



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**“ADHERENCIA IN VITRO DE *Candida albicans* EN TRES  
DIFERENTES ACONDICIONADORES DE TEJIDOS  
USADOS EN PROSTODONCIA TOTAL”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N A   D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

YASMIN BONILLA RODRIGUEZ

TUTOR: MTRO. VICTOR MORENO MALDONADO

ASESORES: Q.B.P. BERTHA MUÑOZ HERNÁNDEZ  
BIOL. GABRIEL PALMA CORTÉS

MÉXICO, D.F.

**2008**

**DEDICO ESTA TESIS A:**

A mis Padres:

**PABLO BONILLA CABRERA Y CELIA RODRIGUEZ BENITEZ**, con un gran cariño, admiración y respeto, por el inmenso apoyo, por la comprensión dada en toda mi formación, por la confianza que me depositaron y el impulso que me dieron para seguir adelante en los momentos difíciles. Los quiero y los amo.

A mi Hermano:

**JULIO CESÁR BONILLA RODRIGUEZ**, con gran amor y ternura, por la complicidad, apoyo y ayuda en todos los momentos complicados de mi vida. Te quiero.

**A mi familia:**

Por todo el cariño que me han demostrado en mi vida, por su apoyo en todos los momentos tanto difíciles, como gratos que he tenido en mi vida, por los buenos consejos.

A mis queridos:

**MTRO. VICTOR MORENO MALDONADO**, y a su esposa **C.D. GRACIELA VELÁZQUEZ DE ALBA** por todo el apoyo, la confianza, amistad, seguridad, consejos y conocimientos impartidos en mi desarrollo profesional. Los quiero y respeto. Se los agradezco infinitamente.

**A la Universidad Nacional Autónoma de México**

**Facultad de Odontología**, por las enseñanzas dadas, por permitirme la oportunidad de desarrollarme como profesionalista.

**Dra. Argelia Almaguer Flores**, por su apoyo y enseñanza en el Laboratorio de Genética Molecular, División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología en la preparación y tratamiento de muestras para observación en el Microscopio Electrónico de Barrido.

**Dra. Laura Susana Acosta Torres**, por su apoyo en la obtención estadística de los resultados, en Laboratorio de Materiales Dentales, División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología.

**C.D. Enrique Romo Arévalo**, por todo el apoyo impartido durante la realización de esta investigación, por su amistad, por la información impartida y la ayuda dada. Te lo agradezco.

A mis **amigos** del laboratorio de Interdisciplinario de Prosthodontia y del INER, por el apoyo, su amistad, por las críticas constructivas hechas y la confianza brindada gracias.

Al Departamento de Investigación en Virología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias y a la **Dra. María Eugenia Manjarrez** que me permitieron la entrada para realizar todo el desarrollo microbiológico de este estudio de investigación.

**Q.B.P. Bertha Muños Hernández**, por su gran apoyo, enseñanza, los cuales contribuyeron e este estudio de investigación.

**BIOL. Gabriel Palma Cortés**, por sus enseñanzas, conocimientos y amistad, durante todo el procedimiento de investigación.

Al Instituto de Investigaciones en Materiales y al **Dr. José Álvaro Chávez Carvayar** por permitirme obtener y observar los resultados de este estudio de investigación con el Microscopio Electrónico de Barrido.

**Mtro. Omar Novelo Peralta**, por su gran apoyo y paciencia en el manejo y obtención de las fotografías del Microscopio Electrónico de Barrido.

**Mtro. Salvador López Morales**, por brindar un gran apoyo y ayuda.

ÍNDICE

<b>1. Resumen</b>	.....	<b>11</b>
<b>2. Introducción</b>	.....	<b>12</b>
<b>3. Marco Teórico</b>	.....	<b>15</b>
<b>3.1 Acondicionadores de Tejidos</b>	.....	<b>15</b>
3.1.1 Antecedentes		<b>15</b>
3.1.2 Definición		<b>15</b>
3.1.3 Características Generales		<b>15</b>
3.1.4 Mecanismos de Acción		<b>16</b>
3.1.5 Ventajas		<b>17</b>
3.1.6 Desventajas		<b>17</b>
3.1.7 Aplicaciones		<b>17</b>
3.1.8 Requisitos de los acondicionadores de tejidos según la ADA No. 75		<b>21</b>
3.1.9 Prerrequisitos para el empleo del Acondicionador de Tejidos		<b>22</b>
3.1.10 Composición		<b>23</b>
3.1.11 Mecanismo de polimerización		<b>24</b>
3.1.12 Propiedades		<b>24</b>
3.1.13 Comportamiento		<b>26</b>
3.1.14 Manejo del Material		<b>27</b>
3.1.15 Tipos de Acondicionador de Tejidos		<b>29</b>
3.1.16 Enfermedades Oportunistas		<b>31</b>
<b>3.2 Candidiasis Bucal</b>	.....	<b>32</b>
3.2.1 Definición		<b>32</b>
3.2.2 Infecciones “Factores de Virulencia”		<b>32</b>
3.2.3 Tratamiento		<b>35</b>

---

<b>3.3 <i>Candida albicans</i></b> .....	<b>36</b>
3.3.1 Historia	36
3.3.2 Taxonomía	36
3.3.3 Morfología	38
3.3.4 Características	43
3.3.5 Cultivo	49
3.3.6 Ecología	50
3.3.7 Factores relacionados con la adhesión de <i>Candida sp.</i> a las estructuras bucales.	53
<b>4. Estudio de adherencia de <i>Candida ps.</i></b> .....	<b>62</b>
<b>4.1 Tinción de Gram</b> .....	<b>62</b>
4.1.1 Técnica de Tinción Gram	63
4.1.2 Utilidades	65
4.1.3 Mecanismo de Acción	66
<b>4.2 Microscopio Electrónico de Barrido</b> .....	<b>67</b>
4.2.1 Antecedentes	68
4.2.2 Funcionamiento	69
4.2.3 Utilización	70
<b>5. Planteamiento del Problema</b> .....	<b>72</b>
<b>6. Justificación</b> .....	<b>73</b>
<b>7. Hipótesis</b> .....	<b>74</b>
<b>8. Objetivos</b> .....	<b>75</b>

---

<b>9. Material y Métodos</b> .....	<b>76</b>
<b>9.1 Recursos</b> .....	<b>76</b>
<b>9.2 Preparación de las muestras</b> .....	<b>78</b>
<b>9.3 Manejo de microorganismos y condiciones de cultivo</b> .....	<b>78</b>
<b>9.4 Ensayo de Adherencia y formación del Biofilm</b> .....	<b>81</b>
<b>9.5 Determinación de la biopelícula</b> .....	<b>83</b>
<b>9.6 Cuantificación de Adherencia</b> .....	<b>87</b>
<b>9.7 Estudio de las características de los materiales</b> .....	<b>87</b>
<b>9.8 Muestras</b> .....	<b>87</b>
<b>9.9 Método de registro de procesamiento de datos</b> .....	<b>90</b>
<b>10.Resultados</b> .....	<b>91</b>
<b>10.1 Coe Comfort</b> .....	<b>92</b>
<b>10.2 Lynal</b> .....	<b>105</b>
<b>10.3 Flexacryl</b> .....	<b>118</b>
<b>10.4 Análisis de Estadístico de Datos</b> .....	<b>131</b>
<b>11.Discusión</b> .....	<b>135</b>
<b>12.Conclusión</b> .....	<b>138</b>
<b>13.Referencias Bibliográficas</b> .....	<b>140</b>

## 1. RESUMEN

Los Acondicionadores de Tejidos, son materiales utilizados en la superficie de la base de la dentadura para el tratamiento de la mucosa bucal irritada por una prótesis mal ajustada, por recientes extracciones, por un rebasado temporal, eliminando o disminuyendo la inflamación e irritación de la mucosa bucal y estabilizando la prótesis mientras se realiza una nueva, por un tiempo relativamente corto (5-7 días). Presentan en su estructura irregularidades (porosidades); y si a esto se le suma el uso inadecuado de los mismos, como es uso prolongado (mayor al indicado) y una inadecuada o deficiente higiene, por parte del paciente, aumenta la adherencia de distintos microorganismos su superficie.

Por lo antes mencionado, se realizó el siguiente estudio de investigación con la finalidad de observar y obtener datos sobre la adherencia de *Candida albicans* en tres diferentes Acondicionadores de Tejidos, seleccionados por ser materiales con índice de mercado alto (Lynal, Coe-Comfort y Flexacryl) por duplicado, evaluado cualitativamente con Microscopía Electrónica de Barrido y cuantitativamente con Microscopio Óptico (Tinción de Gram) y en un tiempo de 24 hrs (1 día), 72 hrs (3 días) y 168 hrs (7 días).

Con los resultados obtenidos se comparó la superficie del material (porosidad e irregularidades) y el grado de adherencia de levaduras en los tres distintos Acondicionadores de Tejido, observando que en general los tres materiales van perdiendo sus características iniciales conforme pasan los días, pero que sus tiempos de deterioro son distintos, siendo directamente proporcional al grado de adherencia de *Candida albicans*.

---

## 2. INTRODUCCIÓN

La pérdida de dientes es una realidad común, que se debe a diversas causas, tales como caries y enfermedad periodontal, entre otras. Esto lleva a una alteración del sistema estomatognático y con ello una disminución de un 70% aproximadamente de la eficiencia masticatoria, dificultad en la fonación, problemas psicológicos, sociales y estéticos.<sup>6,8</sup>

En el tratamiento de un paciente totalmente desdentado es un error considerar como objetivo final la construcción de una prótesis total. La prótesis no constituye un fin, sino un medio para lograr el objetivo real, que es rehabilitar el complejo estomatognático de un paciente en forma individual realizando una restauración morfofisiológica del paciente edéntulo; permitiendo así la recuperación de las funciones tan importantes como la masticación, deglución, fonación y estética dentofacial.<sup>8,9</sup>

Existen distintos tipos de fuerzas que pueden actuar sobre las prótesis como consecuencia del desarrollo de las funciones bucales de los pacientes. Las prótesis totales, gracias a su diseño, deben ser capaces de distribuir todas las cargas que actúen sobre ellas. La biomecánica de las prótesis consiste en su funcionamiento basado en tres principios: retención, soporte y estabilidad.<sup>1, 2,4</sup>

Los principales factores que permiten lograr retención, soporte y estabilidad en una prótesis son la adhesión, la presión atmosférica y la estabilidad oclusal.

Los procedimientos de rehabilitación protésica podrían ser eficaces para lograr lo anteriormente señalado; pero cuando por diferentes causas alguno de estos factores se pierde, se obtiene una desadaptación de la unidad protésica, resorción del reborde residual; dolor, incomodidad e inflamación del tejido en relación directa a la prótesis; esto sumado al hecho de que el uso de prótesis es continuo, sin dar la oportunidad de recuperación tisular; y que además exista una higiene deficiente tanto de los rebordes como de la unidad protésica; el paciente se enfrenta a una inevitable reacción por parte de los tejidos que la soportan.<sup>1,2,8,9</sup>

El uso de una prótesis removible estimula a la mucosa subyacente con una ligera hiperqueratinización y aumento de la actividad enzimática, lo cual es un proceso fisiológico. Después de éste período y si no se efectúan los controles pertinentes en forma periódica, se producirán cambios atróficos en la mucosa subyacente llevando a la inflamación de ésta y, posteriormente, a una estomatitis subprotésica que es una lesión que puede presentarse en forma de simples puntos hiperémicos hasta una inflamación hiperplásica.<sup>3, 8,9</sup>

Frecuentemente los pacientes portadores de dentaduras presentan úlceras o irritaciones debajo del aparato protésico, originadas tanto por el mal ajuste de la prótesis dental, como por la labilidad que presenta una mucosa envejecida que hace más vulnerables los tejidos ante las irritaciones mecánicas, como consecuencia de la deshidratación de la mucosa y del adelgazamiento continuo del epitelio a medida que avanza la edad.<sup>1, 2,9</sup>

Muchas de estas reacciones tisulares pueden ser revertidas si es que aliviemos la causa que está provocando el daño. Sin embargo, usualmente

es necesario un tratamiento del área con un **material tisular o Acondicionador de Tejidos** que estará soportado por la prótesis para revertir el proceso, requiriendo de un período de varias semanas.<sup>8, 9,14</sup>

Los Acondicionadores de Tejidos son materiales plásticos y resilentes (visco-elásticos) que fluyen y adaptan íntimamente a la mucosa de los tejidos y la base de la prótesis bucal, funcionando como una almohadilla, absorbiendo parte de la energía producida por el impacto de la masticación entre el tejido bucal y la superficie de la prótesis, dando una zona de alivio al tejido irritado o lesionado.<sup>36</sup>

En la superficie de los Acondicionadores de Tejidos se presentan ciertas irregularidades (porosidades), las cuales propician la adherencia de distintos microorganismos multiplicándose y cubriendo la superficie de estos materiales y teniendo un íntimo contacto con la mucosa bucal propician un medio idóneo para la formación de una placa microbiana compuesta principalmente de bacterias y levaduras.

Los Acondicionadores de Tejidos son de un uso temporal (5-7 días), después de los cuales van perdiendo su elasticidad y suavidad, siendo después de este tiempo irritantes por volverse ásperos y duros; provocando un medio propicio para enfermedades oportunistas como candidiasis bucal.

### 3. MARCO TEORICO

## 3.1 ACONDICIONADORES DE TEJIDOS

### 3.1.1 Antecedentes:

Aparece en 1961, cuando Chase los introduce como materiales especialmente diseñados para reacondicionar y devolver la salud de los tejidos alterados.<sup>8</sup>

### 3.1.2 Definición:

Es un material de características plásticas, elásticas y blandas, no irritante ni tóxico. El manejo de ciertas variables como los componentes, la mezcla, la manipulación, etc., otorgan a este material distintos comportamientos y por lo tanto usos clínicos diferentes, puede aplicarse sobre la superficie de adaptación de las prótesis. Se utilizan para proporcionar una almohadilla provisional que distribuye la carga masticatoria a los tejidos blandos y duros subyacentes, su objetivo principal es restaurar y aliviar el tejido lesionado o afectado causado por las dentaduras o puede usarse en la protección de zonas quirúrgicas.<sup>2, 8, 9,14</sup>

### 3.1.3 Características generales:

Se encuentra formado por partículas de polímero, un solvente y un plastificante el cual se aplica temporalmente sobre la superficie interna de la

prótesis, la que puede ser especialmente constituida o modificada para soportar el material o una prótesis ya existente.<sup>8, 14, 17, 18,22</sup>

La duración de la suavidad y de la elasticidad de la mayoría de los acondicionadores de tejidos es aproximadamente de una semana, después de la cual el material empieza a endurecer y a volverse áspero por la pérdida del plastificador y aceites que se disuelven en la saliva dependiendo del pH; así como la evaporación del etanol y absorción de agua originando un mal sabor y olor, siendo caldo de cultivo para levaduras y bacterias grampositivas (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Neiserias* y *Actinomyces*), por lo que al modificar su superficie o textura resulta irritante debiendo ser recambiado cada 4 a 5 días.<sup>2,8,13,14,17,19,20-22</sup>

#### **3.1.4 Mecanismo de acción:**

Permite una distribución más uniforme de las fuerzas ejercidas por la prótesis sobre el tejido subyacente. Mejoran la adaptación de las prótesis a los relieves, disminuyendo su movilidad y evitando roces y compresiones inadecuadas sobre la mucosa, obteniendo un contacto más íntimo con el tejido blando y el consiguiente relajamiento durante la función.

De esta manera provocan un alivio por las cargas ejercidas sobre la mucosa, aumentando el flujo sanguíneo y linfático que circula por los tejidos maltratados y con ello la disminución y eliminación con más rapidez del edema y los demás síntomas del proceso inflamatorio; logrando finalmente una recuperación de la configuración normal de los mismos.<sup>2, 8, 9,14</sup>

### 3.1.5 Ventajas

- a) Puede ser utilizado como material de impresión funcional o como acondicionador de tejidos debido a la combinación de dos propiedades paradójicas: elasticidad y plasticidad.
- b) Fácil manipulación.
- c) No requiere de instrumental especial para su uso.
- d) Permite una distribución más uniforme de las fuerzas ejercidas por la prótesis sobre el tejido subyacente.<sup>2, 8, 9,14</sup>

### 3.1.6 Desventajas

- a) Uso indiscriminado puede producir dependencia psicológica y la acumulación de placa bacteriana y hongos.
- b) Pérdida de la elasticidad.
- c) Corto período de efectividad clínica.
- d) Material poroso, por lo que si no existe una buena higiene por parte del paciente tiende a convertirse en una mezcla sucia, de mal olor y sabor hacia el paciente, siendo un área apta para originar la adhesión de microorganismos como bacterias y hongos.
- e) Constante recambio.<sup>2,8,13,14,17,19,20-22</sup>

### 3.1.7 Aplicaciones:

- a) Como tratamiento de mucosa irritada que soporta una prótesis mal ajustada**

El odontólogo necesita una mucosa sana, no irritada en la cual pueda tomar

impresiones para una nueva prótesis, por lo que lo ideal para el tratamiento es que el paciente dejará de usar su prótesis por un tiempo determinado para tener una mucosa adecuada, pero como esto no es aceptado por parte del paciente, se coloca una capa de acondicionador de tejidos, permitiendo que los tejidos blandos se recuperen.



Fig. 1 Mucosa del proceso mandibular irritada por una prótesis mal ajustada.<sup>37</sup>

Su uso en el tratamiento de la estomatitis subprotésica, se basa en la eliminación del factor etiológico. El origen de esta inflamación de la mucosa es multifactorial, pero si está relacionada al trauma protésico ocasionado por el desajuste del aparato, el acondicionador de tejidos va a eliminar o corregir este factor adaptando el aparato protésico al remanente biológico.<sup>2, 8, 9,14</sup>

#### **b) Rebasado temporal de prótesis**

- Estabilización inicial de prótesis inmediatas

Luego de una cirugía bucal pre protésica, lo ideal es colocar la prótesis en forma inmediata, ya que sirve de vendaje; por lo que la prótesis del paciente puede servir, siempre y cuando este en buenas condiciones, haciéndole un rebasado con un acondicionador de tejidos el cual se renovarán frecuentemente hasta la completa cicatrización. <sup>2, 8,14</sup>

- Después de cirugía bucal para estabilizar prótesis, reducir el dolor y evitar los traumatismos de la herida.



Fig. 2 Rebasado temporal en prótesis removible<sup>38</sup>



Fig. 3 Rebasado temporal en prótesis total<sup>38</sup>

### c) Material para impresiones funcionales

Una capa de acondicionador de tejidos en la superficie no pulida de la prótesis, permite una impresión funcional, que se obtiene en una sesión prolongada.

- Cuando se usa como material para impresiones funcionales autogeneradas: se deja que el paciente lleve la prótesis durante varias horas y se hacen los modelos de trabajo. <sup>2, 8, 9</sup>

**d) En prótesis maxilofaciales para estabilización de bases de registro de las relaciones maxilomandíbulares**

Una deseable estabilización: Para lograr una buena relación máxilo-mandíbular conviene contar con una adecuada estabilización de las bases de registro utilizadas. Para ello recurren a los acondicionadores de tejidos, bien adheridos a los flancos, e introducidos en los socavados de los rebordes. Con su flexibilidad, las bases podrán ser colocadas y retiradas sin trauma para el paciente. <sup>2, 8, 9,14</sup>

**f) Pueden tener propiedades antifúngicas**

Según un estudio de la Universidad de Toronto, Canadá; al agregarle un antifúngico a un Acondicionador de Tejidos se podría resolver las infecciones fúngicas como la candidiasis. Este método sería muy útil especialmente en pacientes mayores de edad con problemas de memoria y pérdida de motricidad, debido a que en ellos sería más difícil el cumplimiento de un tratamiento contra la candidiasis. Los antifúngicos que se pueden incorporar son la nistatina, fluconazol e itraconazol, siendo este último el que resultó más efectivo, seguido del fluconazol y la nistatina. Sin embargo luego de tres días el efecto antifúngico se pierde. <sup>2, 8, 9,14</sup>

**g) Apósitos quirúrgicos en cirugía pre protésica y periodontal.**

Se están realizando estudios en la Universidad de Toronto Canadá para determinar la eficacia de incorporar antibióticos al material, para evitar infecciones secundarias a cirugías y mejorar la reparación del tejido. <sup>2, 8, 9,14</sup>

### 3.1.8 Requisitos de los Acondicionadores de Tejidos según la ADA No. 75

a) **Deben permanecer blandos:** durante su uso para mantener un efecto de almohadillado correcto sobre los tejidos blandos subyacentes.<sup>51, 52</sup>

b) **Debe ser resilente:** Es decir debe absorber la carga masticatoria y distribuirlas por él, sin producir deformaciones permanentes del tejido de revestimiento.<sup>51, 52</sup>

Este punto se relaciona con la memoria elástica que presenta el material cuando se utiliza como material de impresión autogenerada.

c) **Paradójicamente deben tener cierto grado de deformación permanente bajo carga:** Las cargas funcionales se distribuyen en forma equitativa, permitiendo así la regresión del proceso inflamatorio de los tejidos hasta un estado aceptable. Cuando se utilizan como materiales de impresión funcional, el material debe ser capaz de desarrollar un modulo de elasticidad y un límite elástico que le permita resistir la deformación permanente que recibe bajo las demandas funcionales, logrando un registro final que se compone de la integración de los parámetros de fuerza, tiempo y patrones de actividad.<sup>51, 52</sup>

e) **Deben ser biocompatibles.** Deben ser compatibles con los tejidos bucales. No deben ser tóxicos ni irritantes. No deben ser dañinos para el medio ambiente.<sup>51, 52</sup>

**f) No deben absorber demasiada humedad en la cavidad bucal.** Si absorbiera gran cantidad de agua podría producir inclusión de microorganismos y despojos de alimentos en el material, lo que provocaría impurezas en el mismo, por lo tanto que tenga baja absorción es importante.

51, 52

### 3.1.9 Prerrequisitos para el empleo del acondicionador de tejidos:

- Que las dentaduras tengan una cobertura adecuada del área de soporte.
- Buena relación céntrica.
- Dimensión oclusal adecuada.
- Se deben eliminar todos los socavados de la base de la dentadura a una profundidad de 1mm o más. Se deben conservar los márgenes o aletas y el área de paladar duro en la dentadura, con el objetivo de contar con un espacio suficiente para el material acondicionador.<sup>51, 52</sup>

#### ▪ Presentación del Acondicionador de Tejidos:

- Polvo y líquido
- Líquido separador o lubricante



Fig. 4 Acondicionador de Tejidos<sup>41</sup>

### 3.1.10 Composición:

**a) Polvo:** Partículas de polímero.

Formado por: Polietilmetacrilato o copolímeros de etil con metil, o isobutilmetacrilato.

El polvo no suele estar pigmentado, dando un revestimiento blanco fácilmente distinguible de la base rosa de la prótesis.

**b) Líquido:** Solvente y plastificante de éster aromático.

Formado por: Etanol en una proporción del 6 al 4%, ésteres plastificantes del tipo Dibutil o Butilftalato-Butilglicolato, las cantidades relativas de solvente y plastificante varían de un producto a otro. Uno de los más comunes es el dibutil ftalato y butil ftalil butil glicolato.

Algunos también poseen fungicidas como Undecilenato de Zinc, además de algunos agentes saborizantes.

**c) Líquido separador o lubricante:**

Tiene por función facilitar el posterior retiro del material de la prótesis en aquellos sectores en que no se desea la adherencia del material, como son las zonas estéticas: áreas vestibulares, dientes, área palatina y área lingual; de modo que cuando este sea aplicado sobre dichas áreas su retiro sea simple.

**El líquido no contiene monómero ni el polvo iniciador.**

### 3.1.11 Mecanismo de polimerización:

Cuando el polvo y el líquido se mezclan, el proceso es puramente físico. El solvente interrumpe las fuerzas de Van Der Waals que unen a las partículas de polímero, por lo tanto, disuelve los pequeños gránulos de polímero y los gránulos mayores se hinchan con el solvente que actúa como transportador del plastificante. El material fraguado final es de una masa tipo gel, con esferas hinchadas plastificadas unidas, junto a una matriz que es una solución saturada de polímero en una mezcla de solvente- plastificante.

El acondicionador de tejidos endurece gradualmente al tiempo que se evapora el solvente volátil. El endurecimiento o pérdida de resiliencia es predominante durante los primeros tres días después de la gelación, es por esto que se cambia cada 4 a 6 días hasta que los tejidos estén saludables.<sup>2</sup>  
8, 9,14

### 3.1.12 Propiedades:

- a) **Dureza:** Son inicialmente muy blandos, más blando que los materiales para rebasado, sin embargo no persisten blandos de modo permanente dado que el alcohol y el plastificante fluyen rápidamente en la saliva, al cabo de una o dos semanas se vuelven tan rígidos que ya no proporcionan un almohadillado adecuado. En el caso que se utilice un material muy blando se debe recambiar el acondicionador por uno nuevo cada 4-6 días hasta que los tejidos se hayan recuperado.

- b) **Pérdida de peso:** Se debe a la evaporación del solvente que va en aumento con el tiempo.
- c) **Reproducción de detalles:** Excelente reproducción de detalles al inicio pero después de una hora se empieza a perder, disminuyendo el detalle superficial y perdiéndose la definición.
- d) **Estabilidad dimensional:** Menor al 2%.
- e) **Deformación a la compresión:** Se distorsionan fácilmente bajo una carga y la máxima recuperación se logra al cabo de 20 a 30 minutos después de liberada la carga. Recuperación de deformación baja.
- f) **Escurrecimiento:** Fluyen bajo su propio peso.
- g) **Visco elasticidad:** Lo que le da la propiedad de poder ser utilizado como material de impresión, o como acondicionador, debido a que es tanto plástico como elástico. Bajo influencia de fuerzas dinámicas aplicadas por un segundo o menos, durante la masticación, los materiales son esencialmente elásticos y proporcionan un efecto de almohadillado. Sin embargo, cada aplicación de fuerzas produce una leve deformación permanente que ayuda a tomar la impresión funcional. Bajo la influencia de cargas de reposo más pequeñas se produce una deformación permanente.
- h) **No son irritantes:** Debido a la ausencia de monómeros acrílicos en el componente líquido.

**La pérdida de sus propiedades a través de los días los hacen ser un medio propicio para el desarrollo de hongos; haciéndose necesario cambiar el material cada 4 a 6 días.** 2, 8, 13, 14, 17, 19,20-22

### **3.1.13 Comportamiento:**

El comportamiento de los acondicionadores de tejidos en el medio bucal se divide en 5 fases:

**Fase I Física:** Mezcla inicial homogénea con formación de una masa de consistencia más bien fluida, de escurrimiento y aplicación fácil.

**Fase II Química:** Viscosidad aumentada, ingresa etanol y plastificante a la mezcla, existe un estado filamentosos y adhesivo, dura 2 a 3 minutos.

**Fase III Plástica o activa:** Hay aumento del grado de depresión, el material adopta la forma que se le imponga. Duración 15 a 20 minutos, mientras más dure mejores serán los resultados.

**Fase IV Elástica:** Pérdida de Etanol y absorción de agua, toma una consistencia más firme y tiende a recuperar agua. Duración de 2 a 3 días.

**Fase V Granulosa de secado:** Endurecimiento del material por pérdida de sus propiedades iniciales, se torna áspero. Ocurre en forma variable y puede presentarse al cabo de una semana o después de varios meses.

En general se resume en tres eventos secuenciales: pérdida de etanol, absorción de agua y pérdida de plastificante.

### 3.1.14 MANEJO DEL MATERIAL

▪ **Mezcla:**

Se realiza con 5 ml de líquido y 6 gr de polvo, agregándolo poco a poco al líquido; mezclar de una manera regular durante 30 seg. dejar reposar la mezcla por 1 min. hasta que fluya lentamente de la espátula. Es importante siempre seguir las indicaciones del fabricante; sin embargo algunos fabricantes indican que la relación polvo/ líquido puede ser manejada por el clínico según sus requerimientos.

La reducción de la temperatura de la boca (con agua fría) provee un tiempo de trabajo más favorable, para ciertos acondicionadores de tejidos que presentan un tiempo de trabajo limitado.

▪ **Precaución:**

El líquido es inflamable. Y en caso de contacto con la piel, lavar bien con agua. En el caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua y buscar atención médica.

▪ **Manipulación:**

1. Se eliminan retenciones, zonas de presión dentro de la prótesis y se realiza un desgaste aproximado de 1mm para dar espacio al material. Se pincela con el lubricante las zonas donde no se desea que el material se adhiera, es decir de zonas estéticas.

Se agrega polvo al líquido (relación polvo líquido: **1,25:1**) y se espátula completamente formándose un gel, se distribuyen en forma pareja en la

prótesis y se lleva a la boca, luego el paciente ocluye suavemente durante 10 minutos y pedir al paciente que realice movimientos funcionales en caso de que se utilice como material de impresión.

Esta etapa del procedimiento es importante dado que el objetivo es formar un cojín de espesor razonable de modo que sea eficaz, pero que no aumente la dimensión vertical.

2. La prótesis se retira de la boca después de 7 a 10 minutos, el exceso de las zonas estéticas, vestibulares, dientes protésicos y paladar se elimina con un cuchillo o bisturí.
3. Al finalizar el fraguado, el acondicionador de tejidos debe formar una capa regular sobre toda la superficie de adaptación de la prótesis. Por lo que se debe comprobar la uniformidad del material verificando que no quede ninguna zona de la superficie interna de la prótesis como de sus bordes sin ser cubiertas por el material.

En caso de quedar material acondicionador sin un soporte de acrílico, indica que hay una subextención del aparato protésico, lo que debe corregirse previamente con acrílico de autocurado para darle una superficie adecuada al material acondicionador.

4. Dar indicaciones al paciente para efectuar una buena higiene, especialmente después de cada comida, debe evitar cepillar el material, limpiarlo con algodón o gasa y agua, se debe recomendar una dieta blanda. El paciente no puede usar blanqueadores ni limpiadores

para prótesis porque degradaran rápidamente el material.

5. A los 2 ó 3 días se debe inspeccionar la prótesis y los tejidos blandos del paciente para comprobar si el acondicionamiento de tejidos ha tenido éxito, o si se ha obtenido una impresión funcional.
6. Efectuar controles periódicos y realizar cambio de material cada 4 a 6 días hasta notar una recuperación de los tejidos.

### 3.1.15 Tipos de acondicionadores de tejidos

Estos materiales se pueden encontrar con nombres comerciales tales como:

a) VISCO-GEL.



Fig. 5 Acondicionador de Tejidos Visco-gel<sup>40</sup>

- b) KERR- FIT, de Kerr para impresiones funcionales.
- c) SR-IVOSEAL de Ivoclar, para impresiones funcionales.
- d) LYNAL.

- e) SOFT-LINER.
- f) COE-COMFORT.
- g) COE-SOFT material de rebasado resilente, 1 mes de duración.
  
- h) HYDROCAST.



Fig. 6 Acondicionador Hydrocast<sup>39</sup>

- i) KERR-FIT.
- j) FLEXACRYL.

En general, de los acondicionadores ya mencionados los tiempos de las tres primeras fases son similares y la gran variación de unos a otros se encuentra en el tiempo de la FASE ELÁSTICA.

La fase de trabajo es considerada como la más importante funcionalmente, y depende de la calidad del material y de la cantidad de líquido que se incorpora al polvo.

**Idealmente, la fase elástica debería ser lo más larga posible y conservar durante todo el tiempo sus propiedades físicas intactas.**

### **3.1.16 ENFERMEDADES OPORTUNISTAS**

Por todas las características ya mencionadas y si no se siguen las instrucciones de uso como el fabricante las indica suele pasar que el acondicionador de tejidos puede permitir la aparición de enfermedades oportunistas bacterianas o fúngicas, como Candidiasis, que sumadas al estado sistémico del paciente pueden agravar su condición, ya que pasando los días y por un proceso natural del material, se convierte en una mezcla dura, áspera y en muchos de los casos, por falta de higiene del paciente se vuelve una mezcla sucia, que va perdiendo todas sus propiedades iniciales.<sup>3,</sup>

7, 10, 11,22

## MARCO TEORICO

### 3.2 CANDIDIASIS BUCAL

#### 3.2.1 DEFINICIÓN

Candidiasis es un término aplicado al conjunto de enfermedades producidas por hongos del género *Candida sp.* Diferentes especies de *Candida* producen una amplia variedad de enfermedades, desde infecciones mucocutáneas leves a formas diseminadas graves con posible participación de cualquier órgano o sistema. Sus manifestaciones pueden ser agudas o crónicas y en ambos casos de gravedad variable.<sup>43</sup>

Actualmente más de treinta especies de *Candida* han sido aisladas, de las cuales solo alrededor de una docena poseen facultad para adaptarse a la temperatura corporal (37°C) y constituirse ocasionalmente como patógeno para el hombre como son: *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parakrusei*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis* y *C. guillermondii*.<sup>3, 6, 7, 9, 11, 14,16</sup>

La más habitual es la ***Candida albicans***, miembro muy frecuente de la microflora bucal, aislándose entre el 30 y 50% de la población.<sup>43</sup>

#### 3.2.2 INFECCIÓN “Factores de Virulencia”

Un sistema inmune saludable mantiene la enfermedad bajo control y su transformación en patógeno se relaciona con factores locales o sistémicos.

Muchos investigadores proponen que existe una relación directa entre la forma micelial y la infección. Se cree que las hifas pueden penetrar al tejido en forma más rápida que la levadura, la cual es mucho más difícil de ingerir y por lo tanto al ser esta propiedad exclusiva de *Candida albicans* esto le confiere mayor patogenicidad que las otras formas de *Candida sp.*

La transformación de blastosporas a hifas podría ser el equivalente del cambio de estado comensal a patógeno.<sup>43</sup>

Ghannoum y cols. (citado por Mata & Perrone 2000), sugieren que en las primeras etapas del proceso infeccioso, las variantes levaduriformes del hongo pueden penetrar la superficie del epitelio, creando resistencia a la acción fagocitaria de los polimorfonucleares, mediante la posible selección de células levaduriformes resistentes a la muerte intracelular. Posteriormente y de manera casi simultánea, formarían los tubos germinales, los que tendrían la facultad de resistir mecánicamente la acción de las células fagocitarias, escapando de ellas y diseminando así la infección a otros tejidos.

Además *Candida sp.* tiene numerosas moléculas en su superficie responsables de su adherencia a los tejidos del hospedero, entre las que se encuentran:

1. Un receptor homólogo de la integrina humana CR 3, que se une con los grupos argininaglicina-ácido aspártico (RGD) de C3bi, fibrinógeno, fibronectina y laminina.
2. Una lectina que se une con los azúcares de las células epiteliales.
3. Proteínas con manosa que se unen con las moléculas similares a lectina de las células epiteliales.

Otros factores de virulencia son una aspartilproteínasa, que participa en la invasión tisular al degradar las proteínas de la matriz extracelular, y una adenosina secretada que bloquea la producción de radicales de  $O_2$  en los neutrófilos y de su granulación.<sup>9, 15-20, 23,27</sup>

Los grupos de edad que más se afectan son: los recién nacidos, los pacientes con cáncer, los ancianos debilitados, los pacientes con leucemia y en los pacientes infectados por el VIH.<sup>43</sup>

La **Candidiasis Bucal** en pacientes de edad avanzada y desdentados es donde esta enfermedad es más frecuente ya que su sistema inmune es deficiente, a causa de enfermedades sistémicas, siendo de esta manera susceptibles a este tipo de enfermedades oportunistas.<sup>3, 5, 6,8</sup>



Fig. 7 Candidiasis Bucal<sup>42</sup>

La magnitud de la infección micótica depende fundamentalmente de las condiciones del hospedero, pues el establecimiento del padecimiento ocurre cuando se perturban los parámetros de equilibrio fisiológico que mantienen la homeostasia del medio bucal.

Las manifestaciones son variables, pero la forma más frecuente es la pseudomembranosa, la cual se manifiestan como placas blancas, blandas o gelatinosas, adheridas a la mucosa bucal y que cuando se desprenden dejan un área eritematosa, en erosión o ulceración, lo cual puede causar dolor de garganta, disfagia y pérdida del apetito.

Las placas se componen de hongos, restos queratósicos, células inflamatorias, células epiteliales descamadas, bacterias y fibrina.<sup>43</sup>

Aunque estas lesiones pueden presentarse en cualquier sitio de la cavidad bucal, tiene predilección por la mucosa bucal, los pliegues mucobucales, los labios, el paladar, la bucofarínge y los bordes laterales de la lengua.

La infección por *Candida sp.* se debe diferenciar de varias entidades entre las cuales se destacan: quemaduras químicas, úlceras traumáticas, parches sifilíticos, leucoplasia y otras lesiones queratósicas blancas.<sup>43</sup>

### 3.2.3 TRATAMIENTO

La infección no debe ser tratada de manera preventiva ya que esta puede presentar resistencia a los medicamentos. La mayor parte de las infecciones por *Candida albicans* pueden tratarse con nistatina, un antifúngico de la familia de los poliénicos, su aplicación es exclusivamente tópica en ovulos vaginales, ungüento, crema o suspensión.<sup>43</sup>

---

**MARCO TEORICO****3.3 Candida albicans****3.3.1 HISTORIA.**

Uno de los aspectos más importantes a considerar es el relativo a los distintos nombres que ha recibido la principal especie patógena: *C. albicans*. Desde que Robín la denominó en 1853 *Oidium albicans*, esta especie estuvo incluida en 100 sinónimos y pasada a través de 18 géneros. De estos géneros, sólo 2 han prevalecido por largo tiempo para referirse a esta especie: El Género *Monilia*, en el cual estaba incluida la especie *Monilia Candida* (Plaut, 1885), luego *Monilia albicans* (Zopt, 1890) que dominó la literatura hasta el trabajo de C.M. Berkhout, quien en 1923 propone el Género *Candida* y la especie *albicans*, que fue aceptado por el 3er Congreso Internacional de Microbiología en Nueva York en 1939. Desde entonces se pasaron al Género *Candida* todas aquellas levaduras que no encajaban en el Género *Monilia*, por lo cual todas las afecciones producidas por *Candida sp.* se conocen con el nombre de Candidiasis.<sup>46</sup>

**3.3.2 TAXONOMIA**

Los microorganismos involucrados como agentes etiológicos de la Candidiasis, se encuentran actualmente clasificados taxonómicamente de la siguiente forma:

**Reino:** Fungi

**División:** Deuteromycota

**Clase:** Blastomycetes

**Familia:** Cryptococcaceae

**Género:** *Candida*

**Especies:** *albicans* (como la más frecuente y virulenta) y otras especies.

El Género *Candida sp.* comprende más de 150 especies, cuya principal característica es la ausencia de forma sexual, con excepción de algunas especies micóticas. Son clasificadas como levaduras, las cuales corresponden a hongos con un modo de desarrollo predominantemente unicelular.<sup>46, 47</sup>

Solamente una docena de las especies pertenecientes al Género *Candida* poseen la facultad de adaptarse a una temperatura de 37°C. y pueden ser ocasionalmente patógenas para el hombre, estas son entre otras: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr (pseudotropicalis)*, *C. krusei*, *C. guillermondi*, *C. parakrusei*, *C. zeylanoides*, *C. stellatoidea* y *C. brumptii*.

Estudios taxonómicos tratan de diferenciar las diversas especies del Género *Candida* de acuerdo a sus propiedades. *Candida paratropicalis* no ha sido considerada distinta a *Candida tropicalis*. En el caso de *Candida clausenii* y *Candida stellatoidea* la similitud de su morfología y fisiología sobrepasan las diferencias que puedan haber entre estas especies<sup>9</sup>. Diversos estudios sobre *C. albicans* y *C. stellatoidea* no consideran estas dos especies como distintas. Se ha demostrado por métodos electroforéticos que *C. albicans* y *C. stellatoidea* difieren en el número y patrón de cromosomas, pero también

se han observado diferencias entre cepas de *C. albicans* en cuanto a este aspecto se refiere.<sup>48, 49</sup>

A través de estudios de biología molecular mediante la prueba de Southern Blotting, utilizando enzimas de restricción para fragmentar el ADN, se demostró que *C. albicans* y *C. stellatoidea* son idénticas.

Recientemente, se publicó un reporte donde se hace mención a los nombres viejos, incorrectos u obsoletos que se le daban a algunas especies de *Candida* y a los nombres aceptados actualmente. Es así como *C. clausenii* y *C. stellatoidea* están reclasificadas en la actualidad como *C. albicans*, por su parte *Candida macedoniensis* y *Candida pseudotropicalis* están reclasificadas como *Candida kefyr* y *Candida paratropicalis* está reclasificada como *C. tropicalis*.<sup>46, 47, 48</sup>

### 3.3.3 MORFOLOGÍA

*C. albicans* suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4  $\mu\text{m}$  con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí.

Presenta tres formas biológicas y morfológicas:

1. **Las levaduras o blastosporas** son microorganismos eucarióticos, las cuales se reproducen asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación. Este proceso de división implica la producción de nuevo material celular proveniente de la

superficie de la blastospora. Cuando el brote o yema ha crecido y se encuentra en su tamaño óptimo, se suscita la división celular y se forma un tabique o septo entre las dos células.<sup>46</sup>

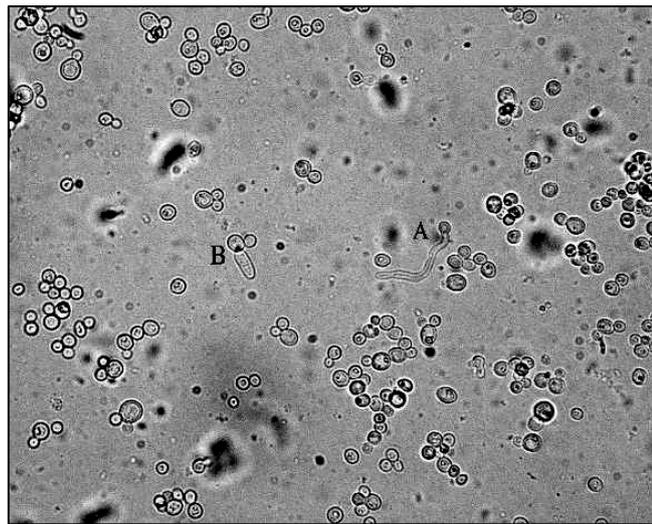


Fig. 8 *Candida albicans* obtenido en suero humano a las 3 horas de incubación a 37 °C.

Blastoconidio con pseudohifa. Microscopio de Luz, 100X<sup>35</sup>

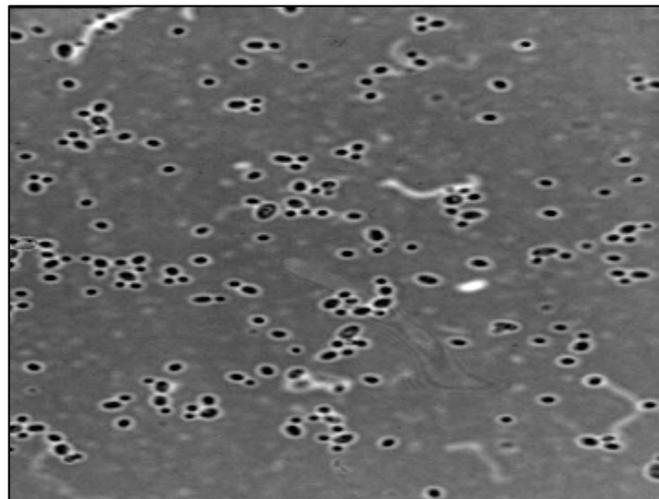


Fig.9 Observación de levaduras (aumento 40x).

2. La **forma filamentosa** del hongo (**hifa**), es una estructura microscópica tubular, la cual contiene múltiples unidades celulares divididas por septos y puede surgir a partir de blastosporas o de hifas existentes. Esta crece continuamente por extensión apical.



Fig. 10 Tubo germinativo *Candida albicans* 100x<sup>36</sup>

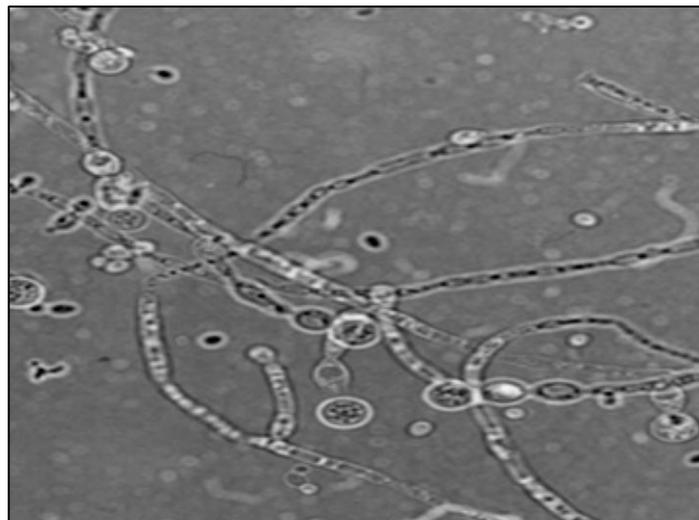


Fig. 11 Hifas (Aumento 40x).<sup>36</sup>

La apariencia microscópica de todas las especies de *Candida* es similar; todas las levaduras son Gram positivas, pero en algunas ocasiones la forma de las blastosporas puede variar de ovoide a elongada o esférica. Microscópicamente, *C. albicans* presenta dimorfismo, el cual es una transformación de la forma ovoide de las blastosporas (levaduras) gemantes a hifas.

Por su parte, Samson sostiene que el material blanco que crece en los medios de cultivo consiste desde el punto de vista microscópico, en pseudomicelio actualmente llamados filamentos de *C. albicans*. Se presenta bajo condiciones de cultivo semianaeróbico o facultativo y está formado por células elongadas que se mantienen unidas entre sí como una cadena y blastoconidios o blastosporas que están agrupadas en montones a lo largo del pseudomicelio, en los sitios en que los extremos finales de las células pseudomiceliales se empalman con otras.<sup>46,49</sup>

3. En contraste con otras especies de *Candida*, *C. albicans* tiene una marcada tendencia a formar esporas grandes de pared gruesa, denominadas **clamidosporas**, sobre todo cuando se cultivan en un medio especial como Agar Harina de Maíz; la clamidospora tiene un diámetro de 7 a 8  $\mu\text{m}$  y casi siempre se origina en el extremo del pseudomicelio. Es una importante característica morfológica en la identificación de *C. albicans*. Asimismo, tiene la capacidad para producir tubos germinales (filamentación en suero) cuando las colonias son inoculadas en 0,5 ml. de suero a temperatura de 37°C observándose los resultados después de 2 o 3 horas.<sup>46, 49</sup>

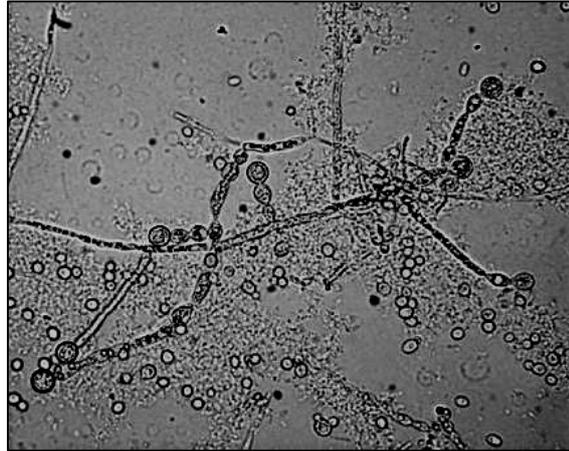


Fig. 12 Clamidosporas de *Candida albicans* obtenidas a las 48 horas a temperatura ambiente en medio de harina de trigo. Microscopio de Luz, 40X.<sup>36</sup>



Fig. 13 Clamidosporas de *Candida albicans* obtenidas a las 48 horas a temperatura ambiente en medio de harina de trigo. Microscopio de Luz, 400X.<sup>36</sup>

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. El tubo germinal de *C. albicans* ha sido descrito como un tubo sin constricción en el punto de origen y tiene una apariencia similar a “espejo de mano”. Este puede formarse al inocular células de *C. albicans* en suero humano (inclusive si el suero ha sido congelado y almacenado), así

como en suero de diversos animales como perro, bovino, conejo, cochino de Guinea y caballo. En cambio, este no se forma en suero caliente coagulado.<sup>46, 47,49</sup>

La formación de tubos germinales en suero está afectada directamente por la concentración celular en el inóculo, ya que la proporción de células capaces de formar filamentos, disminuye progresivamente al aumentar la concentración celular por encima de 107 células por ml. De igual forma, el rango de temperatura en el cual se forman los tubos germinales oscila entre 31°C y 41°C.<sup>46</sup>

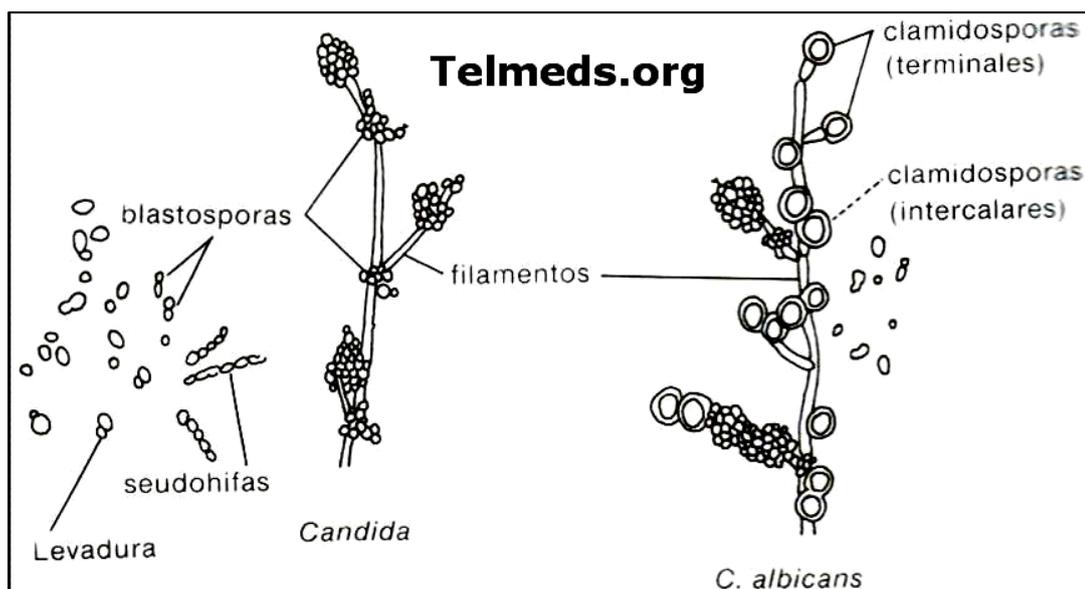


Fig. 80 Crecimiento y desarrollo de *Candida albicans*.<sup>54</sup>

### 3.3.4 CARACTERISTICAS

La composición química de *C. albicans* está representada por 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacáridos, mientras que la proporción de lípidos

es variable. La fracción lipídica va a depender de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y del origen de la fuente de carbono.<sup>46,48</sup>

**La pared celular** de *C. albicans* está compuesta principalmente por los polisacáridos Manano, Glucano y Quitina. Aunque la síntesis de los componentes de la pared celular está dinámicamente influenciada por las condiciones de crecimiento y por los estadios metabólicos, en la literatura existen bastantes datos acerca de la composición química de dicha pared. El polisacárido manán representa aproximadamente entre 15,2% y 22,9% del peso seco y poco más de 40% de los polisacáridos de la pared celular del hongo. El D-Glucán  $\beta$ -1-3 y el D-Glucán  $\beta$ -1-6 constituyen entre 47% y 60% del peso en cantidades que oscilan entre 6% y 25%, lípidos entre 1% y 7% y Quitina entre 0.6% y 9% del peso de la pared celular. Las proporciones de los componentes que constituyen la pared celular de las levaduras y de los tubos germinales es relativamente similar, aunque la cantidad de Glucán Alkali-soluble y Alkali-insoluble y de Quitina de *C. albicans* varía de acuerdo con la forma de crecimiento.

Estudios ultraestructurales de la pared celular de *C. albicans* han demostrado una compleja microarquitectura. La pared tiene un espesor variable y está compuesta por varias capas, las cuales se han puesto de manifiesto por diferencias en la densidad electrónica. El número de capas y su morfología varían; esta variación está relacionada con varios factores tales como: la etapa de crecimiento celular, la forma de crecimiento (como levadura o como tubo germinal), la capa seleccionada para su estudio, el medio de cultivo empleado para el crecimiento celular y los procedimientos de fijación. La mayoría de los investigadores han descrito cinco capas dentro de la pared

celular, las cuales son (de adentro hacia afuera): Manoproteínas,  $\beta$ -Glucán-Quitina,  $\beta$ -Glucán, Manoproteínas y una capa de fibrillas.<sup>46, 47,48, 49</sup>

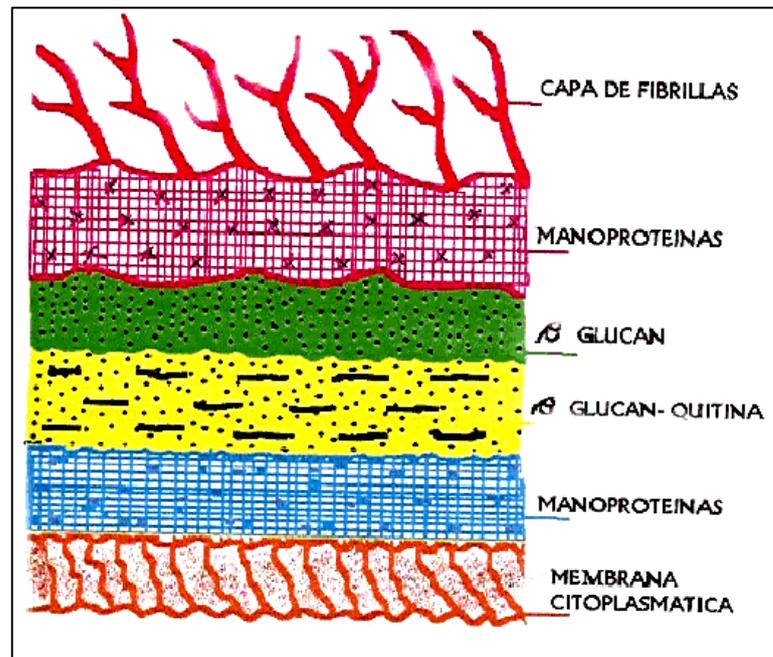


Fig. 14 Diagrama esquemático de la pared celular de *C. albicans*  
Tomado de Calderone y Braun 1991.

Poulain y colaboradores han observado hasta ocho o nueve capas en la pared celular de *C. albicans*, aunque estos resultados se refieren a una variedad de paredes celulares provenientes de células que crecieron en diferentes medios de cultivo y en distintos períodos de tiempo.

Se ha demostrado que después de cultivar a *C. albicans* en medios donde haya carencia de nutrientes y someter al hongo bajo esas condiciones por períodos de tiempo muy prolongados, las capas de Manano de la pared celular desaparecen gradualmente.<sup>46</sup>

Los polisacáridos del tipo Manano están localizados a lo largo de la pared celular y éstos, predominan en las zonas de alta densidad electrónica. Las capas internas de la pared celular están compuestas mayormente por Quitina y Glucano. Estos componentes le dan rigidez a la célula y son esenciales para la división celular. Están presentes tres tipos de Glucano: 1) Glucán  $\beta$ -1,6 altamente ramificado, 2) Glucano  $\beta$ -1,3 altamente ramificado y 3) Un Glucano muy complejo  $\beta$ -1,6- $\beta$ -1,3 mezclado con Quitina. Las proporciones de ciertos tipos de Glucano difieren entre las levaduras y los tubos germinales de *C. albicans*. Durante las primeras etapas de la formación del tubo germinal, se sintetiza casi exclusivamente Glucano  $\beta$ -1,3<sup>22</sup>. La Quitina se encuentra en las células en forma de levadura, en las hifas y en los tubos germinales, aunque la proporción es mayor en las hifas.

La capa externa de fibrillas de la pared celular de *C. albicans*, tanto en levaduras como en hifas está compuesta de Manano o Manoproteínas, aunque este componente también está localizado en varios lugares de la pared celular. Esta capa ha sido descrita en ocasiones como un revestimiento mucoso o capsular.

**El Manano** ha sido identificado como el principal antígeno de la superficie celular de *C. albicans*. Basados en estudios de adsorción y aglutinación, Hasenclever y Mitchell, agruparon a *C. albicans* en dos serotipos designados A y B.

Básicamente, la representación de las Manoproteínas de la pared celular de *C. albicans* está constituida por residuos de Manosa unidos entre sí por enlaces  $\alpha$ -1,6, los cuales se unen a la porción de Proteína a través de dos residuos de N-Acetil Glucosamina (unidos entre sí por enlaces  $\beta$ -1,4) y un



*Candida albicans*

residuo de Asparagina y residuos de Manosa que se unen a la Proteína a través de residuos de los aminoácidos Serina y Treonina

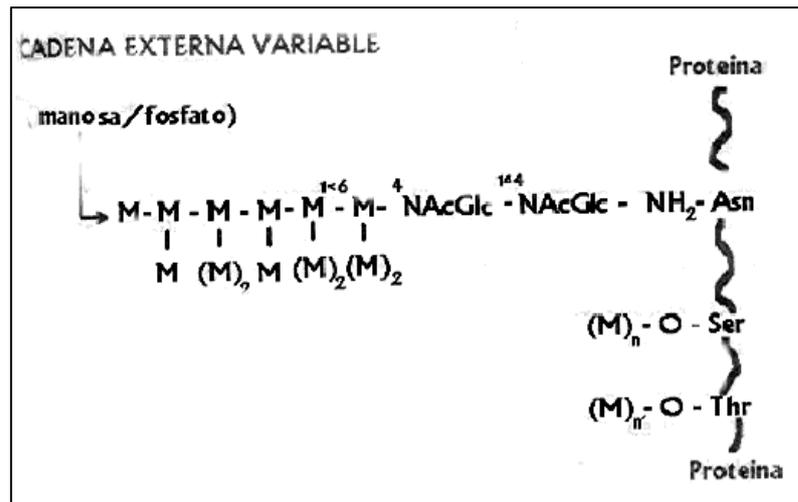


Fig. 15 Representación de las manoproteínas de la pared celular de *C. albicans*.

NAcGlc= N-Acetil D Glucosamina

M= Manosa

Ser= Serina

Thr= Treonina

Asn= Asparagina

(Tomado de Calderone y Braun, 1991).

**La membrana citoplasmática** es una estructura que reviste gran importancia, ya que los antibióticos antimicóticos actúan a nivel de la misma, además de contener las enzimas responsables de la síntesis de la pared celular. Esta presenta una doble capa compuesta por lípidos y posee invaginaciones, que se observan como surcos de 200 a 300 nanómetros de longitud, por 35 a 40 nanómetros de espesor. Además de los lípidos, la

membrana citoplasmática está compuesta por grandes cantidades de proteínas y carbohidratos en menor proporción.<sup>46</sup>

**En el citoplasma**, al igual que otras células eucarióticas, *C. albicans* presenta: ribosomas, mitocondrias con doble capa, gránulos de glucógeno y vacuolas que, contienen en algunas ocasiones cuerpos lipídicos y gránulos de polifosfato. El núcleo es típico de una célula eucariótica, con membrana nuclear limitante, uno o varios nucleolos, ADN y ARN y varios cromosomas.

El metabolismo de *C. albicans* se ha relacionado de una forma directa o indirecta con la patogenicidad, la morfología o con los efectos de los antibióticos antimicóticos. El metabolismo de los carbohidratos juega un papel importante en la morfogénesis, en tanto que el metabolismo de aminoácidos y lípidos tiene poca importancia para el crecimiento de este microorganismo.<sup>46, 47</sup>

Se han podido detectar distintos tipos de fosfolípidos en diversas especies de *Candida* provenientes de cavidad bucal, tales como *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. kefyr*. Los principales fosfolípidos identificados fueron: Fosfatidiletanolamina y Fosfatidilglicerol. Estos fosfolípidos son muy importantes en relación con el normal funcionamiento de la membrana citoplasmática de los hongos antes mencionados.

En un estudio reciente, se determinaron cambios fenotípicos en cepas de *C. albicans* aisladas de la cavidad bucal de pacientes con trasplante renal. Se ha sugerido que las cepas del hongo en las que se observaron los cambios fenotípicos, pueden adaptarse a diferentes condiciones ambientales debido a variaciones en sus propiedades bioquímicas, físicas y fisiológicas.

### 3.3.5 CULTIVO

Las especies de *Candida* crecen bien en medios de cultivo con agar, peptona, dextrosa, maltosa o sacarosa. Las colonias muy pequeñas aparecen en un lapso de 24 a 36 horas en Agar Sabouraud y miden de 1,5 a 2 mm de diámetro después de 5 a 7 días. Las colonias son típicamente blancas por completo, pero adquieren un color crema o requemado al continuar envejeciendo. Para aislarlas de las muestras clínicas que siempre llevan bacterias se agregan antimicrobianos como el Cloranfenicol al medio simple.<sup>46</sup>

En Agar Sabouraud o en otros medios de cultivo similares, las colonias que crecen son lisas, suaves, húmedas y de color y aspecto cremoso. Estas colonias tienen un tamaño que oscila entre 1,5 y 2 mm de diámetro, con aspecto de levadura, de consistencia blanda y rápidamente proyectan filamentos hasta la profundidad del agar. Después de 4-5 días se percibe un olor característico de levadura. Otros medios de cultivo en los cuales puede crecer *C. albicans* son: Pagano-Levin, en el cual las colonias se observan de color crema, *albicans* ID (Biomérieux), donde las colonias se observan de color azul y CHROMagar® *Candida* (CHROMagar), observándose las colonias de esta especie de color verde.

Las colonias de *Candida sp.* crecen “in vitro” en condiciones de aerobiosis en medios de cultivo a pH con rango entre 2,5 y 7,5 y temperatura que oscila entre 20°C y 38°C. El crecimiento de colonias se puede detectar entre 48 y 72 horas después de la siembra, y los subcultivos pueden crecer más rápidamente.

La habilidad de las levaduras de crecer a 37°C es una característica importante a ser considerada en su identificación a partir de muestras clínicas. Las levaduras más virulentas crecen rápidamente a temperaturas que oscilan entre 25°C y 37°C, mientras que las poco virulentas dejan de crecer a 37°C.<sup>46, 47</sup>

### 3.3.6 ECOLOGIA

Los microorganismos del Género *Candida sp.* son oportunistas que se encuentran como comensales en cavidad bucal, intestino, vagina, secreción bronquial y piel del hombre y de ciertos animales. En la cavidad bucal la colonización es significativamente distinta de sitio a sitio.

En la cavidad bucal de sujetos portadores de especies de *Candida*, *C. albicans* comprende entre 60% y 70% de los aislamientos, *C. tropicalis* comprende 7%, en tanto que *C. kruzei* y *C. guilliermondii* son aislados con mucha menor frecuencia.

Una etapa temprana y esencial en el desarrollo de la Candidiasis Bucal es la colonización de la cavidad bucal por parte de *C. albicans*, un proceso que involucra la adquisición, adherencia y mantenimiento de una población estable de levaduras. La boca posee muchos nichos para la colonización por parte de esta especie, incluyendo entre otras células epiteliales, prótesis dental y células bacterianas de la flora bucal residente.<sup>46, 48</sup>

No obstante, la capacidad de infección por *Candida sp.* disminuye porque existe un equilibrio biológico con la flora comensal bacteriana. Las otras especies de *Candida* se encuentran en la piel, el tubo digestivo y en la

naturaleza. *C. albicans* jamás está presente de manera prolongada en la piel sana, excepto en la región perianal.

La presencia de *C. albicans* como comensal en las membranas mucosas de sujetos asintomáticos es común, por lo que en sujetos sanos, existe un balance entre los mecanismos de defensa del hospedero y el potencial invasivo por parte de las levaduras. Sin embargo, cuando el sistema de defensa del hospedero se daña, tal y como ocurre en sujetos inmunosuprimidos o médicamente comprometidos, la infección por *C. albicans*, así como por otras especies de *Candida* puede derivar en el establecimiento de una Candidiasis, la cual se puede manifestar bien sea de manera superficial, involucrando la mucosa bucal, o diseminada, la cual constituye una forma invasiva más seria.

Diversas observaciones clínicas indican que los cambios en el hospedero son usualmente los responsables del desequilibrio ecológico. Estos cambios incluyen además de la disminución de los mecanismos de defensa del hospedero, reducción del flujo salival, disminución de las inmunoglobulinas, trauma local con pérdida de la integridad tisular, debilidad general, estados de malnutrición, cuando esta ocurre en sujetos con dietas ricas en carbohidratos, deficiencia de hierro, ácido fólico o vitamina B12, desórdenes endócrinos como hipotiroidismo, enfermedad de Addison (Insuficiencia adrenocortical) y diabetes mellitus, infección por V.I.H., alteraciones de la sangre tales como leucemia aguda y agranulocitosis, antibióticoterapia prolongada, quimioterapia, radioterapia y xerostomía.

*C. albicans* se puede encontrar en condición facultativamente patógena, desde un estado saprofítico simple, pasando por el comensalismo, hasta la

situación de patógeno. Se encuentra libre en la naturaleza donde puede ser aislado, siendo frecuente encontrarlo en la leche bovina. En el ser humano se encuentra como comensal en el tracto respiratorio e intestinal, en la vagina y boca, sobre la piel, donde reside con mayor frecuencia entre los pliegues naturales que son sitios relativamente calientes y de mayor humedad. Resulta muy difícil la infección por *C. albicans* de animal a hombre, siendo el ciclo de infección más común de animal a animal y de hombre a hombre. Sin embargo, se realizó un estudio en 36 parejas conyugales que mantuvieron relaciones caracterizadas por intercambio de saliva boca a boca y los resultados obtenidos demostraron que no existió transmisión de *C. albicans* entre las parejas en las cuales un miembro era portador y el otro no.<sup>46, 47</sup>

En un estudio realizado por Arendorf y colaboradores, se determinó la prevalencia de levaduras en individuos sudafricanos dentados y con la mucosa bucal sana, y se encontró que 42,5% de los individuos seleccionados portaban levaduras como comensales.<sup>49</sup>

Por su parte, Alkumru y Beydemir encontraron que la tasa de colonización por *Candida sp.* fue mayor en el dorso de la lengua que en otros lugares de la cavidad bucal, por lo que sugirieron que la lengua era el reservorio primario de *C. albicans* en la boca, en tanto que Arendorf y Walker afirmaron que el biofilm era colonizado secundariamente por este hongo.<sup>46, 48</sup>

El hallazgo de *C. albicans* en 58% de los cepillos de dientes de 57 portadores sanos, permitió comprobar “in vitro” que esta especie sobrevive en los cepillos de dientes de nylon y cerda hasta por dos semanas. También

se sugirió en este estudio que el cepillo de cerda, parecía favorecer la supervivencia del hongo.<sup>46, 49</sup>

### **3.3.7 Factores relacionados con la adhesión de *Candida sp.* a las estructuras bucales.**

Existe un gran número de factores involucrados en la adhesión de *Candida sp.* a distintas superficies bucales como mucosa o esmalte dentario, y distintos polímeros de uso odontológico. El papel que desempeñan estos agentes por su número y diverso grado de participación es complejo y en muchos casos no está bien determinado.<sup>2, 8, 9</sup>

#### **a) Factores relacionados con las levaduras.**

##### **1. Características y estructura de la pared celular.**

La producción de **adhesina** (estructura de la superficie celular que promueve la adhesión) está directamente relacionada con las condiciones de cultivo de la levadura.

Estas moléculas actúan como receptores para el fibrinógeno, fibronectina, colágeno, Nacetilglucosamina, y péptidos C3d e iCeb. Está comprobado que usando diferentes medios y temperaturas de cultivo se modifica la capacidad de adhesión de *C. albicans* a las células del epitelio bucal. El cultivo en distintos medios produce diferencias tanto en la topografía de la superficie como en la ultraestructura de la pared, aunque ninguna de estas diferencias se ha correlacionado con cambios en la adhesividad.<sup>8, 9</sup>

Formando parte de la pared de las levaduras se encuentra también, el material polimérico extracelular.

Está compuesto de carbohidratos (65-82%), proteínas (7%), fósforo (0.5%) y glucosamina (1.5%), y juega un papel destacado en la capacidad de adhesión de la levadura. Su producción depende del tipo de carbohidrato que intervenga en el desarrollo de *Candida* y ha sido demostrado que su presencia aumenta la adhesión de *Candida sp.* a la superficie acrílica y a la de un Acondicionador de Tejidos por su porosidad.<sup>9,32</sup>

Existe la posibilidad que la adhesión de *Candida* esta mediada por una sustancia álcali-soluble contenida en la pared de la levadura que es la **manosa**. Las levaduras tratadas con álcali y ácido para extraer la manosa tienen una adherencia significativamente menor a las células del epitelio bucal en comparación con las no tratadas. La manosa está unida por enlaces covalentes a proteínas, estas manoproteínas se sitúan en el interior de la pared. Y también están en la parte más externa, donde dependiendo de las condiciones de crecimiento de la levadura se pueden expresar en diferente medida lo que se traduce en distintos grados de adhesión.<sup>9</sup>

La **quitina** es otra sustancia similar a la adhesina, presente en la pared celular y con posible participación en la adhesión. El extracto soluble de quitina inhibe la adhesión de *Candida sp.* a células del epitelio vaginal, y este contiene dos fracciones de las que solamente una tiene actividad inhibitoria de la adhesión. Los análisis químicos muestran que más del 70% está formado por proteínas, la mayoría de las cuales se encuentran en la fracción no activa.<sup>33</sup>

Existen además **proteinasas y fosfolipasas extracelulares** que están relacionadas de una forma directa con la capacidad de adherencia e invasión de la mucosa por parte de *C. albicans*.

Los **lípidos** de la superficie celular de las levaduras parecen estar involucrados en la adherencia. Diversos lípidos aislados de diferentes formas de *C. albicans* como ceramida monohexósido y ceramida dihexósido, así como el estearil glucósido aislado de formas miceliales, producen una inhibición de la adherencia de las levaduras a las células del epitelio bucal.<sup>33</sup>

## 2. Fenotipo.

Una misma cepa de *C. albicans*, dependiendo de las condiciones ambientales y en ocasiones de forma espontánea, puede presentar distintos fenotipos.

Esto da origen a diferentes grados de hidrofobicidad que determinan variaciones en la adherencia. Estas diferencias en la adhesión dependiendo del fenotipo se producen tanto en relación con las células del epitelio bucal como con materiales acrílicos y plásticos.<sup>9</sup>

## 3. Fase de germinación.

La presencia de tubos germinativos constituye el inicio del crecimiento micelial de *C. albicans* y se acompaña de una adherencia y virulencia aumentada. La formación de hifas de *Candida sp.*, en condiciones ambientales favorables (temperatura de 37°C y pH 7), produce una capa superficial adicional en comparación con la fase de blastospora que es la responsable del aumento de adherencia tanto a distintos polímeros como a las células de la mucosa.

Esta capa adicional está formada de fibrillas, compuestas de manoproteínas de distinto peso molecular, que son retenidas sobre la superficie plástica.<sup>9</sup>



Fig. 16 Tubo Germinativo<sup>42</sup>

#### 4. Hidrofobicidad

Los estudios realizados sobre este tema aportan resultados discordantes. Los péptidos de manosa presentes en la pared celular forman uniones hidrofóbicas con moléculas de poliestireno; para otros autores, la hidrofobicidad sería un factor de menor importancia en la adhesión de *Candida sp.* a las células epiteliales pero contribuiría a la coadhesión de las levaduras.<sup>9</sup>

#### b) Factores relacionados con las células del hospedero.

##### 1. Origen, tamaño y viabilidad celular.

La adherencia in vitro de *C. albicans* a células de la mucosa está influida por el lugar de origen mayor adherencia a células de la mucosa yugal que a células del epitelio de vagina, baja adherencia a células del epitelio del tracto

urinario y varía además de unos individuos a otros no encontrándose diferencias entre los géneros.

Existe una gran variación en el número de *C. albicans* adheridas a células aisladas del epitelio bucal, puede haber células que no tengan ninguna levadura adherida mientras que otras presentan levaduras en gran número. Las células de tamaño intermedio (36-70  $\mu\text{m}$ ) tienen una afinidad por las levaduras mayor que las células mas grandes o chicas. La viabilidad de las células de la mucosa bucal no influye en el grado de adhesión de las levaduras.

## 2. Fibronectina.

Algunos estudios experimentales han demostrado la unión de *Candida* por medio de fibronectina pero sin embargo, no se han caracterizado receptores para la fibronectina en las células epiteliales. La fibronectina, junto con la fibrina y el fibrinógeno está presente en el suero.<sup>33</sup>

## 3. Fibrina.

En estudios experimentales la mayor o menor virulencia de distintas cepas de *Candida albicans* está relacionada con su grado de unión a la fibrina.

Parece que el factor de unión al fibrinógeno en *Candida sp.* es una glicoproteína, probablemente una manoproteína presente en la superficie de la pared de la levadura.<sup>9, 34</sup>

#### 4. Hormonas sexuales.

Existe una correlación entre el grado de adherencia in vitro de *C. albicans* a células epiteliales y el estado hormonal de los individuos.<sup>33</sup> El estradiol y la progesterona afectan al grado de adherencia de las levaduras a las células del epitelio vaginal. La progesterona parece tener el efecto más marcado produciendo un incremento significativo de la adherencia a estas células sobre todo a las situadas en estratos intermedios en contraposición a las más superficiales. Estas células de estratos intermedios que aparecen incrementadas durante los períodos con alto nivel de progesterona, se encuentran en pacientes predispuestos a candidiasis vaginal.

c) Factores ambientales que afectan a la adhesión de las levaduras.

##### 1. Cationes

Los cationes bivalentes tales como el  $\text{Ca}^{++}$  y el  $\text{Mg}^{++}$  incrementan la adhesión de *C. albicans* tanto a las células del epitelio de la cavidad bucal como al acrílico. Altas concentraciones de estos cationes promueven la cohesión y agregación de estas levaduras, ello indica que las fuerzas iónicas y electrostáticas jugarían un papel importante en los mecanismos de adhesión de la *Candida sp.*<sup>9</sup>

##### 2. Acidez y Alcalinidad.

El papel del pH en la adhesión de *C. albicans* no está claro, si bien en algunos trabajos la máxima adhesión a células epiteliales ocurre con un pH

de 3 y la mínima con pH 7.4, otros autores encuentran que la adhesión alcanza su máximo a las células del epitelio bucal en un pH comprendido entre 6.2 y 7.<sup>9</sup>

### 3. Azúcares.

Los carbohidratos tanto de origen exógeno como endógeno afectan a las propiedades de adhesión de *C. albicans*. En buen número de trabajos diversas cepas de *Candida albicans* después de una incubación con diversos azúcares tenían aumentada su adherencia tanto a las células del epitelio bucal como a resinas acrílicas, siendo la galactosa y la maltosa los azúcares que más aumentaban la adhesión.<sup>9, 34</sup>

La adhesión de *C. albicans* a las células epiteliales puede ser inhibida por L-fucosa, N-acetyl-glucosamina, metil- $\alpha$ -D-manosido, D-manosa, o D-manosamina, posiblemente por bloqueo de los glucósidos que sirven como receptores epiteliales en la adhesión. El papel de estos receptores no está todavía claro, y existen trabajos con resultados contradictorios.<sup>9</sup>

### 4. Saliva.

La importancia de la saliva en la adhesión de las levaduras no está clara, ya que se menciona que la IgA secretora tiende a inhibir la unión de *C. albicans* a las células del epitelio bucal.

Además en las prótesis dentales la unión de *C. albicans* esta mediada por componentes específicos de la saliva o del suero que forman la película adquirida e intervienen, por tanto, en el inicio de la adhesión, este efecto de la saliva y suero también se produce para otras especies de *Candida*. Esta

película adquirida también puede hacer variar la efectividad de los antifúngicos.

Por otro lado, levaduras preincubadas durante tres horas en una mezcla de saliva completa mostraron posteriormente mayor adhesión a células epiteliales humanas y de riñón de embrión humano que aquellas que fueron preincubadas en suero fosfato tamponado. Así mismo una película de mezcla de saliva sobre células epiteliales humanas aumenta de forma significativa la adhesión de *C. albicans*.<sup>9, 34</sup>

#### 5. Anticuerpos Humorales y Suero.

Los anticuerpos humorales contra la *C. albicans* pueden proteger frente la endocarditis candidiásica al disminuir la adhesión, que es un paso crucial en la patogénesis de esta enfermedad.

Sin embargo, el pretratamiento del acrílico con suero incrementa ligeramente la adhesión de las cepas de *Candida sp.*, esto se debe en parte a la presencia de fibrinógeno y fibrina.<sup>9, 34</sup>

#### 6. Drogas Antibacterianas.

El uso de drogas antibacterianas, particularmente las de amplio espectro, promueve la infección candidiásica. La administración de una solución al 0,1% de tetraciclina durante 4 días a ratones arrojó como resultado un incremento muy significativo en la adhesión de *C. albicans* a las células epiteliales.<sup>33</sup>

El empleo de enjuagues antisépticos como la clorhexidina al 0,2% reduce significativamente la adhesión de las levaduras a las células del epitelio bucal. El uso de antibióticos como la tunicamicina, al disminuir la síntesis de manoproteínas reduce la capacidad de adhesión. Esta también puede reducirse por medio de dosis sub letales de ketoconazol, que disminuyen la formación de hifas. Antifúngicos como la nistatina, anfotericina B, 5-fluorocitosina, cotrimazol y ketoconazol inhiben significativamente la adherencia de *C. albicans* a las células del epitelio bucal.

#### 7. Bacterias.

La flora bacteriana saprófita puede interferir en la adhesión de las levadura. Este efecto varía de forma considerable dependiendo de la bacteria que comparta nicho ecológico con *C. albicans*. La exposición previa de células epiteliales humanas a *Streptococcus salivarius* y *S. mitis* redujo la adhesión de *Candida sp.* a esas células, mientras que la exposición previa a *Streptococcus mutans* no tuvo un efecto significativo. Según estudios in vitro, la adhesión de *C. albicans* a las superficies acrílicas se reduce de forma significativa por el *S. salivarius*.<sup>9, 33,34</sup>

#### 8. Lecitina.

En el material polimérico extracelular de todas las cepas de *Candida sp.* se encuentran, en diferentes cantidades, proteínas similares a la lecitina con afinidad por la L-fucosa, N-acetil-D-glucosamina y D-manosa. Los glicósidos que contienen L-fucosa o N-acetil-D-glucosamina pueden funcionar como receptores de las células epiteliales para *C. albicans*.<sup>33</sup>

---

#### 4. ESTUDIO DE ADHERENCIA DE *Candida albicans*

### 4.1 TINCIÓN DE GRAM

La **tinción de Gram** o **coloración Gram** es un tipo de tinción diferencial empleado en microbiología para la visualización de bacterias, sobre todo en muestras clínicas. Debe su nombre al bacteriólogo danés Christian Gram, que desarrolló la técnica en 1884. Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana, considerándose Bacteria Gram positiva a las bacterias que se visualizan de color violeta y Bacteria Gram negativa a las que se visualizan de color rosa.

También es utilizada para la observación de levaduras en ese caso de *Candida albicans* siendo microorganismos Gram positivos, observándose levaduras, formando pseudohifas con mayor claridad que el examen directo.

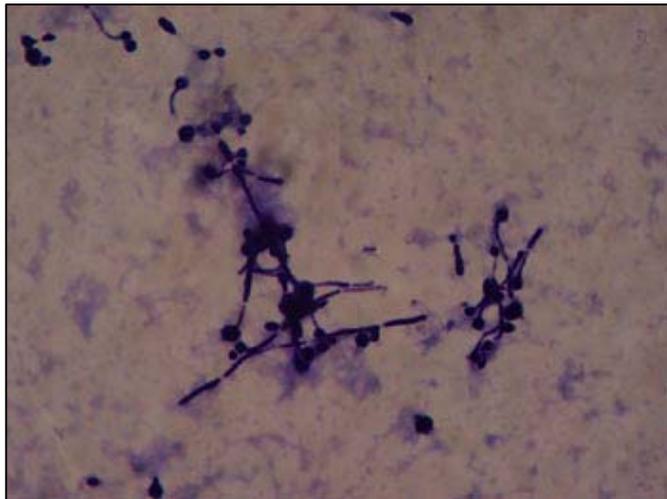


Fig. 17 Tinción de Gram, aumento 40x. Se observan levaduras filamento (pseudohifas), teñidas como estructuras Gram positivas.<sup>44</sup>

#### 4.1.1 TÉCNICA DE LA TINCIÓN GRAM

1. Recoger muestras
2. Hacer el extendido en espiral
3. Dejar secar a temperatura ambiente
4. Fijar la muestra al calor (flameado 3 veces aprox.)
  - Con la ayuda de un mechero, flamear un asa bacteriológica y esperar que enfríe un poco.
  - Tomar el asa (previamente flameada) y con ésta tomar un poco de muestra.
  - Una vez obtenida una pequeña cantidad de la muestra (con el asa), hacer que ésta tenga contacto con una lámina portaobjetos, la cual servirá para depositar la muestra contenida en el asa.
  - Con el asa (conteniendo la muestra) sobre la lámina portaobjetos, proceder a realizar la extensión de la muestra en el portaobjetos mediante movimientos giratorios (dar vueltas con el asa) sobre la lámina, de tal forma que al terminar la extensión, tengamos como producto una espiral en la parte media de la lámina.
  - Esperar que seque al aire libre o ayudarse con la llama de un mechero para fijar la muestra, teniendo en cuenta que el calor no debe ser directo (sólo se pasa por la llama), puesto que el calor excesivo puede cambiar la morfología celular de las bacterias a observar. El calor deseable es aquél en el que el portaobjetos sea apenas demasiado caliente para ser colocado sobre el dorso de la mano.

#### 5. Tinción

- Con violeta cristal o violeta de genciana, utilizando una cantidad suficiente de dicho colorante sobre la muestra, como para lograr cubrirla por completo. Se deja actuar al colorante por 1 minuto.

Esta tinción de 1 minuto está dada para trabajar a una temperatura ambiente de 25 °C. Este tinte dejará de color morado las bacterias Gram positivas.

#### 6. Mordiente

- Se aplica como mordiente yodo o lugol durante 1 minuto más.
- El mordiente es cualquier sustancia que forme compuestos insolubles con colorantes y determine su fijación a las bacterias Gram.

#### 7. Decoloración

- Pasado el minuto de haber actuado el mordiente, el frotis se decolora con etanol al 75 %, etanol al 95 %, acetona o alcohol-acetona, hasta que ya no escurra más líquido azul. Para esto se utiliza el gotero del frasco del decolorante. Se van añadiendo cantidades suficientes del decolorante, hasta lograr que éste salga totalmente transparente, es decir, hasta que ya no escurra más líquido azul.

#### 8. Tinción de Contraste

- Una vez que la lámina ya secó, procedemos a teñir nuevamente, pero esta vez se va a utilizar un colorante de contraste como por ejemplo la safranina, dejar actuar durante 1 minuto. Este tinte dejará de color rosado las bacterias Gram negativas.

9. Enjuagar con agua.

- Al transcurrir el minuto, se debe enjuagar la lámina conteniendo la muestra con agua corriente. Para realizar el lavado, se debe tener en cuenta que el chorro de agua NO debe caer directamente sobre la muestra, ésta debe caer sobre la parte superior de la lámina que no contiene muestra. El chorro debe ser un chorro delgado, aproximadamente de medio a un centímetro de espesor. También el enjuague se debe realizar poniendo la lámina en posición inclinada hacia abajo.
- De esta manera, ya tendremos listo el frotis para su respectiva observación microscópica.

#### 4.1.2 UTILIDADES

En el análisis de muestras clínicas suele ser un estudio fundamental por cumplir varias funciones:

- Identificación preliminar de la bacteria causal de la infección.
- Utilidad como control calidad del aislamiento bacteriano. Los morfotipos bacterianos identificados en la tinción de Gram se deben de corresponder con aislamientos bacterianos realizados en los cultivos. Si se observan mayor número de formas bacterianas que las aisladas hay que reconsiderar los medios de cultivos empleados así como la atmósfera de incubación.
- Identificación de levaduras yemantes o formando pseudohifas con mayor claridad que el examen directo.

### 4.1.3 MECÁNISMO DE ACCIÓN

El mecanismo de acción de la Tinción se basa en las características fisicoquímicas de la estructura de la pared celular del microorganismo. Una probable teoría de mecanismo de acción es la siguiente:

- El colorante básico entra al microorganismo, donde forma con el Yodo una laca insoluble en agua. El alcohol acetona empleado para aclarar, deshidrata las paredes de los microorganismos Gram-positivos, tratados con mordiente forman una barrera que la laca no puede atravesar.
- En las células Gram-negativas, los lípidos de la pared (más abundantes de las células Gram-positivas) se disuelven por este tratamiento, lo que permite el escape del complejo del cristal violeta con yodo.

## **4.2 MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO**

El **Microscopio electrónico de barrido** (o **SEM**, de Scanning Electron Microscopy), es aquel que usa electrones en lugar de luz para formar una imagen. Tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra. También produce imágenes de alta resolución, que significa que características espacialmente cercanas en la muestra pueden ser examinadas a una alta magnificación. La preparación de las muestras es relativamente fácil pues la mayoría de SEMs sólo requieren que estas sean conductoras.

En el microscopio electrónico de barrido la muestra es recubierta con una capa de metal delgado, y es barrida con electrones enviados desde un cañón. Un detector mide la cantidad de electrones enviados que arroja la intensidad de la zona de muestra, siendo capaz de mostrar figuras en tres dimensiones, proyectados en una imagen de TV. Su resolución está entre 3 y 20 nm, dependiendo del microscopio. Inventado en 1931 por Ernst Ruska, Gerd Binnig y Heinrich Rohrer, permite una aproximación profunda al mundo atómico. Permite obtener imágenes de gran resolución en materiales pétreos, metálicos y orgánicos. La luz se sustituye por un haz de electrones, las lentes por electroimanes y las muestras se hacen conductoras metalizando su superficie. Los electrones secundarios se asocian a una señal de TV.

#### 4.2.1 ANTECEDENTES

Los primeros instrumentos desarrollados para este propósito, fueron microscopios ópticos, que van desde una simple lupa, hasta un microscopio compuesto. Sin embargo, aún en el mejor instrumento óptico, la resolución está limitada a la longitud de onda de la luz que se utilice. En términos de amplificación, esto quiere decir que no podemos amplificar más de 1,000 veces.

Una salida inmediata a esta limitante de resolución, es utilizar alguna radiación de longitud de onda más corta que la de la luz violeta. Los candidatos inmediatos son los rayos X, que se caracterizan por una longitud de onda del orden de 0.15 nanómetros; desafortunadamente éstos tienen la gran desventaja de ser absorbidos rápidamente por lentes de vidrio y de no poder ser desviados por lentes magnéticas (Además de las precauciones que debería tener el operador).

Otra posibilidad es aprovechar el comportamiento ondulatorio de los electrones acelerados por alguna diferencia de potencial. Sea el caso, por ejemplo, de electrones acelerados en un campo de 100,000 voltios que presentan comportamiento ondulatorio con una longitud de onda de 0.0037 nm (3.7 picómetros), lo que en principio permitiría tener un aparato que resolviera detalles del mismo orden, lo cual es más de lo que se necesita para resolver detalles atómicos, puesto que los átomos en un sólido están separados en un orden de 0.2 nm.

Sin embargo, en la práctica, detalles inherentes a la técnica de observación, o defectos en el maquinado de las piezas polares que producen aberraciones.

#### **4.2.2 FUNCIONAMIENTO**

En el microscopio electrónico de barrido es necesario acelerar los electrones en un campo eléctrico, para aprovechar de esta manera su comportamiento ondulatorio, lo cual se lleva a cabo en el cañón del microscopio, donde se aceleran por una diferencia de potencial de 1,000 a 30,000 volts. Los electrones acelerados por un voltaje pequeño son utilizados para muestras muy sensibles, como podrían ser las muestras biológicas sin preparación adicional, o muestras muy aislantes. Los altos voltajes se utilizan para muestras metálicas, ya que éstas en general no sufren daños como las biológicas, y de esta manera se aprovecha la menor longitud de onda para tener una mejor resolución. Los electrones acelerados salen del cañón, y son enfocados por las lentes condensadora y objetiva, cuya función es reducir la imagen del filamento, de manera que incida en la muestra un haz de electrones lo más pequeño posible (para así tener una mejor resolución).

Cuando el haz incide sobre la muestra, se producen muchas interacciones entre los electrones del mismo haz, y los átomos de la muestra; puede haber por ejemplo, electrones rebotados como las bolas de billar. Por otra parte, la energía que pierden los electrones al "Chocar" contra la muestra puede hacer que otros electrones salgan despedidos (electrones secundarios), y producir rayos X, electrones Auger, etc. El más común de éstos es el que detecta electrones secundarios, y es con el que se hacen la mayoría de las imágenes de microscopios de barrido.

Podemos también adquirir un detector de Rayos X, y aprovechar la característica de que los rayos X tienen la "firma" del elemento que los produjo, y por lo tanto podemos hacer un análisis químico.

#### 4.2.3 UTILIZACIÓN

Son ampliamente utilizados en la biología celular. Aunque permite una menor capacidad de aumento que el microscopio electrónico de transmisión, este permite apreciar con mayor facilidad texturas y objetos en tres dimensiones que hayan sido pulverizados metálicamente antes de su observación. Por esta razón solamente pueden ser observados organismos muertos, y no se puede ir más allá de la textura externa que se quiera ver. Los microscopios electrónicos sólo pueden ofrecer imágenes en blanco y negro puesto que no utilizan la luz.



Fig. 18 Microscopio Electrónico de Barrido (SEM)

Este instrumento permite la observación y caracterización superficial de materiales inorgánicos y orgánicos, entregando información morfológica del material analizado. A partir de él se producen distintos tipos de señal que se generan desde la muestra y se utilizan para examinar muchas de sus características. Con él se pueden realizar estudios de los aspectos morfológicos de zonas microscópicas de diversos materiales, además del procesamiento y análisis de las imágenes obtenidas.

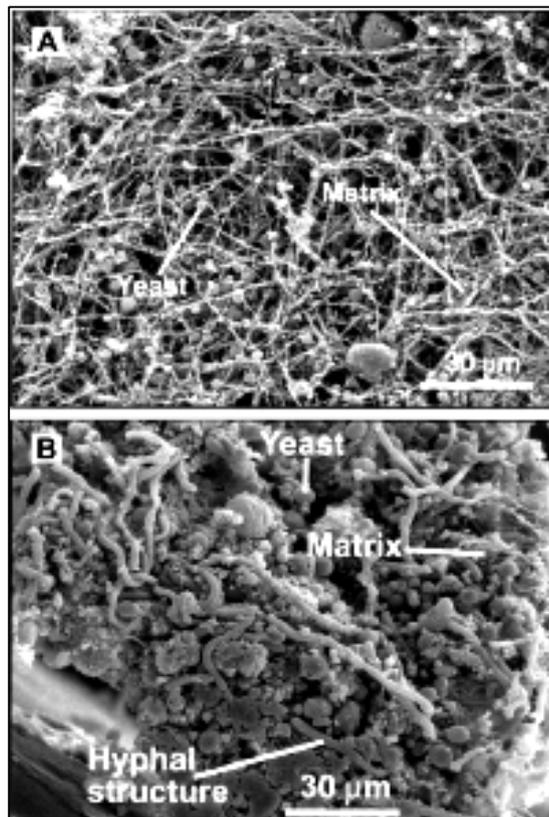


Fig. 19 Imagen en SEM<sup>44</sup>

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El problema principal que se tiene con los Acondicionadores de Tejidos es que la superficie es blanda, elástica, porosa y con superficie irregular, el cual es colocado en la superficie de las prótesis dentales totales y parciales sobre los tejidos blandos. Al encontrarse acondicionador de tejidos y mucosa bucal en un íntimo contacto por un tiempo mayor al especificado, la humedad de la zona, las condiciones locales (disminución de una limpieza mecánica por parte de la lengua y saliva, disminución del oxígeno y del pH salival) y sistémicas del hospedero; propicia un estado óptimo para el desarrollo de diversos microorganismos patógenos, principalmente hongos oportunistas (*C. albicans*).

Si se tiene en cuenta lo ya mencionado y además usarse estos tipos de materiales de una manera inadecuada ya sea: 1.- Por parte del odontólogo: desconocer el uso correcto de los mismos (indicaciones, contraindicaciones, ventajas y desventajas), el uso indiscriminado, no conoce las distintas marcas de Acondicionadores de Tejidos y no toma en cuenta sus características fisicoquímicas. 2.- Por parte del paciente: no sigue las indicaciones del odontólogo adecuadamente, falta de higiene (prótesis bucal y mucosa) y el no asistir a sus consultas periódicamente como se le fue señalado. Propicia infecciones oportunistas como: candidiasis bucal afectando el estado de salud del paciente.

---

## 6. JUSTIFICACIÓN

Esta investigación de tipo comparativa y experimental está enfocada en odontólogos y pacientes que por descuido o falta de información dan un mal uso a los **Acondicionadores de Tejidos**, ya sea por utilizar el material por un tiempo mayor al indicado, por no hacer un recambio del mismo, por no asistir a sus consultas en las fechas señaladas, por no tener indicaciones por parte del odontólogo de la higiene del material, por desconocer las indicaciones, contraindicaciones, ventajas y desventajas por parte del odontólogo, puede causar con el tiempo enfermedades infecciosas y oportunistas.

Por lo antes expuesto sobre el mal uso de los Acondicionadores de Tejidos, en el presente trabajo de Tesis para titulación, este tiene como fin el comparar in vitro 3 diferentes Acondicionadores de Tejidos [Flexacryl Soft® (Lang), Coe Comfort ® (GC) y Lynal® (Keer)] y observar sus características en cuanto a su grado de porosidad y adherencia de *C. albicans* en diferentes tiempos de inoculación y de esta manera conocer y dar un uso más adecuado a dichos materiales y comprender más ampliamente las ventajas y limitaciones de estos; asimismo, ofrecer al paciente desdentado una opción de tratamiento más adecuado según las características de su tejido bucal.

---

## 7. HIPÓTESIS

- H<sub>1</sub> Es distinta la adherencia in vitro de *C. albicans*, sobre la superficie de los tres diferentes acondicionadores de tejidos dependiendo del tiempo de inoculación a la especie *Candida*.
- H<sub>2</sub> La adherencia in vitro de *C. albicans*, sobre la superficie de los tres diferentes acondicionadores de tejidos utilizados, se ve influenciada por las características estructurales de cada uno de ellos, como su porosidad.
- H<sub>3</sub> Entre más grande es el poro en la estructura del acondicionador de tejidos mayor es la adherencia de *C. albicans*.

### HIPÓTESIS NULA

- HO<sub>1</sub> No es diferente la adherencia in vitro de *C. albicans*, sobre la superficie de tres diferentes acondicionadores de tejidos en diferentes tiempos de inoculación.
- HO<sub>2</sub> La adherencia in vitro de *C. albicans*, sobre la superficie de acondicionadores de tejidos no se ve influenciada por el grado de porosidad.
- HO<sub>3</sub> Entre más grande es el poro en la estructura del acondicionador de tejidos no es mayor es la adherencia de *C. albicans*.
-

## 8. OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

El objetivo de este estudio es determinar in vitro la adherencia y la formación de biopelículas de *C. albicans* sobre tres diferentes Acondicionadores de Tejidos, en diferentes tiempos de inoculación; así mismo observar la relación que existe entre de las características estructurales de los mismos en su superficie, como es su porosidad e irregularidades en la adherencia de *C. albicans* sobre los Acondicionadores.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Conocer la adherencia in vitro de *C. albicans* a los tres diferentes acondicionadores de tejidos a diferentes tiempos de inoculación.
- Conocer que marca de acondicionador de tejidos favorece menos la formación de biopelículas in vitro.
- Conocer las características estructurales en cuanto a su grado de porosidad (tamaño) e irregularidades en cada uno de los acondicionadores de tejidos y su influencia sobre la formación de biopelículas de *C. albicans* in vitro.

## 9. MATERIAL Y MÉTODOS

### 9.1 RECURSOS

#### Humanos

- Mtro. Víctor Moreno Maldonado (Profesor Titular de la F.O. en el Área de Prostodoncia)
- Q.B.P. Bertha Muños Hernández (INER)
- Biol. Gabriel Palma Cortés. (INER)
- Mtro. Omar Novelo Peralta (Instituto de Investigaciones en Materiales)
- Dra. Argelia Almaguer Flores (Posgrado de Odontología)
- CD. Laura Susana Acosta Torres (Posgrado de Odontología)
- Bonilla Rodríguez Yasmin (Pasante de la carrera “Cirujano Dentista”)

## Materiales

CRISTALERIA	EQUIPO
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Matraz de bola de fondo plano 500ml y 1000ml.</li> <li>• Matraz Erlen Meyer 250, 500 y 1000ml.</li> <li>• Probetas graduadas de 500 y 1000 ml.</li> <li>• Tubos de ensayo con tapón de rosca.</li> <li>• Cajas de Petri.</li> <li>• Vasos de precipitados 250ml.</li> <li>• Frascos con tapón de rosca de 5ml.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Micropipetas.</li> <li>• Asa de platino.</li> <li>• Asa micológica.</li> <li>• Mechero de alta temperatura.</li> <li>• Triples.</li> <li>• Tela de Asbesto.</li> <li>• Gradillas metálicas.</li> <li>• Hemocitometro.</li> </ul>
APARATOS	REACTIVOS COMPLEMENTARIOS
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microscopio óptico.</li> <li>• Microscopio Electrónico de Barrido.</li> <li>• Incubadora.</li> <li>• Ion Sputter JFC (Ionizador).</li> <li>• Autoclave.</li> <li>• Refrigerador.</li> <li>• Balanza granataria.</li> <li>• Balanza analítica.</li> <li>• Cámara fotográfica.</li> <li>• Computadora.</li> <li>• Impresora.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amikacina.</li> <li>• Cristal violeta (0,5%).</li> <li>• Lugol.</li> <li>• PBS 20%</li> <li>• Glutaraldehído.</li> <li>• Tetróxido de osmio.</li> <li>• Acetato de uranil.</li> <li>• Agua destilada.</li> </ul>
MEDIOS DE CULTIVO	VARIOS
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agar Dextrosa Sabouraud.</li> <li>• Caldo Dextrosa Sabouraud.</li> <li>• Caldo de Soya Trypticaseína.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Puntas para micropipetas.</li> <li>• Guantes.</li> <li>• Algodón.</li> <li>• Lápiz graso o rotulador.</li> <li>• Cinta adhesiva.</li> <li>• Papel para envolver.</li> <li>• Cinta testigo.</li> <li>• Gasas.</li> <li>• Disketts.</li> <li>• Papelería.</li> <li>• Vernier metálico.</li> <li>• Alcohol.</li> </ul>

## 9.2 Preparación de las muestras

De acuerdo con la técnica propuesta por Nikawa H et al. (1997). Se fabricaron láminas de acondicionador de tejidos de 10 mm de largo x 10 mm de ancho x 1 mm de espesor, elaboradas de acuerdo a las instrucciones de manufactura proporcionadas por el fabricante, en el Laboratorio Interdisciplinario de Prostodoncia Total de la Facultad de Odontología, UNAM.

De esta manera se obtuvieron un total de 36 muestras, siendo 12 muestras para cada marca de Acondicionador de Tejidos.

## 9.3 Manejo de microorganismos y condiciones de cultivo.

Para la obtención de la cepa de *C. albicans*, su manejo, sus condiciones de cultivo, la adherencia sobre el Acondicionador de Tejidos y los resultados, se realizaron en el Laboratorio de Micología Médica, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, INER.

Se utilizó una cepa de referencia de *C. albicans* viable, proporcionada por el Instituto Pasteur de Francia al Laboratorio de Micología Médica, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, INER.

A esta cepa se le realizaron pruebas de formación de tubo germinativo con el fin de comprobar que se trataba de una cepa de *Candida albicans* viable.

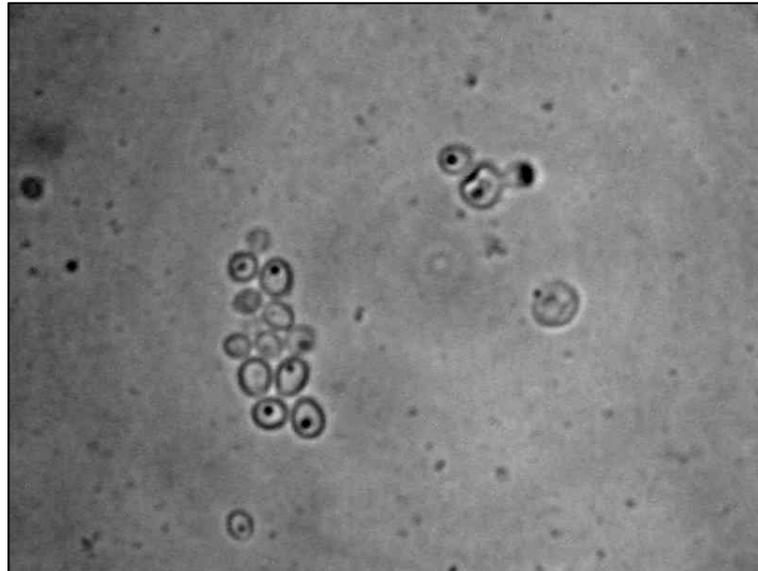


Fig. 20 Fotografía de *Candida albicans* en fresco a 40x en microscopio óptico para comprobar la viabilidad de la cepa.

El microorganismo fue cultivado en placas de agar dextrosa Sabouraud e incubadas a 37°C durante 24 a 48 horas, de este cultivo fresco se tomo una asada microbiológica y se incorporo en 100 ml de caldo de soya tripticaasa estéril, por tener los requerimientos de crecimiento para los hongos y bacterias como lo describe Adam B. (2002).<sup>35</sup>



Fig.21 Placa de Agar con cultivo de *Candida albicans*.

Este caldo de soya Trypticasa se mantuvo en una incubadora elíptica toda una noche (12 hrs) a 37°C con agitación a 60 rpm.

El cultivo overnight fue centrifugado 10 minutos a 1,000 rpm, y posteriormente se retiró el caldo de soya tripticasa y los blastoconidios que están en el sedimento fueron lavados dos veces con solución salina estéril.

35

Al sedimento lavado se le agregó 2 ml de caldo de soya tripticasa estéril para resuspender los blastoconidios. Este concentrado fue agregado a 100 ml de caldo de soya tripticasa estéril hasta que se obtuvo una suspensión del microorganismo a 0.8 OD520 (1 x 10<sup>7</sup> blastoconidios / ml).

---

#### 9.4 Ensayo de adherencia y formación del Biofilm.

Se seleccionó para la desinfección de las muestras de Acondicionadores de Tejidos un antibiótico de amplio espectro (amikacina de 100 mg) por una hora ya que se manifiesta activa “in vitro” frente a los siguientes microorganismos:

- Gram negativos: Especies de *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, especies de *Proteus* (indol-positivos e indol-negativos), especies de *Providencia*, especies de *Klebsiella-Enterobacter Serrana*, especies de *Acinetobacter (Mima-Herellea)* y *Citrobacter freundii*.
- Gram positivos: Especies de Estafilococos productores y no productores de penicilinas, incluyendo cepas resistentes a la Meticilina. No obstante, la amikacina es poco activa frente a otros Gram positivos: *Streptococcus pyogenes*, *Enterococos* y *Streptococcus pneumoniae (Diplococcus pneumoniae)*.

De esta manera se eliminó bacterias de las muestras dejando una superficie óptima para la adhesión solo de *Candida albicans*.

Una vez desinfectadas las muestras fueron colocadas en placas de cultivo celular de 24 pozos con 2 ml de la suspensión de *C. albicans*. Se cubrió completamente el espécimen.<sup>35</sup>

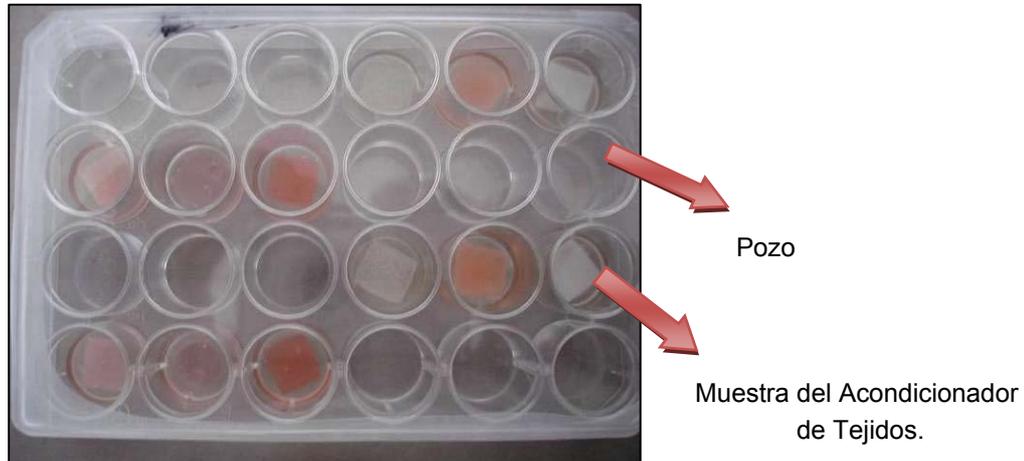


Fig. 22 Placas de 24 pozos con las muestras de Acondicionador de Tejidos ya desinfectados con el antibiótico y colocadas en los pozos para añadir la levadura y ser incubada.

Una vez añadidas las levaduras a cada muestra se incubaron en las placas durante los siguientes tiempos: 24, 72 y 168 hrs a 37°C con agitación (60 rpm.)

En diferentes experimentos se inoculo *C. albicans* para la formación de una biopelícula, obteniendo suspensiones estandarizadas de dicho hongo en volúmenes iguales inmediatamente antes de ser utilizados. El ensayo de adherencia se realizo como fue descrito anteriormente.

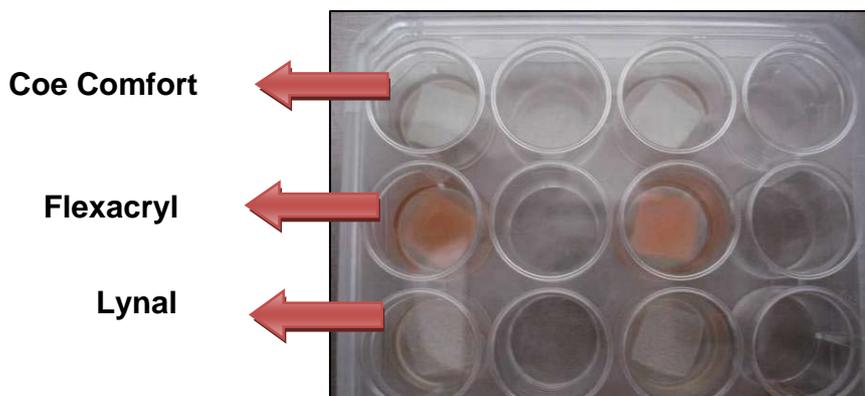


Fig. 23 Fotografía de la colocación de las muestras de acondicionador de Tejidos los cuales en este caso se diferencian por su color.

## 9.5 Determinación de la Adherencia.

Transcurrida la inoculación bajo condiciones asépticas, se retiraron las muestras con pinzas estériles se lavo con PBS (NaCl 8 g, KCl .2 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-12H<sub>2</sub>O 2.89 g, H<sub>2</sub>O Dest 1 litro, pH 7.4) para remover las células no adheridas.

La prueba se realizo por duplicado.

La cuantificación y determinación del crecimiento en Biofilm, características y estructura de la superficie de las muestras se llevo a cabo por separado con dos diferentes métodos:

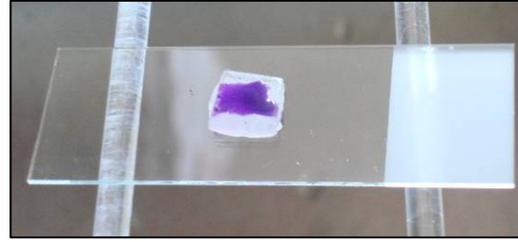
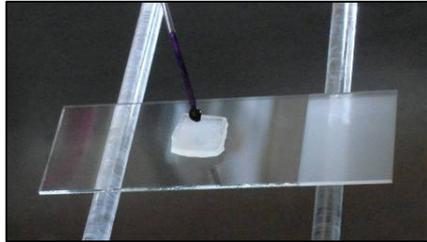
### 1. **Tinción de Gram** (Samanarayke and MacFarlane 1980).

- Las replicas se montaron sobre porta objetos, se procedió a dejar que se secan a temperatura ambiente.



Fig. 24 Fotografía del secado de una muestra sobre un porta objetos.

- Posteriormente se tiñeron con Violeta de Genciana (fórmula de Hucker) por 1 minuto.



Figs. 25 y 26 Fotografía de tinción de muestra con Violeta de Genciana.

- Ya transcurrido el minuto se procedió a escurrir la muestra para eliminar el sobrante de Violeta de Genciana.
- Una vez eliminado el exceso de Violeta de Genciana se colocó Yodo Lugol Líquido por 1 minuto.

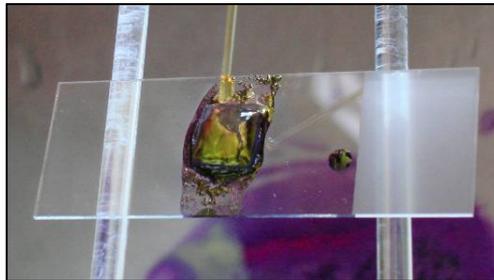


Fig. 27 Fotografía de tinción de la muestra con Yodo.

- Después de esperar un minuto se lavo la muestra con Alcohol-Acetona (solución decolorante) por 1 minuto y se espero a que se evaporara.

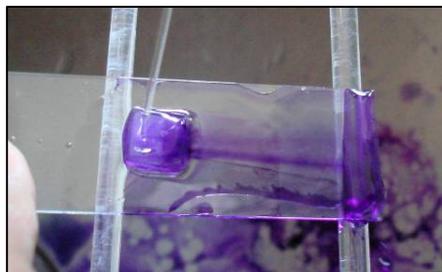
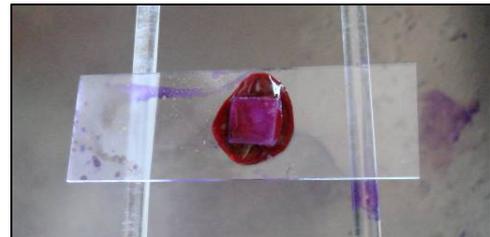
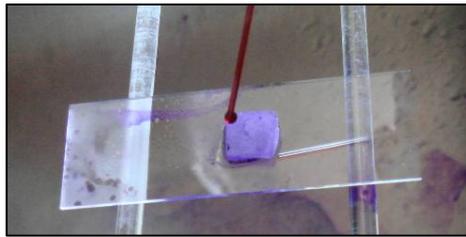


Fig. 28 Fotografía del lavado de la muestra con Alcohol-Acetona.

- Por último se tiñó la muestra con Safranina (colorante de contraste) por 1 minuto más.



Figs. 29 y 30 Fotografías de tinción de la muestra con Safranina.

Ya hecho esto se lavo con agua corriente y se dejo que se secan las muestras para su posterior observación en el microscopio óptico y realizar la cuantificación de levaduras.



Fig. 31 Fotografía de la observación de las muestras con Microscopio Óptico.

## 2. **Escaneo con Microscopía Electrónica SEM** (Adam B, 2002).

Para la observación de la biopelícula en las muestras por medio del Escaneo con Microscopía Electrónica se realizo en el Intitulo de Investigación en Marteriales, por lo que previamente, en el Laboratorio de Genética Molecular de Posgrado de Odontología se realizó la preparación y tratamiento de las muestras con el siguiente protocolo:

- Lavado de las muestras con PBS (se repitió tres veces).
- Se quitó el PBS y se agregó 1ml de glutaraldehído (2.5%) para fijar las células.
- Se dejó toda una semana en refrigeración.
- Transcurrida la semana:
  - Se realizaron 3 lavados de 15 min con Buffer C (19ml de Buffer A + 81 ml de Buffer B con un pH a 7.4.
    - Buffer A: 0.48g de Sodium phosphate monobasic + 20ml de ddH<sub>2</sub>O.
    - Buffer B: 2.84g de Sodium phosphate dibasic + 100ml de ddH<sub>2</sub>O.
  - Ya realizado el lavado con Buffer C se procedió a la deshidratación:
    - a) Etanol al 20% dos lavados de 5 min.
    - b) Etanol al 40% dos lavados de 5 min.
    - c) Etanol al 60% dos lavados de 10 min.
    - d) Etanol al 80% dos lavados de 10 min.
    - e) Etanol al 100% tres lavados de 15 min.

Una vez deshidratados se colocó una noche con desecantes de sílica gel, posteriormente fueron montados en balines de latón donde se ionizaron con una capa de oro- paladio durante 3 min a 1500KV y a 10mA (Fig. 81, 82 y 83) para posteriormente ser observadas con un microscopio electrónico de barrido (SEM) con una aceleración potencial de 10kV a un aumento de 500x, 1000x, 2000x y 5000 x.

---



- Fig. 81, 82 y 83 Se observa un Ion Sputter JFC 1006 donde se procesan las muestras para realizar un recubrimiento de oro-paladio y posteriormente ser observadas en el SEM.

### 9.6 Cuantificación de la Adherencia.

El número de microorganismos adheridos (Tinción de Gram modificada) se determinó por microscopía usando para el conteo una técnica de muestra estratificada con una retícula de área montada en el ocular, la cual contiene 10 campos de ancho por 10 de largo ( $1\text{mm}^2$  cada uno).

Los resultados fueron expresados como el número de levaduras por  $\text{mm}^2$ .

### 9.7 ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS MATERIALES.

La superficie de las muestras de Acondicionador de Tejidos fue observada en la Microscopía Electrónica de Barrido STEREOSCAN 440 (SEM) del Instituto de Investigación de Materiales a 24, 72 y 168 hrs (1 semana).

#### Universo de Estudio

Tres diferentes Acondicionadores de Tejidos utilizados para colocación sobre prótesis dentales totales y parciales.

### 9.8 Muestra

Especímenes de acondicionador de tejidos de las siguientes marcas:

1. Flexacryl Soft® (Lang).
2. Coe Comfort® (GC).
3. Lynal® (Kerr).

De estos materiales se tomaron muestras de un tamaño de 10mm de largo x 10mm de ancho x 1 mm de espesor.

El número de muestras fue de dos por cada estudio dando:

- 12 muestras de Flexacryl agrupadas primero en grupos de tres para distintos tiempos de inoculación y posteriormente en dos para distintos métodos de cuantificación de película.
- 12 muestras de Coe Comfort agrupadas primero en grupos de tres para distintos tiempos de inoculación y posteriormente en dos para distintos métodos de cuantificación de película.
- 12 muestras de Lynal agrupadas primero en grupos de tres para distintos tiempos de inoculación y posteriormente en dos para distintos métodos de cuantificación de película.

Esto dará un total de 36 muestras.

### Variables Independientes

- Marca del acondicionador de tejidos y tiempo de inoculación de *C. albicans*.
- Grado de porosidad.

**Variable Dependiente.**

- Adherencia de *C. albicans*.

**Criterios de Inclusión.**

- Especímenes de Acondicionador de Tejidos de las marcas comerciales establecidas.
- Especímenes de Acondicionador de Tejidos elaborados con los materiales cuya fecha de caducidad está vigente, siguiendo instrucciones del fabricante.
- Cepas de microorganismos a estudiar viables.

**Criterios de Exclusión.**

- Cepas manejadas inadecuadamente.
- Especímenes de Acondicionador de Tejidos elaboradas con materiales de fecha de caducidad vencida.
- Especímenes de Acondicionador de Tejidos elaboradas sin seguir las instrucciones proporcionadas por el fabricante.
- Las muestras de Acondicionador de Tejidos que no cumplan con los tiempos de exposición y procesamientos de dicho estudio.
- Muestras de Acondicionador de Tejidos que durante el procedimiento se contaminen.
- Cepas de *C. albicans* no viables.

## 9.9 MÉTODO DE REGISTRO DE PROCESAMIENTO DE DATOS

Se capturaron los datos con el paquete estadístico Sigma Stat para Windows y se obtuvo una hoja de cálculo que incluye los datos a analizar de *C. albicans* en el Laboratorio de Materiales Dentales Subdivisión de Posgrado de Odontología.

- Se realizó una estadística descriptiva general para todas las variables.
- Se comparó los promedios de levaduras adheridas en los diferentes acondicionadores de tejidos utilizados y el tiempo de inoculación con un ANOVA de una vía, así como la comparación de datos con Tukey Test.

## 10. RESULTADOS

La adhesión de *Candida albicans*, su crecimiento, desarrollo y formación de la Biopelícula en la superficie del Acondicionador de Tejidos en tres periodos de tiempo: 24, 72 y 168 hrs, fueron observados en un Microscopio Óptico.

Las características de la superficie del Acondicionador de Tejidos y características de los blastoconidios fueron observados en el Microscopio Electrónico de Barrido (SEM).

## 10.1 COE-COMFORT



Fig. 32 Imagen de la presentación comercial del Acondicionador de Tejidos COE-COMFORT.<sup>41</sup>

## CULTIVO A 24 HRS.

### TINCIÓN GRAM

- Características de la adhesión: Se observa una adherencia uniforme, concentrada en el centro de la muestra, y a los alrededores muy poca adhesión.

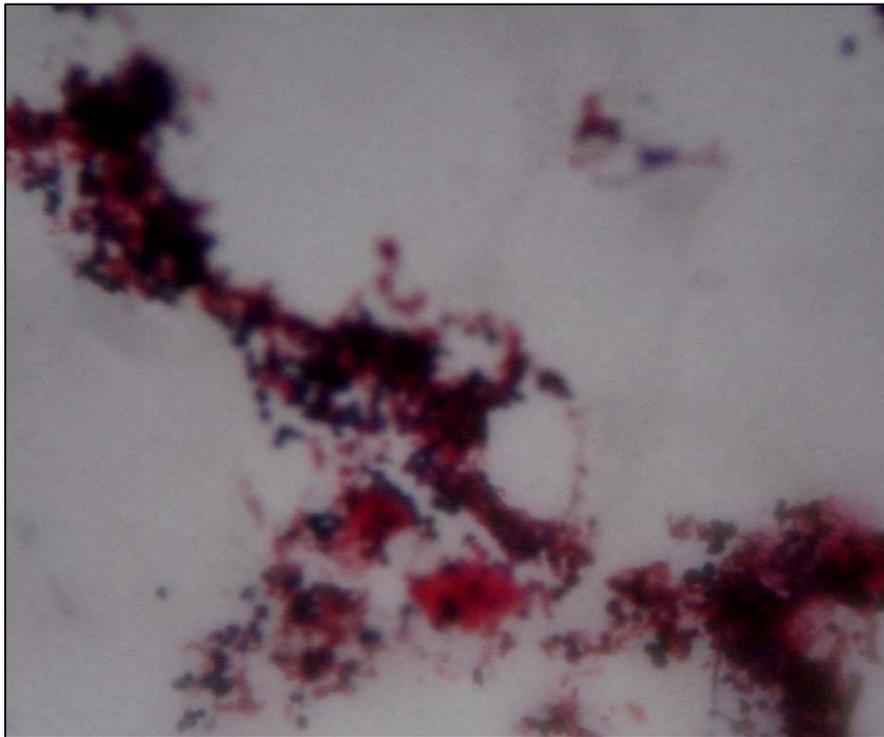


Fig. 33 Muestra de Acondicionador de Tejidos COE COMFORT a 24 hrs con Tinción de Gram a 40X.

Fig.33 tomada de un Microscopio Óptico a 40x después de hecha la Tinción de Gram sobre Coe Comfort a las 24 hrs de incubación donde se observa la presencia de *Candida albicans*.

## MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

- Características del Acondicionador de Tejidos: Se observa una superficie en su mayor parte regular con muy pocas porosidades, con áreas en su mayoría lisas y muy escasas imperfecciones.

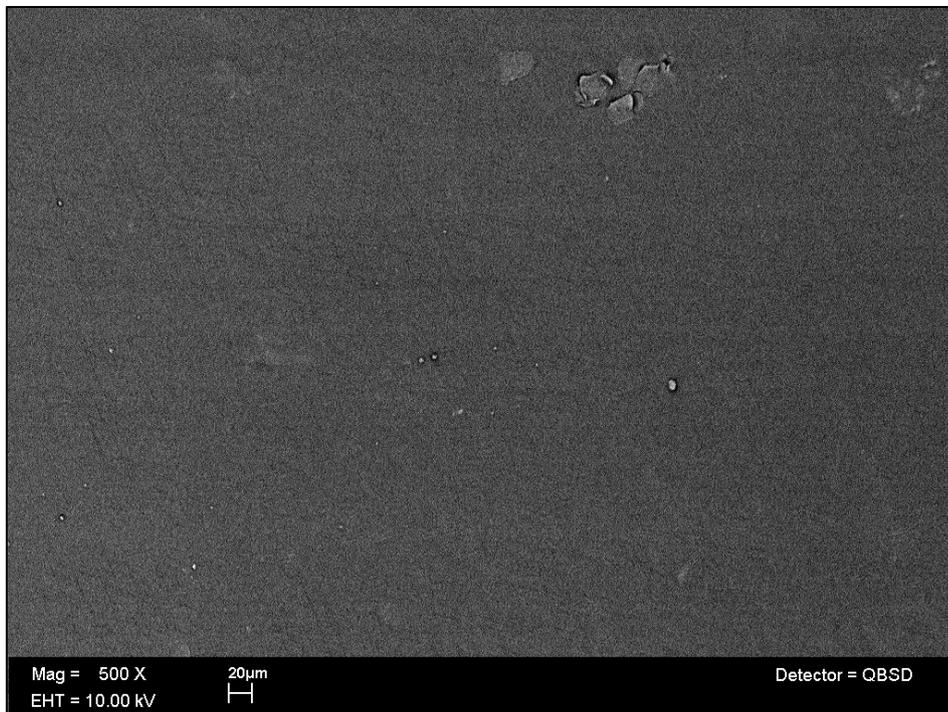


Fig. 34 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 500x MEB.

En la fig. 34 se observa la superficie del Acondicionador de Tejidos y la adhesión de *Candida albicans* en una cantidad muy pequeña.

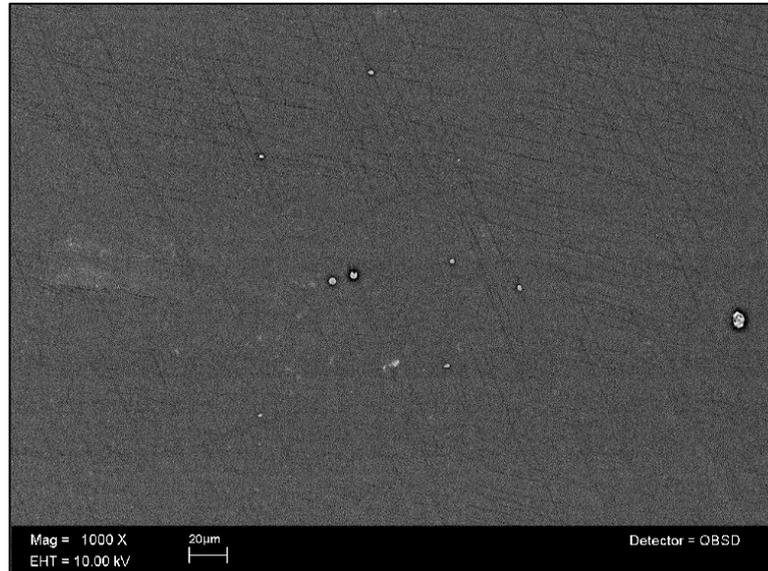


Fig. 35 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 1000x MEB.

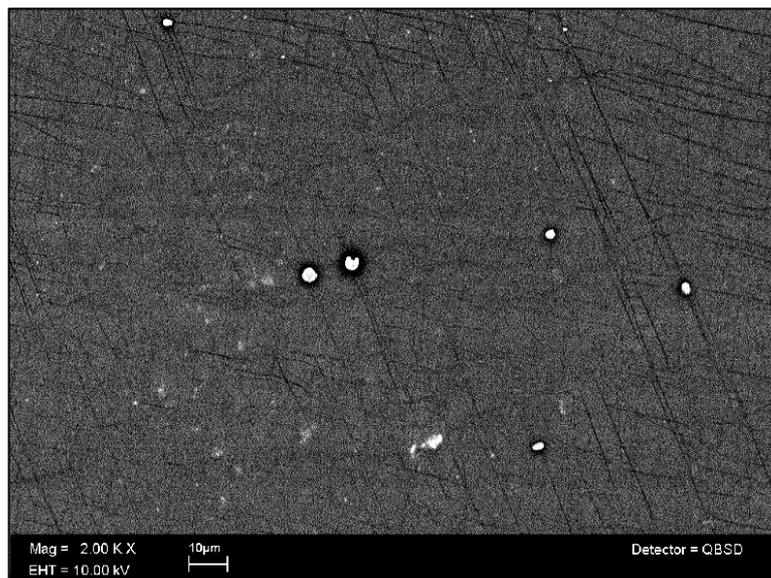


Fig. 36 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 2000x MEB.

En la fig. 35 y 36 se observa la superficie del acondicionador con pequeñas imperfecciones (grietas y concavidades) en su mayoría una superficie lisa.

- Características de la adherencia: Se observan pequeñas cantidades de blastoconidios en la superficie del acondicionador, no se observa presencia de agrupaciones o cadenas.
- Características del blastoconidio: presentan un tamaño aproximado de 3 a 3.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, bien delimitados en proceso de gemación.
- Características del Acondicionador de Tejidos: se observa una superficie lisa, con escasas imperfecciones (grietas y concavidades) no se observa presencia de porosidades en su superficie.

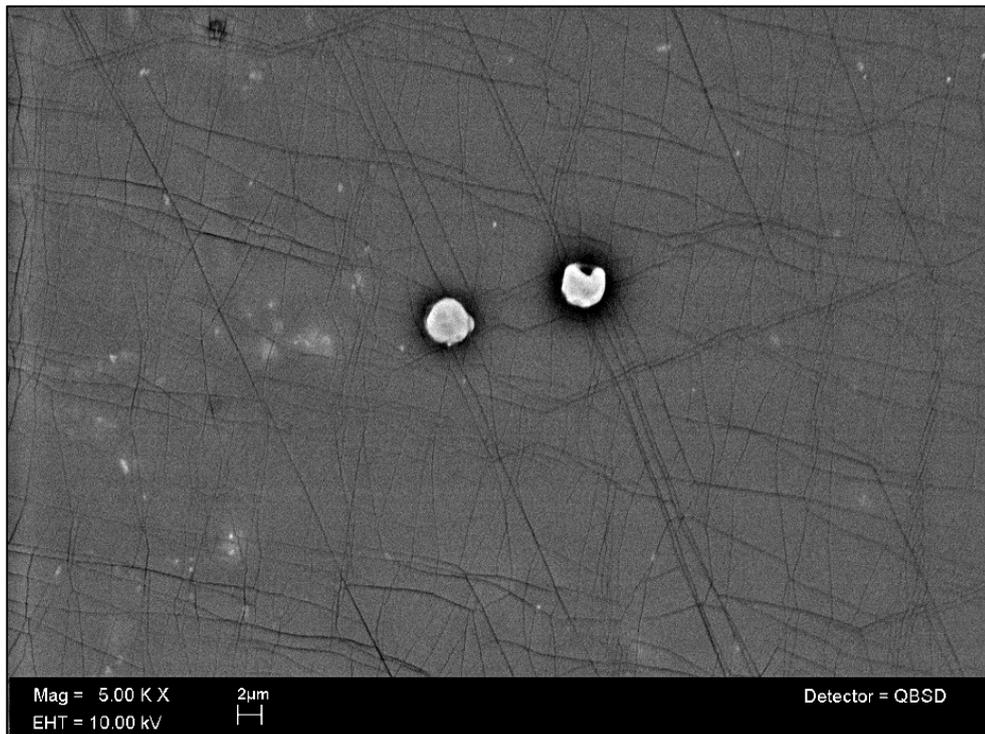


Fig. 37 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 5000x MEB.

En la fig. 37 se observa las células en gran detalle y la superficie del acondicionador en su mayoría lisa.

## CULTIVO A 72 HRS.

### TINCIÓN GRAM

Características de la adhesión: Se observa una adherencia uniforme, en toda la superficie del acondicionador, con una cantidad moderada de *Candida albicans* en la muestra.

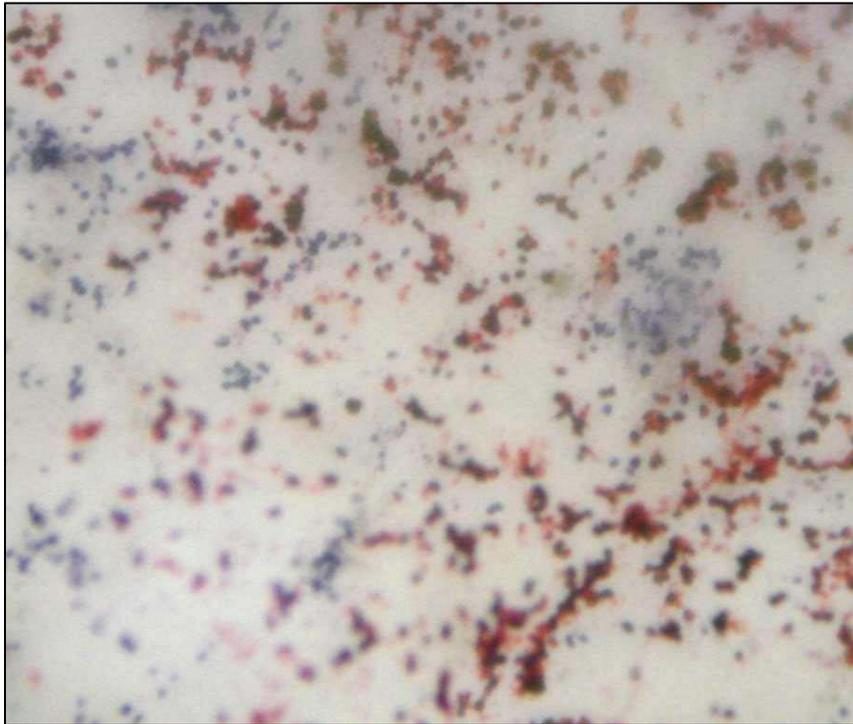


Fig. 38 Muestra de Acondicionador de Tejidos COE COMFORT a 72 hrs con Tinción de Gram a 40X.

Fig. 38 tomada de un Microscopio Óptico a 40x después de hecha la Tinción de Gram sobre Coe Comfort a las 72 hrs de incubación donde se observa la presencia de *Candida albicans* en toda la superficie.

## MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

- Características del Acondicionador de Tejidos: Se observa una superficie regular con depresiones, elevaciones, sin porosidades y con pocas imperfecciones.

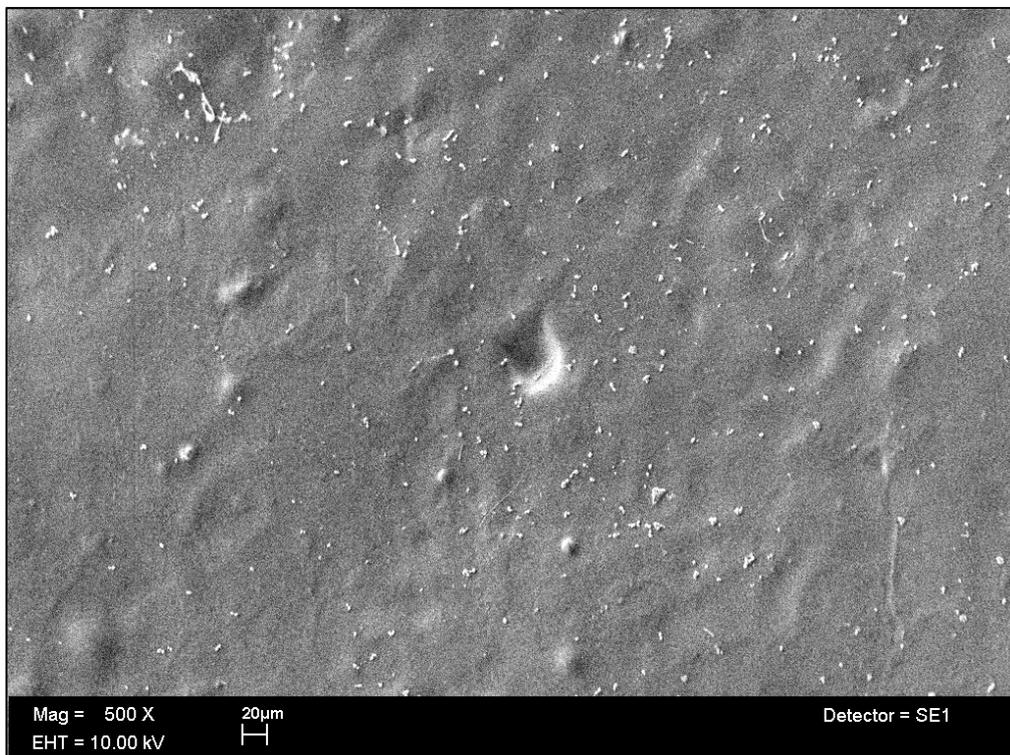


Fig. 39 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 500x MEB.

En la fig. 39 se observa la superficie del Acondicionador de Tejidos y la adhesión de *Candida albicans* en una cantidad moderada y aislada.

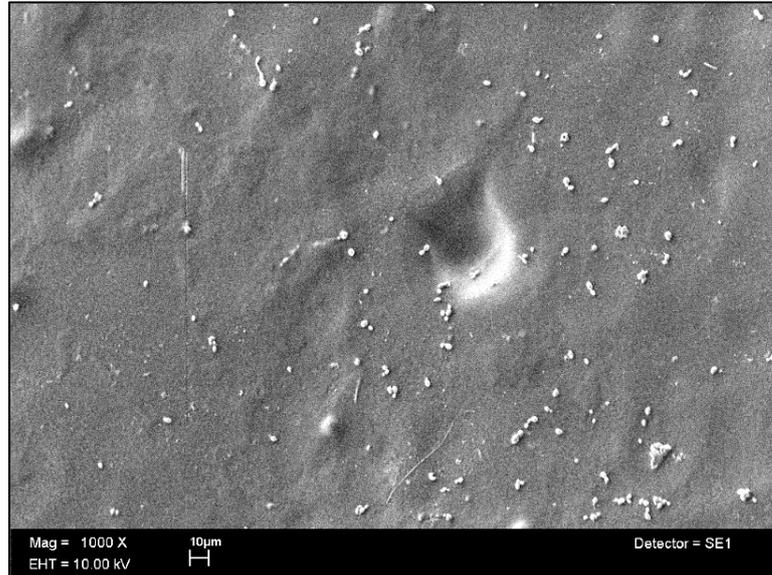


Fig. 40 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 1000x MEB.

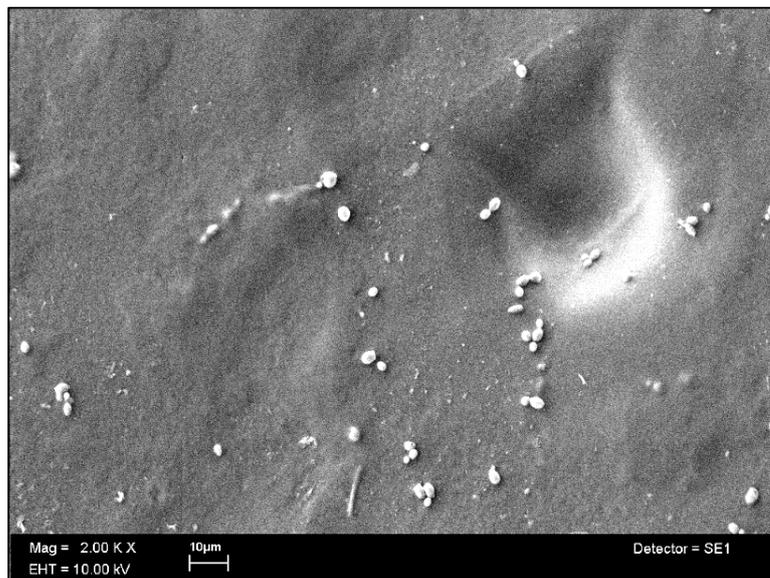


Fig. 41 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 2000x MEB.

En la figura 40 y 41 se observa una superficie regular con depresiones de un tamaño de 50 x 60 µm aproximadamente.

- Características de la adherencia: Se observa una adhesión moderada de blastoconidios en la superficie del acondicionador, no se observa presencia de agrupaciones o cadenas.
- Características del blastoconidio: presentan un tamaño aproximado de 3.5 a 4  $\mu\text{m}$  de diámetro, bien delimitados en proceso de gemación.
- Características del Acondicionador de Tejidos: se observa una superficie regular, no se observa presencia de porosidades en su superficie, con depresiones de manera irregular.

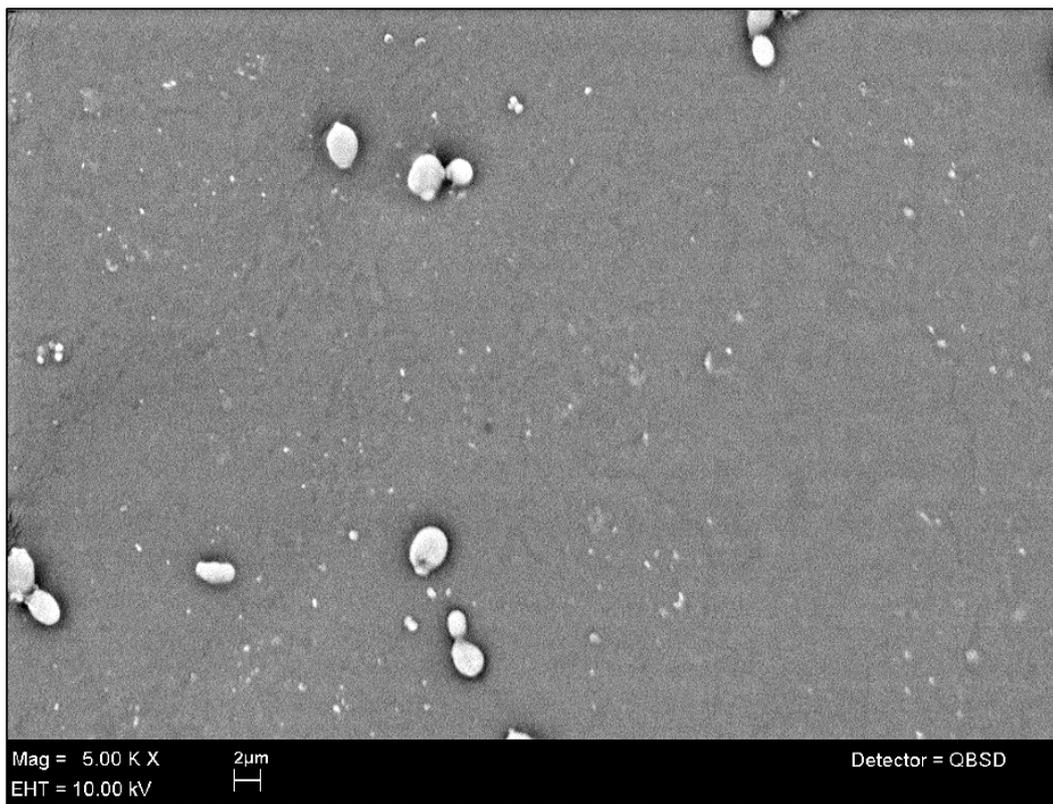


Fig. 42 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 5000x MEB.

## CULTIVO 1 SEMANA (165 HRS)

### TINCIÓN GRAM

Características de la adhesión: Se observa una adherencia uniforme y regular en toda la superficie del acondicionador, con una gran cantidad de *Candida albicans* en toda la muestra de una manera agrupada.

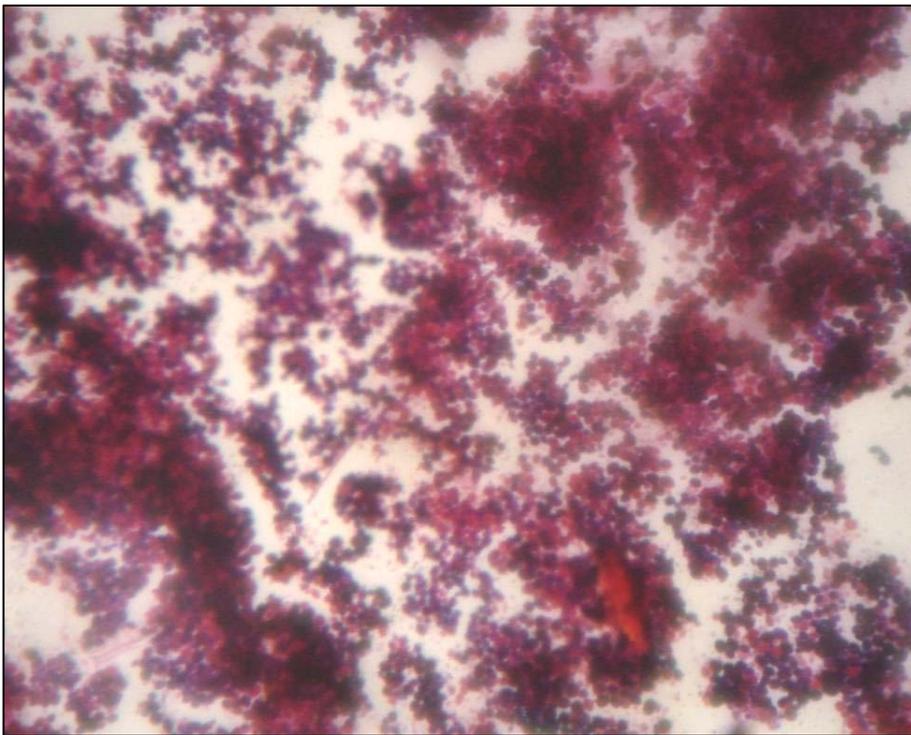


Fig. 43 Muestra de Acondicionador de Tejidos COE COMFORT a 1 semana con Tinción de Gram a 40X.

Fig. 43 tomada de un Microscopio Óptico a 40x después de hecha la Tinción de Gram sobre Coe Comfort a 1 semana de incubación donde se observa la presencia de *Candida albicans* en toda la superficie.

## MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

- Características del Acondicionador de Tejidos: Se observa una superficie regular sin porosidades y con pocas imperfecciones.

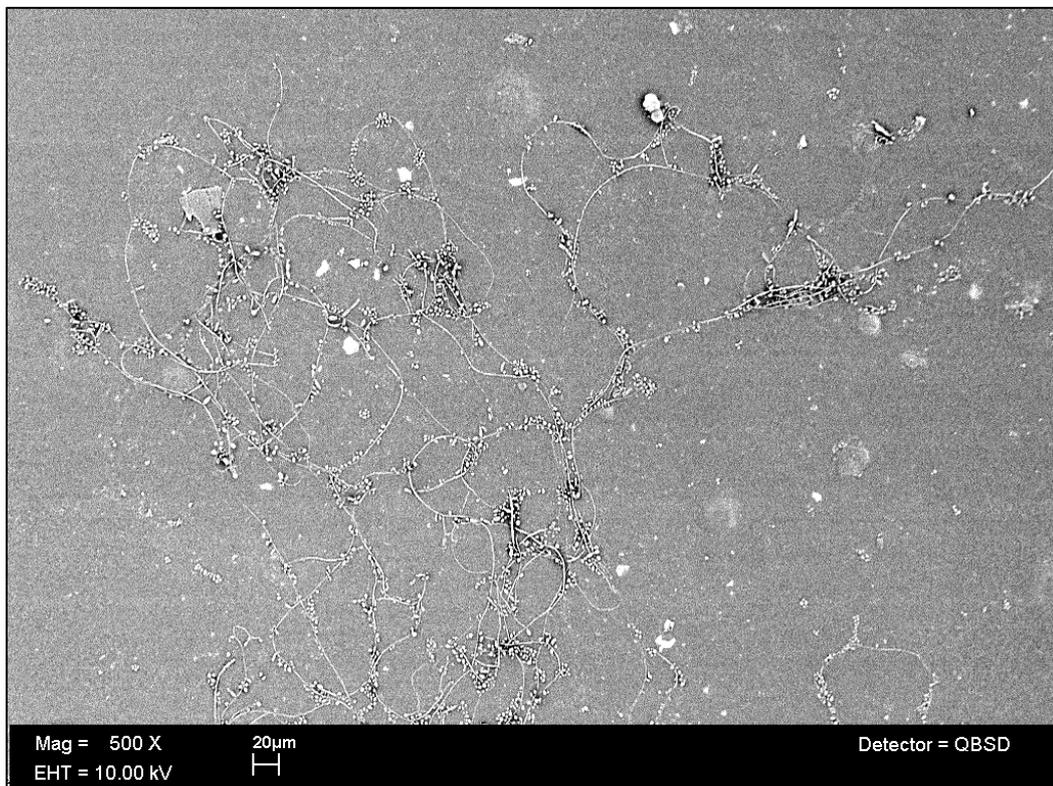


Fig. 44 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 500x MEB.

En la fig. 44 se observa la superficie del Acondicionador de Tejidos y la adhesión de *Candida albicans* en una gran cantidad.

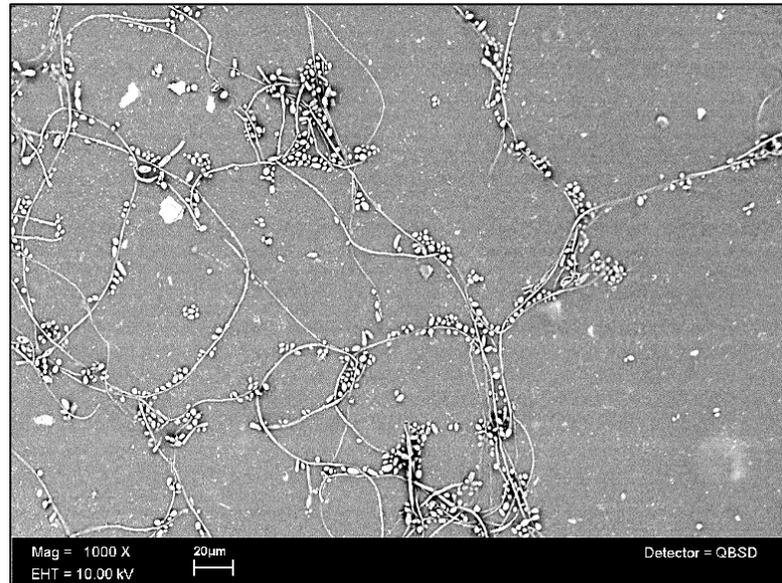


Fig. 45 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 1000x MEB.

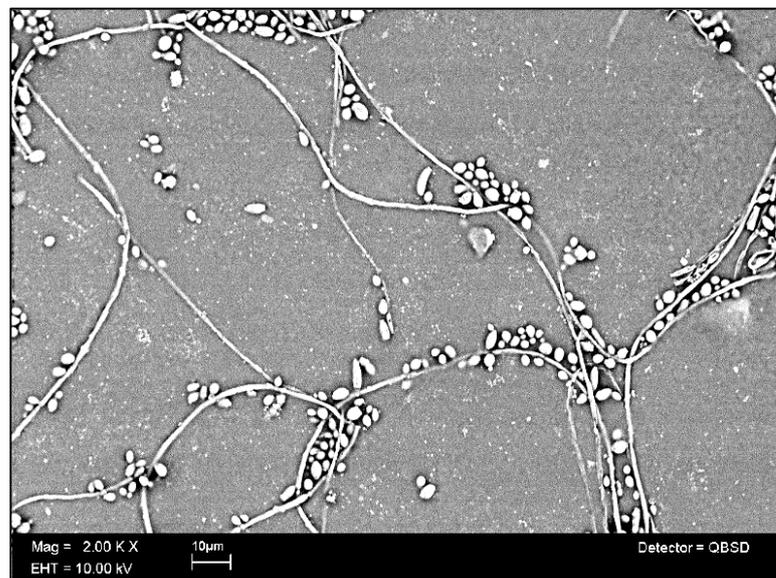


Fig. 46 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 2000x MEB.

En la figura 45 y 46 se observa una superficie regular, lisa con gran cantidad de blastoconidios y pseudomicelios en cadenas.

- Características de la adherencia: Se observa una gran adhesión de blastoconidios en toda la superficie del acondicionador, observándose pseudomicelios (cadenas celulares).
- Características del blastoconidio: presentan un tamaño aproximado de 3.8 a 4  $\mu\text{m}$  de diámetro, bien delimitados en proceso de gemación.
- Características del Acondicionador de Tejidos: se observa una superficie regular, no se observa presencia de porosidades en su superficie, con depresiones de manera irregular.

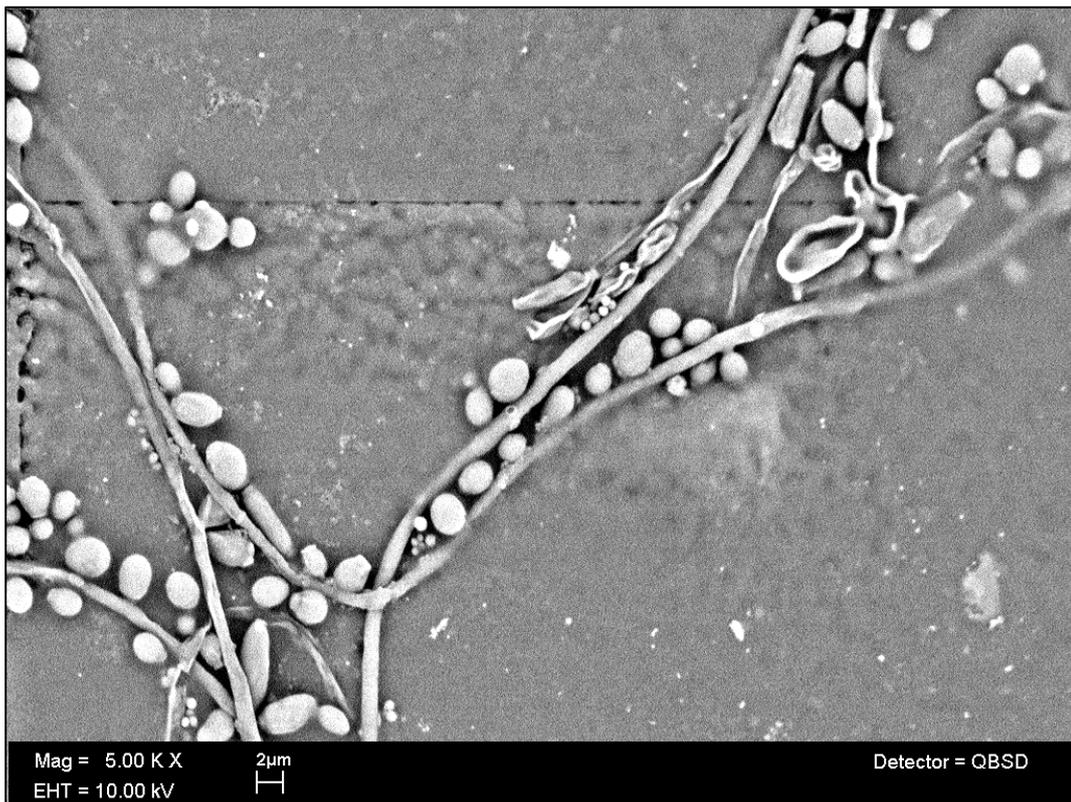


Fig. 47 Fotografía de Coe Comfort, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 5000x MEB.

## 10.2 LYNAL



Fig. 48 Imagen de la presentación comercial del Acondicionador de Tejidos Lynal.<sup>40</sup>

## CULTIVO A 24 HRS.

### TINCIÓN GRAM

- Características de la adhesión: Se observa una adherencia irregular, donde existe una adhesión escasa, pero en toda la superficie de la muestra.

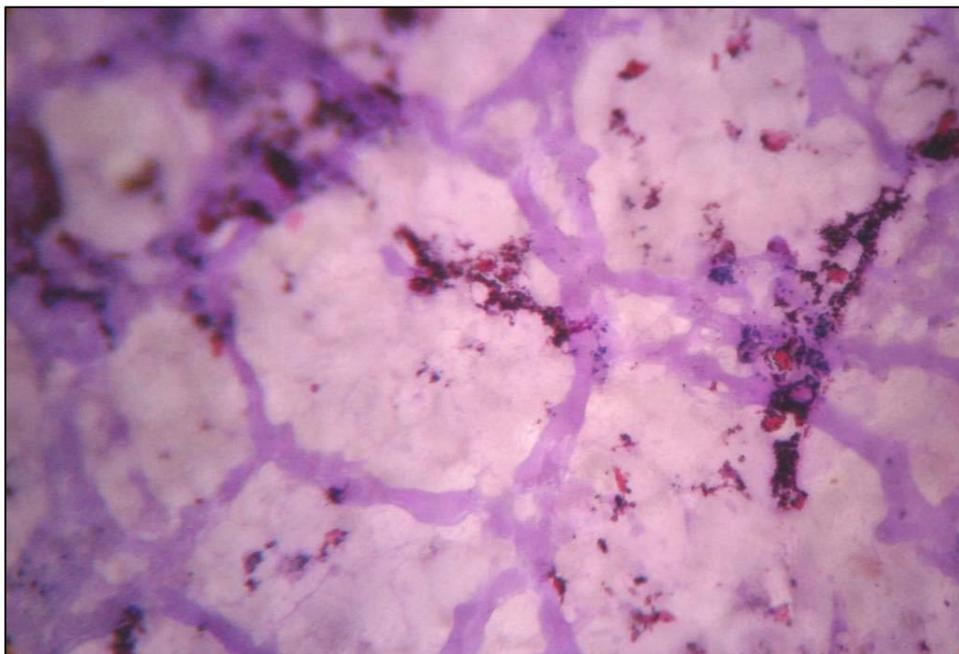


Fig. 49 Muestra de Acondicionador de Tejidos Lynal a 24 hrs con Tinción de Gram a 40X.

Fig.49 tomada de un Microscopio Óptico a 40x después de hecha la Tinción de Gram sobre Lynal a las 24 hrs de incubación donde se observa la presencia de *Candida albicans*.

## MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

- Características del Acondicionador de Tejidos: Se observa una superficie en su mayor parte regular con muy pocas porosidades, con áreas en su mayoría lisas y muy escasas imperfecciones.

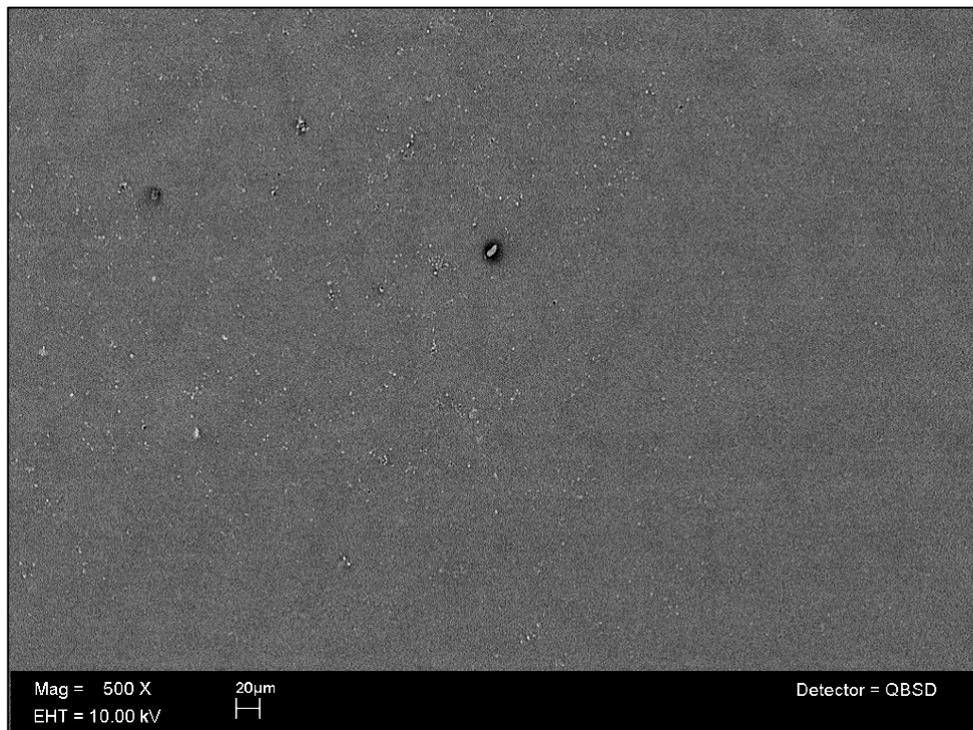


Fig. 50 Fotografía de Lynal, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 500x MEB.

En la fig. 50 se observa la superficie del Acondicionador de Tejidos y la adhesión de *Candida albicans* en una cantidad muy pequeña y aislada.

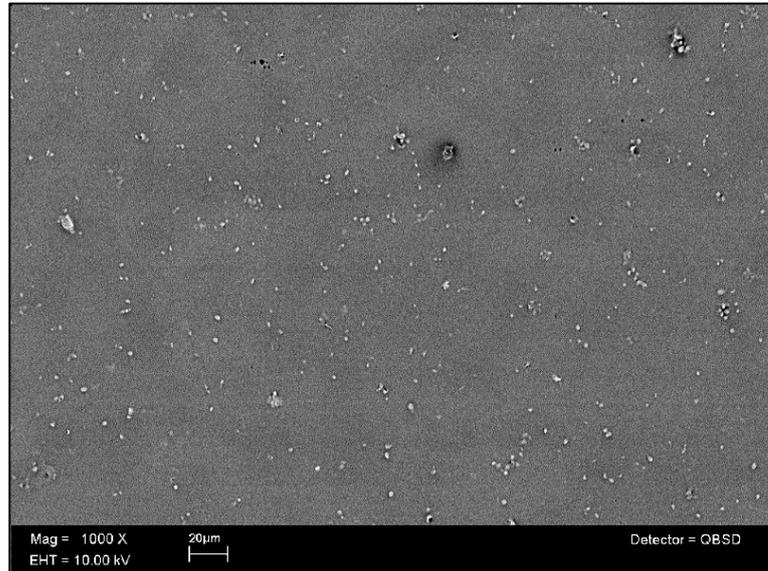


Fig. 51 Fotografía de Lynal, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 1000x MEB.

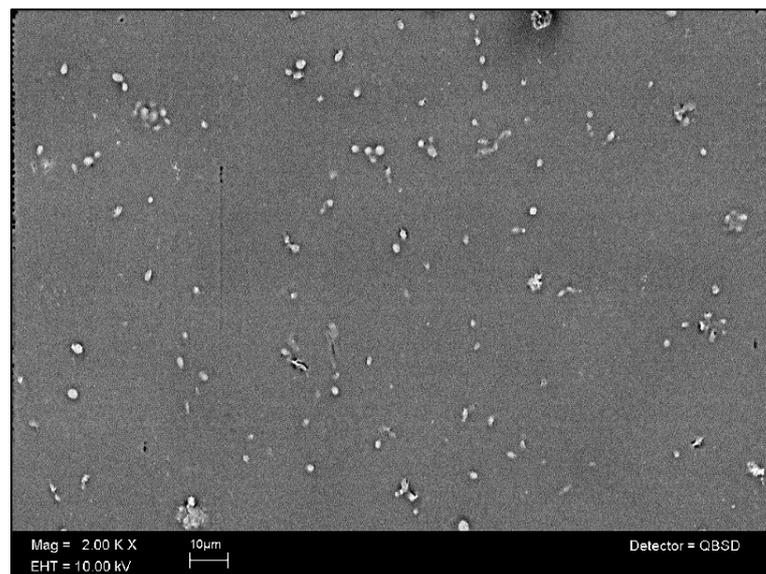


Fig. 52 Fotografía de Lynal, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 2000x MEB.

En la fig. 51 y 52 se observa la superficie del acondicionador regular, en su mayoría una superficie lisa.

- Características de la adherencia: Se observan pequeñas cantidades de blastoconidios en la superficie del acondicionador, no se observa presencia de agrupaciones o cadenas.
- Características del blastoconidio: presentan un tamaño aproximado de 3 a 3.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, bien delimitados en proceso de gemación.
- Características del Acondicionador de Tejidos: se observa una superficie lisa, con escasas imperfecciones (grietas y concavidades) no se observa presencia de porosidades en su superficie.

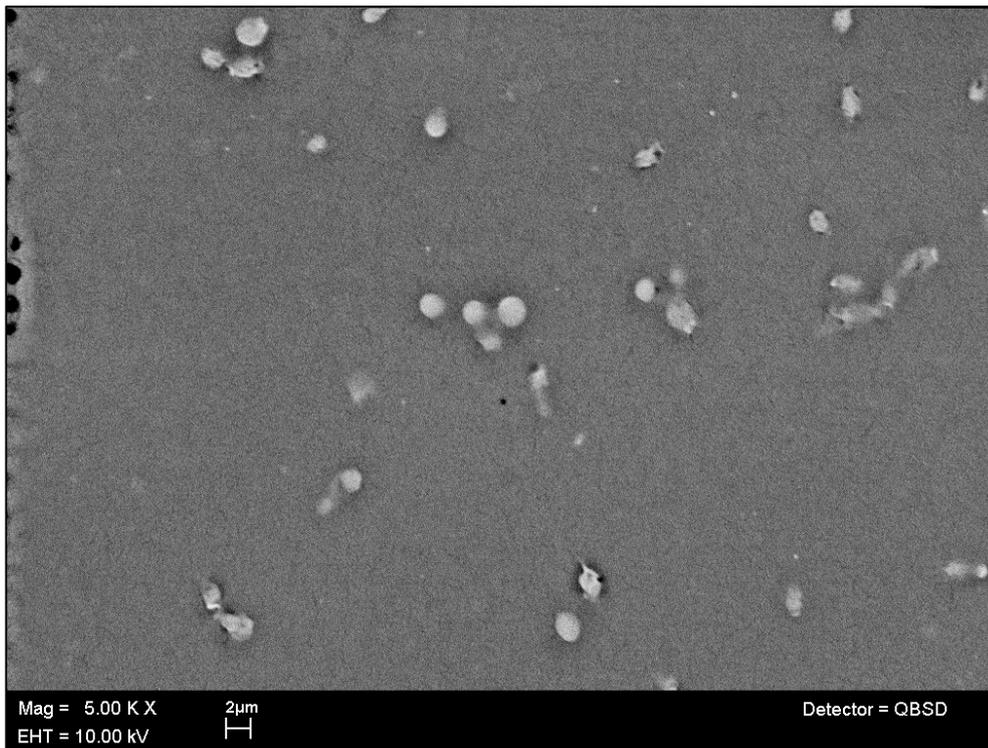


Fig.53 Fotografía de Lynal, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 5000x MEB.

En la fig. 53 se observa las células en gran detalle y la superficie del acondicionador en su mayoría lisa sin irregularidades.

## CULTIVO A 72 HRS.

### TINCIÓN GRAM

Características de la adhesión: Se observa una adherencia uniforme, en toda la superficie del acondicionador, con una cantidad moderada de *Candida albicans* en la muestra.

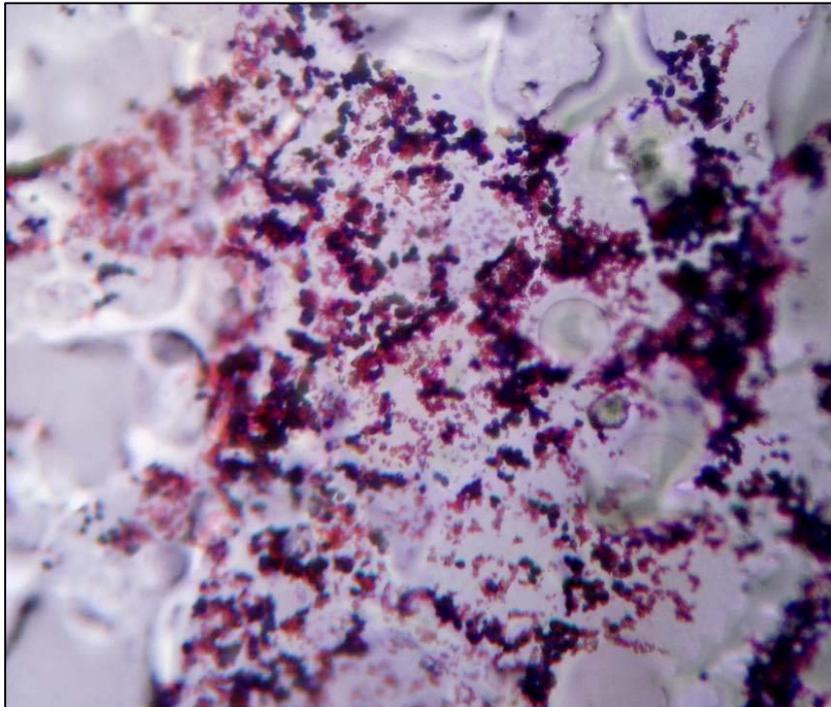


Fig. 54 Muestra de Acondicionador de Tejidos Lynal a 72 hrs con Tinción de Gram a 40X.

Fig. 54 tomada de un Microscopio Óptico a 40x después de hecha la Tinción de Gram sobre Lynal a las 72 hrs de incubación donde se observa la presencia de *Candida albicans* en toda la superficie.

## MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

- Características del Acondicionador de Tejidos: Se observa una superficie Irregular con depresiones, grietas asimétricas, sin porosidades y con muchas imperfecciones.

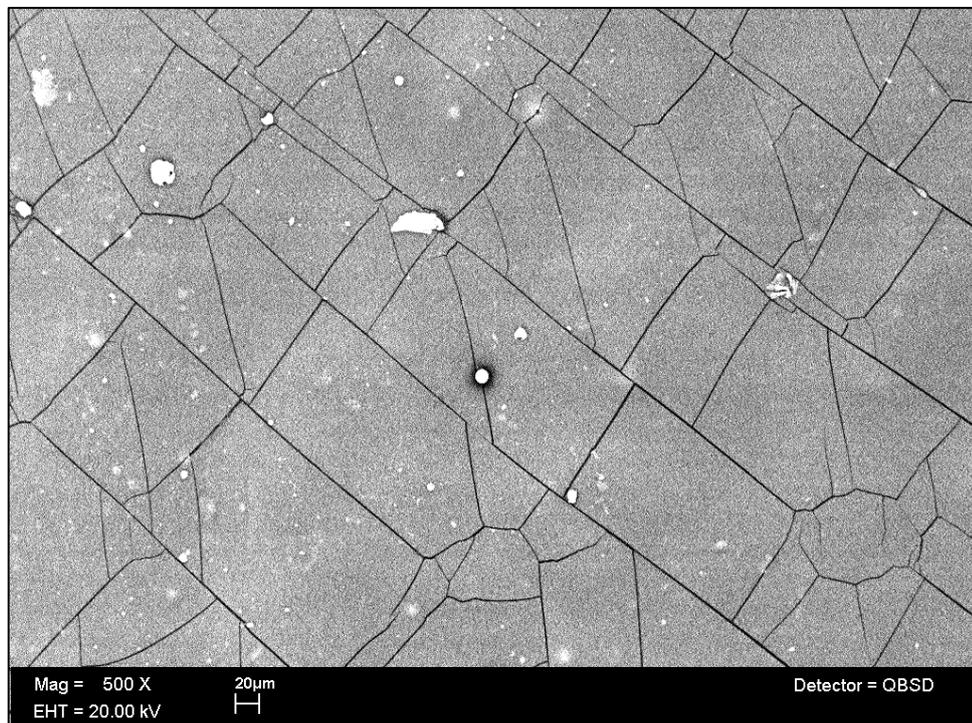


Fig. 55 Fotografía de Lynal, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 500x MEB.

En la fig. 55 se observa la superficie del Acondicionador de Tejidos y la adhesión de *Candida albicans* en una cantidad moderada.

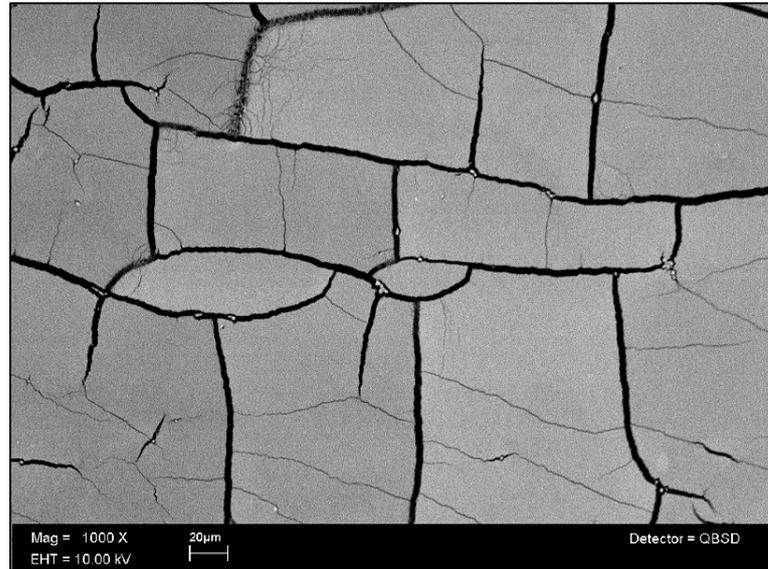


Fig. 56 Fotografía de LYNAL, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 1000x MEB.

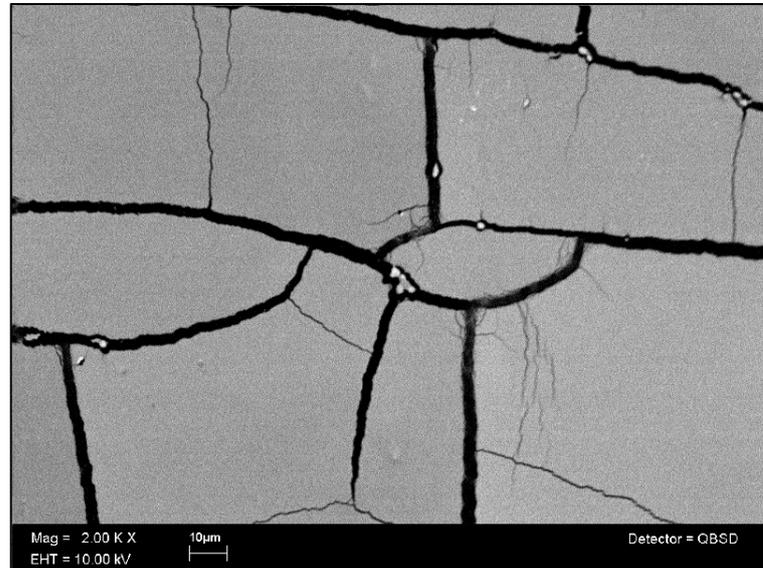


Fig. 57 Fotografía de LYNAL, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 2000x MEB.

En la figura 56 y 57 se observa una superficie irregular con grietas de un tamaño de 3 µm de grosor.

- Características de la adherencia: Se observa una adhesión moderada de blastoconidios en la superficie del acondicionador, no se observa presencia de agrupaciones o cadenas.
- Características del blastoconidio: presentan un tamaño aproximado de 3 a 3.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, bien delimitados en proceso de gemación los cuales se presentan en las grietas del material.
- Características del Acondicionador de Tejidos: se observa una superficie irregular, no se observa presencia de porosidades en su superficie, con grietas de manera irregular.

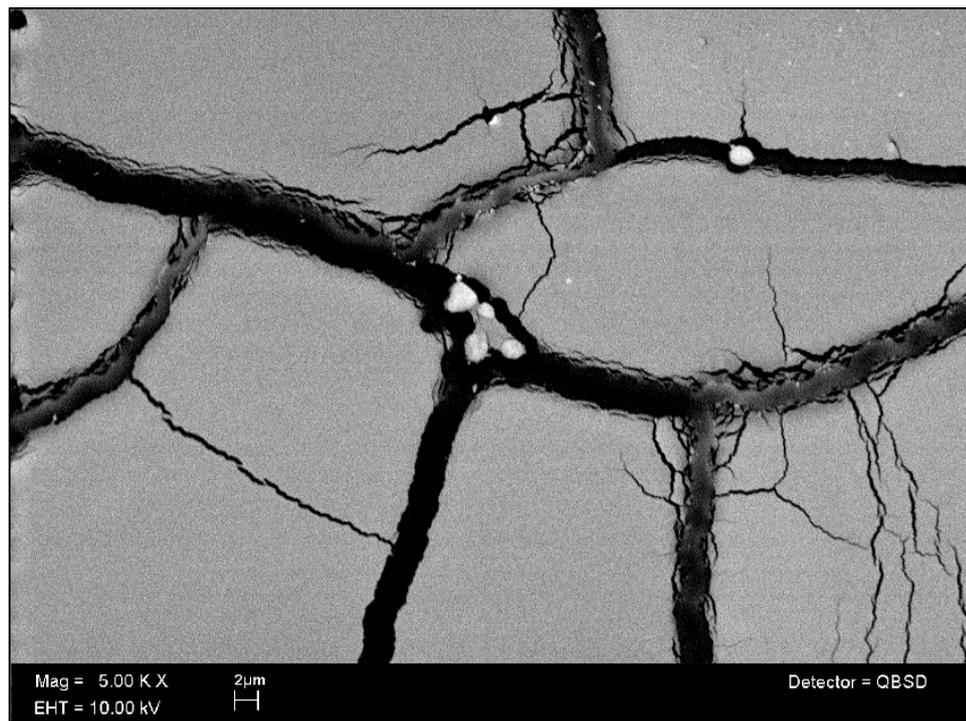


Fig. 58 Fotografía de Lynal, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 5000x MEB.

---

## CULTIVO 1 SEMANA (165 HRS)

### TINCIÓN GRAM

Características de la adhesión: Se observa una adherencia uniforme y regular en toda la superficie del acondicionador, con una gran cantidad de *Candida albicans* en toda muestra de una manera agrupada.

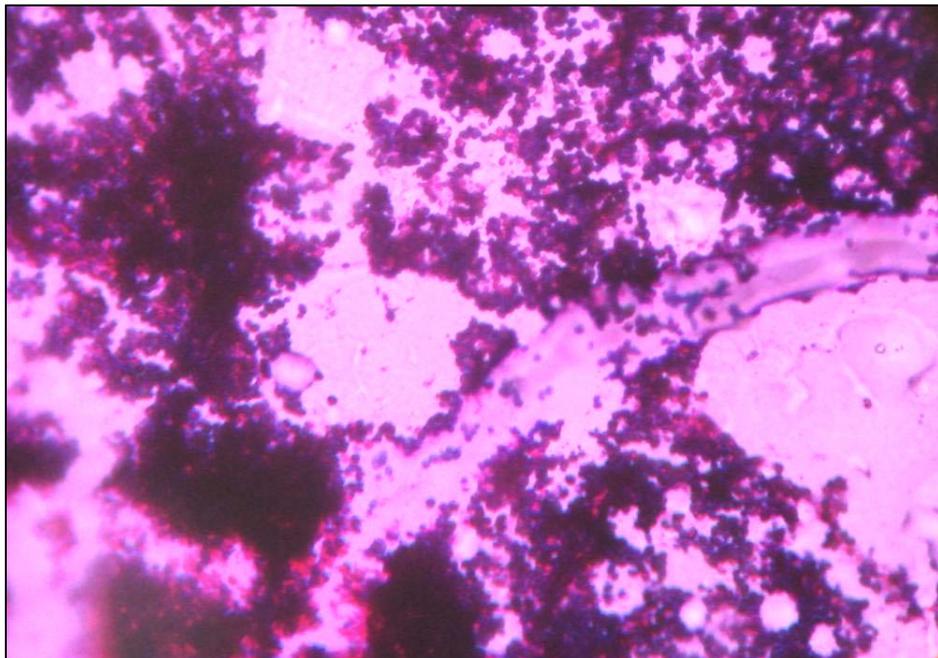


Fig. 59 Muestra de Acondicionador de Tejidos Lynal a 1 semana con Tinción de Gram a 40X.

Fig. 59 tomada de un Microscopio Óptico a 40x después de hecha la Tinción de Gram sobre Lynal a 1 semana de incubación donde se observa la presencia de *Candida albicans* en toda la superficie.

## MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

- Características del Acondicionador de Tejidos: Se observa una superficie irregular sin porosidades y muchas grietas e imperfecciones.

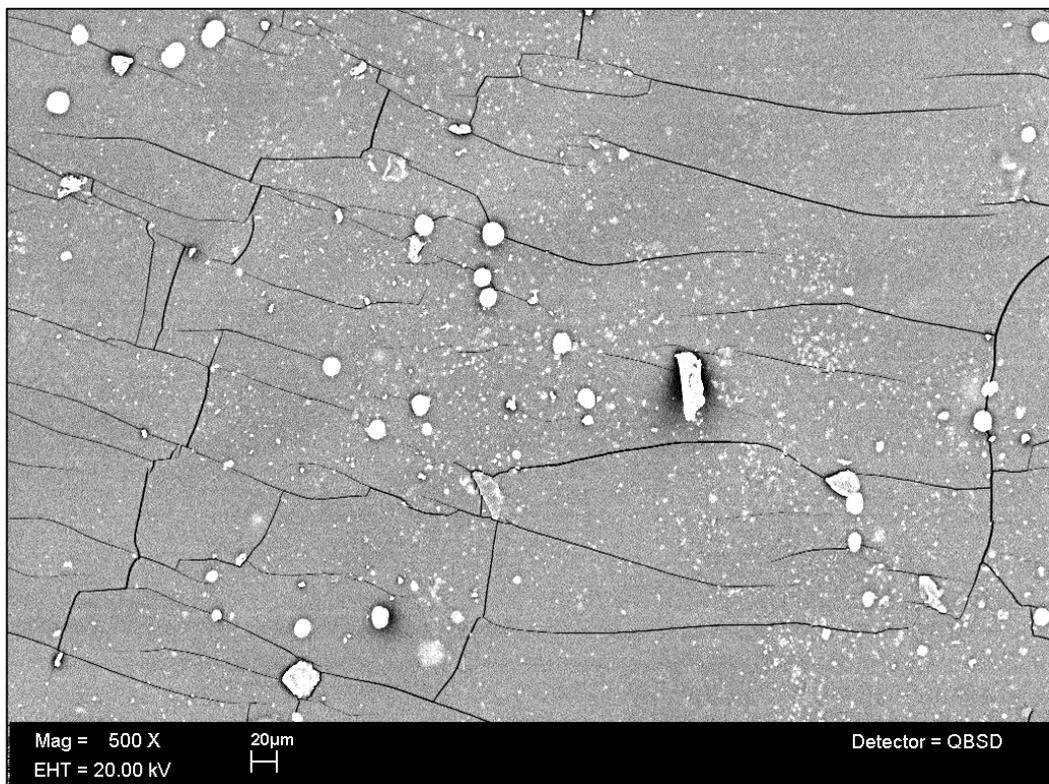


Fig. 60 Fotografía de Lynal, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 500x MEB.

En la fig. 60 se observa la superficie del Acondicionador de Tejidos y la adhesión de *Candida albicans* en una gran cantidad.

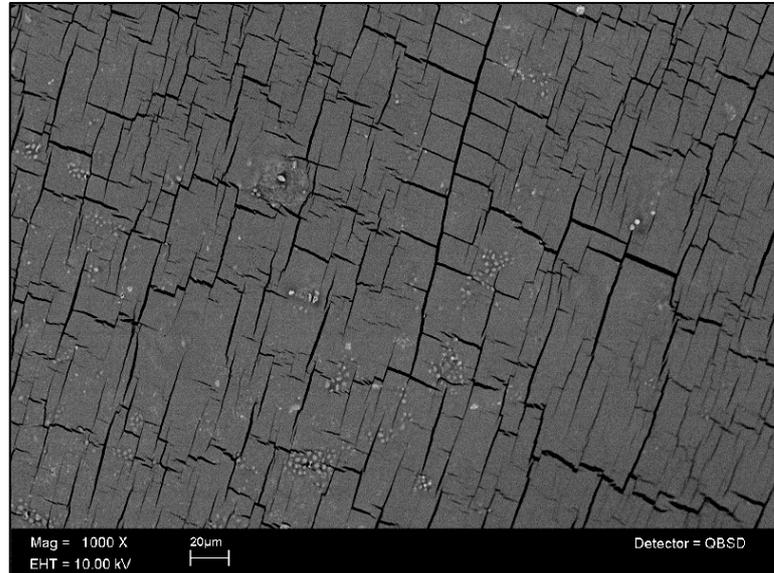


Fig. 61 Fotografía de Lynal, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 1000x MEB.

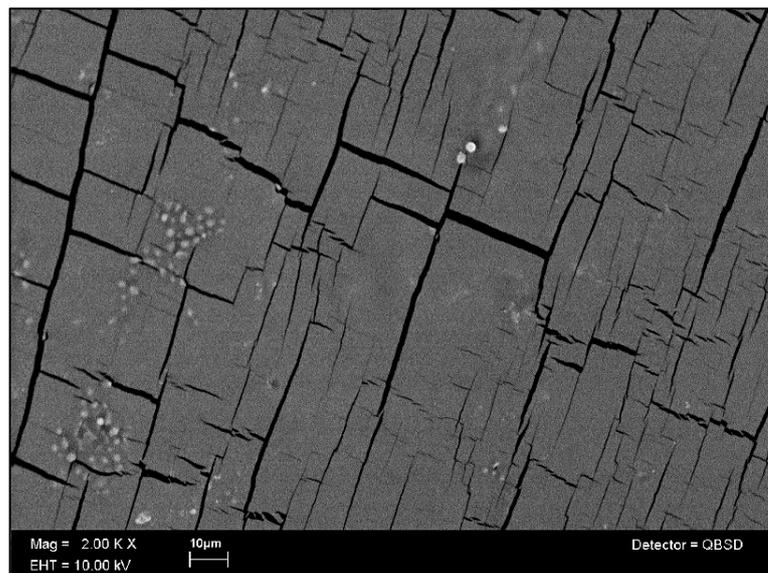


Fig. 62 Fotografía de Lynal, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 2000x MEB.

En la figura 61 y 62 se observa una superficie sumamente irregular, con gran cantidad de grietas y blastoconidios.

- Características de la adherencia: Se observa un gran número de blastoconidios en toda la superficie del acondicionador.
- Características del blastoconidio: presentan un tamaño aproximado de 3 a 3.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, bien delimitados.
- Características del Acondicionador de Tejidos: se observa una superficie irregular, con gran cantidad de grietas de un tamaño de 2 a 3  $\mu\text{m}$  de grosor.

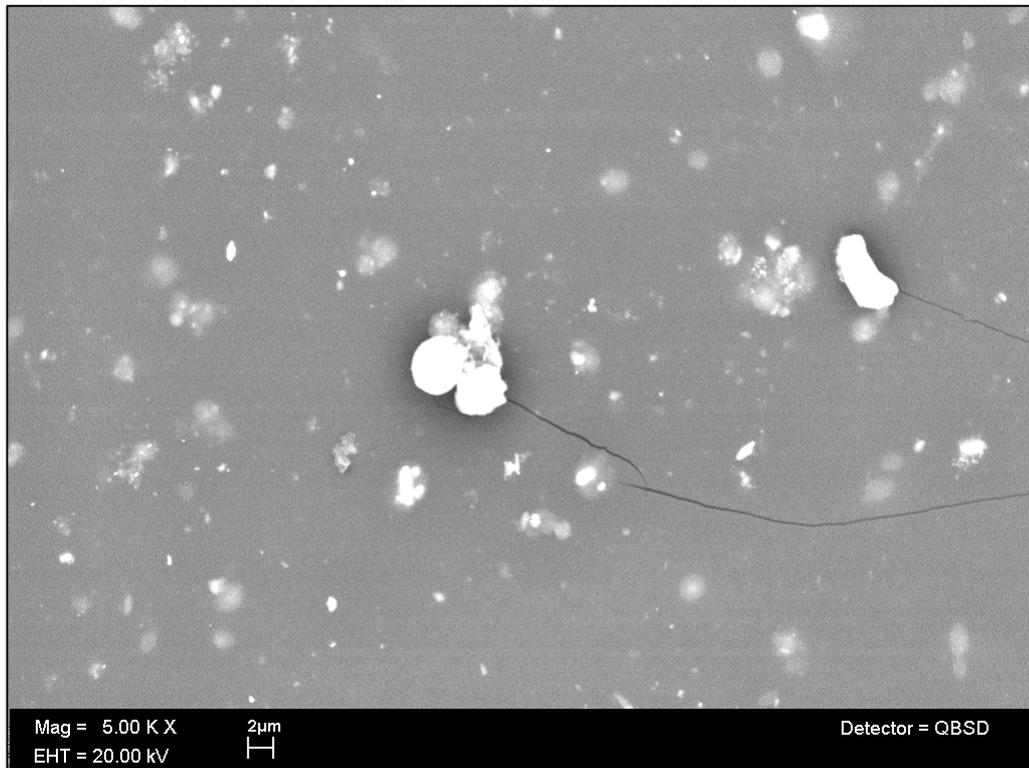


Fig. 63 Fotografía de Lynal, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 5000x MEB.

### 10.3 FLEXACRYL



Fig. 64 Imagen de la presentación comercial del Acondicionador de Tejidos Flexacryl.<sup>41</sup>

## CULTIVO A 24 HRS.

### TINCIÓN GRAM

- Características de la adhesión: Se observa una adherencia regular, donde existe una adhesión escasa, pero en toda la superficie de la muestra.

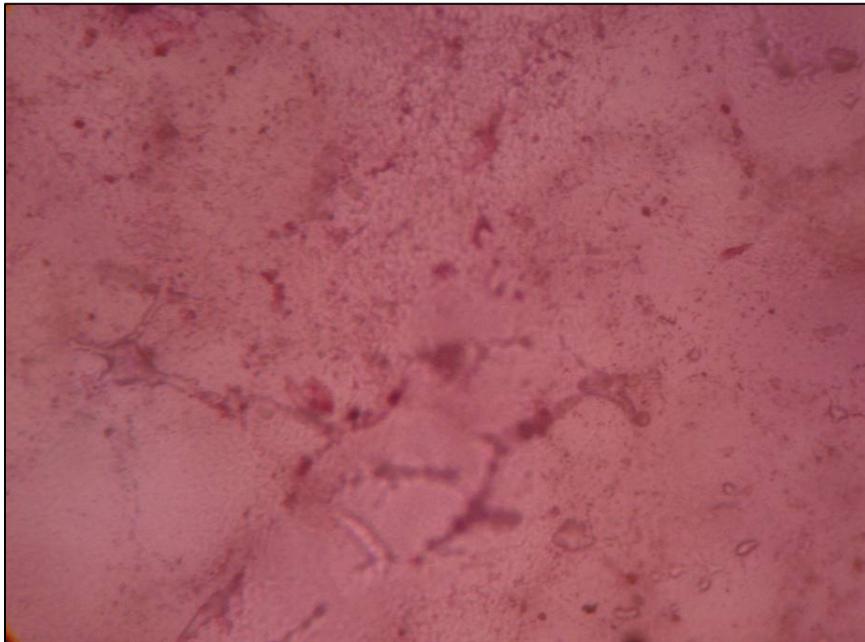


Fig. 65 Muestra de Acondicionador de Tejidos Flexacryl a 24 hrs con Tinción de Gram a 40X.

Fig.65 tomada de un Microscopio Óptico a 40x después de hecha la Tinción de Gram sobre Flexacryl a las 24 hrs de incubación donde se observa la presencia de *Candida albicans*.

## MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

- Características del Acondicionador de Tejidos: Se observa una superficie en su mayor parte regular con muy pocas porosidades, con áreas en su mayoría lisas y muy escasas imperfecciones.

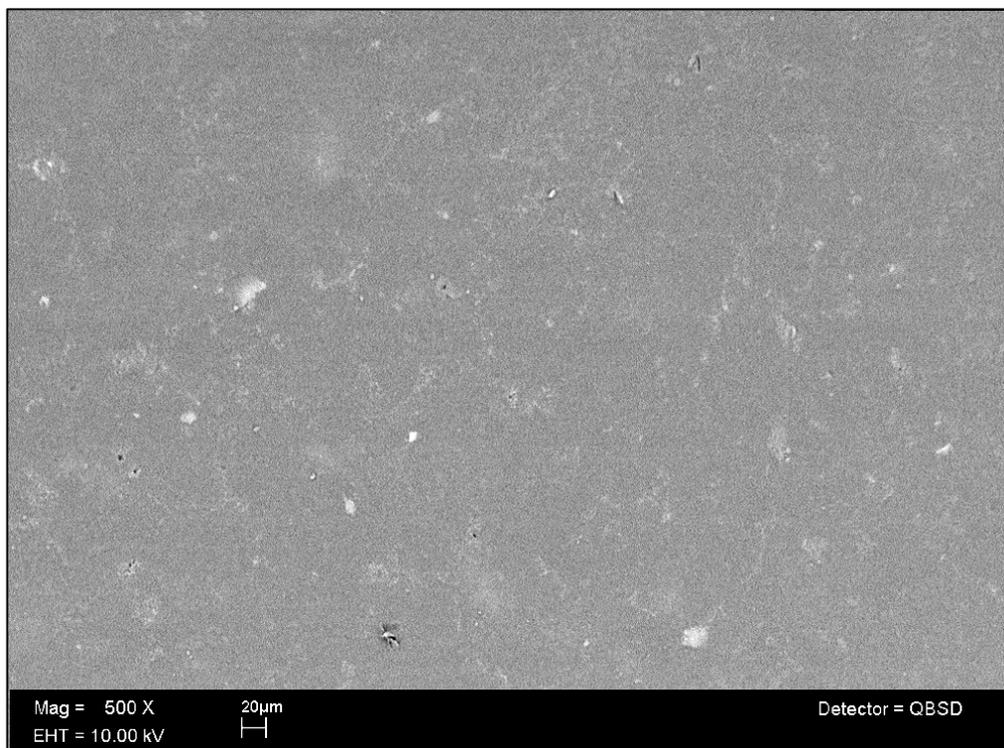


Fig. 66 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 500x MEB.

En la fig. 66 se observa la superficie del Acondicionador de Tejidos y la adhesión de *Candida albicans* en una cantidad muy pequeña y aislada.

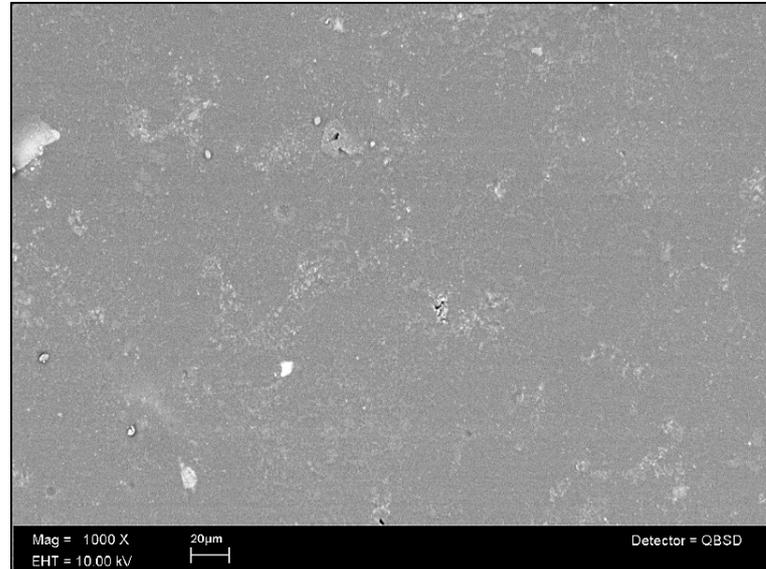


Fig. 67 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 1000x MEB.

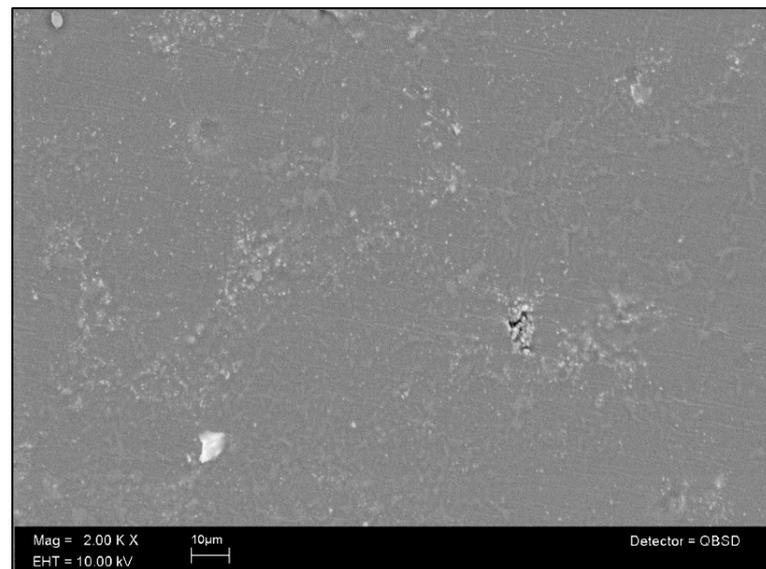


Fig. 68 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 2000x MEB.

En la fig. 67 y 68 se observa la superficie del acondicionador regular, en su mayoría una superficie lisa, con pequeñas porosidades.

- Características de la adherencia: Se observan pequeñas cantidades de blastoconidios en la superficie del acondicionador, no se observa presencia de agrupaciones o cadenas.
- Características del blastoconidio: presentan un tamaño aproximado de 3 a 3.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, bien delimitados en proceso de gemación.
- Características del Acondicionador de Tejidos: se observa una superficie lisa.

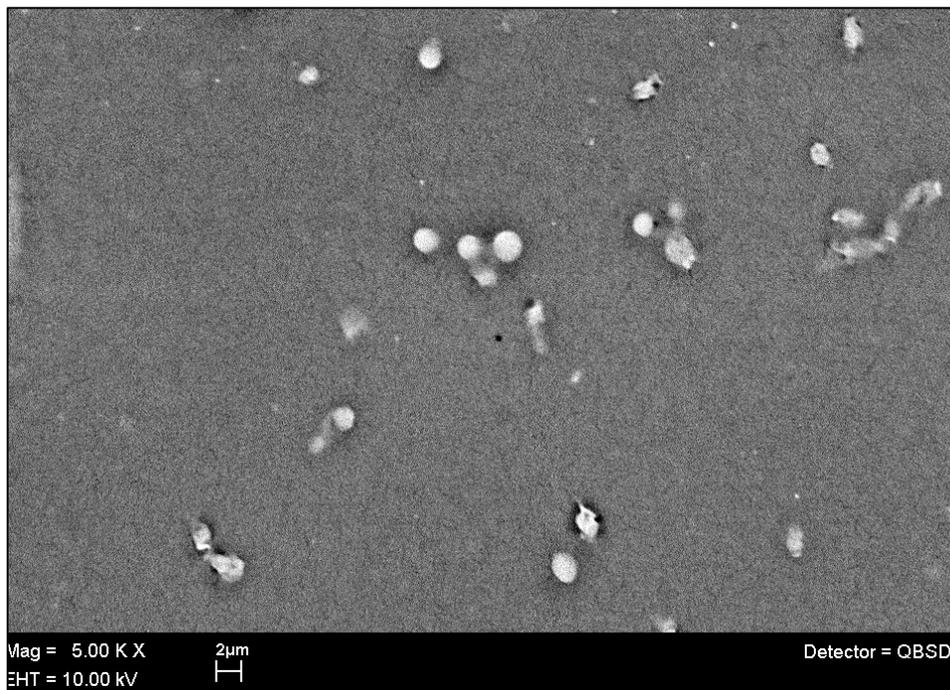


Fig.69 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 24hrs 5000x MEB.

En la fig. 69 se observa las células en gran detalle y la superficie del acondicionador en su mayoría lisa sin irregularidades.

## CULTIVO A 72 HRS.

### TINCIÓN GRAM

Características de la adhesión: Se observa una adherencia uniforme, en toda la superficie del acondicionador, con una cantidad moderada de *Candida albicans* en la muestra.

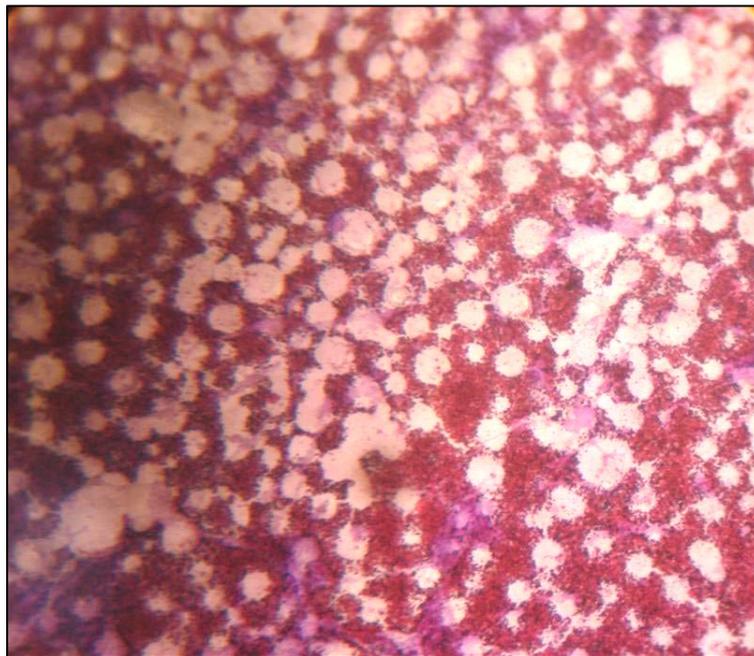


Fig. 70 Muestra de Acondicionador de Tejidos Flexacryl a 72 hrs con Tinción de Gram a 40X.

Fig. 70 tomada de un Microscopio Óptico a 40x después de hecha la Tinción de Gram sobre Flexacryl a las 72 hrs de incubación donde se observa la presencia de *Candida albicans* en toda la superficie.

## MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

- Características del Acondicionador de Tejidos: Se observa una superficie Irregular con depresiones, grietas asimétricas y con muchas imperfecciones.

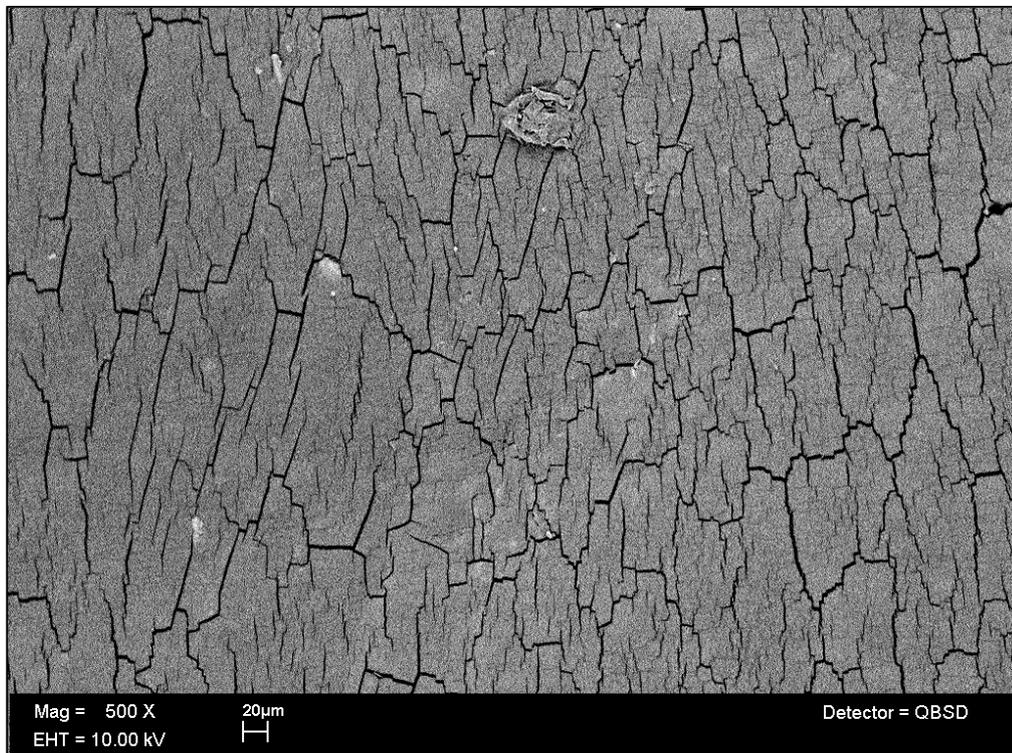


Fig. 71 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 500x MEB.

En la fig. 71 se observa la superficie del Acondicionador de Tejidos y la adhesión de *Candida albicans* en una cantidad moderada, pero en su mayoría se observa muchas irregularidades del material.

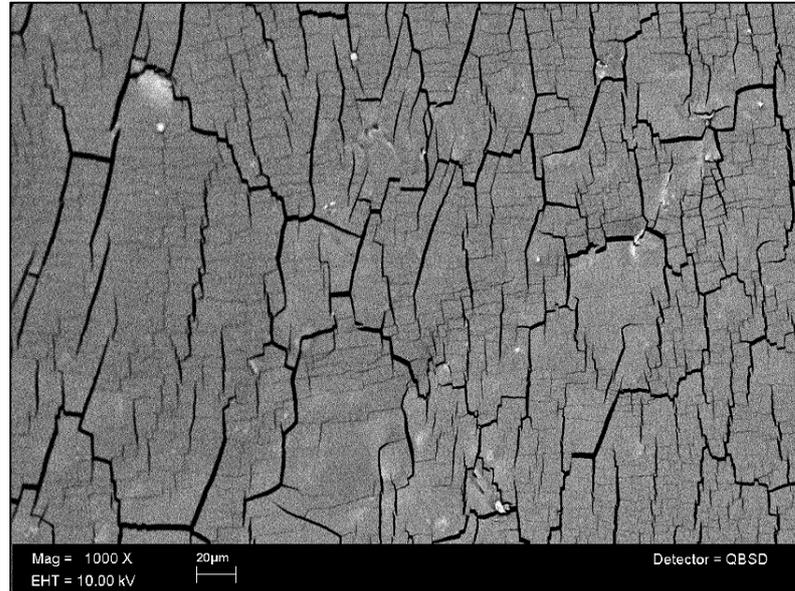


Fig. 72 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 1000x MEB.

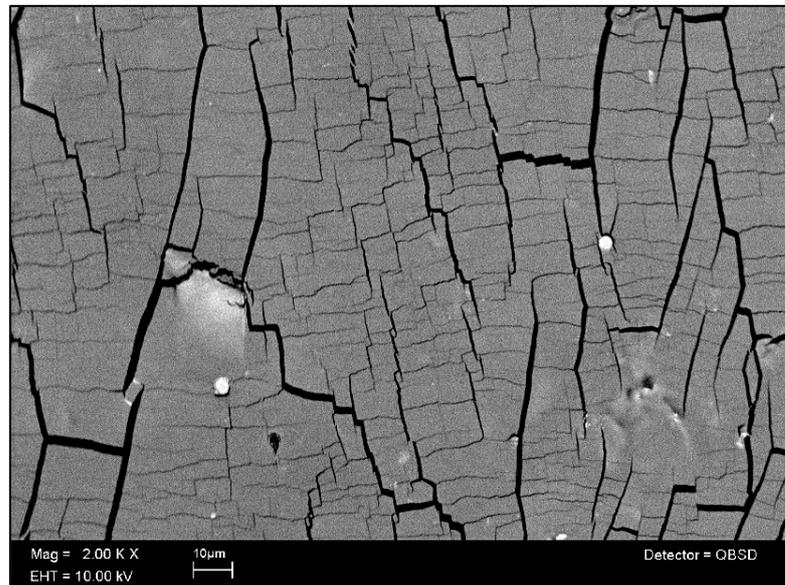


Fig. 73 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 2000x MEB.

En la figura 72 y 73 se observa una superficie irregular con grietas de un tamaño de 2 a 4µm de grosor.

- Características de la adherencia: Se observa una adhesión moderada de blastoconidios en la superficie del acondicionador.
- Características del blastoconidio: presentan un tamaño aproximado de 3 a 3.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, bien delimitados en proceso de gemación los cuales se presentan en las grietas del material.
- Características del Acondicionador de Tejidos: se observa una superficie irregular, con grietas de manera irregular en su mayoría de un tamaño de 2 a 4  $\mu\text{m}$  y grietas secundarias a las principales.

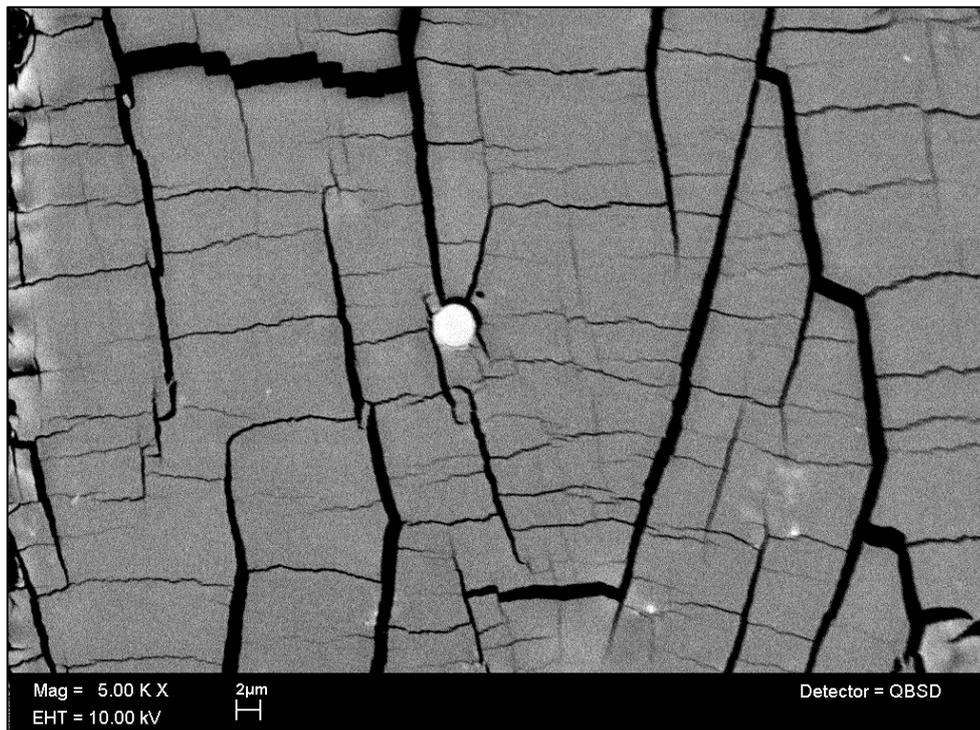


Fig. 74 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 72hrs 5000x MEB.

---

## CULTIVO 1 SEMANA (165 HRS)

### TINCIÓN GRAM

Características de la adhesión: Se observa una adherencia uniforme y regular en toda la superficie del acondicionador, con una cantidad considerable de *Candida albicans* en toda muestra.

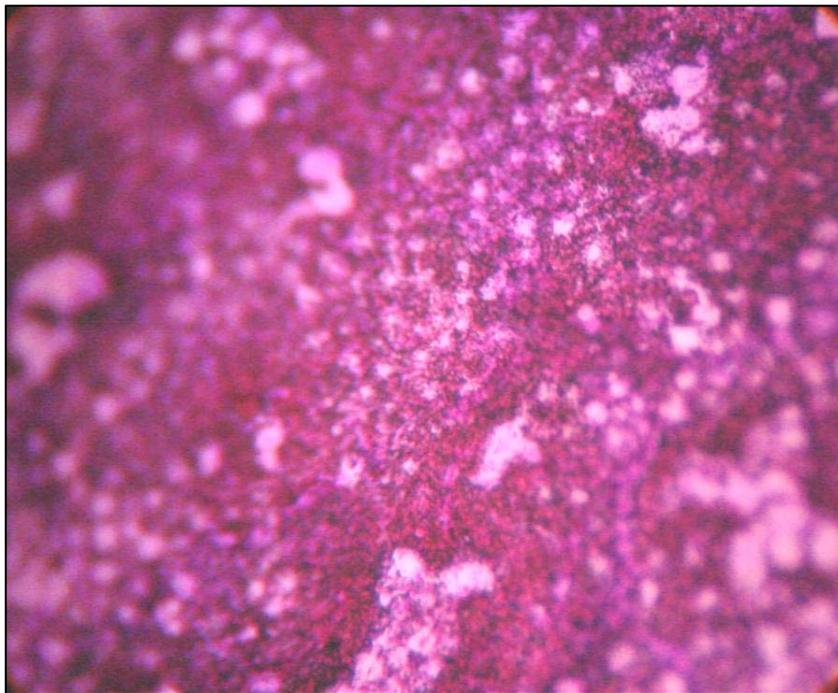


Fig. 75 Muestra de Acondicionador de Tejidos Flexacryl a 1 semana con Tinción de Gram a 40X.

Fig. 75 tomada de un Microscopio Óptico a 40x después de hecha la Tinción de Gram sobre Flexacryl a 1 semana de incubación donde se observa la presencia de *Candida albicans* en toda la extensión de la superficie.

## MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

- Características del Acondicionador de Tejidos: Se observa una superficie irregular, con muchas grietas e imperfecciones.

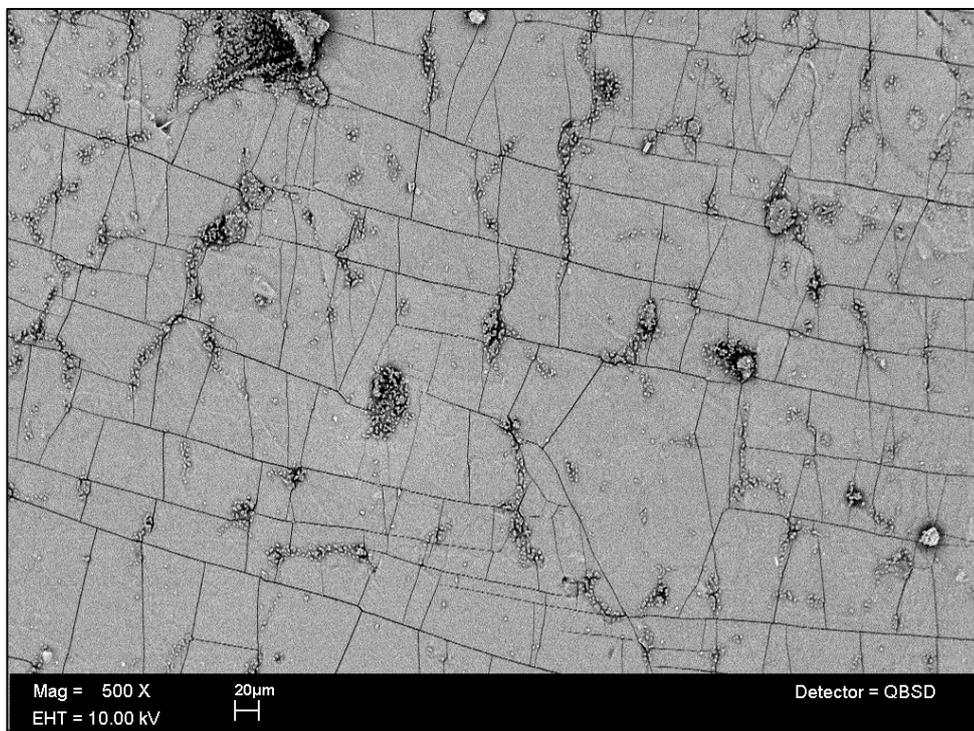


Fig. 76 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 500x MEB.

En la fig. 76 se observa la superficie del Acondicionador de Tejidos y la adhesión de *Candida albicans* en una gran cantidad agrupadas en las grietas del material.

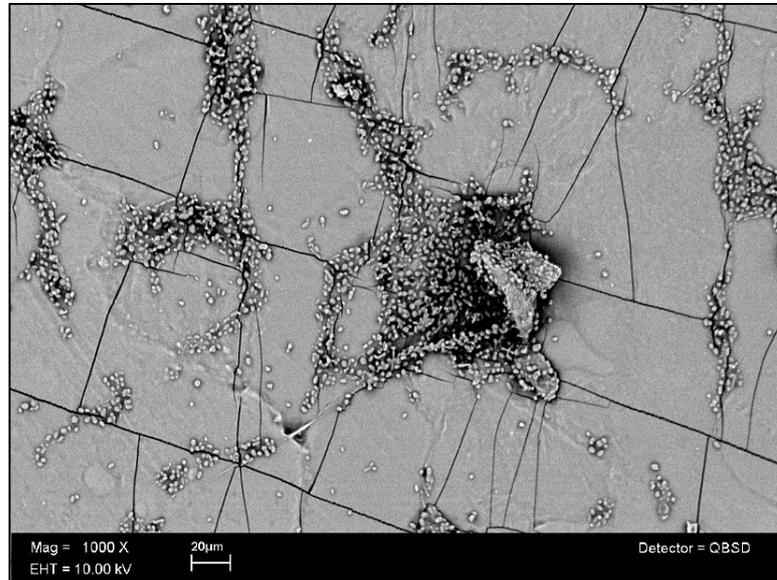


Fig. 77 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 1000x MEB.

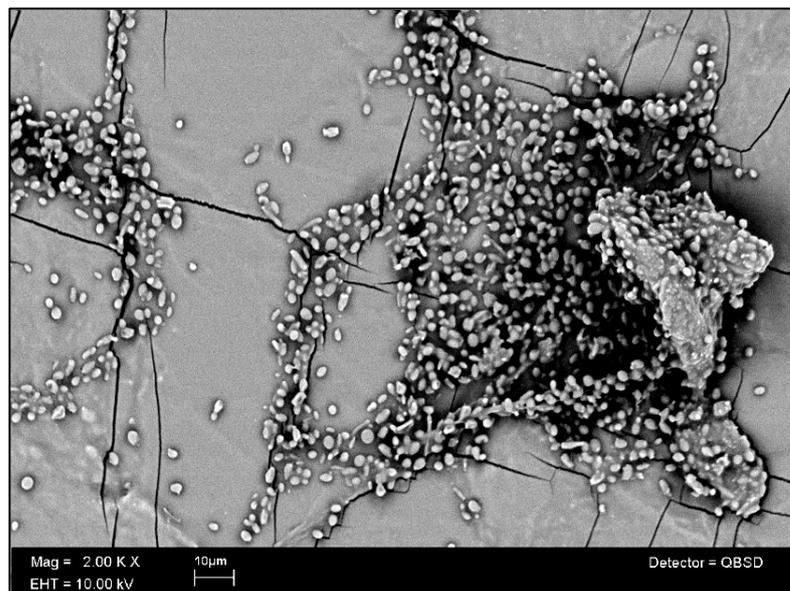


Fig. 78 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 2000x MEB.

En la figura 77 y 78 se observa una superficie sumamente irregular, con gran cantidad de grietas y gran cantidad de blastoconidios.

- Características de la adherencia: Se observa un gran número de blastoconidios en toda la superficie del acondicionador, sobretodo donde se presentan grietas del material.
- Características del blastoconidio: presentan un tamaño aproximado de 3 a 3.8  $\mu\text{m}$  de diámetro, bien delimitados y de superficie lisa, presentándose en estado de gemación.
- Características del Acondicionador de Tejidos: se observa una superficie irregular, con gran cantidad de grietas de un tamaño de 2 a 3  $\mu\text{m}$  de grosor en toda su superficie.

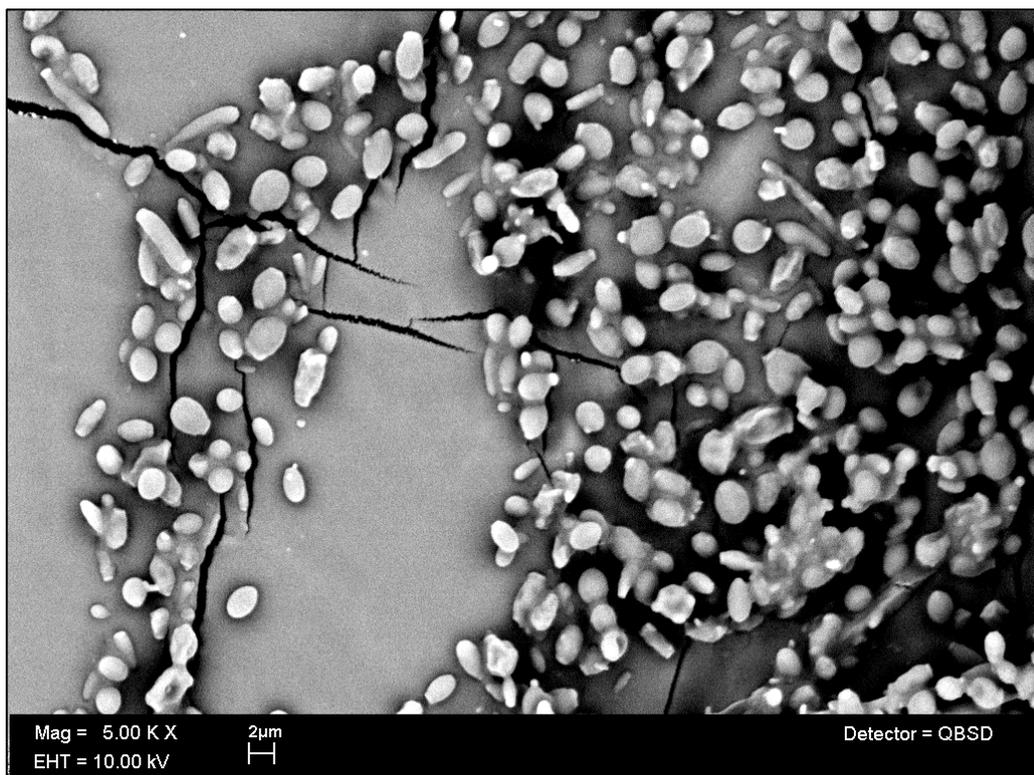


Fig. 79 Fotografía de Flexacryl, muestra de cultivo *Candida albicans* a 1 semana 5000x MEB.

## 10.4 ANALISIS DE DATOS

Los resultados obtenidos de la observación de los tres Acondicionadores de Tejido incubados con *Candida albicans*, así como su fijación y observación para la adherencia de la misma, se realizó de una manera semejante y bajo las mismas condiciones.

El análisis de Datos fue realizado mediante un programa estadístico **ANOVA (P= 0.499)**.

Acondicionador de Tejidos	Tiempo	Promedio	Desviación Estándar
COE COMFORT	24 HRS	9.0	±3.606
COE COMFORT	72HRS	9.0	±3.606
COE COMFORT	1 SEMANA	30.0	±2.0
LYNAL	24 HRS	14.333	±4.041
LYNAL	72HRS	14.333	±4.041
LYNAL	1 SEMANA	36.0	±1.0
FLEXACRYL	24 HRS	19.333	±3.055
FLEXACRYL	72 HRS	19.333	±3.055
FLEXACRYL	1 SEMANA	56.333	±2.517

Promedio de Blastocnidios adheridos al Acondicionador de Tejidos.

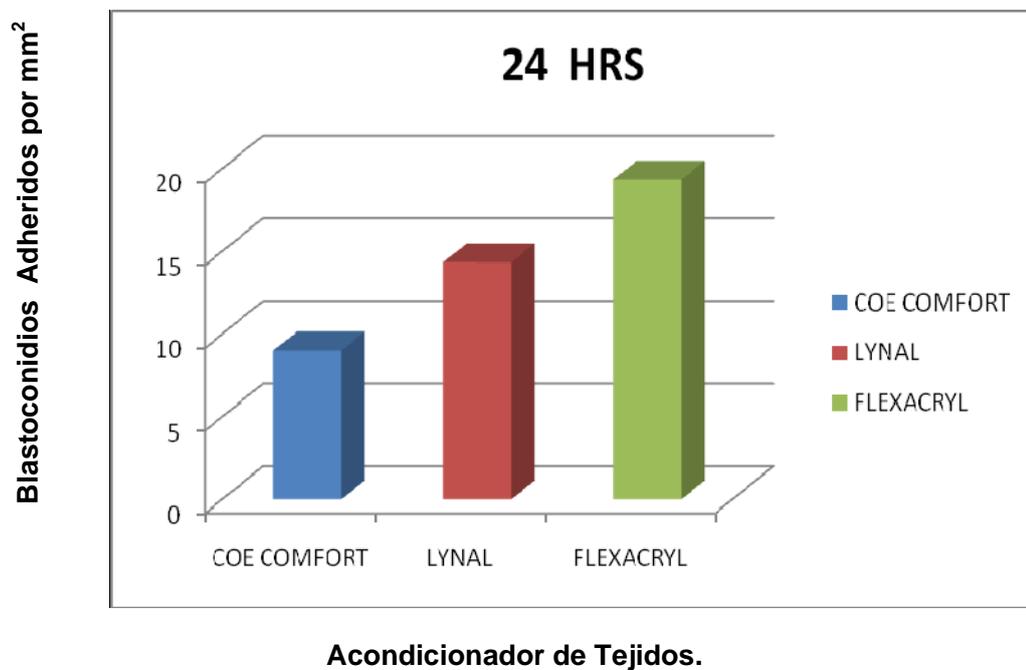
Comparación de Datos dada con el programa **Tukey Test**:

Existió diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre:

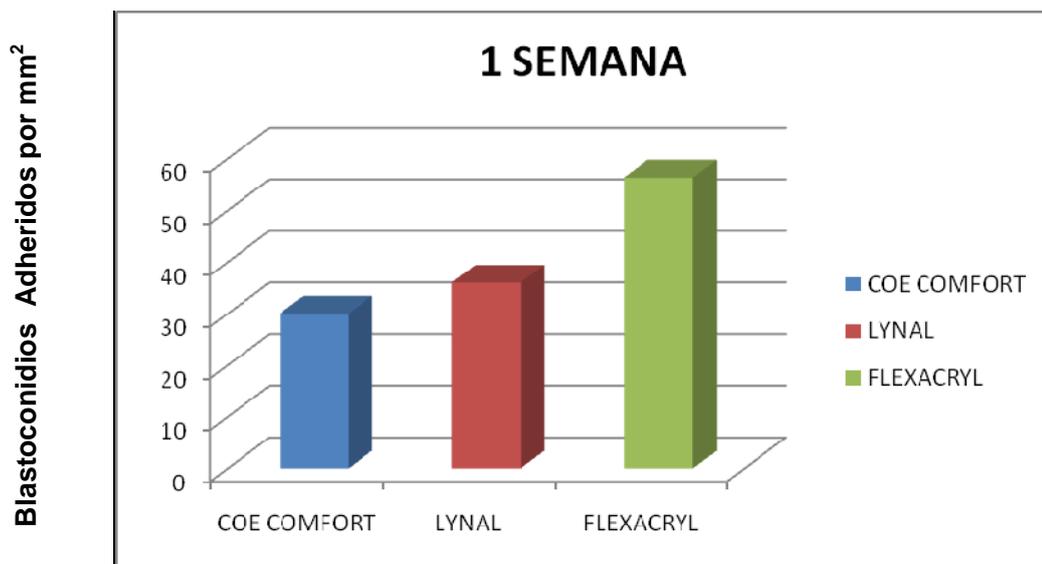
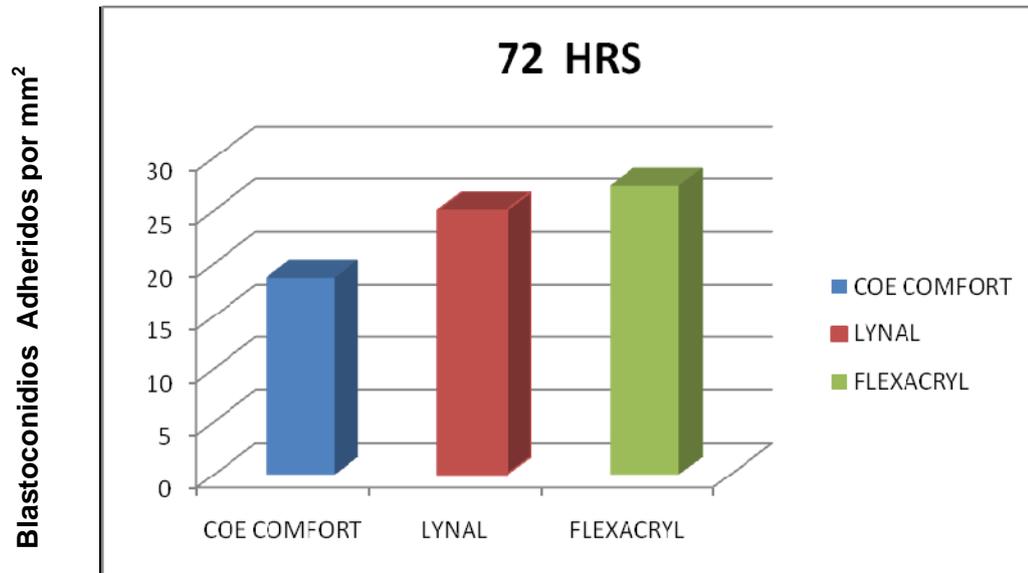
- Flexacryl 24hrs ( $19.3 \pm 3.055$ ) y Coe Comfort 24 hrs ( $9 \pm 3.6$ )
- Flexacryl 72hrs ( $19.3 \pm 3.055$ ) y Coe Comfort 72 hrs ( $9 \pm 3.6$ )
- Flexacryl 1 semana ( $56.3 \pm 2.517$ ) y Lynal 1 semana ( $36.0 \pm 1.0$ )
- Flexacryl 1 semana ( $56.3 \pm 2.517$ ) y Coe Comfort 1 semana ( $30.0 \pm 2.0$ )

Con los datos anteriores se puede decir que existen variaciones de adherencia entre los Acondicionadores de Tejidos Flexacryl y Coe Comfort a 24, 72 y 1 semana y Flexacryl y Lynal a 1 semana.

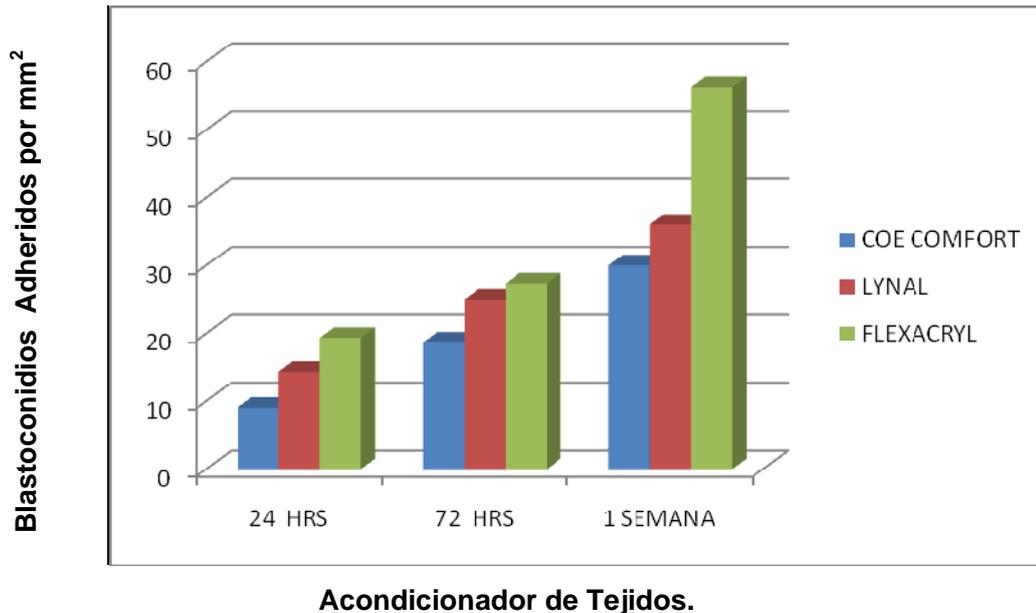
**Tabla 1 comparativa de los 3 Acondicionadores de Tejidos a 24 hrs**



**Tablas 2 y 3 comparativas de los 3 Acondicionadores de Tejidos a 72 hrs y 1 semana**



**Tabla 4 comparativa de los 3 Acondicionadores de Tejidos en 3 tiempos  
24, 72 hrs y 1 semana.**



Con el uso del Microscopio Electrónico de Barrido se pudo observar que los 3 Acondicionadores de Tejidos presentan en su superficie irregularidades, las cuales van aumentando proporcionalmente al tiempo transcurrido de su preparación, además de que la adherencia de *Candida albicans*, crecimiento, desarrollo y colonización es distinta en cada uno de ellos.

Obteniendo el promedio de blastoconidios adheridos a los Acondicionadores de Tejidos y teniendo la superficie total de la muestra se determinó el porcentaje de blastoconidios adheridos a las muestras, obteniendo un porcentaje menor a 1% en los tres Acondicionadores de Tejidos.

## 11. DISCUSIÓN

Este estudio de investigación se enfoca en el análisis de la adhesión y colonización de *Candida albicans* sobre la superficie de 3 distintos Acondicionadores de Tejidos y las características de los mismos.

En el análisis realizado se pudo observar el grado y características de adhesión de *Candida sp.* en tres periodos de tiempo: 24, 72 hrs y 1 semana, donde se pudo obtener el número de blastoconidios adheridos a su superficie por medio de un Microscopio Óptico.

Así mismo se pudo observar el tamaño de los blastoconidios, su forma, grado de colonización, formación de pseudomicelios, reproducción, y las características de la superficie del Acondicionador de Tejidos por medio de un Microscopio Electrónico de Barrido.

De esta manera se demuestra la capacidad de adherencia, crecimiento y colonización de *Candida albicans* sobre la superficie del Acondicionador de Tejidos en ausencia de otros microorganismos que por lo general se encuentran en boca, así como la ausencia de saliva la cual presenta componentes específicos como proteínas que ayudan al crecimiento de la misma.

Una vez obtenidos los datos del conteo del número de blastoconidios adheridos en los 3 Acondicionadores de Tejidos en distintos tiempos de inoculación (24, 72hrs y 1 semana), se procedió a realizar un análisis estadístico comparativo con ANOVA de una vía.

El análisis estadístico ANOVA mostro una tabla comparativa con los promedios de blastoconidios adheridos en la superficie de los Acondicionadores de Tejidos y los 3 tiempos de inoculación dando una desviación estándar no mayor de  $\pm 4$ .

De esta manera por medio de la prueba Tukey Test se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ):

- Flexacryl 24hrs ( $19.3 \pm 3.055$ ) y Coe Comfort 24 hrs ( $9 \pm 3.6$ )
- Flexacryl 72hrs ( $19.3 \pm 3.055$ ) y Coe Comfort 72 hrs ( $9 \pm 3.6$ )
- Flexacryl 1 semana ( $56.3 \pm 2.517$ ) y Lynal 1 semana ( $36.0 \pm 1.0$ )
- Flexacryl 1 semana ( $56.3 \pm 2.517$ ) y Coe Comfort 1 semana ( $30.0 \pm 2.0$ )

Donde demuestra la diferencia que existe de colonización entre Coe Comfort y Flexacryl en los 3 diferentes tiempos de inoculación; y la diferencia entre Lynal y Flexacryl a 1 semana.

También demuestra que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la colonización de Lynal y Coe Comfort en los 3 diferentes tiempos de inoculación.

Por medio del Microscopio Electrónico de Barrido se obtuvo las características de la superficie de las muestras dando diversas variantes entre cada una de ellas como superficies lisas, con irregularidades, con grietas, con poros y con depresiones.

Y además se observó que *Candida albicans* se adhiere tanto a superficies lisas como irregulares, lo que indica que no solo es una retención mecánica por parte de material lo que hace la adherencia, si no que influyen la capacidad de *Candida albicans* por parte de sus adhesinas en la pared celular y la absorción de agua del acondicionador en su fase elástica promoviendo la adhesión de *Candida sp.*

Tomando en cuenta el número de Blastocnidios iniciales presentes en 1 ml de caldo de soya y los adheridos a las 24, 48 y 72 hrs se observó que existió un porcentaje menor de 1%, lo cual no es un porcentaje muy significativo.

## 12. CONCLUSIONES

Las características de la superficie de las muestras observadas con el Microscopio Electrónico de Barrido mostraron defectos considerables en cada uno de ellos, los cuales van siendo mayores a medida que van pasando los días, ya que por sus características estructurales van perdiendo propiedades importantes como es su elasticidad, tornándose duros y ásperos, observando grietas, depresiones e irregularidades de diversos tamaños y formas, variando entre cada uno de los Acondicionadores.

La adherencia de *Candida albicans* entre cada uno de los Acondicionadores mostraron datos estadísticamente relevantes obteniendo una mayor cantidad de adherencia de la misma sobre Flexacryl en los 3 tiempos (24, 72hrs y 1 semana) comparado con Coe Comfort en los 3 tiempos y Lynal a 1 semana, pero al obtener el porcentaje de los blastoconidios adheridos se obtuvo un porcentaje menor de 1% en los tres Acondicionadores de Tejidos, pero que por su tamaño los blastoconidios ocupan una gran parte de las muestras.

Al observar el crecimiento, desarrollo, forma y forma de adhesión de blastoconidios en cada una de las muestras, se obtuvieron diferencias importantes.

Se puede decir que Coe Comfort presenta al paso de los días una superficie más regular, sin grietas y porosidades, pero se observan ligeras irregularidades como depresiones de un tamaño considerable y en cuanto a la adherencia de *Candida albicans* la menor adherencia de las mismas, por lo que no se obtuvieron datos de crecimiento estadísticos significativos entre

las 24 y 72 hrs sobre el material, pero si existieron entre las 24hrs y 1 semana.

Flexacryl presenta en su primer día una superficie lisa, con escasas imperfecciones, pero conforme pasan los días esta se vuelve una superficie muy irregular, con grietas de un tamaño de 3  $\mu\text{m}$  de grosor las cuales propician una mayor adhesión de *Candida albicans*, dando como resultado que este material tenga la mayor cantidad de blastoconidios, con datos de crecimiento estadísticamente significativos a las 24, 72 y 1 semana.

Lynal es el material que presenta una superficie completamente lisa en sus primeros días pero al igual que Flexacryl conforme pasan los días se va volviendo una superficie irregular y con grietas promoviendo la adhesión de blastoconidios en su superficie, en los datos de crecimiento estadísticamente significativos no existió una variante entre 24 y 72hrs pero si entre las 24hrs y 1 semana.

Con lo descrito anteriormente se puede decir que en general los 3 Acondicionadores de Tejidos van perdiendo sus características iniciales conforme pasan los días, pero que sus tiempos de deterioro son distintos, siendo directamente proporcional al grado de adherencia de *Candida albicans*.

---

### 13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Winkler S. Prostodoncia total. 1ª ed. México: Editorial Limusa; 1999.
2. Zarb, GA, Hickey Judson C, Bolender CI, Carlsson G. Prostodoncia total de Boucher. 10ª ed. México: Editorial Interamericana; 1990.
3. Germán Pardi, Elba Inés Cardozo, Marianella Perrone, Esmeralda Salazar. Detección de especies de *Candida* en pacientes con estomatitis sub-protésica. Acta odontológica Venezolana; v.39 n.3 Caracas dic. 2001.
4. Raquel Castillo de Oyagüe, Andrés Sánchez Turrión, Benjamín Serrano Madrigal, María Isabel Sánchez Jorge. Principios biomecánicos en el diseño de prótesis completas noviembre 2004; nº 153 (1) Madrid.
5. Nikawa H, Taizo H, Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans* in vitro: Part II Effects on fungal growth. J Oral Rehabil 2000.
6. Germán Pardi. Determinantes de patogenicidad de *Candida albicans*. Acta Odontológica Venezolana; v.40 n.2 Caracas jun. 2002.
7. Dr. Judy Rodríguez Ortega, Dra. Josefa Miranda Tarragó, Dra. Haydée Morejón Lugones y Dr. Julio C. Santana Garay. Candidiasis de la mucosa bucal. Revisión bibliográfica Rev Cubana Estomatol v.39 n.2 Ciudad de La Habana Mayo-ago. 2002.
8. Quiroga R. Acondicionador de Tejidos. Universidad de Mayor. Fac. de Odontología.2002; 1-14.
9. Serrano Granger Carlos. Estudio in vitro de la adherencia de *Candida albicans* a las resinas. Univ. Complutense de Madrid. 2002; 127: 7-8, 19-20.

10. Waters MGJ, Williams DW, RG Jagger, MAO Lewis. Adherence of *C. albicans* to experimental denture soft lining materials. *J Prosthet Dent* 1997; 777:306-312.
11. Luciano Olan-Rodriguez DDS, MS, Glenn E Minah DDS, PhD, Carl F Driscoll DMD(2000) *Candida albicans* colonization of surface-sealed interim soft liners *Journal of Prosthodontics* 9 (4), 184-8.
12. Wright PS, Young KA, Parker S, Kalchandra S. Evaluating the effect of soft lining materials on the growth of yeast. *J Prosthet Dent* 1998; 79:404-409.
13. Cal E, Kesercioglu A, Sen BH, Cilli F. Compararison of the hardness and microbiologic adherence of four permanent denture soft liners: *Gen Dent*. 2006 Jan- Feb; 54(1):28-32.
14. Rostoka D, Krořcha lu, Kuznetsova V, Reřnis A, Treřmane R, Uikovskaia T, Vanka A. *Candida albicans* adhesion to plastics during correction of removable dentures. *Stomatologia (Mosk)*. 2004; 83(5):14-6.
15. Bulad K, Taylor RL, Verran J, McCord JF. Colonization and penetration of denture soft lining materials by *C. albicans*. *Dent Mat* 2004; 20:167-175.
16. Zegarelli DJ. Fungal infections of the oral cavity: *Otolaryngol. Clin. North America* 1993; 26:1069-1089.
17. Kawano F, Koran A, Nuryanti A, Inoue S. Impact absorption of four processed soft denture liners as influenced as influenced by accelerated aging. *Int J Prosthodont* 1997; 10:55-60.
18. Radford DR, Sweet SP, Challacombe SJ, Walter JD. Adherence of *C. albicans* to denture-base materials with different surface finishes. *J Dent* 1998; 26:577-583.

19. Okita N, Orstavik D, Orstavik J, Ostby K. In vivo and in vitro studies on soft denture materials: Microbial adhesion and tests for antibacterial activity. *Dent Mater* 1991; 7:155-160.
20. Nikawa H, Iwanaga H, Kameda M, Hamada T. In vitro evaluation of *C. albicans* adherence to soft denture-lining materials. *J Prosthet Dent* 1992; 68:804-808.
21. Nikawa H, Jin C, Makihira S, Egusa H, Hamada T, Kumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers in vitro. *J Oral Rehabil* 2003; 30:243-250.
22. Kulak Y, Kadir T. In Vitro study of fungal presence and growth on three conditioner materials: *J. Marmara Univ Dent Fac.* 1997 Sep: 2(4): 682-4.
23. [Odontología.uchile.cl/revista FO/v15n1/a4.html](http://Odontología.uchile.cl/revista%20FO/v15n1/a4.html).
24. [www.encolombia.com/prosto\\_bibliografia10.htm](http://www.encolombia.com/prosto_bibliografia10.htm).
25. Vitkov L, Lugstein A. Glycaemic disorders in denture stomatitis. *J Oral Pathol Med.* 1999.
26. Sharry JJ, *Prostodoncia dental completa.* Barcelona: Editorial Toray, 1997.
27. Guzmán D. Ana María. Importancia del laboratorio en el diagnóstico de la micosis invasiva infecciosa. *Rev. Chil.* 2004, vol.21, no.1, pág. 33-47.
28. Liébana Ureña J. *Microbiología Oral. Características generales de los hongos patógenos humanos.* 1ª Ed. Madrid: Mc Graw.Hill Interamericana de España; 1995. P. 1362-75.
29. Kim MJ, Shin SW, Lee JY. In vitro study on the adherence and penetration of *Candida albicans* into denture soft lining materials. *J Korean Acad Prosthodont.* 2006 Aug; 44(4):466-476. Korean.

31. García-Rodríguez J.A., Picazo J.J. Microbiología Médica General. Madrid: Ed. Mosby Doyma; 1996.P 625-628.
32. Bermejo Fenoll A. Medicina Bucal Vol. I. Madrid: Ed. Síntesis S.A.;1998. P 139-51.
33. Tari BF, Nalbant D, Dogruman Al F, Kustimur S. Surface Roughness and Adherence of *Candida Albicans* on Soft Lining Materials as Influenced by Accelerated Aging. J Contemp Dent Pract 2007 July; (8)5:018-025.
34. Olsen I. Oral adhesion of yeast. Acta Odontol Scand. 1990; 48: 45-53.
35. Nikawa H., Hamada T. Bindidng of salivary or serum proteins to *Candida albicans* in vitro. Arch Oral Biol 1990; 35: 571-73.
36. Enrique Romo Arévalo, Análisis microscópico de la adherencia de *Candida albicans* in vitro sobre resina acrílica utilizada para bases de dentaduras procesada con tres diferentes técnicas Revista Odontológica Mexicana Vol.10, Núm. 4 Diciembre 2006 págs. 167-172.
37. Anusavice, Kenneth J. Anusavice, Phillips, La ciencia de los materiales dentales. Ed. Elsevier España, 2004 págs. 750-751.
38. [www.uv.es/.../Docencia/atlas/penfigo/1.htm](http://www.uv.es/.../Docencia/atlas/penfigo/1.htm).
39. <http://www.dentalgphsatd.com/casos/Caso%2006.jpg>.
40. [www.vamasa.com.mx/Imágenes/SultanCh/Hydrocast.jpg](http://www.vamasa.com.mx/Imágenes/SultanCh/Hydrocast.jpg).
41. [www.dentsply.com.mx](http://www.dentsply.com.mx).
42. [www.corporaciondental.com/ tienda/index](http://www.corporaciondental.com/tienda/index).
43. <http://pathmicro.med.sc.edu/mycology>.
44. La Corte Eloisa, Tovar Vilma. Candidiasis Bucal y VIH. Odontología Online. Universidad Central de Venezuela. 2002.
45. [www.scielo.cl](http://www.scielo.cl).

46. Gartner Leslie, Hiatt James. Texto Atlas de Histología. 3ª ed. México: Editorial Mc Graw Hill. 2008; 573: 7-10.
  47. Pardi German, Cardozo Elba. Algunas Consideraciones Sobre *Candida albicans* como Agente Etiológico de Candidiasis Bucal. Acta Odontológica Venezolana Vol.40, Núm. 1 2002.
  48. Shepherd, M.G. (1992): Fungi and parasites in the oral cavity. En Slots, J.; Taubman, M.A. Contemporary Oral Microbiology and Immunology. St. Louis - U.S.A. Mosby -Year Book, Inc. 1 ed. pp. 373-376.
  49. Williams, D.W.; Lewis, M.A.O. (2000): Isolation and identification of *Candida* from the oral cavity. Oral Diseases. 6: 3-11.
  50. O'Sullivan, J.M.; Jenkinson, H.F.; Cannon, R.D. (2000): Adhesion of *Candida albicans* to oral streptococci is promoted by selective adsorption of salivary proteins to the streptococcal cell surface. Microbiology. 146 (Pt 1): 41-48.
  51. <http://www.ada.org/>.
  52. [http://www.ada.org/prof/resources/standards/products\\_specifications.asp#75](http://www.ada.org/prof/resources/standards/products_specifications.asp#75).
  53. Christensen GJ. Dentures Relining, rebasing partial and complete. J Am Dent Assoc 1995;126;503-506.
  54. [www.telmeds.org/.../candida/Calbicans\\_draw.jpg](http://www.telmeds.org/.../candida/Calbicans_draw.jpg).
-