes Infect.* 2016;18(5):310-21.
15. Achkar JM, Fries BC. *Candida* infections of the genitourinary tract. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(2):253-73.
16. Lopes JP, Lionakis MS. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence.* 2022;13(1):89-121.
17. Macias-Paz IU, Perez-Hernandez S, Tavera-Tapia A, Luna-Arias JP, Guerra-Cardenas JE, Reyna-Beltran E. *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. *Rev Argent Microbiol.* 2023;55(2):189-98.
18. Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annu Rev Microbiol.* 2015;69:71-92.
19. Hirose M, Aung MS, Fujita Y, Kato T, Hirose Y, Yahata S, et al. Genetic Characterization of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus argenteus*, and Coagulase-Negative *Staphylococci* Colonizing Oral Cavity and Hand of Healthy Adults in Northern Japan. *Pathogens.* 2022;11(8).
20. Goetghebeur M, Landry PA, Han D, Vicente C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A public health issue with economic consequences. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2007;18(1):27-34.
21. Talapko J, Juzbasic M, Matijevic T, Pustijanac E, Bekic S, Kotris I, et al. *Candida albicans*-The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *J Fungi (Basel).* 2021;7(2).
22. Naglik JR, Gaffen SL, Hube B. Candidalysin: discovery and function in *Candida albicans* infections. *Curr Opin Microbiol.* 2019;52:100-9.
23. Calderone R, Odds FC, Boekhout T. *Candida albicans*: fundamental research on an opportunistic human pathogen. *FEMS Yeast Res.* 2009;9(7):971-2.
24. Lombardi A, Ouanounou A. Fungal infections in dentistry: Clinical presentations, diagnosis, and treatment alternatives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2020;130(5):533-46.
25. Taylor M, Brizuela M, Raja A. Oral Candidiasis. *StatPearls.* Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Melina Brizuela declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Avas Raja declares no relevant financial relationships with ineligible companies.2024.
26. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J.* 2002;78(922):455-9.

27. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG, Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev. 2015;28(3):603-61.
28. Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, Shirtliff ME. *Staphylococcus aureus* biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. Virulence. 2011;2(5):445-59.
29. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis. 1999;29(5):1128-32.
30. Lee AS, de Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nat Rev Dis Primers. 2018;4:18033.
31. Tam K, Torres VJ. *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. Microbiol Spectr. 2019;7(2).
32. Boyce JM, Cookson B, Christiansen K, Hori S, Vuopio-Varkila J, Kocagoz S, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet Infect Dis. 2005;5(10):653-63.
33. Min C, Wang H, Xia F, Tang M, Li J, Hu Y, et al. Characteristics of *Staphylococcus aureus* small colony variants isolated from wound specimen of a tertiary care hospital in China. J Clin Lab Anal. 2022;36(1):e24121.
34. Baird RM, Lee WH. Media used in the detection and enumeration of *Staphylococcus aureus*. Int J Food Microbiol. 1995;26(1):15-24.
35. Yarwood JM, Schlievert PM. Quorum sensing in *Staphylococcus* infections. J Clin Invest. 2003;112(11):1620-5.
36. Vinodhini V, Kavitha M. Deciphering agr quorum sensing in *Staphylococcus aureus*: insights and therapeutic prospects. Mol Biol Rep. 2024;51(1):155.
37. Fitzgerald JR, Sturdevant DE, Mackie SM, Gill SR, Musser JM. Evolutionary genomics of *Staphylococcus aureus*: insights into the origin of methicillin-resistant strains and the toxic shock syndrome epidemic. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98(15):8821-6.
38. Weese JS, Archambault M, Willey BM, Hearn P, Kreiswirth BN, Said-Salim B, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel, 2000-2002. Emerg Infect Dis. 2005;11(3):430-5.

39. Duquette RA, Nuttall TJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem? J Small Anim Pract. 2004;45(12):591-7.
40. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al. Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. Clin Infect Dis. 2011;52(3):e18-55.
41. McCormack MG, Smith AJ, Akram AN, Jackson M, Robertson D, Edwards G. *Staphylococcus aureus* and the oral cavity: an overlooked source of carriage and infection? Am J Infect Control. 2015;43(1):35-7.
42. Simoes-Silva L, Ferreira S, Santos-Araujo C, Tabaió M, Pestana M, Soares-Silva I, et al. Oral Colonization of *Staphylococcus* Species in a Peritoneal Dialysis Population: A Possible Reservoir for PD-Related Infections? Can J Infect Dis Med Microbiol. 2018;2018:5789094.
43. Donkor ES, Kotey FC. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the Oral Cavity: Implications for Antibiotic Prophylaxis and Surveillance. Infect Dis (Auckl). 2020;13:1178633720976581.
44. Gibson J, Wray D, Bagg J. Oral staphylococcal mucositis: A new clinical entity in orofacial granulomatosis and Crohn's disease. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2000;89(2):171-6.
45. Smith AJ, Robertson D, Tang MK, Jackson MS, MacKenzie D, Bagg J. *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. Br Dent J. 2003;195(12):701-3; discussion 694.
46. Yu X, Mao Y, Li G, Wu X, Xuan Q, Yang S, et al. Alpha-Hemolysin from *Staphylococcus aureus* Obstructs Yeast-Hyphae Switching and Diminishes Pathogenicity in *Candida albicans*. J Microbiol. 2023;61(2):233-43.
47. Garcia MT, Dos Santos JD, do Carmo PHF, Mendes GV, de Oliveira JR, de Oliveira LD, et al. Streptococcus mutans supernatant affects the virulence of *Candida albicans*. Braz J Microbiol. 2024;55(1):365-74.
48. Jiang Q, Jing Q, Ren B, Cheng L, Zhou X, Lai W, et al. Culture Supernatant of Enterococcus faecalis Promotes the Hyphal Morphogenesis and Biofilm Formation of *Candida albicans*. Pathogens. 2022;11(10).

49. Chen L SP, Yang J, Gu Y, Tang X, Wang X, Wang X, et al. Effect of *Lactobacillus delbrueckii* fermented supernatant on *Candida albicans* biofilm formation. *Chin Jour of Lab Med*. 2019;12:365 - 70.
50. James KM, MacDonald KW, Chanyi RM, Cadieux PA, Burton JP. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation and modulation of gene expression by probiotic cells and supernatant. *J Med Microbiol*. 2016;65(4):328-36.
51. Campos J, Pires MF, Sousa M, Campos C, da Costa C, Sampaio-Maia B. Unveiling the Relevance of the Oral Cavity as a *Staphylococcus aureus* Colonization Site and Potential Source of Antimicrobial Resistance. *Pathogens*. 2023;12(6).
52. Wu YM, Huang PY, Cheng YC, Lee CH, Hsu MC, Lu JJ, et al. Enhanced Virulence of *Candida albicans* by *Staphylococcus aureus*: Evidence in Clinical Bloodstream Infections and Infected Zebrafish Embryos. *J Fungi (Basel)*. 2021;7(12).
53. Butrico CE, Cassat JE. Quorum Sensing and Toxin Production in *Staphylococcus aureus* Osteomyelitis: Pathogenesis and Paradox. *Toxins (Basel)*. 2020;12(8).
54. Peters BM, Ovchinnikova ES, Krom BP, Schlecht LM, Zhou H, Hoyer LL, et al. *Staphylococcus aureus* adherence to *Candida albicans* hyphae is mediated by the hyphal adhesin Als3p. *Microbiology (Reading)*. 2012;158(Pt 12):2975-86.
55. Jagadish Chandra H, Sripathi Rao BH, Muhammed Manzoor AP, Arun AB. Characterization and Antibiotic Sensitivity Profile of Bacteria in Orofacial Abscesses of Odontogenic Origin. *J Maxillofac Oral Surg*. 2017;16(4):445-52.
56. Chen HM, Shih CC, Yen KL, Wang SM, Kuo YS, Kuo MY, et al. Facial *Candida albicans* cellulitis occurring in a patient with oral submucous fibrosis and unknown diabetes mellitus after local corticosteroid injection treatment. *J Oral Pathol Med*. 2004;33(4):243-5.



ANEXO N°1

MODELO DE INSTRUMENTO

FICHA DE REGISTRO DE DATOS CON *CANDIDA ALBICANS* Y SOBRENADANTE DE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS

U	MUESTRA	MORFOLOGIA			OBSERVACIONES
		24 HRS	48 HRS	72 HRS	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					

FICHA DE DATOS EN MUESTRAS CON *CANDIDA ALBICANS* PURA (GRUPO CONTROL)

U	MUESTRA	MORFOLOGIA			OBSERVACIONES
		24 HRS	48 HRS	72 HRS	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					

ANEXO N°2: Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM:

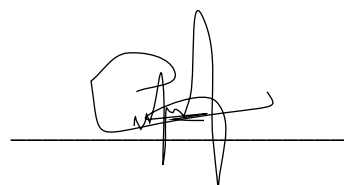
Arequipa, 04 de Marzo del 2024

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

Estimado Doctor Luis Ponce Soto, por medio de la presente yo, Jeremy Ramiro Valdivia Cervera, identificado con el DNI n° 70369234 y el código de alumno 2018248691, quiero solicitar la autorización para trabajar en el Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM para la realización de mi proyecto de Tesis titulado: “Análisis de expresión por aproximación proteómica de marcadores moleculares asociados al proceso cariogenico producido por *Candida albicans*. Arequipa 2024.” para optar por el título de Cirujano Dentista en la UCSM.

Ruego a usted acceder a mi solicitud.

Atentamente:



Chávez Borda, Emily Fiorella
DNI 71501613



DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIZACION

ANEXO N°3

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


DECLARO:

Que el trabajo de Investigación denominado: “**INFLUENCIA DEL SOBRENADANTE DEL STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN LA VIRULENCIA DE LA CANDIDA ALBICANS**”, se realizará por el Alumno Emily Fiorella Chavez Borda y docente Dr. Gustavo Obando Pereda en las instalaciones del laboratorio de Química de Proteínas, bajo mi supervisión.

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

Arequipa, 01 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

Teléfono: 382038. Anexo 1111

Universidad Católica de Santa María de Arequipa – Perú

ANEXO N° 4

FICHA DE REGISTRO DE DATOS CON C. ALBICANS Y SOBRENADANTE DE S. AUREUS

U	MUESTRA	MORFOLOGIA			OBSERVACIONES
		24 HRS	48 HRS	72 HRS	
1	CaSa	Pseudohifa	Hifa	Hifa	-
2	CaSa	Pseudohifa	Hifa	Hifa	-
3	CaSa	pseudohifa	Hifa	Hifa	-
4	CaSa	Pseudohifa	Hifa	Hifa	-
5	CaSa	Pseudohifa	Hifa	Hifa	-
6	CaSa	Pseudohifa	Hifa	Hifa	-
7	CaSa	Levadura	Hifa	Hifa	-
8	CaSa	Pseudohifa	Hifa	Hifa	-
9	CaSa	Levadura	Hifa	Hifa	-
10	CaSa	Pseudohifa	Hifa	Hifa	-
11	CaSa	Pseudohifa	Hifa	Hifa	-
12	CaSa	Pseudohifa	Hifa	Hifa	-

FICHA DE DATOS EN MUESTRAS CON C. ALBICANS PURA (GRUPO CONTROL)

U	MUESTRA	MORFOLOGIA			OBSERVACIONES
		24 HRS	48 HRS	72 HRS	
1	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
2	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
3	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
4	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
5	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
6	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
7	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
8	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
9	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
10	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
11	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-
12	Ca	Levadura	Levadura	Levadura	-

ANEXO N° 5

MODELO DE TABULACIÓN DE RESULTADOS SOBRE VIRULENCIA

Unidad formadora de colonias *Candida albicans* con sobrenadante de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* pura

MUESTRA	UFC/ CaSa	UFC/Ca
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		

ANEXO N°6

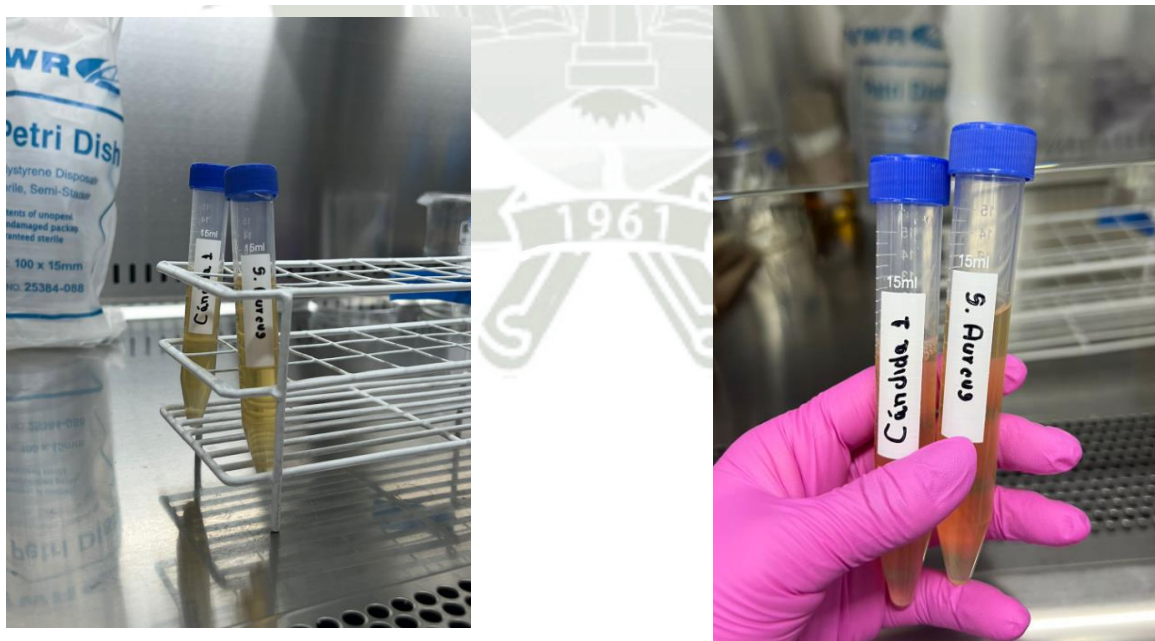
SECUENCIA FOTOGRAFICA

Figura N°1



Caldo BHI esterilizado y tubos de ensayo para
Candida albicans y *Staphylococcus aureus*

Figura N°2



Preparación de inóculos de microorganismos

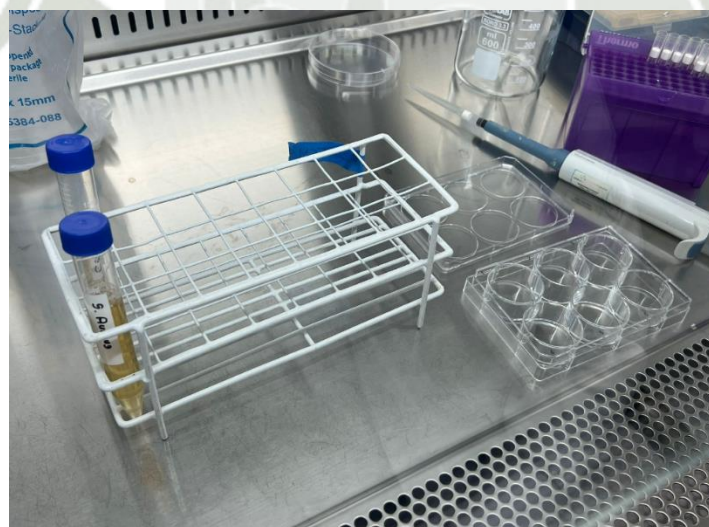
Figura N°3



Centrifugación de *Staphylococcus aureus* para obtención del sobrenadante

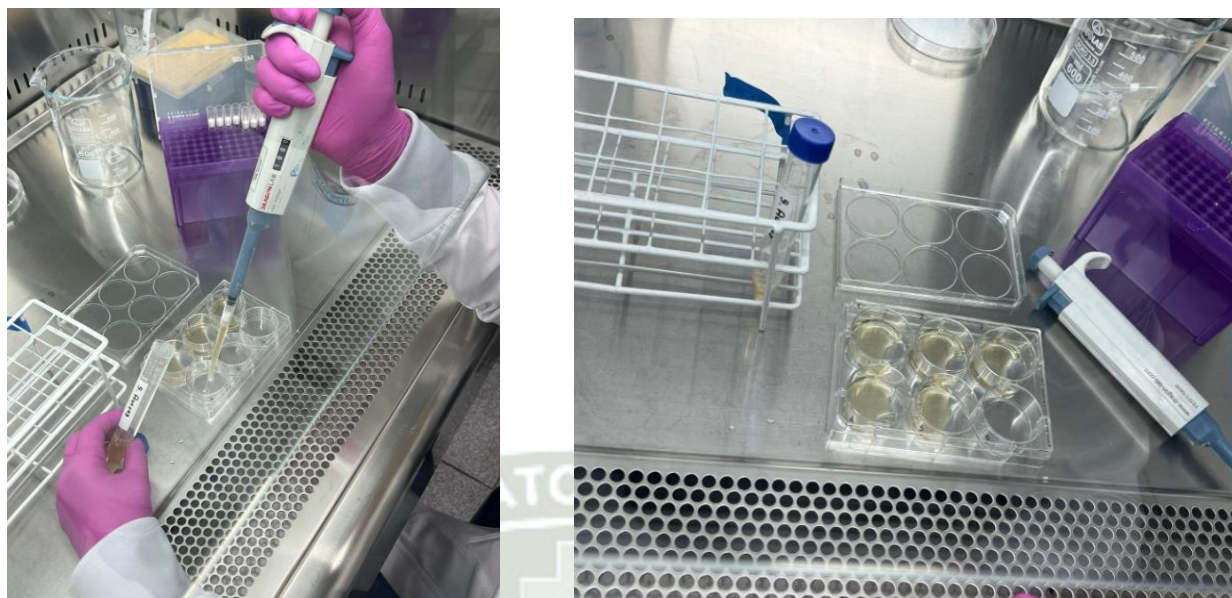
Figura N°4

CAMARA DE FLUJO LAMINAR



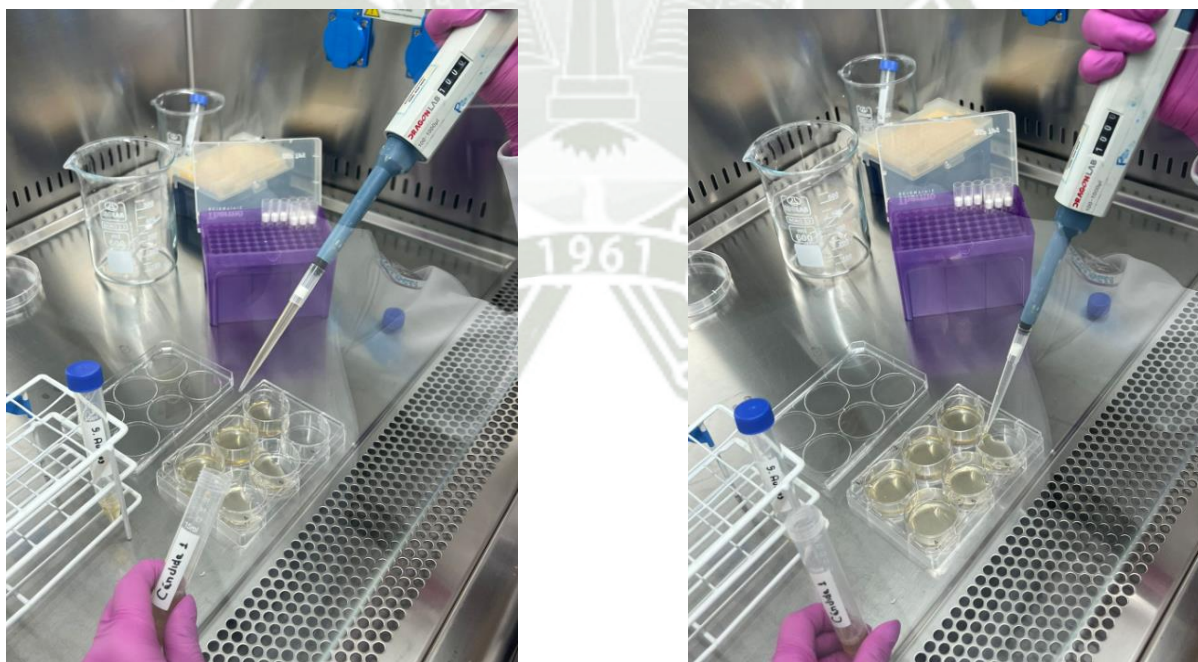
Instrumental para colocación de sobrenadante y grupo de control en la cámara de flujo laminar (Cabina de Bioseguridad)

Figura N°5



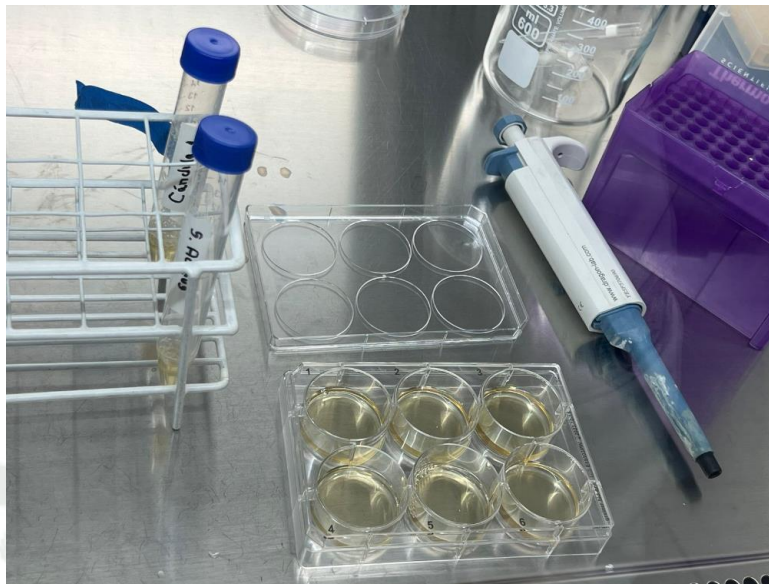
Distribución de sobrenadante de *Staphylococcus aureus* en placas de cultura de 6 pozos con inóculo de Cándida

Figura N°6



Colocación de inóculo de *Candida albicans* puro para grupo de control

Figura N°08



Inóculos de *Candida albicans* y de *Staphylococcus aureus* listos para llevar a incubar

Figura N°09

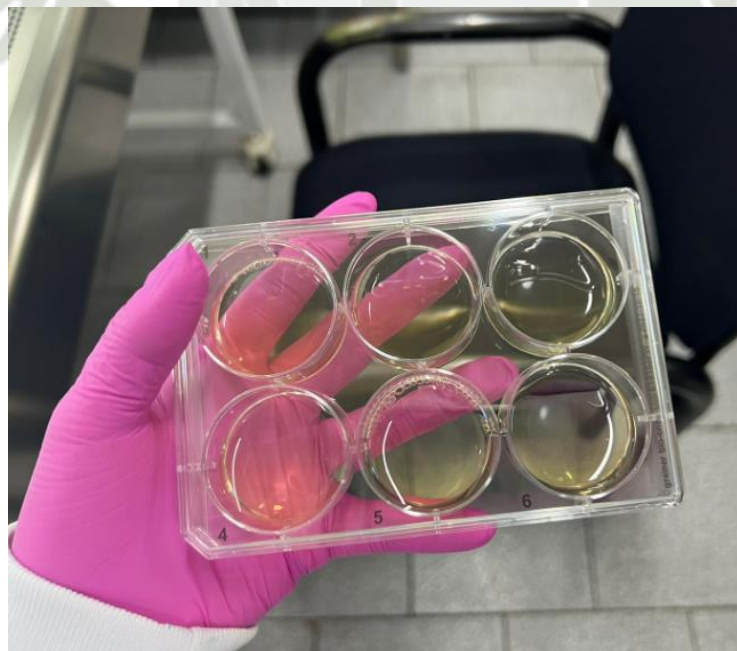


Figura N°10



Incubación a 37 grados por 24 – 48 y 72 hrs

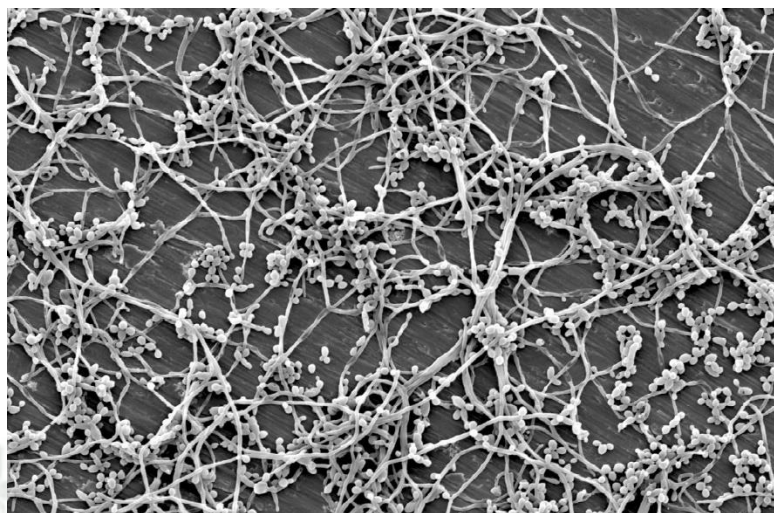
ANEXO N°7

IMÁGENES EN MICROSCOPIO INVERTIDO

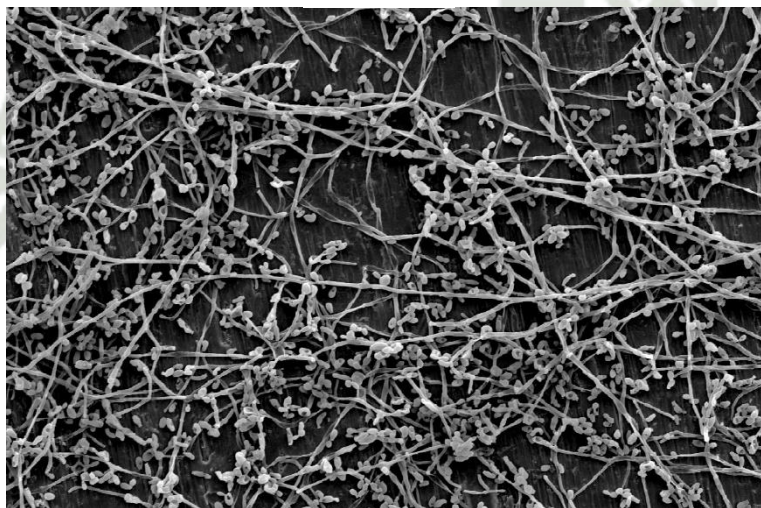


ANEXO N°8

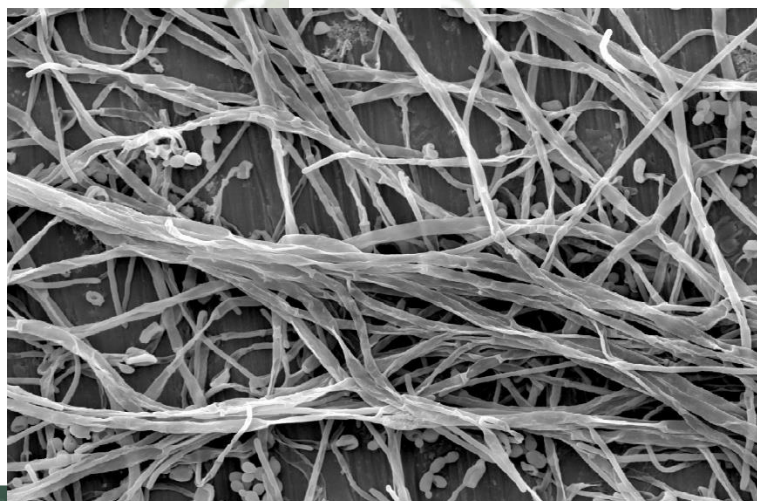
MICROFOTOGRAFIA ELECTRONICA



24 HRS



48 HRS



72 HRS