

Evidencia microscópica de la presencia de *Candida albicans* en bases protésicas retiradas de la cavidad bucal

Microscopic evidence of *Candida albicans* present in prosthetic bases removed of buccal cavity

Gladys Velazco^I; Reynaldo Ortiz^{II}; Leylan Arellano^{III}; Lorena Bustillos^{IV}; Anajulia González^V

^I Magister Scientiae en Electroquímica Fundamental y Aplicada. Profesora Asistente de la Cátedra de Materiales Dentales de la Facultad de Odontología Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Investigadora Adscrita al Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular (LIBCEM).

^{II} Doctor en Química Aplicada. Profesor Titular del Departamento de Electroquímica. Laboratorio de Electroquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

^{III} Especialista en Salud Pública. Profesora Titular de la Clínica Integral del Adulto III Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

^{IV} Especialista en Prosthodontia. Profesora Asistente. Clínica Integral del Adulto III. Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

^V Magister Scientiae en Biología Molecular. Investigadora Activa tipo III. Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular, Mérida, Venezuela.

RESUMEN

Se realiza este estudio con el objetivo de demostrar la adherencia de *Candida albicans* a la ultraestructura de resinas acrílicas de termocurado (PMMA) utilizadas en la confección de las bases de dentaduras totales. Se utilizaron 2 muestras de PMMA: la primera proveniente de bases de dentaduras en uso, para lo cual se seleccionaron 20 pacientes totalmente edéntulos portadores de dentaduras y diagnosticados con estomatitis subprotésica (ESP), y de este grupo se seleccionó uno al azar; la segunda muestra proveniente de PMMA recién elaborado bajo el protocolo de formulación tradicional de termocurado. Al observar y comparar ambas muestras en SEM se demostró la presencia de hifas, pseudohifas y clamidosporas en la primera muestra, incluso hifas penetrando hacia defectos de la

estructura inherentes al proceso de elaboración. En la segunda muestra hubo una marcada diferenciación topográfica. La evidencia microscópica demostró la adherencia candidiásica en la muestra proveniente de la dentadura en uso.

Palabras clave: bases de dentaduras, *Candida albicans*, resinas acrílicas.

ABSTRACT

Aim of present paper is to determine the *Candida albicans* adherence to ultrastructure of thermo-cure acrylic resins (PPMA) used in total dentures bases confection. We used 2 samples of PPMA: first from the used dentures bases; choosing 12 completely edentulous patients carriers of dentures and diagnosed with sub-prosthetic stomatitis (SPE) and from this group we choose one at random; the second sample from the PPMA newly developed by the traditional thermo-cure protocol. Observing and comparing both samples in SEM, it was possible to demonstrate the presence of hyphae, pseudo-hyphae, and chlamydozoospores in the first sample even hyphae entering to structure defects inherent to elaboration process. In the second sample there was a marked topographic differentiation. Microscopic evidence showed the *Candida* adhesion in sample from used dentures.

Key words: Dentures bases, *Candida albicans*, acrylic resins.

INTRODUCCIÓN

La cavidad oral es un ecosistema abierto, caracterizado por un grupo de parámetros denominados determinantes ecológicos; estos parámetros se clasifican como: físicos, nutricionales, inhibitorios y la adherencia bacteriana, caracterizada por la presencia de un mecanismo mediante el cual los microorganismos son capaces de colonizar los tejidos propios de la cavidad, y aún más, aditamentos de tipo protésico.¹ Las prótesis dentales parciales o totales están fabricadas generalmente de resina acrílica a base de polimetilmetacrilato (PMMA), el cual forma una superficie sólida que se encuentra en contacto directo con la mucosa bucal del paciente, en las superficies de las prótesis elaboradas con PMMA, a las pocas horas de su inserción en cavidad bucal, presentan una película orgánica adquirida constituida por proteínas presentes en la saliva, que actuarán como mediadores en la fijación de la placa bacteriana a la superficie protésica.² Las resinas acrílicas tienen la propiedad de retener placa bacteriana debido a las características de porosidad y aspereza inherentes, y muchas veces agravadas por la manipulación del polímero en cualquiera de sus técnicas de polimerización. Estas características superficiales del material, pueden contribuir a la adherencia y proliferación de microorganismos, dentro de los cuales el más frecuentemente aislado en pacientes portadores de prótesis es *Candida albicans*, un hongo microscópico, patógeno y oportunista, causante de procesos infecciosos importantes en la cavidad bucal, dentro de los cuales se encuentra la estomatitis subprotésica (ESP), denominada como la forma clínica de la infección por *Candida albicans* en pacientes portadores de prótesis.³ La histopatología de la ESP se

caracteriza por un epitelio enormemente adelgazado y el tejido conjuntivo presenta inflamación excesiva; generalmente se localiza en la superficie del paladar, preferentemente en mujeres que refieren una sintomatología continua de ardor.² El mecanismo de fijación de los microorganismos a la superficie protésica en una primera fase es inespecífico y reversible; una teoría que podría explicar este fenómeno se refiere a que esta adhesión está mediada por la energía de superficie entre los microorganismos y la superficie de la prótesis, donde intervienen fenómenos electrostáticos y de hidrofobicidad; en una segunda fase, el proceso de la adhesión está mediado por interacciones entre adhesinas y receptores específicos.⁴ Después de la colonización, las especies de *Candida albicans* pueden invadir el espacio vascular, penetrando la barrera mucosa, donde continúan desarrollándose, causando enfermedad hematógena diseminada.⁵ Las interacciones físicas de *Candida albicans* con el hospedero son a nivel de la superficie celular, y los constituyentes proteicos de la pared celular de esta levadura, involucrados en esta unión, se han designado como adhesinas, el componente que es reconocido en el hospedero por el microorganismo se conoce como ligando o receptor. La *Candida albicans* se adhiere a células epiteliales, células endoteliales, factores solubles, componentes de la matriz extra celular y materiales inertes implantados en el cuerpo del hospedero (prótesis), el gran repertorio de adhesinas desplegado por esta levadura refleja la variedad de sitios en el hospedero que pueden ser invadidos.⁵ Según la Asociación Dental Americana (ADA), la Organización Internacional de Estandarización (ISO) y la Academia de Prótesis Dentales (*Academy of Prosthodontics*) para que una resina pueda ser empleada oralmente en el diseño de prótesis debe cumplir con algunas propiedades básicas como no ser porosa.⁶

El análisis de la interface prótesis-mucosa contribuye a su optimización mejorando su permanencia y funcionamiento en cavidad bucal.

El objetivo de este trabajo ha sido confirmar la presencia de *Candida albicans* en bases protésicas de pacientes diagnosticados con ESP, en la Clínica Integral del Adulto III de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, mediante visualización con microscopía electrónica de barrido identificando las características morfológicas de los hongos en cuestión.

MÉTODOS

El estudio es experimental y transversal, se estudiaron las cavidades orales de 20 pacientes (8 mujeres y 12 hombres) portadores de prótesis totales y con diagnóstico de ESP, entre 50 y 82 años de edad, atendidos en la Clínica Integral del Adulto III de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes Mérida, Venezuela. Los estudios de microscopía electrónica de barrido (SEM) se llevaron a cabo en el Laboratorio de Análisis Químico y Estructural de Materiales (LAQUEM), Departamento de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes.

Muestras

Las prótesis superiores de los pacientes fueron retiradas y fue seleccionada una al azar, sobre ella se seleccionaron 3 puntos de la zona bacilar (zona en íntimo contacto con la mucosa bucal), los flancos, la zona de la papila y el borde posterior, los cuales se marcaron y recortaron con pieza de mano a baja velocidad, obteniendo muestras de 1mm de ancho por 0,5mm de alto. Estas muestras fueron trasladadas al LAQUEM, previo al montaje de las muestras en el microscopio

electrónico de barrido (SEM), estas se cubrieron con una capa de oro por aproximadamente 15 min, metalizado indispensable, porque además de hacer conductiva la superficie, elimina la electricidad estática, minimiza el daño por radiación y aumenta la reflectividad electrónica. Paralelamente con esta toma de muestras, se elaboró una formulación tradicional de PMMA curado por calor (termo polimerizado) y bajo la misma técnica de enmuflado se obtuvieron 2 muestras que no fueron llevadas a cavidad bucal para comparar ultraestructuralmente con las muestras retiradas de la cavidad bucal.

RESULTADOS

En la [figura 1a](#) se observa el PMMA que fue utilizado como control elaborado con la técnica de termo-polimerizado, presenta en general una superficie uniforme, se puede apreciar claramente una estructura regular con unas líneas en forma de hilos en disposición vertical y perpendiculares unas sobre otras, regularmente lisa, una magnificación de X= 100. En la figura 1b se observan las líneas más evidentes, estas se corresponden con el sistema de pulido común que se utiliza cuando se realiza el acabado protésico con una magnificación de X=2000. En la [figura 2a](#) se observa la superficie protésica retirada de la cavidad bucal de un paciente con ESP, en la cual aparecen unas formas blanquecinas simulando una superficie algodonosa, vellosa, aterciopelada, que tejidas unas sobre otras simulan un encaje presentan evaginaciones tubulares o filamentosas (hifas).⁷ En la figura 2b se visualizaron la formación de esporas asexuales, de paredes gruesas y refringentes, llamadas clamidosporas, que pueden estar intercaladas o en posición terminal de las hifas tabicadas o septadas y extendiéndose sobre la base protésica como lo indica la flecha. En la [figura 3a](#) a una magnificación mayor la colonización clásica de la *Candida albicans* sobre y hacia dentro de la base protésica observándose filamentos con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro de longitud variable, toman una forma cilíndrica, formando una pseudomicela, que se corresponden con entidades de *Candida albicans*. La apariencia microscópica varía de ovoide a elongada o esférica, variando la coloración de menos electrono densidad a mayor electrono densidad, presenta dimorfismo, el cual es una transformación de la forma ovoide de las blastosporas (levaduras) gemantes a hifas. Las formas miceliales son sinónimo de cambio del estado de comensalismo al de parasitismo. Se observan además gran cantidad de irregularidades en la superficie basilar de la prótesis, tales como: porosidades y grietas con zonas más electronodensas correspondientes con fosas profundas del material. En la figura 3b se observan las pseudohifas unas sobre otras colonizando completamente la base de la prótesis.

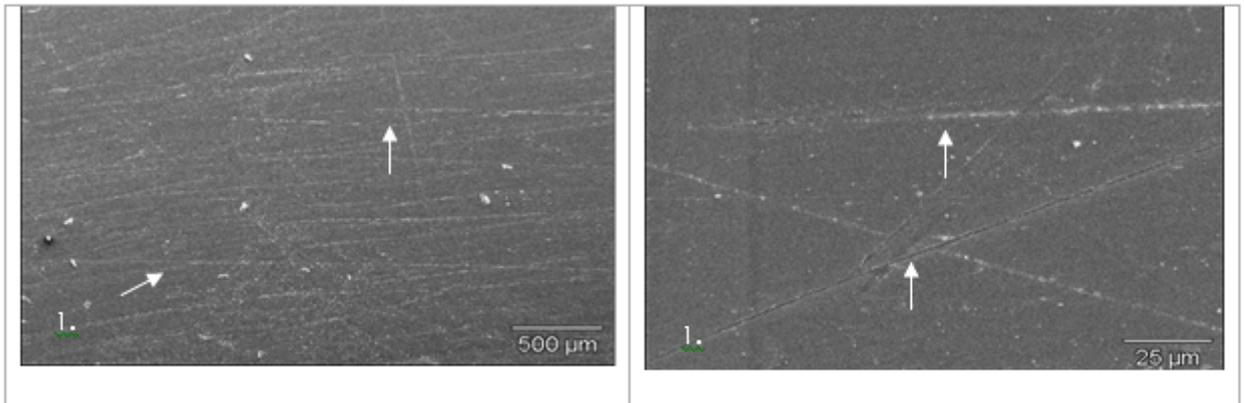


Figura 1.1.a. Muestra una imagen de SEM de una muestra preparada a base de PMMA con una Magnificación: X=100.00 con la flecha se indican algunas líneas. 1. b la misma muestra con una Magnificación: X= 2000

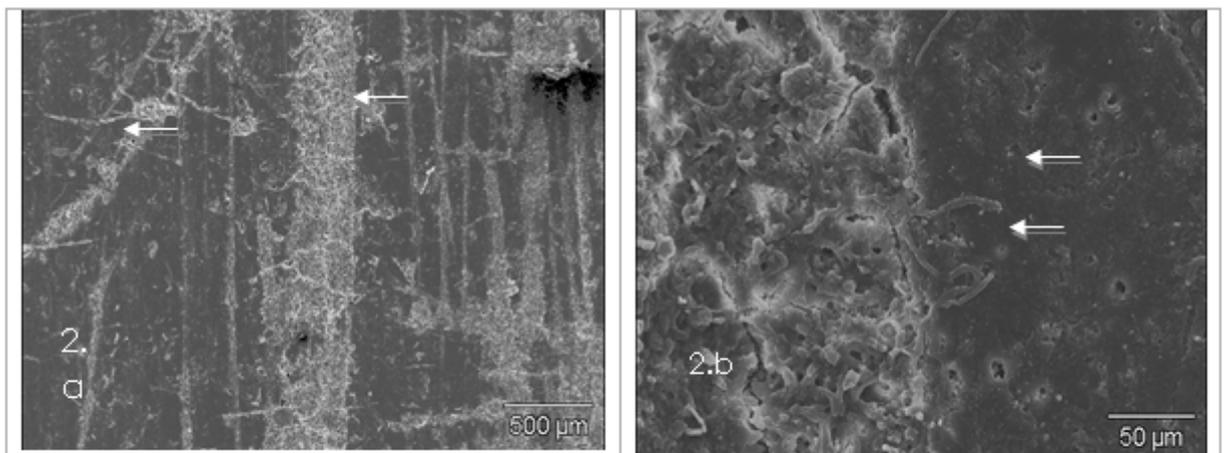


Figura 2.2.a. Muestra una imagen de SEM de una retirada de la cavidad bucal Magnificación: 100.00. 2.b Magnification: 1000.00

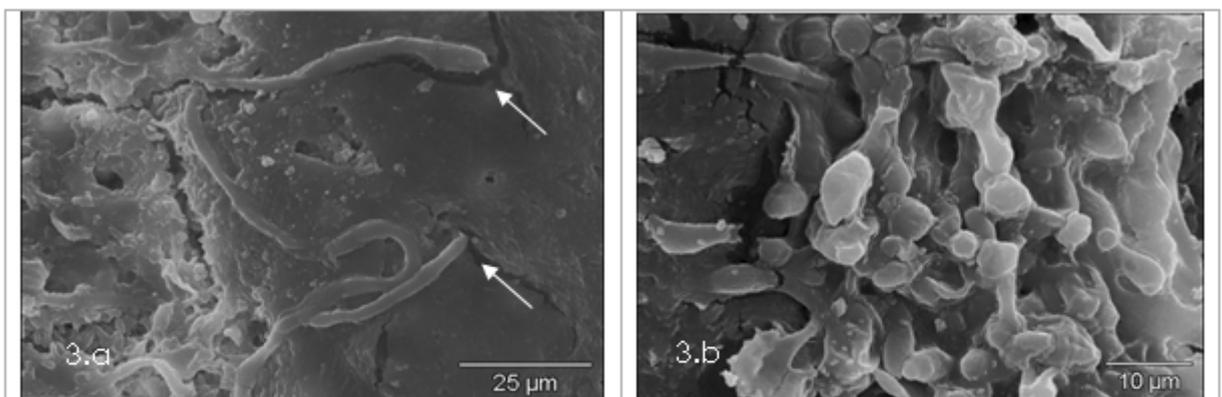


Figura 3. 3.a A una magnification: 3000.00 electronomicrofotografía de las hifas penetrando a la base. 3.b Biopelícula de candida en estado reproductivo magnification: 5000.00

DISCUSIÓN

En las superficies observadas se puede evidenciar la presencia, adhesión, y magnitud de la *Candida albicans* sobre la superficie acrílica de la base protésica que está en contacto con los tejidos blandos de soporte de este paciente. La *Candida albicans* suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras aproximadamente, con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí.^{8,9} Estas características morfológicas permiten aseverar el hecho de que la colonización por *Candida albicans* sugiere la formación de un *biofilm* (biopelícula) sobre la base protésica, activando su patogenicidad cuando coloniza la base. Aproximadamente la mitad de los pacientes con dispositivos médicos u odontológicos adquieren *biofilms* asociados con infecciones *Candida albicans* y se asume que esto aumenta el factor de virulencia del hongo, la frecuencia de infecciones invasoras causadas por *la Candida albicans* ha aumentado en forma importante en las últimas décadas, constituyendo actualmente la candidemia un importante agente de infección.¹⁰ Basándonos en la importancia de dicho agente desde el punto de vista odontológico y debido a reportes previos,^{2,10,11} donde se señala la ecología del hongo en relación con la prótesis, como un factor determinante de patogenicidad, parece indicado idear y proponer modificaciones al polímero con el cual se elaboran los aditamentos protésicos, con el objetivo de mejorar las condiciones sistémicas de los pacientes portadores, ya que la topografía de las bases protésicas puede también favorecer la adhesión y colonización concomitante.

CONCLUSIONES

Existen claras evidencias en relación con la adherencia de *Candida albicans* a la superficie acrílica de la base de la dentadura. Los mecanismos de adherencia de *Candida albicans* hacia las superficies inertes, se realiza a través de fuerzas hidrofóbicas y electrostáticas, en tanto que en la unión de *Candida albicans* hacia la mucosa bucal intervienen una serie de sistemas de reconocimiento (receptores-ligandos) específicos. Posiblemente, uno de los eventos críticos en la patogénesis de las infecciones producidas por *Candida albicans*, es la capacidad de estos hongos oportunistas de cambiar del estado hidrofílico de su superficie celular al estado hidrofóbico, dicho cambio está relacionado con la patogenicidad y por lo tanto, se ha pensado que las células hidrofóbicas son más virulentas y se adhieren con más facilidad a las células epiteliales y a las superficies plásticas inertes que las células hidrofílicas. Queda claramente establecido que los análisis con SEM aunque son costosos, pueden contribuir de manera apropiada al diagnóstico de candidemia protésica (colonización de las bases).

AGRADECIMIENTOS

El desarrollo de esta investigación se hizo posible gracias al apoyo del CDCHT de la Universidad de Los Andes al aprobar el financiamiento del proyecto número O-223-08-07-B y al LAQUEM Ciencias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Linossier A, Vargas A, Villegas R, Chimenos E. Relación cuantitativa entre el nivel de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* en niños con síndrome de Down. *Medicina Oral* 2002;7:284-92.
2. Arévalo ER, Moreno MV, Antuna BS, Fortoul Van Der Goes T, Muñoz HB. 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* 2006;10(6):167-72.
3. 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;27(10):124-30.
4. Gillieece AC, Fenelon L. Unusual infections and novel therapy in the immunocompromised host. *Curr Opin Infect Dis* 2000;13(4):361-6.
5. Panizo MM, Reviakina V. Adhesinas y receptores involucrados en el fenómeno de adherencia de *Candida albicans* a las células epiteliales. *Rev Soc Ven Microbiol* 2001;21(4):5-11.
6. Kúrzer GM. Efecto de la técnica de fabricación sobre la porosidad y la dureza de los dientes acrílicos. *Rev Fac Odont Univ Ant* 2006;17(2):34-45.
7. Portugal VJ, Torres E, Pachas MJ, Minauro VC, Vaverio JMF. Mucormicosis: diagnóstico y tratamiento. *Boletín de la Sociedad Peruana de Medicina Interna* 2000;13(2):37.
8. Trujillo V, Guilarte C, Pardi G. Pruebas rápidas para la detección de *Candida albicans* en cavidad bucal. *Acta Odontol Venez* 2006;44(3):441-3.
9. Storti A, Pizzolitto AC, Pizzolitto EL. Detection of mixed microbial biofilms on central venous catheters removed from Intensive care Unit Patients. *Braz J Microbiol* 2005;36(3):275-80.
10. The Board of Regents of the University of Wisconsin System Date last modified: Date created: 8-Sep-2005 Adhesion as a *Candida albicans* virulence factor.
11. Mata HM, Perrone M. La prótesis odontológica en la ecología de *Candida albicans* en cavidad bucal. *Acta Odontol Venez* 2001;39(3):18-24.

Recibido: 5 de marzo del 2009.

Aprobado: 12 de mayo del 2009.

Gladys Velazco. Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular (LIBCEM). E-mail: gvelazco@ula.ve