

**COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA (PAS) UTILIZADA EN LA FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA Y LA TÉCNICA DEL TUBO GERMINAL, PARA
DIAGNOSTICAR LA PRESENCIA DE CÁNDIDA ALBICANS
EN LA CAVIDAD BUCAL DE 60 PACIENTES EDÉNTULOS
TOTALES SUPERIORES, ATENDIDOS EN LA FACULTAD
DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN
CARLOS DE GUATEMALA
(USAC), AÑO 2016**

Tesis presentada por

NANCY ANDREA OVALLE VALLADARES

Ante el Tribunal de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, que
practicó el Examen General Público, previo a optar al Título de:

CIRUJANA DENTISTA

Guatemala, marzo de 2017

**COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA (PAS) UTILIZADA EN LA FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA Y LA TÉCNICA DEL TUBO GERMINAL, PARA
DIAGNOSTICAR LA PRESENCIA DE CÁNDIDA ALBICANS
EN LA CAVIDAD BUCAL DE 60 PACIENTES EDÉNTULOS
TOTALES SUPERIORES, ATENDIDOS EN LA FACULTAD
DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN
CARLOS DE GUATEMALA
(USAC), AÑO 2016**

Tesis presentada por

NANCY ANDREA OVALLE VALLADARES

Ante el Tribunal de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, que
practicó el Examen General Público, previo a optar al Título de:

CIRUJANA DENTISTA

Guatemala, marzo de 2017

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Decano:	Dr. Edgar Guillermo Barreda Muralles
Vocal Primero:	Dr. Edwin Oswaldo López Díaz
Vocal Segundo:	Dr. Henry Giovanni Cheesman Mazariegos
Vocal Tercero:	Dr. José Rodolfo Cáceres Grajeda
Vocal Cuarto:	Dr. Dulce Kátheryn Michelle Alva Gómez
Vocal Quinto:	Dr. Joab Jeremías Vicente Vega
Secretario Académico:	Dr. Julio Rolando Pineda Cordón

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PÚBLICO

Decano:	Dr. Edgar Guillermo Barreda Muralles
Vocal Primero:	Dr. Edwin Oswaldo López Díaz
Vocal Segundo:	Dr. José Fernando Ávila González
Vocal Tercero:	Dr. Carmen Alicia Morales Castañeda
Secretario Académico:	Dr. Julio Rolando Pineda Cordón

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS:** Por ser el creador de todo en esta Tierra. Por regalarme vida y salud a mí y a todos los que estuvieron a mi lado durante estos años. Por iluminarme en todo momento desde que inicie esta "locura", que es así como yo lo llamo. Porque sin todas las bendiciones que recibí día con día yo y todos los que amo no estaríamos aquí en este momento.
- A MI PAPÁ:** Fredy Baudilio Ovalle Escobar. El más estricto de todos. Mi maestro de toda la vida, que con amor, cuidados, atenciones, y mucha disciplina has hecho de mi lo que soy junto con mi mamá. Sos un ejemplo enorme de perseverancia, lucha continua, transparencia y dedicación. Siento la felicidad más grande de todas al poderte ver y decir "LO LOGRAMOS Y SOMOS MEJORES Y MAS FUERTES QUE ANTES". Infinitas gracias, te amo papi.
- A MI MAMÁ:** Nancy Edith Valladares Pacheco. Mi mejor amiga. La más fuerte y valiente de todas, siempre fuiste la luz en los días difíciles, el paño de lagrimas en los días no tan buenos y la mas feliz junto a mi en los días súper buenos. El complemento perfecto de mi papá, porque también con disciplina pero con más dulzura es que me apoyaste todo el tiempo. Soy la más afortunada de la vida porque te tengo como ejemplo y como mamá. Te amo mami y que bendición y orgullo ser tu hija.
- A MI HERMANA:** Carol Analí Ovalle Valladares. Maduramos juntas estos años y es que fuiste la paciente más difícil de todas. Y no por tu falta de paciencia o comprensión, porque incluso eras la única paciente que limpiaba y aislaba la unidad dental antes de sentarse, sino por todo lo que significas para mí. De todo nos paso juntas en la clínica y sabes a que me refiero, te amo y gracias porque nunca me dejaste sola.
- A MIS ABUELITOS:** José Domingo Valladares Veliz y Guadalupe Pacheco Flores. Gracias por tanto amor y por su incondicional apoyo. Abuelito gracias por toda su paciencia, fue un privilegio y una fortuna enormes tenerlo como paciente aquí en mi facultad.
- A TODA MI FAMILIA:** A mis tíos y primos, con mucho aprecio y cariño.

- A MI MEJOR AMIGA:** Jessica Cruz Cobas. Gracias por tu amistad y apoyo incondicional, fue un placer enorme tenerte como compañera y mejor amiga hasta llegar a ser mi hermana en toda esta aventura. Sos una bendición, te amo.
- A MIS AMIGOS:** A todos los que formaron parte de estos años. Con especial cariño a: Eduardo Franco, Victor Oliva, María Andrea Castillo, Pilar Urizar, Stephanie González y Vivian Tecú.
- Luis Carlos Pineda Florián, por su apoyo incondicional, orientación, palabras de aliento, muestras de cariño y afecto durante todos estos años, infinitas gracias.
- A MIS PACIENTES:** Por confiar su salud en mí, por toda la paciencia y atenciones.
- A MIS CATEDRÁTICOS:** A todos los que compartieron sus conocimientos conmigo, gracias por toda la paciencia y dedicación. Gracias por enseñarme a amar y disfrutar esta hermosa carrera.
- A MIS ASESORES:** Dra. Claudeth Recinos, por confiar en mí, por toda su orientación y constante apoyo desde siempre, por toda su paciencia muchas gracias. Dra. Carmen Morales, gracias por el entusiasmo y colaboración todo el tiempo. Dr. Gustavo de la Roca, gracias por su disponibilidad.
- A LA FUNDACIÓN
NUESTROS PEQUEÑOS
HERMANOS (NPH)** Lugar donde realicé mi Ejercicio Profesional Supervisado, (E.P.S.) gracias por abrirme sus puertas y hacerme disfrutar tanto esta etapa.
- A LA UNIVERSIDAD
DE SAN CARLOS DE
GUATEMALA** Especialmente a la Facultad de Odontología, quien abrió sus puertas y me permitió culminar este sueño.

TESIS QUE DEDICO

- A DIOS** Por guiar mis pasos y decisiones en todo momento y por permitirme culminar esta etapa.
- A MIS PADRES Y HERMANA:** Por alentar y apoyar el desarrollo de esta investigación.
- A MI COMPAÑERA DE TESIS:** Jessica Cruz Cobas por ser un apoyo incondicional para la culminación de esta investigación.
- A MIS ASESORES:** Dra. Claudeth Recinos Martínez
Dra. Carmen Alicia Morales Castañeda
Dr. Gustavo Adolfo de la Roca
- A MIS REVISORES:** Dra. Julieta Medina de Lara
Dr. José Ávila
Dr. Bruno Whehncke
- A LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA** Mi querida y amada facultad.
- A LA UNIVERSIDA DE SAN CARLOS DE GUATEMALA** Mi casa de estudio.

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Tengo el honor de someter a su consideración mi trabajo de tesis titulado: **“COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA (PAS) UTILIZADA EN LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA Y LA TÉCNICA DEL TUBO GERMINAL, PARA DIAGNOSTICAR LA PRESENCIA DE CÁNDIDA ALBICANS EN LA CAVIDAD BUCAL DE 60 PACIENTES EDÉNTULOS TOTAL SUPERIORES, ATENDIDOS EN LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA (USAC), AÑO 2016”**, conforme la demandan los estatutos de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, previo a optar al título de:

CIRUJANA DENTISTA

Y a ustedes miembros del Honorable Tribunal Examinador, acepten las muestras de mi más alta estima y respeto.

ÍNDICE

	Página
I. SUMARIO	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	3
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
V. JUSTIFICACIÓN	7
VI. MARCO TEÓRICO	8
VII. OBJETIVOS	22
VIII. HIPÓTESIS	23
IX. VARIABLES	24
X. METODOLOGÍA	25
XI. CONSIDERACIONES ÉTICAS	29
XII. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	30
XIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	33
XIV. CONCLUSIONES	34
XV. RECOMENDACIONES	35
XVI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
XVII. ANEXOS	38

I. SUMARIO

La investigación consistió en comparar la técnica del ácido peryódico de Schiff (PAS) utilizada en la Facultad de Odontología y la Prueba de Tubo Germinal, para diagnosticar la presencia de *Cándida Albicans* en la cavidad bucal de 60 pacientes edéntulos totales superiores, atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), durante el año 2016.

Para su realización se solicitó autorización por medio de una carta a Dirección de Clínicas, Disciplina de Prótesis Total, Departamento de Diagnóstico y Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala para realizar el estudio.

Fueron seleccionados 60 pacientes que potencialmente pudiesen estar infectados con *Cándida Albicans* según hallazgos clínicos observados en las fases de ingreso de pacientes a la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala realizadas por las odontólogas practicantes y los docentes que forman parte del Departamento de Diagnóstico. Se le informó a cada paciente de todo el procedimiento previo a realizarse, solicitándole firmar un consentimiento informado.

Las odontólogas practicantes dividieron el paladar en cuatro sectores, eligiendo el área mas afectada. Realizaron dos raspajes del área a estudiar, el primero con un bajalenguas (técnica de la Facultad) y el segundo con la espátula No. 7 estéril parte activa en forma de cuchara (Prueba de Tubo Germinal).

De los resultados de la Técnica del ácido peryódico de Schiff (PAS) que se utiliza para la detección de *Cándida Albicans* realizada a la muestra de 60 pacientes, 4 dieron positivo a la presencia de *Cándida Albicans*, mientras que en la Prueba de Tubo Germinal todos los resultados dieron negativo a la presencia del hongo.

Al final del estudio se pudo determinar que no existe diferencia estadísticamente significativa con la utilización de la Técnica PAS y la Prueba de Tubo Germinal para determinar la presencia de *Cándida Albicans*, por lo que ambas técnicas pueden ser utilizadas indistintamente en la Facultad de Odontología de la USAC.

II. INTRODUCCIÓN

El edentulismo total es una condición que ocurre con mucha frecuencia en la población guatemalteca. Se presenta principalmente en personas que se encuentran entre la cuarta y séptima década de vida, muchos de ellos acuden a la Facultad de Odontología de la USAC en busca de un tratamiento adecuado.

La *Cándida Albicans* es la enfermedad micótica más frecuente en la cavidad bucal, que afecta con más frecuencia a personas que utilizan prótesis dental superior y es causada principalmente por inadecuados hábitos de higiene bucal o condiciones sistémicas predisponentes a inmunodeficiencias⁽⁸⁾.

Actualmente el diagnóstico de Candidiasis Bucal en pacientes edéntulos totales que ingresan a la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala se realiza mediante un examen clínico y de laboratorio hecho por el odontólogo practicante, supervisado por el catedrático asignado, sin embargo, el protocolo del manejo de Candidiasis Bucal sugiere la necesidad de realizar pruebas específicas para dar un diagnóstico correcto, confirmando o descartando el diagnóstico diferencial, estando en mejores posibilidades de proporcionar un tratamiento adecuado a la enfermedad encontrada.

Este estudio tuvo como propósito comparar la técnica (PAS) utilizada en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala para la detección de *Cándida Albicans* en la cavidad bucal (PAS) y la Prueba de Tubo Germinal con la finalidad de determinar la eficacia de la técnica PAS.

III. ANTECEDENTES

La Candidiasis es la micosis más importante y de mayor frecuencia en la cavidad bucal; afecta a ambos sexos y a cualquier edad, aunque son más frecuentes a partir de la cuarta década de vida ⁽³⁾. En el ser humano los hongos del género *Cándida* son microorganismos habituales en cavidad bucal, sistema gastrointestinal, tracto respiratorio y vaginal ⁽⁹⁾; pueden ser transmisibles pero sólo producen infección de la mucosa en presencia de una predisposición local o general ⁽⁴⁾.

En el manejo de la Candidiasis Bucal, los hallazgos clínicos no suelen ser suficientes para determinar su diagnóstico y brindar un adecuado tratamiento, siendo necesaria la realización de pruebas microbiológicas que garanticen una respuesta certera ⁽³⁾. Las pruebas microbiológicas se producen por medio del crecimiento de los hongos en medios de cultivo los cuales se examinan macro y microscópicamente, se realizan montajes de acuerdo a la técnica a utilizar para establecer la identificación diferencial entre especies de acuerdo a las características morfológicas y bioquímicas, lo cual permitirá aplicar un tratamiento idóneo ⁽⁵⁾.

En la actualidad se cuenta con diversos métodos para identificar las especies de *Cándida*, los cuales varían en tiempo, especificidad, sensibilidad, costos, entre otros. De esta manera, cada laboratorio puede adoptar los más acordes a su capacidad y disponibilidad. Las técnicas de identificación más comúnmente utilizadas comprenden: 1. Estudio morfológico; 2. Pruebas rápidas; 3. Estudio fisiológico y bioquímico; 4. Métodos automatizados; 5. Medios diferenciales; 6. Métodos inmunológicos; 7. Biología molecular. Las tres primeras técnicas comprenden diversos ensayos, los cuales son referidos por lo general como pruebas convencionales rápidas de identificación. ⁽²⁾

López, C. y colaboradores (2005) estudiaron cepas correspondientes a aislamientos de lesiones en mucosa oral de pacientes provenientes del Servicio de Estomatología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe Argentina. Para tomar la muestra se utilizó un hisopado de mucosa bucal, suspendida en solución fisiológica estéril. Se recogió, con un hisopo estéril, muestras de toda la mucosa oral, en especial del contorno de las lesiones. Si la suspensión era muy diluida, se concentró por centrifugación. Para lograr una máxima recuperación las muestras fueron procesadas inmediatamente, o de lo contrario, guardadas a 4 °C por no más de 24 horas ⁽⁷⁾.

La producción del tubo germinal es una de las pruebas rápidas que nos orienta principalmente hacia la identificación de *C. Albicans*. El ensayo se aplica colocando un pequeño inóculo de la levadura en suero humano, de conejo o ratón, clara de huevo o en solución proteica, por el lapso de 2-4 h a 37 °C, se induce el desarrollo de una estructura tubular a partir del blastoconidio, sin constricción en su base, característica que lo diferencia de una pseudohifa. Aunque es una prueba rápida, tiene el inconveniente de dar entre 5 a 10% de falsos negativos y positivos, además de requerir de buena experiencia técnica para su lectura ⁽⁴⁾.

Una de las pruebas más sencilla, rápida, económica y más utilizada, como prueba preliminar para la identificación del 90-95% de los aislados de *Cándida Albicans* y *C. dubliniensis*, es la **Prueba del Tubo Germinal**, conocida también como Prueba de Filamentación en Suero o Filamentación Precoz. Dicha prueba se ha realizado tradicionalmente en un tubo que contiene 0,5 ml de suero, al cual se le inocula la cepa en estudio y se incuba a 37 °C. Según Mackenzie, esta temperatura pudiera estar en el rango comprendido entre 31°C y 41°C ⁽⁸⁾.

Luego de 2-4 horas de incubación a 37 °C, con ayuda de una pipeta Pasteur o de un asa en forma de aro, se toma una porción del contenido del tubo, se coloca en una lámina, se cubre con laminilla y se observa al microscopio con objetivos de 10 y 40X. *Cándida Albicans* y *C. dubliniensis*, forman una pequeña prolongación filamentosa proveniente de la célula levaduriforme, sin constricción en el punto de origen, semejante a “un espejo de mano”, cuyo espesor puede medir alrededor de la mitad del diámetro de la levadura, y tener una longitud tres a cuatro veces mayor de dicho diámetro. Esta formación constituye el llamado tubo germinal ⁽⁸⁾.

El tubo germinal de *C. Albicans* puede formarse al inocular las levaduras en suero humano, inclusive si el suero ha sido congelado y almacenado. También, se puede realizar en suero de diversos animales como perro, bovino, conejo, cochino de Guinea y caballo. En cambio, este no se forma en suero caliente coagulado ⁽⁸⁾.

Sin embargo, esta prueba tiene como desventaja que entre un 5 a 10% de los aislamientos de *C. Albicans* no producen tubo germinal. Por otra parte, la proporción de células capaces de formar el tubo germinal disminuye progresivamente al aumentar la concentración celular por encima de 10^7 células por ml, con lo cual se pueden obtener resultados falsos negativos ⁽⁸⁾.

Añez., et al (2009) expuso en su estudio que durante el proceso de búsqueda no se encontraron artículos que cumplieran todos los criterios de inclusión basada en las reglas de la evidencia de apreciación crítica de una prueba diagnóstica, por lo que se determina que dichos artículos no tienen evidencia clínica, por lo tanto, la Prueba de Tubo Germinal es la prueba de laboratorio que puede seguir siendo usada como primera alternativa diagnóstica, sobre todo en aquellos sitios y centros hospitalarios donde no sea posible utilizar tecnología de punta ⁽³⁾.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades provocadas por *Cándida Albicans* en la cavidad bucal afectan con más frecuencia a pacientes edéntulos totales superiores.

A las clínicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala cada año asisten pacientes que requieren prótesis dentales totales, algunos de estos pacientes presentan signos clínicos de *Cándida Albicans*. Para descartar la presencia o ausencia de esta patología se les realiza a los pacientes un frotis de la zona afectada y luego se analiza por medio de la técnica de Tinción Ácido Periódico de Shiff (PAS).

Resulta importante conocer la eficacia que brinda la técnica PAS para detectar la presencia de *Cándida Albicans* en los pacientes anteriormente descritos comparándola con otra técnica microbiológica como es la prueba del Tubo Germinal. Derivado de lo anterior, surgió la siguiente interrogante: ¿Existe diferencia al comparar los resultados de la Técnica (PAS) utilizada en la Facultad de Odontología USAC con la Prueba de Tubo Germinal, para determinar presencia de *Cándida Albicans* en la cavidad bucal de los pacientes edéntulos totales superiores atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala?

V. JUSTIFICACIÓN

Por mucho tiempo se ha utilizado en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala la técnica (PAS) para tomar la muestra del paladar en los pacientes que presentan manifestaciones clínicas de *Cándida Albicans* en la cavidad bucal⁽¹⁾, sin embargo, ha existido polémica por parte de docentes y estudiantes sobre los resultados que esta prueba brinda. Los hallazgos clínicos son parecidos a las manifestaciones del hongo en la cavidad bucal, pero el resultado microbiológico es a veces negativo. Por lo que, es importante comparar los resultados de la Técnica (PAS) utilizada en la Facultad de Odontología USAC con otro método, como la Prueba de Tubo Germinal y así determinar si es más fidedigna y brinda menos margen de error que la ya antes mencionada.

Por logística y por el manejo de la información, se requirió y aceptó dos investigadoras: Nancy Andrea Ovalle Valladares y Jessica Cruz Cobas.

VI. MARCO TEORICO

1. CÁNDIDIASIS

Las enfermedades provocadas por hongos han incrementado su frecuencia y su importancia clínica en la cavidad bucal, a causa del aumento de uso de drogas inmunosupresoras potentes en trasplantes, en terapia anticancerosas y por la aparición de infecciones virales que causan inmunodeficiencia ⁽⁴⁾ o por inadecuados hábitos de higiene bucal.

La Moniliasis o Candidiasis de la mucosa bucal es una de las enfermedades más frecuente de la mucosa bucal, sin duda, la afección más común de la cavidad bucal (paladar). La magnitud de la infección micótica depende fundamentalmente de las condiciones del huésped, pues el establecimiento del padecimiento ocurre cuando se alteran los parámetros de equilibrio fisiológico que mantienen la homeostasia del medio bucal, es decir un equilibrio dinámico que se alcanza gracias a constantes cambios para mantener el resultado del conjunto ⁽⁹⁾.

1.1 *Cándida Albicans*

Los hongos del género *Cándida* son levaduras, es decir que son de talo unicelular, nombre con el que se denomina el cuerpo de un hongo. Este género abarca más de 200 especies con características muy diversas. Desde el punto de vista médico-odontológico, la especie más patógena es *Cándida Albicans* ⁽⁹⁾.

El género *Cándida* taxonómicamente se encuentra clasificado en:

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Ascomycetes

Orden: Saccharomycetales

Familia: Saccharomycetaceae

1.1.1 Características generales de *Cándida Albicans*

Cándida Albicans se ubica dentro de los Deuteromicetos, dentro de la familia Cryptococcaceae. Es un microorganismo acidófilo y acidógeno que forma parte de la microbiota accesoria o complementaria de la cavidad bucal, se ha comprobado que la zona más parasitada es la lengua ⁽⁹⁾.

En cultivos con poca cantidad de suero (0.5ml) y en no más de 4 horas a 37° C, las células brotantes producen un indicio de pseudohufas que se conoce como **tubo germinativo**. Este tubo germinativo se diferencia de otras especies de *Cándida*, porque se forma rápidamente ⁽⁹⁾.

En algunos medios y en las lesiones *Cándida Albicans* puede presentarse con aspecto pseudofilamentoso. En determinados cultivos este hongo produce Clamidosporas, que junto con el aspecto de tubo germinativo y las pseudohifas son elementos útiles para tipificar la especie ⁽⁹⁾.

1.1.2 Factores de Virulencia

Además de su facilidad para crecer y multiplicarse, el mayor factor de virulencia de este microorganismo es la capacidad de adherirse tanto a las células del huésped como a otros microorganismos e incluso a materiales inertes ⁽⁹⁾.

La formación de pseudohifas y la rapidez con que puede variar su morfología son características de agresividad.

1.1.3 Fuentes de Infección

El hongo *Candida Albicans* pertenece a la microbiota normal de la cavidad bucal, se considera una infección superficial oportunista con factores locales y sistémicos que facilitan el desarrollo de la enfermedad. En la mayoría de los pacientes, se produce a partir de un reservorio endógeno (oral o digestivo) del propio huésped.

La transformación de comensal a patógeno depende de la combinación de tres grupos de factores: del huésped, dependientes del microorganismo y factores que modifican el microambiente.

Entre los factores que dependen del huésped se encuentran las alteraciones de la barrera mucosa, alteraciones en la saliva, alteraciones hormonales, nutricionales e inmunológicas.

Dentro de los factores dependientes del microorganismo se encuentran la virulencia de *Cándida Albicans* se debe a un conjunto de factores relacionados con su capacidad para evadir los mecanismos de defensa del huésped y de lesionar los tejidos.

Una serie de condiciones ambientales pueden modificar el microambiente existente en la superficie afectada favoreciendo la colonización y la infección por *Cándida* tales como uso de prótesis dentales removibles, uso de antibióticos, de corticosteroides tópicos y hábito de fumar⁽⁵⁾.

1.1.4 Factores Predisponentes

- Prótesis removable antigua o desajustada (trauma)
- Mala higiene bucal
- Mala higiene protésica
- Utilización nocturna de la prótesis
- Infección bacteriana
- Xerostomía
- Déficit de Hierro y vitamina B12 (desnutrición)
- Enfermedades sistémicas no controladas (diabetes, entre otras)
- Inmunosupresión
- Toma de Medicamentos

1.1.5 Manifestaciones Clínicas

Las pseudohifas están constituidas por células muertas, restos de alimentos, leucocitos, células epiteliales descamadas, fibrina, levaduras y pseudofilamentos que al desprenderlas dejan un fondo sanguinolento⁽⁸⁾.

En la lengua la Candidiasis da lugar a distintos tipos de glositis, como por ejemplo atrófica, saburral, lengua negra pilosa, etc.

En los labios, se desencadena una queilitis en la zona semimucosa y comisural con características descamativas, costrosa y otras. En las comisuras labiales generalmente, suelen aparecer fisuras rodeadas de una zona ligeramente elevada que puede ser blanquecina o eritematosa que por su localización se conoce como queilitis angular^(8,9).

El paladar, es asiento frecuente de un eritema resultante de la estomatitis subprotésica.

El paciente es asintomático o en pocos casos puede estar acompañado de ardor, sensación de quemazón, dolor, pérdida del gusto o alteración con disgeusia, sequedad o dificultad para alimentarse. La evolución puede ser aguda o crónica⁽⁸⁾.

1.1.6 Diagnóstico

El método que establece el diagnóstico de la enfermedad a nivel bucal es el examen microscópico. Para este fin es necesario obtener material por raspaje de la lesión y de la lengua, pero por separado, debido a que este es el lugar más parasitado, incluso en estado de salud normal ⁽¹⁸⁾.

1.1.7 Tratamiento

El tratamiento debe de apuntar a corregir o controlar las causas predisponentes, si es posible, y antes deben utilizarse antimicóticos adecuados de acción local ⁽²⁰⁾.

Factores Predisponentes	Tratamiento
Prótesis removible antigua o desajustada (trauma)	Rebase o utilización de acondicionador de tejidos. La decisión dependerá: a) del criterio del odontólogo, o b) del factor económico.
Mala higiene bucal	Cepillado y enjuagues diarios con antisépticos bucales después de cada comida y antes de acostarse.
Mala higiene protésica	-Limpieza y cepillado de la prótesis después de cada comida y antes de acostarse. -Dejar la prótesis en remojo con sustancias fungicidas como hipoclorito de sodio, clorhexidina u otros.
Utilización nocturna de la prótesis	-Insistir al paciente acerca de la necesidad de no utilizar la prótesis al acostarse. -Explicar las razones válidas para no hacerlo.
Infección por Cándida	-Antimicóticos tópicos -Antimicóticos tópicos y sistémicos, en casos persistentes.
Infección bacteriana	Antibióticos tópicos
Xerostomía	-Toma de agua abundante -Saliva artificial o substitutos Estimulantes de la secreción salivar
Déficit de Hierro y vitamina B12 (anemia y desnutrición)	Referencia al médico para tratamiento.
Enfermedades sistémicas no controladas (diabetes, entre otras)	Referencia al médico para diagnóstico y tratamiento para control.
Inmunosupresión	Referencia al médico para evaluación y tratamiento.

2. CLASIFICACIÓN DE LA CANDIDIASIS BUCAL

2.1 Candidiasis primarias

Se originan en la cavidad bucal y normalmente permanecen en la boca aunque pueden diseminarse a otros tejidos u órganos ^(4,9).

2.1.1 Formas agudas

- Candidiasis pseudomembranosa
- Candidiasis eritematosa aguda

2.1.2 Formas crónicas

- Candidiasis eritematosa crónica
- Candidiasis hiperplásica crónica

2.1.3 Lesiones asociadas a Cándida

- Queilitis angular
- Glositis rómbica mediana
- Eritema gingival linear

2.2 Candidiasis secundaria

- Candidiasis mucocutánea crónica
-

2.3 Candidiasis Atrófica Crónica

Es un término aplicado a la inflamación de la mucosa de soporte de las prótesis afectando principalmente a la población de edad avanzada portadores de prótesis dental. Esta enfermedad es llamada también como: Estomatitis subprotésica.

Newton en 1962, propuso una clasificación de esta entidad basada en la apariencia clínica de inflamación de la mucosa de los maxilares por debajo de la prótesis:

- ❖ Tipo I: puntos eritematosos o áreas hiperémicas localizadas.

- ❖ Tipo II: zona difusa en los tejidos de soporte de la prótesis.

- ❖ Tipo III: lesión de aspecto papilomatoso.

La prevalencia de Candidiasis Atrófica Crónica en los pacientes que usan prótesis ha sido reportada entre un 25 a 65%. Esta patología es más común en pacientes con edades comprendidas entre 25 y 90 años predominando el sexo femenino ^(4,9).

La mayoría de los estudios realizados reportan que la etiología de la estomatitis subprotésica es multifactorial sin embargo, mencionan como causas las siguientes:

- ❖ Trauma ocasionado por la dentadura
- ❖ Mala higiene de la prótesis
- ❖ Reacción irritante y alergia al material de la base de la prótesis
- ❖ Factores dietéticos
- ❖ Infección micótica
- ❖ Factores sistémicos

El trauma producido por la dentadura ha sido frecuentemente citado como un posible factor predisponente en la etiología de la estomatitis subprotésica y las prótesis mal ajustadas con una incorrecta relación entre los maxilares pueden causar daño a los tejidos de soporte.

La mala higiene de la prótesis es también citada como un factor etiológico local, siendo los microorganismos y la placa dentobacteriana los factores irritantes.

Factores sistémicos actúan como factores predisponentes de la Candidiasis Bucal entre los cuales se mencionan: Infección por VIH, Síndrome de Sjogren, Diabetes, Hipotiroidismo, Neoplasias y deficiencias de minerales y vitaminas ⁽¹⁾.

2.3.1 Manifestaciones clínicas

Existen varios patrones clínicos de la enfermedad, los cuales pueden presentarse solos o combinados.

La Candidiasis atrófica crónica se puede observar como un área eritematosa con puntos localizados de hiperemia que representan las glándulas salivales palatales obstruidas.

La manifestación clínica más común es varios grados de eritema generalmente acompañado por hemorragias petequiales, localizadas en las áreas que ocupa una prótesis dental. También puede observarse un crecimiento hiperplásico formando estructuras papilares y algunas veces pápulas con eritema diseminado ^(4,8).

2.3.2 Tratamiento de la Candidiasis Atrófica Crónica

❖ Remoción de la prótesis y limpieza del área afectada.

La mayoría de pacientes no aceptan remover sus prótesis, por lo que se recomienda proceder de la siguiente manera:

- Colocar diariamente la prótesis dental en una solución de 4 gotas de cloro puro y medio vaso de agua, dejarla por 30 minutos luego lavar y cepillar con agua y jabón para eliminar todo el cloro.
- Aplicar antimicótico tópico en el interior de la prótesis dental, repetir 3 ó 4 veces al día.
- El paciente no debe de utilizar las prótesis durante la noche.
- Observar al paciente y continuar con un antimicótico tópico por 5 días después del desaparecimiento de las lesiones.
- Cuando la lesión no cede con el tratamiento tópico después de dos semanas y cuando se desea remisión rápida de la candidiasis y el paciente no presenta problemas hepáticos pueden administrarse antimicóticos sistémicos como el Fluconazol 400 mg 1 vez por semana hasta que remitan las lesiones

❖ Uso de antimicóticos

Preferiblemente basados en el diagnóstico microbiológico. Después de limpiar la prótesis, aplicar el antimicótico tópico (preferiblemente en ungüento para que se adhiera mejor a la prótesis y no se lave el medicamento con facilidad). Repetir 3 ó 4 veces al día. Dependiendo de la severidad de la lesión, aplicar en un periodo de 7 a 14 días ⁽⁹⁾.

Tomar en cuenta que después de la desaparición de las manifestaciones clínicas, se debe continuar el tratamiento por 3 a 5 días más, para eliminar el micelio vegetativo.

- Tópicos ⁽¹²⁾

Nistatina: Tópica en crema cubriendo el área de la lesión, suspensión de 4-6ml de 3 a 4 veces al día.

Clotrimazol 1%.

Miconazol crema, crema vaginal al 2%,

Ketoconazol 2%.

- Sistémicos ⁽¹²⁾

Previo a administrar este tipo de antimicóticos es necesario realizar un perfil hepático al paciente, sobre todo en adultos mayores porque son sustancias hepatotóxicas.

Sólo en casos especiales: cuando la candidosis no cede con el tratamiento tópico después de 2 semanas y/o cuando se desea la remisión rápida de la infección, y el paciente no presenta problemas hepáticos y/o renales. Se recomienda el tratamiento combinado de antimicóticos tópicos con sistémicos, entre ellos:

Fluconazol: 400 mg. 1 vez por semana hasta que remitan las lesiones o una dosis inicial de 200 mg. y luego 150 mg. diarios por 5 días.

Ketoconazol tabletas 200 mg. Tomar 1 tableta diaria con las comidas o con jugo de naranja o bebidas ácidas. Este medicamento es altamente hepatotóxico, por lo que se prefiere el uso del fluconazol.

3. PRUEBAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CANDIDA ALBICANS

Cándida Albicans es la especie del género que se aísla con mayor frecuencia. Entre las pruebas de identificación para las especies de levaduras del género Cándida, se encuentran la evaluación de las características macroscópicas de las colonias, pruebas fisiológicas y pruebas microscópicas ⁽²⁾.

- ❖ Observación de las **características macroscópicas** de la colonia, color de las colonias en el medio CHROMagar *Cándida*.
- ❖ Análisis de las **características fisiológicas**, como la prueba del tubo germinal o la termotolerancia, evaluación de características morfológicas, como la formación de clamidosporas o clamidoconidias, prueba de la ureasa, resistencia a la cicloheximida, fermentación de azúcares o zimograma.
- ❖ **Características micromorfológicas** con el uso de microcultivos en agar.

3.1 Prueba de Tubo Germinal

Es una de las pruebas más sencilla, rápida, económica y más utilizada, como prueba preliminar para la identificación del 90-95% de los aislados de *Cándida Albicans* y *C. dubliniensis*, es conocida también como prueba de filamentación en suero o filamentación precoz ^(2,3).

El tubo germinal es una extensión filamentososa de la levadura, sin estrechamiento en su origen, cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro veces mayor que la célula madre.

PRUEBAS HISTOPATOLÓGICAS DE OTRAS UNIVERSIDADES EN GUATEMALA

Son seis las Universidades en Guatemala donde se imparte la carrera de Cirujano Dentista. Siendo estas la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), Universidad de San Carlos de Guatemala con sede en Quetzaltenango (CUNOC), Universidad Francisco Marroquín (UFM), Universidad Mariano Galvez de Guatemala (UMG), Universidad Mariano Galvez de Quetzaltenango y Universidad Mesoamericana con sede en Quetzaltenango.

Las pruebas histopatológicas que se realizan en estas universidades ante la sospecha de presencia de *Candida Albicans* bucal en un paciente son:

- Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC): Prueba PAS en el laboratorio de histopatología César López Acevedo.
- Universidad de San Carlos de Guatemala con sede en Quetzaltenango (CUNOC): Se realiza un raspaje del área afectada y se envía a evaluar a un laboratorio externo a la Universidad.
- Universidad Francisco Marroquín (UFM): Se realiza un raspaje del área afectada y se envía a evaluar a un Laboratorio externo a la Universidad.
- Universidad Mariano Galvez de Guatemala (UMG): Se realiza un raspaje del área afectada y se envía a evaluar a un Laboratorio externo a la Universidad.
- Universidad Mariano Galvez de Quetzaltenango: Se realiza un raspaje del área afectada y se envía a evaluar a un Laboratorio externo a la Universidad.
- Universidad Mesoamericana con sede en Quetzaltenango: Se realiza un raspaje del área afectada y se envía a evaluar a un Laboratorio externo a la Universidad.

PRUEBA DE TUBO GERMINAL REALIZADAS EN GUATEMALA

- En Octubre del 2008 en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, se realizó un estudio con título de: “DETERMINACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ESPECIE DE Cándida EN PERSONAS VIVIENDO CON VIH/sida QUE ACUDEN A LA CLINICA FAMILIAR “LUIS ÁNGEL GARCÍA” DEL HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS”. En este estudio se aisló e identificó cada cepa mediante pruebas fenotípicas, por medio de formación de tubos germinales.

PRUEBAS DE TUBO GERMINAL REALIZADAS EN LATINOAMERICA

- En Caracas Venezuela en Junio del 2009 Duarte, A. et al. Realizaron un estudio titulado “**Modalidades de la prueba del tubo germinal**”. En este trabajo se revisan las diversas formas de realizar la prueba de tubo germinal y se describe una modalidad adicional, producto de la experiencia diaria en el trabajo de laboratorio, con la ventaja del ahorro de material de vidrio y tiempo. Se concluye que la prueba de tubo germinal es una prueba sencilla y rápida que puede ejecutarse de varias formas ⁽³⁾.
- En la Universidad Central de Venezuela (UCV) en 2009 se realizó un estudio titulado “**Pruebas para identificar especies de cándida en cavidad bucal**” cuyo objetivo es dar a conocer las técnicas de identificación más comúnmente utilizadas para identificar las especies de *Candida* en cavidad bucal, entre ellas la prueba de tubo germinal ⁽⁴⁾.
- En Buenos Aires, Argentina en el 2005 se realizó un estudio con el titulado “**Comparación de diferentes métodos para la identificación de especies del género Cándida**” cuyo objetivo era correlacionar los distintos estudios y comparar las técnicas que identifican Cándida Albicans ⁽⁷⁾.
- En Caracas Venezuela en Septiembre del 2009, se realizó un estudio titulado “**Candidiasis bucal: Una revisión sistemática de las pruebas de laboratorio.**” Cuyo objetivo era proporcionar una apreciación crítica de diversos trabajos y se determinó que las pruebas de laboratorio existentes poseen poca evidencia clínica acerca de su utilidad recomendando utilizar estudios que cumplan con los criterios de sensibilidad, especificidad y valor predictivo que garanticen su validez clínica ⁽¹⁾.

3.1.1 Procedimiento

La prueba de tubo germinal se realiza en un tubo que contiene 0,5 ml de suero, al cual se le inocula la cepa en estudio y se incuba a 37 °C. Según Mackenzie, esta temperatura pudiera estar en el rango comprendido entre 31°C y 41°C. Luego de 2-4 horas de incubación a 37 °C, con ayuda de una pipeta Pasteur o de un asa en forma de aro, se toma una porción del contenido del tubo, se coloca en una lámina, se cubre con laminilla y se observa al microscopio con objetivos de 10 y 40X. *Cándida Albicans* forma una pequeña prolongación filamentosa proveniente de la célula levaduriforme, sin constricción en el punto de origen, semejante a “un espejo de mano”, cuyo espesor puede medir alrededor de la mitad del diámetro de la levadura, y tener una longitud tres a cuatro veces mayor de dicho diámetro. Esta formación constituye el llamado tubo germinal ^(2,3).

El tubo germinal de *Cándida Albicans* puede formarse al inocularlas levaduras en suero humano, inclusive si el suero ha sido congelado y almacenado. También, se puede realizar en suero de diversos animales como perro, bovino, conejo, cochino de Guinea y caballo. En cambio, este no se forma en suero caliente coagulado. Sin embargo, esta prueba tiene como desventaja que entre un 5 a 10% de los aislamientos de *C. Albicans* no producen tubo germinal ^(2,3).

3.2 Prueba PAS

La técnica del ácido peryódico de Schiff (PAS) se utiliza para la detección de hidratos de carbono, libres o conjugados en los tejidos cuando están en cantidades relativamente grandes. La modificación química del tejido consiste en la oxidación mediante el ácido periódico (ácido periódico) de los enlaces entre los carbonos próximos que contienen grupos hidroxilos. Esto provoca la formación de grupos aldehídos que son reconocidos por el reactivo de Schiff, el cual se combina para dar un color rojizo.

Pone de manifiesto la presencia de hifas y blastosporas que se ramifican en la capa superficial del epitelio.

3.2.1 Procedimiento

- **Fijación:**

- Formol al 4%
- Ácido periódico al 0.5%
- Reactivo de Schiff:
 - Fucsina básica 1g.
 - 200 ml Agua destilada

Dejar enfriar.

- Agregar 20 ml de HCl
- Mantener en la oscuridad

- **Técnica de tinción**

- Desparafinar e hidratar en Xilol
- Ácido peryódico al 0.5%5 min.
- Lavar en agua
- Reactivo de Schiff.....25-30 min.
- Aclarar en 3 baños de agua sulfurosa.....2 min en cada una.
- Lavar en agua corriente
- Colorante de contraste
- Lavar con agua corriente
- Deshidratar, aclarar y montar.

- **Resultados:**

- Material PAS +: rojo oscuro o magenta.

Esta técnica será realizada por la técnica del laboratorio de histopatología de la Facultad de Odontología de la USAC.

3.2.2 Ventajas y Desventajas de las Tecnicas PAS y Prueba de Tubo Germinal

Tipo de Prueba	Ventajas	Desventajas
Prueba PAS		Es necesaria la utilización de sustancias reactivas.
		Tiempo y costo más elevados por requerimiento de mayor equipo.
		Procedimiento más elaborado y extenso.
Prueba de Tubo Germinal	Es práctica y sencilla	Un 5-10% de los aislamientos de <i>Cándida Albicans</i> que no produce aislamiento de Tubo Germinal.
	Brinda ahorro de material de tubos de ensayo, y pipetas.	
	No es necesaria la utilización de sustancias reactivas.	
	Ahorro de tiempo y costo.	

4. PACIENTE EDÉNTULO

En el medio actual en Guatemala las personas comienzan a perder las piezas dentarias desde muy temprana edad, en esta pérdida dentaria tienen un rol importante los factores asociados como: problemas socioeconómicos, edad, sexo, nivel cultural, ocupación, costumbres, hábitos, entre otros ^(13 15 18 14 17 20 16 19); estos factores asociados muchas veces determinan la elección de un tratamiento o dan lugar a no poderse realizar algún tratamiento de acuerdo a sus posibilidades económicas, la acción a tomar es considerada como un fenómeno complejo donde el resultado final se encuentra basado en la capacidad del paciente de comprar el medicamento y cambiar sus hábitos ^(2,18).

4.1 Definición de Edentulismo

Es la pérdida total de todos los dientes de uno o ambos maxilares por múltiples causas ⁽²²⁾. Generando cambios al sistema estomatognático, dando como resultado una disminución de contorno y redondeamiento de la cresta ósea alveolar residual ^(2,18).

4.3 Candidiasis oral y prótesis dentales

La Candidiasis es una de las tres principales causas de referencia de pacientes adultos mayores, junto con la sospecha de lesiones premalignas y cáncer, e inflamaciones orales vesículoerosivas. Para que se desarrolle la infección se debe considerar la capacidad de adhesión del hongo, la dieta del individuo, la composición de la saliva y los anticuerpos ^(2, 18).

Los factores que predisponen la candidiasis son: edad adulta, desnutrición, pobre higiene bucal, falta de cepillado en la lengua, tratamiento largo con antibióticos de amplio espectro, tratamiento con esteroides inhalados o sistémicos, gran cantidad de carbohidratos en dieta, deficiencia de folato y vitaminas B12, enfermedades endócrinas, SIDA y otros estados de inmunosupresión y xerostomía ^(2, 18).

En el paciente edéntulo es frecuente encontrar lesiones de Candidiasis Atrófica Crónica, por lo que numerosos estudios asocian la presencia de *Cándida Albicans* y estomatitis subprotésica.

Los factores que influyen para la presencia y severidad de la estomatitis por dentadura son: poco flujo salival, mala limpieza de la prótesis, material de la base de la prótesis, edad de la prótesis, traumas por la prótesis, fumar, factores dietéticos, pH y la infección por *Cándida Albicans*. La radioterapia induce xerostomía por lo que algunos autores la consideran el factor de la mayor predisposición, por el contrario otros indican que la higiene es el factor más importante, junto con el tiempo de uso y el uso nocturno de la prótesis; por lo tanto, el mantenimiento de una buena higiene en la prótesis es esencial para la prevención de estomatitis por dentadura. Al respecto, Kulak-Ozkan reporta 34% con Candidiasis Atrófica Crónica, higiene excelente, 15,7%; regular 35,7% y pobre 48,6% ^(2, 18).

4.2 Higiene de la Lengua

Una gran cantidad de bacterias se acumulan en la lengua, pudiendo ocasionar problemas de salud oral y de mal aliento. Para evitarlo es necesario **limpiar la lengua** diariamente. Luego de realizado el cepillado de los dientes es necesario un cepillado de la lengua, siendo este a modo de raspado desde la zona más interna de la lengua hacia la punta ⁽¹⁹⁾.

VII. OBJETIVOS

Objetivo General:

Comparar los resultados que brinda la Técnica PAS utilizada en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala con respecto a la Prueba de Tubo Germinal para determinar presencia de *Cándida Albicans* en la cavidad bucal de 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en las clínicas de la facultad infectados por el hongo.

Objetivos Específicos:

1. Determinar si existe diferencia estadísticamente significativa al comparar los resultados obtenidos de la Técnica de la Facultad de Odontología USAC (PAS) y la Prueba de Tubo Germinal, para determinar presencia de *Cándida Albicans* en pacientes edéntulos totales superiores atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
2. Analizar los resultados obtenidos y compararlos para determinar si el método del tubo germinal puede ser realizado en la Facultad de Odontología para el diagnóstico de *Cándida Albicans*.

VIII. HIPÓTESIS

H₀: No existe diferencia estadísticamente significativa con la utilización de la Técnica PAS utilizada en la Facultad de Odontología de la USAC y la Prueba de Tubo Germinal para determinar presencia de *Cándida Albicans* en 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala infectados por el hongo.

H_A: Si existe diferencia estadísticamente significativa con la utilización de la Técnica PAS utilizada en la Facultad de Odontología de la USAC y la Prueba de Tubo Germinal para determinar presencia de *Cándida Albicans* en 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala infectados por el hongo.

IX. VARIABLES

VARIABLES	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDICIÓN
PAS	Técnica del ácido peryódico de Schiff, se utiliza para la detección de hidratos de carbono, libres o conjugados en los tejidos cuando están en cantidades relativamente grandes.	Resultado de la prueba que brinda el Laboratorio de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.	Nominal Categorica	Presencia/Ausencia
Prueba de Tubo Germinal	Prueba preliminar para la identificación del 90-95% de los aislados de <i>Cándida Albicans</i>	Resultado de la prueba obtenida por las odontólogas practicantes examinadoras.	Nominal Categorica	Presencia/Ausencia
Cándida Albicans	Es un microorganismo acidófilo y acidógeno que forma parte de la microbiota accesoria o complementaria de la cavidad bucal.	Presencia o ausencia de Cándida Albicans en la cavidad bucal de los 60 pacientes elegidos.	Nominal Categorica	Presencia/Ausencia

X. METODOLOGÍA

MUESTRA

La muestra de esta investigación estuvo integrada por 60 pacientes edéntulos totales superiores, atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), año 2016.

Tipo de Estudio: Estudio comparativo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes que potencialmente eran portadores de *Cándida Albicans*.
- Pacientes con áreas eritematosas sospechosas de *Cándida Albicans*.
- Pacientes que utilicen prótesis total superior.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes que recibieron tratamiento contra *Cándida Albicans*.
- Pacientes con patologías nodulares en el paladar.
- Pacientes sometidos a radioterapia o quimioterapia que tengan diagnóstico de cáncer.
- Pacientes inmunosuprimidos.

MATERIALES

- 30 ml de suero bovino
- Tubos de ensayo
- Pipeta de Pasteur o Asa
- Laminilla portaobjetos
- Laminilla cubre objetos
- Espátula No. 7 estéril
- Incubadora
- Microscopio con objetivos de aumento 10X y 40X
- Computadora

- Impresora
- Papel
- Lapiceros
- Lápices
- Guantes
- Mascarilla
- Gorro

PROCEDIMIENTO

1. Se solicitó autorización por medio de una carta a Dirección de Clínicas, Disciplina de Prótesis Total, Departamento de Diagnóstico y Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología USAC para realizar el estudio.
2. Se seleccionaron 60 pacientes que potencialmente pudiesen estar infectados con *Cándida Albicans* según hallazgos encontrados en fases de Diagnóstico de la Facultad de Odontología USAC realizadas por las operadoras y los doctores que forman parte del departamento de diagnóstico.
3. Se le informó a cada paciente de todo el procedimiento a realizarse, solicitando que leyera o leerle y si está de acuerdo, firmó un consentimiento informado. En caso de que el paciente no pueda escribir será válido la utilización de su huella digital.
4. Se realizó la calibración de las odontólogas practicantes examinadoras* para obtener las muestras del estudio. Las operadoras realizaron la misma fuerza en el raspaje del área a estudiar, con el bajalenguas (técnica de la Facultad) y con la espátula No. 7 estéril parte activa en forma de cuchara (Prueba de Tubo Germinal).
5. Se dividió el paladar en cuatro sectores, dos anteriores y dos posteriores. Se eligió el lado más afectado (derecho/izquierdo) y se realizó una técnica en el sector anterior, y la otra técnica en el sector posterior (ambas del mismo lado).

*Nancy Andrea Ovalle Valladares y Jessica Cruz Cobas.

TÉCNICA PAS:

1. Se realizó un raspaje con bajalenguas en las áreas eritematosas o sospechosas de *Cándida Albicans*.
2. Se colocó la muestra en un portaobjetos y se fijó con el Spray Fijador Merckofix por 30 minutos.
3. Se lavó la muestra debajo del chorro de agua tenue por 5 minutos.
4. Se aplicó encima de la muestra una solución de Ácido Periódico Merck y se dejó reposar por 5 minutos.
5. Se lavó la muestra debajo del chorro de agua tenue por 5 minutos.
6. Se aplicó una solución de Reactivo de Schiff encima de la muestra y se dejó reposar de 15 a 30 minutos.
7. Se lavó la muestra en ácido sulfuroso 3 veces por 2 minutos.
8. Se lavó la muestra debajo del chorro de agua tenue por 5 minutos.
9. Se aplicó sobre la muestra una solución de Hematoxilina de Harris por 5 minutos.
10. Se lavó la muestra debajo del chorro de agua tenue por 5 minutos.
11. Se deshidrató la muestra en tres soluciones diferentes de Alcohol Isopropílico al 95%, por 5 minutos en cada Becker.
12. Se aclaró la muestra en tres soluciones diferentes de Xilol permaneciendo 5 minutos en cada Becker con solución.
13. Se montó la muestra con Merckoglass.
14. Se colocó el cubreobjetos sobre la muestra en el portaobjetos.
15. Se realizó el correspondiente análisis microbiológico para determinar la presencia o ausencia de *Cándida Albicans*.¹

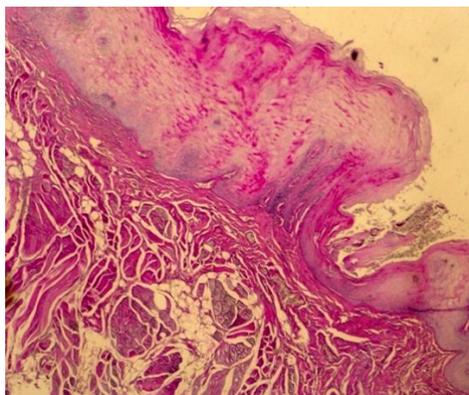


Figura 1. Detección de *Candida albicans* mediante coloración especial de PAS X 20.⁽⁸⁾

PRUEBA DEL TUBO GERMINAL:

1. Se realizó un raspaje de mucosa bucal, en especial del contorno de las lesiones con una espátula No. 7 parte activa en forma de cuchara estéril.
2. Se inoculó la cepa en estudio en un tubo de ensayo con 0,5 ml de solución fisiológica estéril.
3. Se incubó a 37 °C.
4. Se dejó 2 horas en incubación a 37 ° en la incubadora del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología USAC.
5. Con ayuda de una pipeta Pasteur, se tomó una porción del contenido del tubo, se colocó en un portaobjetos estéril.
6. Se cubrió la muestra del portaobjetos con un cubreobjeto estéril.(7)
7. Se observó al microscopio con objetivos de 10 y 40X para determinar la presencia o ausencia de *Candida Albicans*.
8. Se esperó observar unas pequeñas prolongaciones filamentosas, sin constricción en el punto de origen, semejante a “un espejo de mano”, cuyo espesor puede medir alrededor de la mitad del diámetro de la levadura, y tener una longitud tres a cuatro veces mayor de dicho diámetro como se observa en la siguiente imagen:

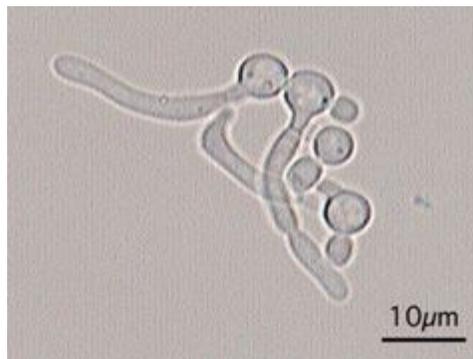


Figura 2. Producción de tubos germinales por *Cándida Albicans* cultivada en suero de Caballo a 37°C por 2-4 horas.⁽⁸⁾

XI. CONSIDERACIONES ÉTICAS

- Los 60 pacientes con lesiones de apariencia de Candidiasis bucal de la Facultad de Odontología USAC participaron en la investigación sólo si estaban de acuerdo con los valores e intereses de este estudio.
- Cada paciente tuvo la libertad de decidir si deseaba formar parte o no de la investigación.
- Se proporcionó al paciente un consentimiento informado para que firmara su aceptación de ser parte del estudio.
- Se garantizó la confidencialidad y privacidad de los resultados obtenidos durante la investigación.
- No se manipuló la información proporcionada por los pacientes bajo ningún motivo.
- Se aportó conocimientos y los resultados de la investigación para solucionar o a explicar los problemas de salud investigados.
- Al finalizar el estudio se le informó a cada paciente de los resultados del mismo, así como de los cuidados que deben tener en su higiene bucal y de su prótesis para no tener Candidiasis. Se les entregó un kit limpiador de prótesis dental en forma de tabletas efervescentes.

XII. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados del estudio en cuadros estadísticos, los cuales fueron obtenidos luego de comparar los resultados que brinda la Técnica PAS utilizada en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala con respecto a la Prueba de Tubo Germinal para determinar la presencia de *Cándida Albicans* en la cavidad bucal de 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en las clínicas de la Facultad infectados por el hongo.

CUADRO No. 1

Resultados de Técnica PAS realizada a 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, para determinar la presencia de *Cándida Albicans*, año 2016.

Resultados	F	fr	%
Positivo	4	0.07	6.67%
Negativo	56	0.93	93.33%
Totales	60	1	100%

Fuente: Prueba realizada en el laboratorio de Patología de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

De las 60 muestras analizadas el 93.33% de estas dieron resultado negativo (n=56/60) y el 6.67% dieron un resultado positivo (n=4/60).

CUADRO No. 2

Resultados de Prueba de Tubo Germinal realizada a 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, para determinar la presencia de *Cándida Albicans*, año 2016.

Resultados	F	fr	%
Positivo	0	0	0%
Negativo	60	1	100%
Totales	60	1	100%

Fuente: Prueba realizada en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

De las 60 muestras analizadas el 100% de estas dieron resultado negativo (n=60/60).

CUADRO No. 3

Comparación de Resultados de Técnica PAS y Prueba de Tubo Germinal realizada a 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, para determinar la presencia de *Cándida Albicans*, año 2016.

Resultados			
Técnica	Positivo	Negativo	Totales
PAS	4	56	60
Tubo Germinal	0	60	60
Totales	4	116	120

Fuente: Pruebas realizadas en los laboratorios de Patología y Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

De las 60 muestras analizadas el 100% de estas dieron resultado negativo (n=60/60).

Las 120 muestras fueron analizadas mediante la prueba estadística Chi² obteniendo un valor de P= 1 con el que se puede establecer que no existe diferencia estadísticamente significativa con la utilización de la Técnica PAS utilizada en la Facultad de Odontología de la USAC y la Prueba de Tubo Germinal para determinar la presencia de *Cándida Albicans* en 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala infectados por el hongo.

XIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El resultado del presente estudio se obtuvo luego de realizar la Prueba de Tubo Germinal en la cavidad bucal de 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en las clínicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala a los que se les indicaba la realización de la Técnica PAS para descartar estar infectados por el hongo.

A los 60 pacientes se les realizaron dos frotos, el primer frote para llevar a cabo la Técnica PAS siguiendo el protocolo de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala y el segundo frote para llevar a cabo la Prueba de Tubo Germinal. Luego de realizadas ambas pruebas y obtener el resultado de cada una en la detección de *Cándida Albicans* ^(8,10) fueron comparadas.

Los resultados de la Técnica PAS realizada a la muestra de 60 pacientes edéntulos superiores, 4 dieron positivo a la presencia de *Cándida Albicans*, mientras que en la Prueba de Tubo Germinal todos los resultados dieron negativo a la presencia del hongo. Aproximadamente un 5% de cepas de *Candida Albicans* dan negativa la prueba de los tubos germinales. Si se utiliza un inóculo demasiado abundante de levaduras, también pueden obtenerse falsos resultados negativos⁽⁶⁾.

Luego de obtenidos los resultados de ambas pruebas para identificar especies de *Cándida* en la cavidad bucal ⁽⁴⁾ y basado en los resultados de la prueba estadística Chi^2 con un valor de $P= 1$ se pudo establecer que no existe diferencia estadísticamente significativa con la utilización de la Técnica PAS utilizada en la Facultad de Odontología de la USAC y la Prueba de Tubo Germinal para determinar la presencia de *Cándida Albicans* en 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala infectados por el hongo.

XIV. CONCLUSIONES

Luego de comparar los resultados de la Técnica PAS y la Prueba de Tubo Germinal, para determinar la presencia de *Cándida Albicans* en la cavidad bucal de 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en las clínicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala durante el año 2016, se llegó a las siguientes conclusiones:

1. El 93.33% (n=56/60) de los resultados obtenidos con la Técnica PAS fueron negativo, mientras que con la Prueba de Tubo Germinal, el 100% (n=60/60) fueron negativo.
2. El 6.67% (n=4/60) de los resultados obtenidos con la Técnica PAS fueron positivo, mientras que con la Prueba de Tubo Germinal, ninguna prueba dio un resultado positivo (n=0/60).
3. No existe diferencia estadísticamente significativa con la utilización de la Técnica PAS utilizada en la Facultad de Odontología de la USAC y la Prueba de Tubo Germinal para determinar la presencia de *Cándida Albicans* en 60 pacientes edéntulos totales superiores atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala infectados por el hongo.
4. Con base en los resultados obtenidos se puede utilizar indistintamente la Técnica PAS y la Prueba de Tubo Germinal para determinar la presencia de *Cándida Albicans* en la cavidad bucal de pacientes edéntulos totales superiores atendidos en las clínicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

XV. RECOMENDACIONES

1. Previo a reforzar técnicas de higiene al paciente, realizar alvios a las prótesis dentales o brindar tratamiento para Cándida Albicans, realizar toma de la muestra para PAS.
2. Instruir a los estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala la forma adecuada de realizar una correcta recolección de la muestra para la toma de PAS.
3. Se recomienda realizar más estudios como este, para cuestionar y comparar muchas de las técnicas utilizadas por años en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala y así actualizarlas.

XVI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Añez, A. et al. (2009). **Candidiasis bucal: Una revisión sistemática de las pruebas de laboratorio.** Fundación Acta Odontológica Venezolana. 47(3): 1-8.
2. Devlin, H. (2002). **Complete dentures. A clinical manual for the general dental practitioner.** Berlin, Germany. Springer . Pp. 109
3. Duarte, A. et al. (2009). **Modalidades de la prueba del tubo germinal.** Rev. Soc. Ven. Microbiol. 27 (1): 1.
4. Guiliarte, C. y Pardi, G. (2009). **Pruebas para identificar especies de cándida en cavidad bucal.** Fundación Acta Odontológica Venezolana. 47(3): 1-7.
5. Lazarde, J. (2001). **Estomatitis subprotésica.** Fundación Acta Odontológica Venezolana. 39(3): 1-3
6. Linares, M.J. (2007). **Identificación de levaduras.** Revista Iberoamericana de Micología. 24 (2): 11-1, 11-2.
7. López, C. et al. (2005). **Comparación de diferentes métodos para la identificación de especies del género Cándida.** Rev. Argentina de microbiología. 37(16): 1-6.
8. Marsh, P. D. et al. (2011). **Microbiología Oral.** 5^a ed. Caracas, Venezuela: Amolca: P.p 175.
9. Mendoza, M. (2005). **Importancia de la identificación de levaduras.** Rev Soc Venez Microbiol. 25(1): 13-21.
10. Ministerio de Salud. (2007). **Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas: Identificación de Principales levaduras.** Lima, Perú: Instituto Nacional de Salud. pp. 38-39.
11. Mitchell, et al. (2007). **Compendio de Robbins y Cotran "Patología Estructural y Funcional"** 7^a ed. Madrid, España: Elsevier. pp 877.
12. Negroni, M. (2005). **Microbiología estomatológica: fundamentos y guía** Buenos Aires, Argentina: Panamericana. p.p. 363-368.



13. Neville, W. et al. (2009). **Oral and Maxillofacial Pathology**. 3ª. ed. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier: p.p. 231-223.
14. Ozawa, D, J. (1995) **Prostodoncia Total**. Mexico: UNAM. p.p. 25
15. Paiz Mendez, W. (2008) **Determinación y caracterización de especie de cándida en**
16. **personas viviendo con vih/sida que acuden a la clínica familiar "Luis Ángel García" del hospital general San Juan de Dios**. Tesis (Química Bióloga) Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 64 p.
17. Murray, P. et al. (2005). **Microbiología médica**. 5ª. ed. Madrid: Elsevier
18. Pemán, J. et al. (2007). **Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica**. (Identificación de Levaduras). Revista Iberoamericana de Micología. Bilbao. 2ª. ed. cap. 11.
19. Philip S. et al. (2005). **Patología oral y maxilofacial contemporánea**. 2ª. ed. Madrid, España: Elsevier. pp. 464.
20. Reichart P. y Philipsen H. (2000). **Atlas de patología oral**. España. Masson. pp. 284.
21. Rodriguez, J. et al. (2002). **Candidiasis de la mucosa bucal: Revisión Bibliográfica**. Rev. Cubana Estomatol. 39(2): 187-233.
22. Tyldesley W. (1992). **Atlas de Enfermedades Orofaciales**. 2ª Ed. Madrid, España: Ediciones Avances Medico-Dentales, S.L. Pp. 316.
23. Vidal García, M.C. et al. (2003). **Utilidad de las pruebas microbiológicas, histológicas e inmunológicas en el diagnóstico de candidiasis oral**. Revista de la Semg. no. 59: 672-676.
24. Vilata, J. (2006). **Micosis cutáneas**. Madrid, España: Editorial Médica. pp. 100-102.
25. Winn, K. et al. (2008). **Diagnóstico microbilógico: Texto y atlas en color**. Trad. Octavio Giovaniello. 6ª. ed. Barcelona, España: Ed. Médica Panamericana. P.p. 1165.



XVII. ANEXOS

INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS					
Nombre del Paciente	Fecha	Técnica PAS		Prueba de Tubo Germinal	
1)		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
2)		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
3)		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
4)		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
5)		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
6)		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
...60)		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo

GLOSARIO

1. **Ácido Peryódico:** o Periódico, contiene yodo y se utiliza para provocar reacciones biológicas en asociación con el reactivo de Schiff.
2. **Clamidosporas:** Parte de una hifa que se rodea de una pared gruesa y se separa del micelio parental. Se comporta como una espora de resistencia. En general de forma redondeada.
3. **Edentulismo:** es la pérdida de alguno de los dientes en una persona adulta, fuera del periodo infantil.
4. **Hemostasia:** Detención espontánea o artificial de un flujo sanguíneo o hemorragia.
5. **Huesped:** Organismo vivo en cuyo cuerpo se aloja un parásito.

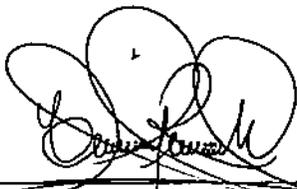
El contenido de esta Tesis es única y exclusiva responsabilidad del autora.

Br. Nancy Andrea Ovalle Valladares

FIRMAS DE TESIS DE GRADO



Nancy Andrea Ovalle Valladares
Sustentante



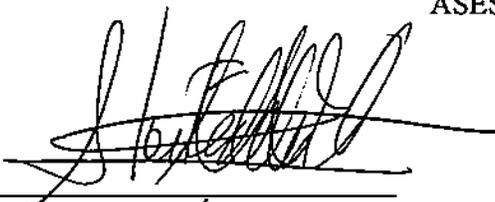
Dra. Claudeth Recinos Martinez
Cirujana Dentista
ASESORA



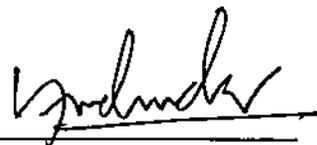
Dra. Carmen Alicia Morates
Cirujana Dentista
ASESORA



Dr. Gustavo Adolfo de la Roca
Cirujano Dentista
ASESOR

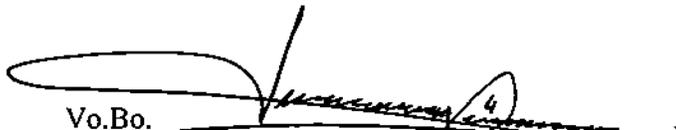


Dr. José Fernando Ávila González
Cirujano Dentista
PRIMER REVISOR
Comisión de Tesis



Dr. Bruno Manuel Wehncke Azurdia
Cirujano Dentista
SEGUNDO REVISOR
Comisión de Tesis

IMPRÍMASE



Vo.Bo.

Dr. Julio Rolando Pineda Córdón
Secretario Académico
Facultad de Odontología

