

Análisis microscópico de la adherencia de *Candida albicans* “in vitro” sobre resina acrílica utilizada para bases de dentaduras.

Enrique Romo Arévalo⁽¹⁾, Víctor Moreno Maldonado⁽¹⁾, Silvia Antuna Bizarro⁽²⁾, Teresa Fortoul Van Der Goes⁽²⁾, Bertha Muñoz Hernández⁽³⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Prostodoncia Total, Facultad de Odontología UNAM,

⁽²⁾ Departamento de Biología Celular y Tisular, Facultad de Medicina UNAM,

⁽³⁾Laboratorio de Micología Médica, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias INER.

Responsable, Enrique Romo Arévalo: dr_roaren@yahoo.com.mx

Introducción: Conforme los dientes se pierden los sitios disponibles para la colonización microbiana van cambiando y son los aparatos protésicos que sustituyen a los dientes perdidos, los que proporcionan un medio protegido en el cual los microorganismos pueden adherirse y multiplicarse. Estos microorganismos son causantes de procesos infecciosos como es la estomatitis protésica, esta es una condición patológica eritematosa de la mucosa bucal en pacientes portadores de prótesis y se asume que *Candida albicans* tiene un papel de suma importancia en el inicio, mantenimiento y agravamiento de esta enfermedad.

Dichas prótesis están compuestas generalmente de resina acrílica de polimetilmetacrilato (PMMA) y la técnica de procesamiento con que es elaborada se asocia con características en su superficie y la adherencia de microorganismos. Debido a que estos factores se asocian con la estomatitis protésica es de interés estudiar el efecto que puede tener la técnica de procesamiento en las características de la adherencia de *Candida albicans* sobre la resina acrílica.

Material y Métodos: Fueron elaboradas 18 muestras de PMMA de 7mm x 7mm x 4mm, con tres técnicas de procesamiento (6 de termo-polimerizado con inyección, 6 de auto y termo-polimerizado con inyección y 6 de polimerizado mediante microondas). Las muestras se desinfectaron en alcohol al 70% durante cinco minutos y se lavaron con agua estéril para eliminar el alcohol. Estas muestras se introdujeron en placas de cultivo celular de 24 pozos con 1.5 ml de una suspensión en caldo de soya tripticasa con *Candida albicans* a 0.8 OD520 y se incubaron a 37°C con agitación durante 24 y 48 hrs. Transcurrido estos tiempos las muestras se lavaron con PBS y se fijaron durante 5 min. en alcohol absoluto, posteriormente se procede a un control de humedad mediante sílica gel y dichas muestras se montaron en balines de latón y se ionizaron durante 3 min. a 1500 KV y 10µA para obtener sobre estas una capa de oro – paladio. Se realizaron observaciones mediante el microscopio electrónico de barrido JEOL JSM35CF a 15 KV y se obtuvieron fotografías a 600x, 1500x y 6000x, que se utilizan para observar las características de la superficie del PMMA y de la adherencia del microorganismo.

Resultados: La resina elaborada con termo-polimerizado con inyección presenta poros de 1 a 2 micras de diámetro, a 24hrs de inoculación se observan blastoconidios y formación de pseudomicelio mientras a 48hrs hay numerosas células en gemación. En el auto y termo-polimerizado con inyección hay poros de .5 a 5 micras así como grietas de 100 micras de largo, a 24hrs los blastoconidios tienen forma irregular con colapso en su superficie en tanto a 48hrs hay pseudomicelios, gemación y las células siguen presentando irregularidades. En el polimerizado mediante microondas hay poros de 1 a 5 micras, a 24hrs hay pseudomicelios y células en gemación, tanto que a 48hrs la formación de pseudomicelios es mayor así como la gemación.

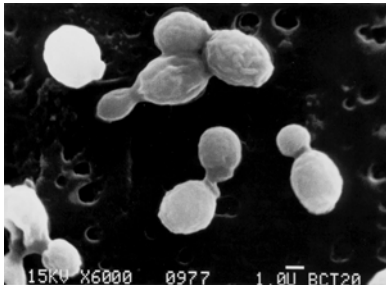


Fig 1. Blastoconidios de *Candida albicans* en gemación adheridos en la superficie del PMMA elaborado con termo-polimerizado. Cultivo a 48 hrs, 6000x.

Discusión: De acuerdo con investigaciones previas realizadas por Waltimo, Ramaje⁸ y Gordon¹¹, coincidimos en la capacidad de adherencia y colonización de *Candida albicans* al PMMA en ausencia de proteínas específicas de la saliva y de coagregación con otros microorganismos

Las biopelículas se definen como comunidades microbianas estructuradas que se encuentran unidas a una superficie mediante una matriz de material exopolimérico¹¹. Según ciclos biológicos propuestos por diversos autores^{11, 12} *Candida albicans* forma una biopelícula bien establecida que incluye blastoconidios, pseudohifas e hifas verdaderas de estado maduro. Nuestros resultados demuestran que la biopelícula formada en estos periodos de tiempo consta únicamente de blastoconidios y de acuerdo con el mismo autor¹¹ el dimorfismo por sí solo no es un requisito previo absoluto para la formación de la biopelícula.

En estudios previos de adherencia de *Candida albicans* al PMMA realizados por Chandra et al¹², se observó que este microorganismo a partir de las 11 hrs de inoculación, empieza a aglutinarse en las áreas irregulares de la resina acrílica, lo cual crea reservorios protegidos para el hongo. Nosotros coincidimos con estos resultados, pues se observó principalmente en las muestras procesadas con la técnica de auto y termo-polimerizado y polimerizado mediante microondas que *Candida albicans* se aglutina y reproduce en los defectos de estas superficies a las 24 y 48 hrs de inoculación. Es de señalar en acuerdo con otros autores^{7, 8, 9, 10, 11}, la importancia del estudio de las biopelículas formadas por *Candida albicans* mediante el uso del MEB. Ya que actualmente es un método sumamente confiable, práctico y valioso que permite observar la superficie del espécimen, así como la arquitectura de las comunidades microbianas que en ella se establecen.

Referencias:

1. Anusavice 1999, La ciencia de los materiales dentales de Phillips. Editorial Mc Graw Hill, 10ª Edición, p.p 3-7, 219-270.
2. Ramage Gordon, Saville P. Biofilm of *Candida albicans*: A update. Eukaryotic Cell 2005 Vol 4, n 4. p 633-638.
3. Nikawa H, Samaranayake L. Effects on dietary sugars and, saliva and serum on *Candida* biofilm formation on acrylic surfaces. Mycopath 1997; 139: 87-91.
4. Verran J, Christopher M. Retención of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. J. Prosthet Dent 1997; 77: 535-539.
5. Nikawa H, Taizo H. Binding of Salivary or Serum proteins to *Candida albicans* In Vitro. Archs Oral Biol 1990; 35:571-573.
6. Nikawa H, Taizo H. Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles, *Candida albicans* in vitro. Part I Effects on fungal growth. J. Oral Rehabil 2000;27:41-51.
7. Nikawa H, Egusa H. Alteration of the coadherence of *Candida albicans* with oral bacterial by dietary sugars. Oral Microbiol Immunol 2001; 16: 279-284.
8. Waltimo T, Johanna T. Adherence of *Candida albicans* to the surface of Polimethylmethacrilate-E Glass Fiber Composite Used in Dentures. Int J. Prosthodont. 1999; 12: 83-86.
9. Adam B, Baillie GS. Mixed species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis*. J Med Microbiol 2002; 51: 344-349.
10. Okita N, Orstavik D. In vitro and in vivo studies on soft denture materials: microbial adhesion and tests for antibacterial activity. Dent Mater 1991; 7: 155-160.
11. Ramage Gordon, Saville P. Stephen. Biofilm of *Candida albicans*. A update. Eukaryotic Cell, April 2005, p 633 – 638, Vol 4, No 4.
12. Chandra Jyotsna. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: Development, architecture, and drug resistance. Journal of Bacteriology, September 2001 p 5385-5394, Vol 183, No 18.