

Análisis Microbiológico del Fluido Crevicular para Determinar Presencia de *Candida albicans* en Bolsas Periodontales de Sujetos Adultos

Microbiological Analysis of Crevicular Fluid to Determine Presence of *Candida albicans* in Periodontal Pockets of Adult Subjects

Fabiola Gutiérrez Romero¹; Milagritos Moreno Sosa²; César-Augusto Padilla-Avalos³ & Rafael Morales-Vadillo⁴

GUTIÉRREZ, R. F.; MORENO, S. F.; PADILLA-AVALOS, C. A. & MORALES-VADILLO, R. Análisis microbiológico del fluido crevicular para determinar presencia de *Candida albicans* en bolsas periodontales de sujetos adultos. *Int. J. Odontostomat.*, 16(1):1-6, 2022.

RESUMEN: El objetivo de este trabajo fue establecer la asociación entre la profundidad de bolsa periodontal y la presencia de *Candida albicans* en el fluido crevicular de sujetos adultos con salud gingival y periodontitis, recibidos en el área de la Maestría en Periodoncia de un Centro Odontológico. El estudio estuvo conformado por 81 muestras de fluido crevicular obtenidas con un cono de papel N° 40. Fueron distribuidas en tres grupos: G1: 20 muestras del grupo control (salud gingival), G2: 32 muestras de bolsas con profundidad de 4-6 mm y G3: 29 muestras de bolsas con profundidad >6mm; que fueron colocadas en Caldo Sabouraud Dextrosa para su transporte al laboratorio, donde fue cultivado en Agar Sabouraud Dextrosa por 48 h a 37 °C. Posteriormente se realizó tinción a las colonias y prueba de tubo germinal para la confirmación de la presencia de *Candida albicans*. Del total de muestras, 12 (14,8 %) evidenciaron presencia de *Candida albicans*, de las cuales 6 (18,8 %) pertenecían al grupo de bolsas con profundidad de 4-6 mm y las otras 6 (20,7 %) pertenecían al grupo de bolsas con profundidad >6mm. En el grupo control, no se observó presencia de *Candida albicans*. Los pacientes con salud gingival no presentaron *Candida albicans*. Sin embargo, la *Candida albicans* estuvo presente en pacientes con bolsas periodontales de 4-6 mm y >6 mm (14,8 %). No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre presencia de *Candida albicans* con profundidad de bolsa periodontal (p=0,849).

PALABRAS CLAVE: *Candida albicans*, periodontitis, bolsa periodontal.

INTRODUCTION

La periodontitis es una enfermedad crónica, inflamatoria y multifactorial; asociada a un biofilm de placa disbiótica. Sus características incluyen: pérdida y destrucción progresiva del tejido de soporte periodontal, que se manifiesta con la pérdida de inserción clínica (CAL) y del hueso alveolar (evaluado radiográficamente), la presencia de bolsas periodontales y sangrado gingival. La periodontitis es considerada un importante problema de salud pública

dada su alta prevalencia y por el potencial a conducir la pérdida y discapacidad dental, afectando la función masticatoria, estética y perjudicando la calidad de vida. Esta enfermedad, es responsable de una proporción sustancial del edentulismo, y tiene un impacto negativo en la salud general (Papapanou *et al.*, 2018).

Diversas comunidades microbianas se desarrollan a nivel subgingival, adheridas a las superficies

¹ Cirujano Dentista. Maestra en Periodoncia. Facultad de Odontología, Universidad de San Martín de Porres (FO-USMP), Lima, Perú. <https://orcid.org/0000-0002-1929-0306>

² Cirujano Dentista. Facultad de Odontología, Universidad de San Martín de Porres (FO-USMP), Lima, Perú. <https://orcid.org/0000-0002-4101-501X>

³ Cirujano Dentista. Maestro en Periodoncia. Facultad de Odontología, Universidad de San Martín de Porres (FO-USMP), Lima, Perú. <https://orcid.org/0000-0002-8436-4113>

⁴ Cirujano Dentista. Doctor en Educación. Especialista en Estadística en Investigación. Facultad de Odontología, Universidad de San Martín de Porres (FO-USMP), Lima, Perú. <http://orcid.org/0000-0002-7835-6408>.

radiculares de los dientes y nutricionalmente, dependen del líquido crevicular gingival, un exudado similar al suero que fluye positivamente hacia el surco desde los tejidos gingivales adyacentes y, en menor medida, de los nutrientes salivales o dietéticos. Estas comunidades microbianas subgingivales están compuestas por bacterias, arqueas, hongos y virus (Curtis *et al.*, 2020).

La *Candida albicans* (*C. albicans*) es la levadura comensal y patológica más encontrada en la cavidad bucal. Se ha informado que la prevalencia de *C. albicans* en la cavidad oral es del 30-45 % en adultos sanos y se considera que el dorso de la lengua es el hábitat oral principal de *C. albicans*, mientras que otros sitios pueden estar colonizados de forma secundaria. Dichos sitios incluyen la mucosa, los tejidos gingivales, la dentina y las bolsas periodontales (De la Torre-Luna *et al.*, 2020). Clínicamente se han encontrado comunidades bacterianas de *C. albicans* en otros nichos bucales, incluidos las bolsas periodontales y los conductos endodónticos (O'Donnell *et al.*, 2015). Se ha evidenciado que la presencia de *Candida* spp. en áreas subgingivales (incluso cuando no se encuentran en la lengua) indican que las biopelículas subgingivales podrían ser un reservorio potencial de estos microorganismos (Petrovic *et al.*, 2019).

En efecto, algunos estudios han reportado que pacientes con periodontitis presentan colonización por *Candida* con mayor frecuencia y en mayor cantidad. De *C. albicans*, siendo ésta, la especie más común en estos pacientes y es reconocida como la más patógena, presentando algunas propiedades y factores de virulencia que la hacen candidata a jugar un papel en la patogénesis, progresión y mantenimiento de las lesiones de Periodontitis (De-La-Torre *et al.*, 2018).

Estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales apoyan la relación entre patógenos periodontales e inflamación debido a la enfermedad periodontal con enfermedad sistémica, mostrando el impacto directo e indirecto de éstos microorganismos sobre la salud en general (Bui *et al.*, 2019).

Por tanto, la presente investigación tuvo como objetivo: establecer la asociación entre la profundidad de bolsa periodontal y la presencia de *Candida albicans* en el fluido crevicular de sujetos adultos con salud gingival y periodontitis, recibidos en el área de la Maestría en Periodoncia de un Centro Odontológico.

MATERIAL Y MÉTODO

El tipo de investigación fue observacional, analítico, prospectivo y transversal. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Martín de Porres. Se registró el consentimiento informado para realizar la toma de muestra del fluido crevicular en pacientes recibidos en el área de la Maestría en Periodoncia del mismo Centro Odontológico.

Muestra y criterios de selección. El muestreo fue de tipo aleatorio simple por conveniencia. Se obtuvo un total de 81 muestras, divididas en tres grupos. Grupo 1 o control: 20 muestras obtenidas de surco gingival de pacientes con salud gingival. Grupo 2: 32 muestras obtenidas de bolsas periodontales de 4 - 6mm de profundidad, correspondientes al estadio III de Periodontitis. Grupo 3: 29 muestras obtenidas de bolsas periodontales > 6mm de profundidad, correspondientes al estadio IV de Periodontitis.

Fueron incluidos pacientes de ambos sexos, mayores de 18 años de edad, sistémicamente sanos y fueron excluidos del estudio: pacientes que presentarán algún síndrome, diabetes mellitus, estado de gestación, pacientes fumadores, pacientes en tratamiento anti fúngico vía sistémica, o con tratamiento farmacológico durante 6 meses antes de la toma de muestra, pacientes que estén usando algún colutorio bucal o que hayan recibido tratamiento periodontal previo.

Los pacientes fueron seleccionados de acuerdo a los datos de la historia clínica de acuerdo a los registros de mediciones en el periodontograma.

Toma de muestra y análisis microbiológico. La zona de donde se tomó la muestra fue aislada y secada con gasa estéril para introducir un cono de papel Nº 40 por 30 segundos en el surco gingival o bolsa periodontal. El cono de papel fue depositado en un microtubo que contenía 1,5 ml de Caldo Dextrosa Sabouraud de la marca Liofilchem® (Teramo Italia) para su transporte al laboratorio de microbiología. El microtubo se colocó en el mezclador vortex por 30 segundos y con una micropipeta se obtuvo 100 µL de la muestra para su cultivo en el Agar Sabouraud Dextrosa de la marca Liofilchem® (Teramo Italia) a 37 °C por 48 horas en condiciones aerobias. (El cultivo se realizó en una cabina de seguridad microbiológica para evitar contaminación de la muestra). Después del tiem-

po establecido se observó el crecimiento en el Agar (Fig. 1). Si existía crecimiento, se realizaba el conteo de colonias y se registraba en la ficha de cada muestra. Posteriormente, se realizó una Tinción Gram para la identificación del microorganismo con la ayuda del microscopio de 40X y 100X (Fig. 2), si la tinción era compatible con levaduras se realizaba la prueba de Tubo Germinal para la identificación de *C. albicans* (Fig. 3).



Fig. 1 Crecimiento de *Candida albicans* en el Agar Sabouraud Dextrose.

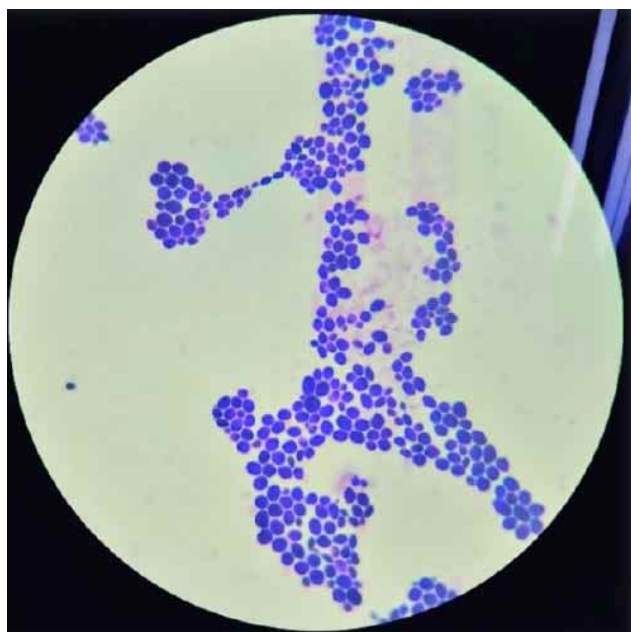


Fig. 2 Presencia de levaduras en el análisis de tinción Gram.

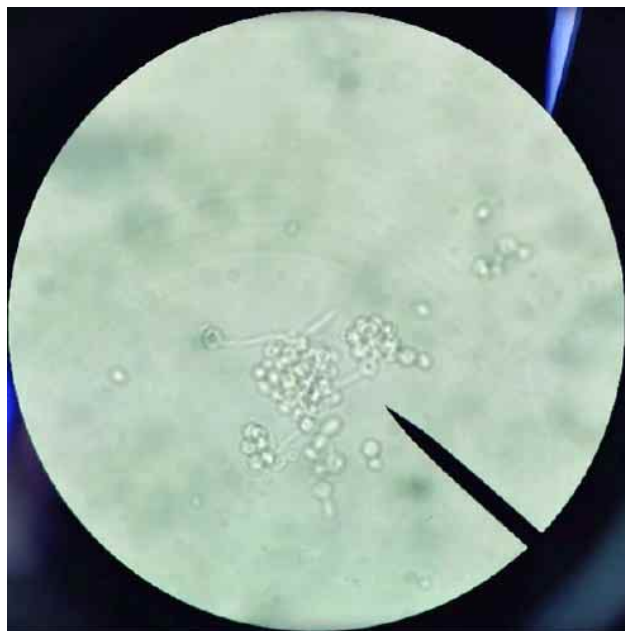


Fig. 3 Presencia de *Candida albicans* evidenciada por la Prueba del Tubo Germinal.

Análisis Estadístico. Todos los valores encontrados fueron considerados con significancia estadística por debajo del 0,05 ($p < 0,05$). El análisis se llevó a cabo utilizando el programa IBM SPSS Statistics V25 y se realizó la prueba estadística de Chi cuadrado.

RESULTADOS

En la presente investigación, del total de muestras tomadas ($n=81$): el 54 % ($n=44$) correspondieron a pacientes del sexo femenino mientras que el 46 % ($n=37$) fueron del sexo masculino. La edad de los participantes estuvo distribuida de 20 a 79 años con una edad media de 43 años. En el grupo control de pacientes con salud gingival ($n=20$) no se encontró presencia de *C. albicans*; sin embargo, en el grupo de bolsa periodontal se halló *C. albicans* en: 6 muestras (18,8 %) para el grupo de profundidad de 4-6 mm ($n=32$) y en el grupo de bolsa periodontal >6 mm de profundidad ($n=29$), se hallaron de igual manera 6 muestras (20,7 %) con *C. albicans* (Tabla I).

Al evaluar la relación de la presencia de *C. albicans* en los pacientes con bolsas periodontales de 4 – 6 mm y > 6 mm, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre presencia de *C. albicans* con profundidad de bolsa periodontal para ambos grupos ($p=0,849$).

Tabla I. Presencia de *Candida albicans* según profundidad al sondaje (salud gingival, bolsa periodontal de 4-6 mm y >6 mm).

		Presencia de <i>Candida albicans</i>				Total	
		No		Si		N	%
		n	%	n	%		
Profundidad al sondaje	Salud	20	100,0 %	0	0,0 %	20	100,0 %
	4-6 mm	26	81,2 %	6	18,8 %	32	100,0 %
	>6 mm	23	79,3 %	6	20,7 %	29	100,0 %
Total		69	85,2 %	12	14,8 %	81	100,0 %

Valor de significancia (P=0,849) según Chi-cuadrado de Pearson.

DISCUSIÓN

La progresión de la periodontitis es conducida por colonización de microorganismos patógenos y formación de biopelículas que favorecen la desestabilización del epitelio de unión (adelgazamiento y ulceración), lo que resulta en una mayor propagación de la microbioma a nivel subgingival que con factores de virulencia influyen en la ruptura del epitelio de unión, pérdida de inserción y desarrollo de bolsas periodontales (Donos, 2017). Es así como la biodiversidad ecológica del microambiente periodontal puede proporcionar las condiciones adecuadas para la colonización de diferentes especies que normalmente no se consideran miembros de la microbiota oral (Colombo *et al.*, 2016).

La *C. albicans* se encuentra entre las especies de hongos más prevalentes de la microbiota humana y coloniza asintóticamente a individuos sanos. Sin embargo, también es un patógeno oportunista que puede causar infecciones del torrente sanguíneo graves y, a menudo, fatales. La *C. albicans* generalmente depende de su capacidad para formar biopelículas, que son comunidades de células muy compactas que se adhieren a superficies, como tejidos y dispositivos biomédicos implantados (Lohse *et al.*, 2018). En efecto algunos estudios plantean la teoría de que especies de *Candida*, al conformar el biofilm subgingival, se asocian a bacterias anaerobias, que podrían participar activamente en la patogenia de la periodontitis, debido a que la *C. albicans* secreta proteinasas capaces de degradar el colágeno y fibronectina (mecanismo similar a la *Porfiriomona gingivalis*) (Rubio *et al.*, 2015).

En el presente estudio, se obtuvieron muestras de pacientes con salud gingival (grupo control) y muestras de pacientes con bolsas periodontales compatibles con Periodontitis Estadío III (profundidades de 4-6 mm) y Estadío IV (profundidades >6 mm). Dado el tamaño de la muestra, no se encontró *C. albicans* en el grupo control; sin embargo, el 14,8 % del total de

casos (muestras de bolsa periodontal de 4-6 mm y >6 mm), presentaron *C. albicans*.

En un estudio similar, evaluaron a 76 sujetos sistémicamente sanos en una Clínica Universitaria de Odontología, y se tomaron muestras microbiológicas de bolsas periodontales con una profundidad de sondaje mayor a 5 mm, detectando una prevalencia del 13,2 % de levaduras en pacientes con periodontitis (Ardila Medina *et al.*, 2014), siendo ésta, una tasa de prevalencia muy parecida a la del presente trabajo.

En otra investigación microbiológica se utilizó el mismo protocolo para determinar la presencia de *Candida* a nivel subgingival en periodontitis: tomaron muestras de placa subgingival con conos de papel estériles y lo cultivaron en Agar Sabouraud Dextrosa y evidenciaron una prevalencia de 26,8 % especies de *Candida* en bolsas periodontales (Arumugam, 2015).

Del mismo modo, otro estudio, evaluó la presencia de levaduras en la microbioma subgingival de 26 sujetos adultos con periodontitis en el rango de 36 a 66 años, y encontraron *C. albicans* en el 7,7 % de los pacientes evaluados; concluyendo que la presencia de ésta levadura, podría estar relacionada a condiciones sistémicas y que éstos nichos periodontales serían el reservorio para estos patógenos oportunistas (Villa Huertas *et al.*, 2015). Asimismo, una investigación reveló que en muestras microbiológicas de 155 pacientes, la mitad de ellos, presentaron *C. albicans*, siendo en mayor frecuencia y cantidad la formación de colonias de *Candida* en bolsas periodontales (De-La-Torre *et al.*).

Estudios han determinado que las especies más relacionadas con la inflamación periodontal y la destrucción de los tejidos son: enterobacterias, *C. albicans*, *Neisseria spp.*, *P. aeruginosa*, *O. uli*, *Hafnia alvei*, *Serratia marcescens* y *Filifactor alocis*. Por lo tanto, la

relevancia de detectar este tipo de microorganismos en cavidad oral, son de importancia médica. Independientemente de su rol en la salud o enfermedad periodontal, estos patógenos periodontales pueden ser fuente de diseminación y desarrollo de infecciones sistémicas (Colombo *et al.*). De esta manera, una investigación ha evidenciado la frecuencia de *Candida* en pacientes con periodontitis condicionado por el estado diabético. Reforzando que la prevalencia de hifas (forma virulenta de *C. albicans*), es mayor en diabéticos y el aumento de la carga oral de especies de *Candida* puede producirse por aumento de los niveles de glucosa, aumentando la colonización de estas especies en las bolsas periodontales (Venkatesan *et al.*, 2015).

CONCLUSIÓN

En el presente estudio se ha evidenciado la presencia de *C. albicans* en bolsas periodontales de pacientes compatibles con periodontitis estadio III y IV según la Clasificación de Enfermedades y Condiciones Periodontales - Peri implantares 2017. Aspecto relevante a considerar por su posible rol coadyuvante dentro de la patogénesis de la enfermedad periodontal. La presencia secundaria y colonización de la *C. albicans* en los tejidos periodontales podría deberse a inmunosupresión local producida por la bacteriemia de la enfermedad.

La presencia de *C. albicans* se convierte en un factor relevante para determinar el rol de cada periodontopatógeno en el microbioma oral, y éste podría ser un indicador para la progresión de la periodontitis. Se necesitan estudios con un mayor número de muestras, y pruebas con alto potencial diagnóstico para obtener la detección precisa de las diferentes especies de *Candida* como biología molecular y técnicas de secuenciación genómica. Esto permitirá establecer protocolos de tratamiento para reducir y / o erradicar la presencia de *C. albicans* en bolsas periodontales.

GUTIÉRREZ, R. F.; MORENO, S. F.; PADILLA-AVALOS, C. A. & MORALES-VADILLO, R. Microbiological analysis of crevicular fluid to determine presence of *Candida albicans* in periodontal pockets of adult subjects. *Int. J. Odontostomat.*, 16(1):1-6, 2022.

ABSTRACT: The aim of this work was to establish the association between the depth of the periodontal pocket and the presence of *Candida albicans* in the crevicular fluid

of adult subjects with gingival health and periodontitis, received in the area of the Master in Periodontology of a Dental Center. The study consisted of 81 samples of crevicular fluid obtained with a No. 40 paper cone. They were distributed into three groups: G1: 20 samples from the control group (gingival health), G2: 32 samples from pockets with depth of 4-6 mm and G3: 29 samples from pockets with depth >6 mm; which were placed in Sabouraud Dextrose Broth for transport to the laboratory, where it was cultivated in Sabouraud Dextrose Agar for 48h at 37 °C. Subsequently, colony staining and a germ tube test were performed to confirm the presence of *Candida albicans*. Of the total samples, 12 (14.8 %) showed the presence of *Candida albicans*, of which 6 (18.8 %) belonged to the group of pockets with depth of 4-6 mm and the other 6 (20.7 %) belonged to the group of bags with depth >6mm. In the control group, no presence of *Candida albicans* was observed. The patients with gingival health did not present *Candida albicans*. However, *Candida albicans* was present in patients with periodontal pockets of 4-6 mm and >6 mm (14.8 %). No statistically significant difference was found between the presence of *Candida albicans* with depth of the periodontal pocket ($p=0.849$).

KEY WORDS: *Candida albicans*, periodontitis, periodontal pocket.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ardila Medina, C.; López Gaviria, M. & Guzmán Zuluaga, I. Prevalencia de *Cándida* y asociación con periodontopatógenos presentes en placa subgingival de pacientes con periodontitis crónica. *Av. Periodoncia Implantol. Oral*, 26(3):129134, 2014.
- Arumugam, M. Comparative evaluation of subgingival occurrence of *Candida* species in chronic periodontitis and peri-implantitis: a clinical and microbiological study. *Int. J. Clin. Implant Dent.*, 1(3):95-100, 2015.
- Bui, F.; Almeida-da-Silva, C.; Huynh, B.; Trinh, A.; Liu, J.; Woodward, J.; Asadi, H. & Ojcius, D. Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomed. J.*, 42(1):27-35, 2019.
- Colombo, A. P. V.; Magalhães, C.; Hartenbach, F.; Martins do Souto, R. & da Silva-Boghossian, C. M. Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. *Microb. Pathog.*, 94:27-34, 2016.
- Curtis, M.; Diaz, P. & Van Dyke, T. The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontol.* 2000, 83(1):14-25, 2020.
- De la Torre-Luna, R.; Domínguez-Pérez, R.; Guillén-Nepita, A.; Ayala-Herrera, J.; Martínez-Martínez, R.; Romero-Ayala, M.; Pérez-Serrano, R. & Vázquez-Garcidueñas, M. Prevalence of *Candida albicans* in primary endodontic infections associated with a higher frequency of apical periodontitis in type two diabetes mellitus patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 39(1):131-8, 2020.
- De-La-Torre, J.; Quindós, G.; Marcos-Arias, C.; Marichalar-Mendia, X.; Gainza, ML.; Eraso, E.; Acha-Sagredo, A. & Aguirre-Urizar, J. Oral *Candida* colonization in patients with chronic periodontitis. Is there any relationship? *Rev. Iberoam. Micol.*, 35(3):134-9, 2018.
- Donos, N. The periodontal pocket. *Periodontol.* 2000., 76(1):7-15, 2017.

- Lohse, M.; Gulati, M.; Johnson, A. & Nobile, C. Development and regulation of single-and multi-species *Candida albicans* biofilms. *Nat. Rev. Microbiol.*, 16(1):19-31, 2018.
- O'Donnell, L.; Millhouse, E.; Sherry, L.; Kean, R.; Malcolm, J.; Nile, C. & Ramage, G. Polymicrobial *Candida* biofilms: friends and foe in the oral cavity. *FEMS Yeast Res.*, 15(7):fov077, 2015.
- Papapanou, P.; Sanz, M.; Buduneli, N.; Dietrich, T.; Feres, M.; Fine, D. & Flemmig, T. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J. Periodontol.*, 89(1):S173-S182, 2018.
- Petrovic, S. M.; Radunovic, M.; Barac, M.; Pficer, J. K.; Pavlica, D.; Arsenijevic, V. A. & Pucar, A. Subgingival areas as potential reservoirs of different *Candida* spp in type 2 diabetes patients and healthy subjects. *PLoS One*, 14(1):e0210527, 2019.
- Rubio, N.; Puia, S.; Toranzo, S. & Brusca, M. Invasión fúngica en tejido conectivo en pacientes con enfermedad gingivo-periodontal. *Rev. Iberoam. Micol.*, 32(1):20-24, 2015.
- Venkatesan, G.; Uppoor, A.; Naik, D.; Kadkampally, D. & Maddi, A. Oral *Candida* carriage and morphotype differentiation in chronic periodontitis patients with and without diabetes in the Indian sub-Continent. *Dent. J.*, 3(4):123-31, 2015.
- Villa Huertas, A.; Amezquita, A.; Tascón, A. & Jaramillo, A. Presencia de levaduras en pacientes con periodontitis. *Rev. Colomb. Investig. Odontol.*, 6(16):1-7, 2015.

Dirección para correspondencia:

César-Augusto Padilla-Avalos
Maestría en Periodoncia
Facultad de Odontología
Universidad de San Martín de Porres (FO-USMP)
Lima
PERÚ

E-mail: cesarpadilla160@gmail.com