



Facultad de Odontología

RELACIÓN ENTRE LA ENERGÍA SUPERFICIAL DE DOS MARCAS DE
POLIMETILMETACRILATO, CON LA ADHERENCIA DE LA CANDIDA ALBICANS, EN UN
ESTUDIO IN VITRO

Tesis para obtener el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTORA

Cabanillas Bravo, Betty Rocío

ASESOR

Esp. Mallma Medina, Adrián Segundo

JURADO

Mg. Garcia Rupaya, Carmen Rosa

Mg. Medina y Mendoza, Julia Elbia

Mg. Chuna Espinoza, Jorge Dante

Lima-Perú

2019

Índice

Caratula.....	I
Índice.....	II
Resumen.....	IV
Abstract.....	V
I. Introducción.....	1
1.1 Descripción y formulación del problema.....	2
1.2 Antecedentes.....	2
1.3 Objetivos.....	9
- Objetivo General.....	9
- Objetivos Específicos.....	9
1.4 Justificación.....	10
1.5 Hipótesis.....	10
II. Marco teórico.....	11
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	11
III. Método.....	29
3.1 Tipo de investigación.....	29
3.2 Ámbito temporal y espacial.....	29
3.3 Variables.....	29
3.4 Población y muestra.....	29
3.5 Instrumentos.....	29
3.6 Procedimientos.....	29
3.7 Análisis de datos.....	32
IV. Resultados.....	33
V. Discusión de resultados.....	52
VI. Conclusiones.....	58
VII. Recomendaciones.....	59

VIII. Referencias.....	61
IX. Anexos.....	66

Resumen

Es deseable tener un biomaterial cuyas superficies no sean adherentes a las células bacterianas ni fúngicas, ya que estas en colonias son responsables de la patogénesis de un organismo. En este sentido, es necesario conocer qué tipo de resina acrílica (polimetilmetacrilato o PMMA), es el que menos adherencia tiene en relación a la *Candida Albicans*. El objetivo de la presente investigación es comparar la relación existente entre la energía superficial de dos marcas de PMMA, con la adherencia de la *Candida Albicans*. Se prepararan 15 muestras de PMMA de la marca Triplex y Vitacryl de las siguientes medidas 15 x 10 x 1 mm, cada una de estas muestras pasa por un proceso de pulido estandarizado, luego se mide el ángulo de contacto entre líquidos con distintas energías superficiales (agua, glicerol, formamida, dietilglicol y dimetilsulfoxido) y las superficies de las muestras. Con estos valores, matemáticamente se halla el valor de la energía superficial de cada muestra de PMMA. Se inocula en cada acrílico *Candida Albicans* incubándolo por dos horas a 37° C, una vez terminado se aclara con solución PBS, una vez que las muestras estén secas se añade el colorante naranja de acridina por 10 minutos, se deja secar y se observa en un microscopio de fluorescencia. Sobre cada muestra se realiza el recuento de nueve campos. Existe una alta correlación entre la energía superficial y la adherencia de *Candida Albicans* en Triplex ($r=0.9559$) y Vitacryl ($r=0.9496$). La energía superficial del PMMA entre las ambas marcas presentan diferencias significativas (0.767) y la adherencia de *Candida Albicans* al polimetilmetacrilato (PMMA) presentan resultados similares, tienen una diferencia promedio de 1.06, que no es estadísticamente significativa, $P > 0.05$. Se concluye que no existe diferencia significativa entre la adherencia de *Candida Albicans* entre una marca y otra.

Palabras clave: *Candida Albicans*, energía superficial, ángulo de contacto, PMMA.

Abstract

It is desirable to have a biomaterial whose surfaces are not adherent to bacterial or fungal cells, since these in colonies are responsible for the pathogenesis of an organism. In this sense, it is necessary to know what type of acrylic resin (polymethylmethacrylate), is the one that has less adherence in relation to *Candida Albicans*. The aim of the present investigation is to compare the relationship between the surface energy of two polymethylmethacrylate brands, with the adhesion of *Candida Albicans*, in an in vitro study. Prepare 15 samples of PMMA of the brand Triplex and Vitacryl each with the measurements 15 x 10 x 1 mm, each of these samples goes through a standardized polishing process, then measure the contact angle between liquids with different surface energies (water, glycerol, formamide, diethyl glycol and dimethylsulfoxide) and the surfaces of the samples. With these values, mathematically is the surface energy of each sample of PMMA. Each *Candida Albicans* acrylic is inoculated by incubating it for two hours at 37° C, once it is finished, it is rinsed with PBS solution, once the samples are dry, the orange acridine dye is added for 10 minutes, it is allowed to dry and it is observed in a fluorescence microscope. A count of nine fields is performed on each sample. There is a high correlation between the surface energy and the adhesion of *Candida Albicans* in Triplex ($r = 0.9559$) and Vitacryl ($r = 0.9496$). The surface energy of the polymethylmethacrylate (PMMA) between the two brands show significant differences (0.767) and the adhesion of *Candida Albicans* to polymethylmethacrylate (PMMA) present similar results, have an average difference of 1.06, which is not statistically significant, $P > 0.05$. It is concluded that there is no significant difference between the adherence of *Candida Albicans* between one brand and another.

Key words: *Candida Albicans*, surface energy, contact angle, PMMA.

I. Introducción

Los biomateriales se pueden definir como materiales biológicos comunes tales como piel, madera, o cualquier elemento que reemplace la función de los tejidos o de los órganos vivos. En otros términos, un biomaterial es una sustancia farmacológicamente inerte diseñada para ser implantada o incorporada dentro del sistema vivo.

Los biomateriales se implantan con el objeto de reemplazar y/o restaurar tejidos vivientes y sus funciones, lo que implica que están expuestos de modo temporal o permanente a fluidos del cuerpo, aunque en realidad pueden estar localizados fuera del propio cuerpo, incluyéndose en esta categoría a la mayor parte de los materiales dentales que tradicionalmente han sido tratados por separado.

Debido a que los biomateriales restauran funciones de tejidos vivos y órganos en el cuerpo, es esencial entender las relaciones existentes entre las propiedades, funciones y estructuras de los materiales biológicos, por lo que son estudiados bajo tres aspectos fundamentales: materiales biológicos, materiales de implante y la interacción existente entre ellos dentro del cuerpo. Dispositivos como miembros artificiales, amplificadores de sonido para el oído y prótesis faciales externas, no son considerados como implantes.

Una de las propiedades físicas que se han estudiado en la presente investigación es la energía superficial, esta influye directamente en la cantidad de microorganismos que puede retener la superficie de un biomaterial, como bacterias y hongos. El estudio de la misma puede determinar la presencia o ausencia de enfermedad en organismos vivos.

La energía superficial se define como la suma de todas las fuerzas intermoleculares que se encuentran en la superficie de un material, es decir el grado de atracción o repulsión que la superficie de un material ejerce sobre otro. Entonces, podemos definir la tensión superficial como la resistencia que presenta un líquido a deformarse o romperse, dicha resistencia viene

definida directamente por las fuerzas intermoleculares que se encuentran en la superficie. Por ejemplo, cuando el sustrato dispone de una alta energía superficial, es decir que tiene tendencia para atraer, y el adhesivo dispone de una baja tensión superficial, tiene poca resistencia a deformarse o romperse, es cuando se produce un buen mojado del adhesivo sobre el sustrato.

1.1 Descripción y formulación del problema

Los biomateriales son sustancias artificiales (polímeros, cerámicas, metales, etc.), utilizadas en organismos vivos para modificar o reemplazar algún tejido, órgano o función. Es deseable tener un biomaterial cuyas superficies no sean adherentes a las células bacterianas ni fúngicas, ya que estas en colonias son responsables de la patogénesis de un organismo. El conocimiento de las características que influyen en la adherencia de dichas colonias, deben ser tomadas en cuenta en la elección y procesamiento de las mismas. Una de dichas características es que la energía superficial de los microorganismos y los biomateriales, ya que estas son directamente proporcionales a la retención de células que tiene, entre una y otra.

En este sentido, es necesario conocer qué tipo de resina acrílica (polimetilmetacrilato), es el que menos adherencia tiene en relación a la *Candida Albicans*. Este aporte sería significativo sobre todo en pacientes inmunodeprimidos, ya que son las personas más propensas a adquirir estomatitis subprotésica, que está directamente relacionada con la colonización de la misma.

1.2 Antecedentes

Samaranayake y MacFarlane (1980) realizaron el primer trabajo que consideró correctamente la adhesión de *C. Albicans* a la resina acrílica *in vitro*. Siguieron un protocolo

previamente descrito para la adherencia de bacterias sobre hidroxiapatita de Liljemark y Schauer. Para medir la adherencia de *Candida Albicans* utilizaron tiras acrílicas transparentes de 5 x 5 mm cuadradas y 0,5 mm de espesor que se colocaron verticalmente en los recipientes de una placa de serología de fondo plano a la que se agregaron suspensiones de *C. albicans* en PBS, pH 7.2, 0.15 M. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 1 h en un agitador orbital. Las tiras se retiraron de los recipientes y se lavaron 5 veces durante 15 s con una suave agitación manual. Las levaduras unidas a las tiras se fijaron en metanol y se tiñeron usando una técnica de Gram modificada. Justificaron el uso de resina acrílica por el hecho de que este material mostró poca diferencia en la rugosidad superficial entre resina auto-curada y resina termo-curada. Sin embargo, no se tienen en cuenta las diferencias de la energía libre de los dos materiales.

Minagi (1985) realizó una investigación que llevo como título “Hydrophobic Interaction in *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. Adherence to Various Denture Base Resin Materials”. Este estudio in vitro experimental en tuvo como objetivo conocer los efectos de las hidrofobicidades de las superficies del sustrato sobre la adherencia microbiana. Se examinaron mediante el uso de *Candida albicans* y *Candida tropicalis* sobre una muestra de 21 materiales de resinas acrílicas usadas como bases de dentadura. El procedimiento comenzó por la elección de los organismos, estos fueron la *C. albicans* IF01385 y *C. tropicalis* IF01400 que fueron mantenidos en glucosa Sabouraud. Se utilizaron placas de 10x10 mm de nueve materiales de resina de termocurado, dos materiales de resina autocurables, nueve revestimientos suaves de dentadura postiza y se utilizó un material de resina de polisulfona. Células adherentes en 10 campos de alta potencia (14 mm²) fueron contados por un microscopio y totalizado. La cantidad media de células adherentes \pm la desviación estándar para siete placas se calculó. Los ángulos de contacto de Young hallados

de agua destilada en las placas de resina se midieron mediante la técnica de proyección horizontal con un medidor de ángulo de contacto. Al medir el ángulo de contacto de los hongos, el roano fúngico preparado en un filtro de membrana (tamaño de poro, 0.45, μm ; Millipore, Corp., Bedford, Mass). Los resultados arrojan los ángulos de contacto del agua destilada sobre las placas de resina y el número de células de *C. albicans* y *C. tropicalis* adherente a placas de resina. Con el aumento del ángulo de contacto, un número creciente de células adherentes de *C. tropicalis*, se redujo el número de células adherentes de *C. albicans* observado. El ángulo de contacto de *C. albicans* era más pequeño y el de *C. tropicalis* era más grande que los de cualquier material de base de la dentadura. Desde los ángulos de contacto del agua destilada en placas de resina y la tensión superficial del agua destilada, la superficie libre la energía de las placas de resina se calculó. La relación entre la energía libre de superficie de las placas de resina y la adherencia de *C. albicans* y *C. tropicalis*. Se observaron relaciones cercanas entre la superficie libre energías de placas de resina y adherencias de *C. albicans* (coeficiente de correlación $[r] = 0.720$) y *C. tropicalis* ($r = -0.781$). Aumentando la energía libre de superficie de las placas de resina resultó en una mayor adherencia de *C. albicans*, mientras que resultó en la disminución de la adherencia de *C. tropicalis*. El cambio de la energía libre que acompaña la adherencia por unidad de área de adherencia (AGa) se obtuvo de la energía libre interfacial entre la placa y el hongo (γ_{SF}), la placa y el medio líquido (γ_{SL}) y el hongo y el medio líquido (γ_{FL}). Los valores de AGa fueron todos negativos, y una disminución de AGa resultó en una mayor adherencia de ambos *C. albicans* ($r = -0.707$) y *C. tropicalis* ($r = -0.768$). Las conclusiones fueron que con el aumento de la energía libre de superficie de placas de resina, aumenta la adherencia de *C. albicans* y disminuye la adherencia de *C. tropicalis*. La energía libre de superficie de *C. albicans* es más alta que la de todas las superficies de material de resina, y *C. tropicalis* tiene

energía superficial libre más baja que la de todos los materiales utilizados. En el cálculo de los cambios de energía libre que acompañan a la adherencia, la mayor tendencia de adherencia se acompañó de un menor valor para el cambio de energía libre en ambas especies. Desde un punto de vista diferente, cuanto más cerca esté la energía libre de superficie de la superficie del sustrato y el microorganismo, mayor fue la probabilidad de adherencia.

Serrano (2002) realiza una investigación de tesis doctoral que lleva por título “Estudio in vitro de la adherencia de *Candida Albicans* a las resinas acrílicas” que tiene por objetivo medir la energía superficial del polimetilmetacrilato y la adherencia de *Candida Albicans* en ella, a través la obtención de la tensión superficial de los sólidos y la cuantificación de la retención de *Candida Albicans* evaluados mediante la máquina de centelleo y el conteo de número de colonias por campo. La muestra está compuesta por 50 placas (15 x 10 x 1 mm) de resina acrílica. Se comenzó el procedimiento eligiendo la cepa de referencia de *C. albicans* y 11 PMMA diferentes (Vacalon, Inkotherm 85, Veracril, Probase Cold, Inkotherm Press, Inkotherm 85 T, Ruthinium, Vertex, SR Ivocap, Idoacryl, Lucitone). La adhesión de *C. albicans* se determinó por recuento de microorganismos bajo microscopio óptico fluorescente, y la energía superficial de las resinas se calculó por el método del ángulo de contacto. Se procesaron los datos obtenidos aplicándoles un test paramétrico de análisis de la varianza, los valores de recuento, tanto por el método óptico como por el de marcaje, en algunos casos cumplen de forma límite los requisitos de distribución normal y homogeneidad de la muestra necesarios para la aplicación correcta del test paramétrico, por ello se ha procedido también a realizar un test no paramétrico de Kruskal-Wallis para la aplicación del cual, no son necesarios los criterios de homogeneidad y distribución normal. Los distintos valores de adhesión de *Candida albicans* se comparan con los diferentes

valores de tensión superficial de las muestras de PMMA por medio obtenidos tanto por el método de recuento óptico como para los obtenidos por recuento de cámara de centelleo, no obteniéndose valores significativos en ninguno de los casos de un análisis de regresión simple, este procedimiento se realiza para los valores. La conclusión fue que la adhesión de *Candida albicans* a diferentes resinas varió *in vitro*, posiblemente como resultado de la acción de productos de pospolimerización residuales. De acuerdo con estos resultados, las variaciones en la energía superficial que resultan de las diferencias en la composición de las diferentes resinas de PMMA parecen no tener influencia sobre la adhesión de *Candida albicans* o, por lo tanto, sobre el inicio de la estomatitis protésica. La discusión se realiza básicamente sobre el método de estudio de la adhesión de microorganismos a polímeros plásticos, y concretamente de *Candida albicans* a PMMA, no está determinado de forma estandarizada de tal modo que exista un protocolo experimental, los sistemas más comúnmente empleados son el recuento óptico de microorganismos por campo y el marcaje de microorganismos con elementos radiactivos como metionina [³⁵S] o uridina [³H] para el posterior recuento mediante cámara de centelleo. Otros sistemas menos empleados son el recuento por medio de microscopio electrónico, determinación de la variación del pH, o la capacidad de crecimiento de colonias después de diluciones seriadas. La diversidad de métodos empleados hace difícil la comparación de resultados, incluso empleando un mismo sistema, al no existir un protocolo establecido, cada autor o grupo de trabajo emplea la cepa de *Candida albicans* que le parece más adecuada para su estudio, igual ocurre con respecto a la concentración de levaduras, tiempo y temperatura de incubación, procedimiento para eliminar levaduras no adheridas o método de tinción.

Kang (2013) realiza una investigación sobre la influencia de las características de la superficie en la adhesión de *Candida albicans* a diversos materiales de revestimiento de la

dentadura. El objetivo principal fue evaluar la influencia de las características de la superficie de varios materiales de revestimiento de prótesis sobre la adherencia de *Candida albicans*. En este estudio se seleccionaron cuatro tipos diferentes de materiales (acondicionadores de tejidos, revestimientos suaves acrílicos y de silicona y materiales de revestimiento rígidos). Se prepararon muestras de material en forma de disco y se midieron sus valores de rugosidad superficial usando un perfilómetro. Los ángulos de contacto de cuatro líquidos de referencia se midieron en las superficies del material y los parámetros de energía superficial (energía superficial total, componentes de ácido y base, grado de hidrofobicidad / hidrofiliidad) de los materiales se calcularon de acuerdo con la teoría ácido base. Las muestras se incubaron con *Candida albicans* y los hongos adheridos se cuantificaron usando el método de recuento de colonias. Los revestimientos suaves acrílicos eran más hidrófilos que los otros materiales. En general, los revestimientos acrílicos blandos y acondicionadores de tejido mostraron una adhesión de *Candida* significativamente mayor que los revestimientos suaves de silicona y los materiales de revestimiento duro ($p < 0.05$). El análisis de correlación de Pearson indicó que el componente base y el grado de hidrofobicidad / hidrofiliidad de los materiales ($p = 0.005 / 0.008$), en lugar de la energía superficial total y la rugosidad superficial ($p = 0.093 / 0.057$), afectaron la adherencia de *C. albicans* en una forma estadísticamente significativa. La conclusión final del estudio fue la adhesión de *C. albicans* a los materiales del revestimiento de la dentadura puede explicarse en términos de interacciones interfacial ácido-base.

Pineda y Mosquera (2017) realizó una investigación que llevo como título “Adherencia de *Candida albicans* a resinas acrílicas y poliamidas”. Este estudio in vitro experimental tuvo por objetivo determinar la adherencia de *Candida albicans* a resinas acrílicas y poliamidas. El procedimiento consto en la realización de 12 prótesis dentales: seis parciales

acrílicas, elaboradas bajo la técnica de termo-curado, y seis en poliamidas mediante inyección; para el análisis se tomaron muestras de 2 mm de bordes irregulares, de diferentes zonas de la prótesis y se evaluaron variables tales como temperatura, tiempo de cocción, tipo de pulido, tipo de material para brillar, presencia de porosidades, tipo de abrasivo y aditamento para retirar excesos; las muestras se mantuvieron en agua destilada por dos días para retirar los excesos de monómero y posteriormente fueron incubadas en una suspensión de *Candida albicans* de referencia ATCC 10231 y evaluadas por microscopía electrónica de barrido. Los resultados fueron que al observar la adherencia por microscopía electrónica de barrido se halló menos crecimiento en relación con las muestras elaboradas en acrílico. No se encontró diferencia estadísticamente significativa en la adherencia y las variables analizadas tipo de abrasivo, tipo de pulido, temperatura de cocción, presencia de porosidades, tipo de prótesis y material para brillar. Solo se encontró asociación estadística significativa entre tipo de pulido y tipo de abrasivo ($p < 0,05$). La adherencia se había planteado como variable dependiente, pero en el análisis se observó adherencia de *C. albicans* tanto en resinas acrílicas como en poliamidas siendo menor en esta última. En las resinas elaboradas en acrílicos se observaron poros, grietas, blastonidias y pseudomicelios. En las muestras de poliamidas también se observaron estos mismos hallazgos, pero en menor proporción. Siendo la variable asociada el abrasivo y tipo de pulido, el que obtuvo un $\chi^2 = 29,481$ con un $p = 0,43$; las porosidades y la temperatura de cocción un $\chi^2 = 0,8$ con un $p = 0,371$; el tipo de pulido y tipo de prótesis un $\chi^2 = 5,206$ con un $p = 0,267$; el tipo de abrasivo y presencia de porosidades un $\chi^2 = 8,400$ con un $p = 0,299$; el tipo de muestra y presencia de porosidades un $\chi^2 = 0,000$ con un $p = 1,000$; el material para brillar y tipo de pulido un $\chi^2 = 5,321$ con un $p = 0,503$; el tipo de cono de silicona para pulir y tipo de pulido un $\chi^2 = 6,874$ con un $p = 0,550$. Como conclusión, el presente estudio corrobora la capacidad

de adherencia de *Candida albicans* a resinas acrílicas y poliamidas; los procedimientos de elaboración y acabado final son un factor determinante en la adherencia de este microorganismo a materiales dentales. La adherencia a poliamidas fue inferior que a las resinas acrílicas, sin embargo, las áreas donde hay porosidades, rugosidades y mal pulido fue donde hubo mayor crecimiento, ya que estos sitios pueden proporcionar una mayor retención para las células. *Candida albicans* tiene gran capacidad de adherencia a materiales no solo a células del hospedero sino también a materiales inertes en este caso a poliamidas y resinas acrílicas, esto en gran parte se debe a lo que reporta la literatura sobre las características químicas y estructurales de su pared celular.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Comparar, la relación existente entre la energía superficial de dos marcas de polimetilmetacrilato, con la adherencia de la *Candida Albicans*, en un estudio in vitro.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar la relación de la energía superficial y la adherencia de *Candida Albicans* en Triplex.
2. Evaluar la relación de la energía superficial y la adherencia de *Candida Albicans* en Vitacryl.
3. Medir y comparar la energía superficial del polimetilmetacrilato (PMMA) entre las marcas Triplex y Vitacryl.
4. Medir y comparar la adherencia de *Candida Albicans* al polimetilmetacrilato entre la marca Triplex y Vitacryl.

5. Comparar la relación de la energía superficial del polimetilmetacrilato (PMMA) con la adherencia de *Candida Albicans* de Triplex y Vitacryl.

1.4 Justificación

Dentro del sistema estomatognático, una de las alteraciones más frecuentes es la pérdida de piezas dentarias produciendo un edentulismo parcial o total, lo cual significa la búsqueda de tratamientos de rehabilitación oral mediante prótesis parcial o completa, en ambos casos el material base para dichas prótesis es la resina acrílica termopolimerizable. La falta de manejo clínico, técnico y el incumplimiento de las indicaciones del profesional al paciente, sumado con un sistema inmune deprimido puede ocasionar enfermedades oportunistas como la Estomatitis subprotésica que se encuentra directamente relacionada con la colonización de diferentes patógenos, entre ellos la *Candida Albicans*. Además de los factores ya mencionados, existen factores propios de resina acrílica derivados de cada empresa fabricante, que puede actuar directamente en la mayor o menor retención de placa bacteriana.

Una de las finalidades de esta investigación es dar a conocer la resina acrílica más apropiada, es decir aquella que cuente con las propiedades más óptimas en la elaboración de prótesis. Además, contribuyendo en el conocimiento de esta materia, también se podría disminuir la incidencia de Estomatitis subprotésica, que solo en el Hospital Geriátrico de la FAP, se encontró que el 34% de la población geriátrica del servicio de Estomatología había adquirido esta patología (Del Pilar, 2010).

1.5 Hipótesis

Es probable, que el exceso de energía superficial de las resinas acrílicas termopolimerizable, favorezca la retención mayor cantidad de *Candida Albicans*.

II. Marco teórico

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 Biomateriales

El término biomaterial se podría definir a partir de su etimología descomponiendo la palabra en dos: bio- y -material. La palabra “material” se puede entender como sustancia y el prefijo “bio” como vida. Estas dos palabras se pueden relacionar y formar el concepto: Biomaterial es una sustancia que está en contacto con un organismo vivo sin causarle daño (Vega del Barrio, 1996).

Como se ha dicho en la definición de biomaterial, el fin de éste es entrar en contacto con un sistema biológico por lo que debe poseer unas propiedades características tanto mecánicas como biológicas. La característica esencial y que deben cumplir todos los biomateriales es la biocompatibilidad, la cual se entiende como la cualidad de no inducir efectos tóxicos o dañinos sobre los sistemas biológicos donde actúan, devolviendo una respuesta apropiada por parte del receptor y con un fin específico. Debido a las características del sistema inmunológico cuando se introduce un cuerpo extraño en el organismo éste tiende a rechazarlo o incluso a atacarlo. La biocompatibilidad tiene un índice de compatibilidad, el cual nos indica lo adecuado o no de ese material, para ser utilizado en un ser vivo, teniendo en cuenta su aplicación (Graig, 1998).

A continuación, se citan algunas formas de clasificación de los biomateriales, teniendo presente la cantidad de posibles clasificaciones que existen:

- Según su origen:
 - ✓ Natural, por ejemplo seda, lana, colágeno.
 - ✓ Sintético, comúnmente denominados materiales biomédicos.
- Dentro de los sintéticos y según su naturaleza:

- ✓ Metales. Poseen buenas propiedades mecánicas. Usados, por ejemplo, en prótesis ortopédicas, implantes dentales.
- ✓ Polímeros. Tienen propiedades cercanas a los tejidos vivos. Son los biomateriales más usados en implantes e ingeniería de tejidos.
- ✓ Cerámicos. Son químicamente inertes y estables. Usados, por ejemplo, en prótesis óseas, válvulas de corazón.
- ✓ Compuestos. Sus propiedades son muy variadas según los elementos que los constituyan. Usados en todos los campos de la bioingeniería.
- En función de la respuesta del propio organismo:
 - ✓ Inertes.
 - ✓ Bioactivos.
 - ✓ Reimplantados.
 - ✓ Biodegradables.
 - ✓ No degradables.

2.1.2 Resinas acrílicas

A lo largo de la historia, en la fabricación de bases para dentaduras se han empleado diversos materiales, entre ellos: madera, hueso, marfil, metales y numerosos polímeros como el polimetilmetacrilato, poliestireno, poliamida, resina epóxica, policarbonato y vulcanita. La selección de los distintos materiales específicos se basa en la disponibilidad, costo, propiedades físicas, cualidades estéticas y características de manipulación. De todos los materiales empleados, el que mostró mejores propiedades fue el polimetilmetacrilato, y como resultado, este último ha dominado el terreno de las bases en las dentaduras durante los últimos tiempos (Minagi *et al.*, 1985).

Hay varias condiciones en el proceso de polimerización que hacen que el producto final tenga diferentes propiedades físicas, mecánicas y estéticas.

Skinner (1970) enumero las características básicas que debe tener básicamente los materiales utilizados como base de prótesis.

1. Ser lo suficientemente translúcidos como para reemplazar estéticamente los tejidos bucales.
2. No experimentar cambios de color después de su procesamiento, tanto en medio externo como en medio bucal.
3. Poseer buena estabilidad dimensional.
4. Tener una resistencia mecánica y a la abrasión adecuada para su uso.
5. Ser impermeable a los fluidos orales, de forma que sea higiénica, sin gusto ni olor desagradable.
6. Poseer una superficie que se pueda limpiar con facilidad.
7. No ser tóxica ni irritante para los tejidos bucales, es decir, tiene que ser biocompatible.
8. No presentar corrosión, ablandamiento ni solubilidad ante los fluidos bucales u otras sustancias que se puedan encontrar ocasionalmente en la boca.
9. Tener poco peso específico y conductividad térmica relativamente alta.
10. Ser fáciles de reparar en caso de fractura.
11. Tener un procesamiento y manipulación no complicada en cuanto a técnicas y equipos.

Por estas razones en la actualidad, los materiales para base de dentaduras de polimetilmetacrilato o polimetacrilato de metilo se suministran en forma de dos componentes físicos, el monómero en líquido (metacrilato de metilo) y el polímero en polvo (polimetacrilato de metilo) que al mezclarse da como resultado el polimetilmetacrilato deseado para las bases de dentaduras (Schwarcz, 2012).

2.1.3 Polimetilmetacrilato

La base de la obtención del polímero polimetacrilato de metilo (PMMA) es el etileno. Del etileno surge el ácido acrílico y de éste, el ácido metacrílico que se formuló en 1865. La reacción entre ácido metacrílico y el metanol dio como resultado el polímero éster metacrilato de metilo, a partir de la sustitución del radical OH por un radical metil. Por polimerización del metacrilato, se obtiene el polimetilmetacrilato basada en la producción de radicales libres a partir de la apertura de dobles enlaces, siendo este último, el material básico de la prótesis (Samanarayake, 1986).

Luego de varios años a este polímero se le incrementa glicodimetacrilado, que no permite que las cadenas del polimetacrilato al enlazarse de desplacen unas sobre otras, ocasionando a nivel clínico poca resistencia a la deformación (Caycik, 1992).

Actualmente en el mercado se comercializa en forma de dos componentes, el líquido (monómero metacrilato de metilo) y el polvo (pequeñas cadenas de polimetacrilato de metilo). La combinación de ambas origina una masa plástica, donde microscópicamente se puede apreciar cómo el monómero polimeriza endureciendo la masa. La energía desprendida se elimina en forma de calor que finalmente se traduce en una contracción del mismo (Graig, 1998).

El metacrilato de metilo tiene las siguientes propiedades físicas: punto de fusión de -48 °C, punto de ebullición de 100.8 °C, densidad de 0.945g/mL a 20 °C y calor de polimerización de 12.9 kcal/mol. Tiene presión elevada de vapor y es un solvente orgánico excelente.

Alteraciones en el procesado y manipulación de la masa del polímero de las bases de prótesis (por ejemplo vaporización del monómero por exceso de temperatura, falta de homogeneidad en el momento de la polimerización, presión inadecuada), dan lugar a la

aparición de poros. Las consecuencias son disminución de la resistencia por acúmulo de tensiones y dificultad en la limpieza, en caso de que los poros se localicen en la superficie.

La superficie de la prótesis es susceptible de ser colonizada por una multitud de microorganismos que pueden dar origen a alguna patología de la mucosa que soporta la prótesis.

2.1.4 Candida albicans

Estudios realizados han descubierto hasta 18 cepas de *Candida albicans*, en pacientes con diagnóstico de estomatitis subprotésica; siendo el serotipo A el de mayor prevalencia. A pesar de que existen divergencias referidas a la relación entre la estomatitis protésica y la cantidad de *Candida* (número de levaduras – hifas- por mm²), la mayoría de los autores creen en la existencia de una relación directa entre el número de hongos y su patogenia en la enfermedad.

Se han descrito más de 100 especies distintas del género *Candida*, todas ellas ampliamente distribuidas en la naturaleza. Estas levaduras pueden encontrarse formando parte de la microbiota en forma simbiótica normal de la cavidad oral (lengua, paladar, mucosa oral), el tubo digestivo (estómago, intestino), la vagina, y en el ambiente, sin embargo se debe entender que existen diversidad de variaciones que tienen como hábitat dentro de lo normal, cualquiera de estos sistemas en mínimas concentraciones (Liebana, 1995).

El género *Candida*, está encuadrado dentro de los hongos imperfectos (deuteromycota) de la clase Blastomycetes y dentro de la familia Criptococcaceae. La *Candida* puede observarse como células redondeadas u ovaladas de 3 a 5 µm.

La membrana está constituida por una doble capa de diversos fosfolípidos y esteroides. Una de sus funciones es proteger el citoplasma, regular la entrada y salida de solutos y facilitar la síntesis de su pared celular. La pared celular a su vez proporciona rigidez, forma y fuerza, a la

célula, al estar compuesta en mayor porcentaje por hidratos de carbono y en un menor porcentaje por proteínas, glucoproteínas y lípidos.

La *Candida albicans* es dimórfica, además de la forma de levadura y pseudohifas también producen hifas verdaderas. En la fase levaduriforme de *Candida albicans* se pueden distinguir tres capas en su pared, una capa externa constituida en un 80% por manoproteínas, una capa media de β (1,6) glucanos y una capa interna con β (1,3) glucanos, manosa y quitina (García-Rodríguez, 1986).

Durante la infección, la pared de la *Candida albicans*, desempeña funciones biopatológicas importantes. Los componentes superficiales de la pared son los que median la fijación del hongo a las células del hospedador. Los polisacáridos de la pared pueden activar la cascada de complemento y desencadenar una reacción inflamatoria, el hospedador casi no los degrada y se les puede detectar por medio de tinciones especiales. La pared libera antígenos inmunodominantes que pueden originar respuestas inmunitarias de tipo celular y anticuerpos característicos y útiles para el diagnóstico (Jawetz, 2010).

La *Candida albicans*, posee algunos factores de patogenicidad que le permiten desarrollar patología con más frecuencia de lo que ocurre con otras especies de *Candida*, requiere encontrarse en fase levaduriforme (pseudohifa) para iniciar la lesión, aunque las variaciones nutricionales y ambientales modulan, con el tiempo, su conversión en fase micelial, en la que, además de conservar intacta su virulencia previa, ésta constituye un buen mecanismo de escape a la actividad fagocitaria de los macrófagos.

Existe un gran número de factores involucrados con la adhesión de *Candida* a distintas superficies orales, como la mucosa, esmalte dentario y distintos polímeros de uso odontológico. El papel que desempeñan estos agentes por su número y diverso grado de participación es complejo y en muchos casos no está bien determinado (Jawetz, 2010).

Dichos factores pueden estar relacionados con características de la misma *Candida Albicans*, en forma de levadura, por ejemplo la producción de adhesina que está directamente relacionada con las condiciones de cultivo de la levadura, estas moléculas actúan como receptores para el fibrinógeno, fibronectina, colágeno, N-acetilglucosamina, y péptidos C3d e iCeb.

Está comprobado que usando diferentes medios y temperaturas de cultivo se modifica la capacidad de adhesión de *Candida albicans* a las células del epitelio bucal, el cultivo en distintos medios produce diferencias tanto en la topografía de la superficie como en la ultraestructura de la pared de la *Candida Albicans*, aunque ninguna de estas diferencias se ha correlacionado con cambios en la adhesión.

La adhesina de *Candida* se puede estructurar formando una capa flocular o una capa fibrilar. La capa flocular interviene en la adhesión de *Candida* a las células de la mucosa oral; así mismo distintas cepas de la levadura, cuando crecen en un medio con un alto contenido de galactosa o sucrosa, pueden sintetizar una capa superficial fibrilar, mostrando un incremento en la adhesión a las células del epitelio bucal y la virulencia. Estas fibras se sintetizan en presencia de alta concentración de azúcar, durante la fase exponencial del crecimiento de las levaduras (Liebana, 1995).

Formando parte de la pared de las levaduras se encuentra también, el material polimérico extracelular, que está compuesto de carbohidratos (65-82%), proteínas (7%), fósforo (0.5%) y glucosamina (1.5%), que juegan un papel destacado en la capacidad de adhesión de la levadura. Su producción depende del tipo de carbohidrato que intervenga en el desarrollo de *Candida* y ha sido demostrado que su presencia aumenta la adhesión de *Candida* a la superficie acrílica y en consecuencia puede presentar estomatitis subprotésica (Liebana, 1995).

Existe la posibilidad que la adhesión de *Candida*, este mediada por una sustancia álcali-soluble contenida en la pared de la levadura que es la manosa. Las levaduras tratadas con sustancias alcalinas y ácidas, para extraer la manosa tienen una adherencia significativamente menor que las células del epitelio bucal. La manosa está unida por enlaces covalentes a proteínas, estas manoproteínas se sitúan en el interior de la pared y también en la parte más externa, donde dependiendo de las condiciones de crecimiento y concentración de la levadura se pueden expresar en diferente medida, lo que se traduce en distintos grados de adhesión (Pineda y Mosquera, 2017).

La quitina es otra sustancia similar a la adhesina, presente en la pared celular de la *Candida Albicans* y con posible participación en la adhesión. El extracto soluble de quitina inhibe la adhesión de *Candida* a células del epitelio vaginal, y este contiene dos fracciones de las que solamente una tiene actividad inhibitoria de la adhesión. Los análisis químicos muestran que más del 70%, está formado por proteínas, la mayoría de las cuales se encuentran en la fracción no activa. Existen dudas acerca del papel de la quitina en la adhesión debido a que se encuentra localizada principalmente en la capa interna de la pared de la célula.

Existen además proteinasas y fosfolipasas extracelulares, que están relacionadas de forma directa con la capacidad de adherencia e invasión a la mucosa por la *Candida albicans*. Los lípidos de la superficie celular de las levaduras, parecen estar involucrados en la adherencia. Diversos lípidos aislados de diferentes formas de *Candida albicans* como ceramida monohexósido y ceramida dihexósido, así como el estearil glucósido aislado de formas miceliales, producen una inhibición de la adherencia de las levaduras a las células del epitelio bucal (Pineda y Mosquera, 2017).

Las cepas de *Candida albicans* puede presentar distintos fenotipos, dando origen a diferentes grados de hidrofobicidad, que determinan variaciones en la adherencia. Estas

diferencias en la adhesión depende que se producen tanto en relación con las células del epitelio bucal como con materiales acrílicos (Kang *et al.*, 2013).

De la misma manera, la adherencia y virulencia, aumentada lo dan los tubos germinativos que constituye el inicio del crecimiento micelial de *Candida albicans*. La formación de hifas de *Candida*, en condiciones ambientales favorables (temperatura de 37°C y pH 7), produce una capa superficial adicional en comparación con la fase de blastospora, que es la responsable del aumento de adherencia tanto a distintos polímeros como a las células de la mucosa. Esta capa adicional está formada de fibrillas, compuestas de manoproteínas de distinto peso molecular, que son retenidas sobre la superficie plástica (Kennedy *et al.*, 1988).

La propiedad de hidrofobicidad, es una característica de la *C. albicans* que sigue en controversia. Algunos estudios realizados sobre este tema aportan resultados discordantes. Los péptidos de manosa, presentes en la pared celular forman uniones hidrofóbicas con moléculas de poliestireno, para otros autores, la hidrofobicidad sería un factor de menor importancia en la adhesión de *Candida* a las células epiteliales, pero contribuiría a la adhesión de las levaduras.

Los diferentes grados de hidrofobicidad, de la superficie celular de distintas cepas de *Candida* estarían relacionados con la mayor o menor capacidad de las levaduras de adherirse a los materiales de base de las prótesis y a los plásticos, sin embargo, también influye la energía libre superficial (tensión superficial) del material de la dentadura en la adhesión de *Candida*.

Así mismo, existen características propias del huésped que le otorga un mayor grado de adhesividad. De esta manera, la adherencia in vitro de *Candida albicans* a células de la mucosa está influenciada por las distintas partes que constituye la mucosa oral, en ese sentido se adhiere mejor en células de la mucosa yugal que a células del epitelio de vagina.

Existen también factores del medio bucal, que favorecen la adhesión de la *Candida albicans*. Los cationes bivalentes tales como el Ca^{++} y el Mg^{++} incrementan la adhesión de *Candida albicans* a las células del epitelio de la cavidad oral y al acrílico. Altas concentraciones de estos cationes promueven la adhesión y agregación de estas levaduras, ello indica que las fuerzas iónicas y electrostáticas juegan un papel importante en los mecanismos de adhesión de la *Candida albicans*.

Muchas investigaciones demuestran que los carbohidratos afectan las propiedades de adhesión de la *Candida Albicans*, diversas cepas después de una incubación con diversos azúcares aumentaban su adherencia tanto a las células del epitelio oral como a resinas acrílicas, siendo por lo tanto la galactosa y la maltosa los azúcares que aumentan el nivel de adhesión (Ceballos, 1991).

La enfermedad se desarrolla gracias a las características propias del hongo y condiciones sistémicas y ambientales del individuo, pero también existen propiedades que coadyuvan a que la patología se desarrolle. Por ejemplo las propiedades físicas y químicas de las resinas acrílicas, en pacientes portadores de prótesis.

2.1.5 Estomatitis subprotésica

En 1962 Newton, clasificó a esta patología, según el grado de desarrollo: Tipo I, II y III, de los cuales el tipo II y III se encuentran directamente relacionadas con la presencia de placa microbiana bacteriana o fúngica (Bascones, 1996).

Dentro de las características clínicas, se observa puntos eritematosos diseminados en la mucosa palatina, que progresivamente se tornan más eritematosas y congestivas, seguido por un proceso inflamatorio más amplio que puede degenerarse en erosiones, la sintomatología suele ser secuencial, en ocasiones los pacientes describen únicamente halitosis, gusto desagradable y sequedad de boca y sólo al ulcerarse o fibrosarse puede ocasionar ardor y

dolor. Por otro lado, algunas veces estos signos no son visibles, aunque el paciente informe gran dolor y malestar, considerándose muchas veces como dolores psicogénicos (Jaykumar, Vinay y Nikita, 2015).

La mayoría de los trabajos realizados, coinciden en señalar que la estomatitis subprotésica, tiene origen multifactorial, entre los factores más significativos la falta de control profesional, trauma protésico, falta de higiene de la prótesis, irritación y reacción alérgica a los materiales de las prótesis, infección por *Cándida*, hábitos dietéticos, factores sistémicos, y diversos factores locales como el pH salival ácido, alto consumo de carbohidratos, tratamiento antibiótico antibacteriano prolongado, terapia hormonal, factores sistémicos, inmunosupresión por tratamiento quimioterapéutico, *diabetes mellitus II* e hipertensión arterial que tienen repercusión directa en la mucosa oral o una combinación de los anteriores (Bascones, 1996).

Los mecanismos de fijación de la placa bacteriana a la superficie son los siguientes:

1. La superficie de la prótesis presenta a las pocas horas de su inserción en boca una película orgánica adquirida constituida por proteínas presentes en la saliva. Estas proteínas actuarían como mediadores en la fijación de la placa bacteriana a la superficie de la prótesis.
2. El mecanismo de fijación de los microorganismos a la superficie en una primera fase es inespecífico y reversible y se explica por medio de energía de superficie entre los microorganismos y la superficie de la prótesis, interviniendo fenómenos electrostáticos y de hidrofobicidad; en una segunda fase, el proceso de la adhesión esta mediado por interacciones entre adhesinas y receptores específicos (McCourtie, MacFarlane y Samaranayake, 1986).

3. Este último punto es particularmente importante en el caso de las prótesis confeccionadas con resinas acrílicas, en las que los defectos de la superficie pueden favorecer la formación inicial de placa y, además, evitar su remoción (Dankert, Hogt y Feijen, 1986).

Estudios realizados para determinar las características de esta superficie, empleando distintos materiales de impresión, de confección de modelos, agentes separadores y resinas termopolimerizables y autopolimerizables, dan como resultado que la profundidad de las indentaciones varía de 1 a 12 μm , pero, siendo la anchura varias veces superior a la profundidad y las paredes con una inclinación expulsiva, ofrecen pequeña resistencia a la remoción de microorganismos (Dahlgren, Elwing y Magnusson, 1986).

La rugosidad de la superficie está relacionada con la del material contra el cual se procesa la resina, es decir el material que sirve de molde o patrón para confeccionar la prótesis. La escasa difusión de los colorantes en el acrílico indica que la porosidad existente no está abierta a la superficie. La penetración bacteriana no es un hecho corriente y se produce cuando el material no ha sido procesado correctamente, lo que puede ocurrir por numerosas causas, como por la vaporización del monómero cuando la temperatura del material sobrepasa el punto de ebullición, o por la falta de homogeneidad en la masa plástica en el momento de la polimerización.

El diseño de los biomateriales debe contar con los medios de evaluación de la utilidad tanto in vivo e in vitro. En un esfuerzo por llenar esta necesidad, los materiales han intentado correlacionar las propiedades de superficie del biomaterial con adhesividad celular aplicando la llamada teoría DLVO (por las siglas de sus creadores Derjaguin y Landau, Verwey y Overbeek) de la estabilidad coloidal. En esta teoría, la adhesividad es un equilibrio entre repulsión electrostática y potenciales atractivos de mayor alcance entre un sustrato

macroscópico y una célula microscópica o partícula sumergida en alguna fase líquida específica (Gingell, 1980).

A pesar de las dificultades para determinar valores de varios parámetros celulares tales como densidades de carga superficial, la aplicación de DLVO ha sido extraordinariamente útil en comprensión de la conexión entre material y célula. Una teoría alternativa mucho menos compleja (pero no totalmente independiente de DLVO, utiliza conceptos de tensiones superficiales y humectación para determinar la bioadhesividad (Pethica, 1983).

En términos generales, este enfoque intenta calcular el trabajo de adherencia celular o equivalentemente, la energía libre del cambio de adherencia de las fuerzas interfaciales. Las fuerzas Interfaciales o tensiones son, a su vez, determinadas por la aplicación de métodos estándar y modificados de la química física superficial. Estos conceptos se han utilizado para describir fenómenos biológicos como la biocompatibilidad de prótesis, fagocitosis de bacterias por humanos por células de neutrófilos, adhesión de plaquetas a polímeros y la adhesión de bacterias a las superficies dentales (Dankert, Hogt y Feijen, 1986).

Aunque las teorías de DLVO y de tensión superficial han sido confirmadas o corroboradas por experimentos in vitro utilizando células en disoluciones salinas puras, la aplicación exitosa a soluciones más complejas de proteínas o la condición fisiológica han sido muy limitadas debido principalmente a complicaciones introducidas por adsorción de proteínas a partir de la solución. La aplicación de la teoría a estas situaciones falla porque no se han tenido en cuenta los cambios en los potenciales interactivos entre células, líquidos y sustratos causados por la adsorción.

Hacia una comprensión más completa del papel de las fuerzas interfaciales y los efectos de la adsorción, la adhesión celular a diversos sustratos de plástico a partir de soluciones de sal isotónica que contienen concentraciones variables de detergente o proteínas ha sido medida.

Los resultados demuestran que los efectos de adsorción sobre la adhesión pueden ser considerados basándose en la acción del tensioactivo del detergente o proteína. Se ha desarrollado una teoría directa de la adhesión celular que establece que la adhesividad es un equilibrio entre las tensiones de sustrato y de humectación celular. Las características de humectación de la membrana celular se han determinado aplicando la teoría a la adhesión celular medida experimentalmente.

El modelo de adhesión celular es el proceso adhesivo considerado como la deposición de una suspensión monodispersa de células de mamífero (10-20, diámetro μm) sobre un sustrato planar no deformable a partir de una fase líquida sésil. La fase líquida es una solución fisiológica alcalina que contiene cierta concentración de detergente o proteína (tensioactivos). La gravedad transmite las células suspendidas a una proximidad cercana de la interfaz sustrato-líquido (McCourtie, MacFarlane y Samaranayake, 1986).

Donde puede producirse una adhesión reversible, como se describe con más detalle en las secciones subsiguientes. Las células se consideran esferas deformables con una superficie de membrana altamente invaginada revestida con un polisacárido. La adhesión se define como un proceso que conduce a la formación de una interfaz célula-sustrato y destrucción concomitante de una interfaz célula-líquido y sustrato-líquido. Se supone que el área de contacto célula-sustrato es característica de las superficies de las células y sustrato, pero

independiente de la composición en fase líquida debido a que las interfaces líquidas se eliminan en el proceso de adhesión.

La adhesión a las células de equilibrio se controla mediante una combinación aritmética de tensiones de sustrato y de mojado celular. Las tensiones de humectación, a su vez, se controlan por adsorción de tensioactivos solubles a interfases líquido-célula y líquido-sustrato (McCourtie, MacFarlane y Samaranayake, 1986).

La adhesión a largo plazo, el crecimiento celular y la expresión final de un componente biológico para el trabajo de adhesión. Pero la teoría fisicoquímica de DLVO de la ciencia coloidal es una base adecuada para explicar los aspectos cualitativos y cuantitativos *de* la adherencia celular a corto plazo de una fase líquida sésil. Conjuntamente con una descripción termodinámica modificada de adhesión que trata a las células biológicas como objetos físicos ordinarios, los parámetros relacionados con la tensión de humectación celular y el área de contacto célula-sustrato pueden calcularse para su uso como herramienta diagnóstica y predictiva en la ciencia del biomaterial.

2.1.6 Energía superficial y tensión superficial

La energía superficial se define como la energía necesaria para romper los enlaces intermoleculares dando lugar a una superficie. En la física del sólido, las superficies deben ser intrínsecamente menos favorables energéticamente que la masa; es decir, debe haber una fuerza que genera la superficie. La energía superficial puede ser definida como el exceso de energía de la superficie de un material comparado con la que tendría si estuviera inmersa en la masa.

La tensión superficial es la fuerza que se ejerce en la superficie de los líquidos por unidad de longitud. También la podemos definir como el trabajo necesario para incrementar la superficie de un líquido en la unidad de superficie.

Las causas de la tensión superficial se deben buscar en las fuerzas de cohesión (Vans der Waals, iónicas). Por ello las unidades empleadas son $J.m^{-2}$ y $N.m^{-1}$, ya que:

$$J/m^2 = N \times m/m^2 = N \times m^{-1}$$

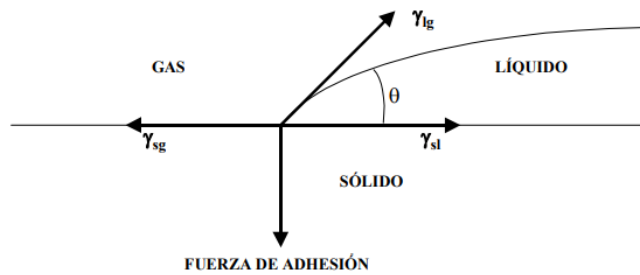
En los sólidos la tensión superficial se presenta con mayor intensidad que en los líquidos pero no puede ponerse de manifiesto debido a la indeformabilidad de los sólidos.

La tensión superficial depende de:

- a) Temperatura, al aumentar ésta, disminuye la tensión superficial.
- b) Presencia de sustancias extrañas, cuando se encuentran en la superficie se alteran las fuerzas de cohesión.
- c) Forma y espesor de la superficie del líquido.

Cuando un líquido se pone en contacto con una superficie sólida el equilibrio se alcanza sólo para una inclinación particular de la superficie libre del líquido respecto a la superficie del sólido.

El ángulo de contacto θ resulta del equilibrio de estas fuerzas con la fuerza de adhesión o resultante de la atracción de las moléculas que constituyen el sólido.



Esta fuerza adhesiva se equilibra con la componente de γ_{lg} normal a la superficie del sólido. Por tanto resulta:

$$\gamma_{lg} \cos \theta + \gamma_{sl} = \gamma_{sg}$$

Por lo tanto: $\cos \theta = \gamma_{sg} - \gamma_{sl} / \gamma_{lg}$

Esta fórmula es conocida como ecuación de Young, según la cual cuando una gota de líquido se sitúa sobre una superficie sólida ideal, sus límites se desplazan hasta que el ángulo θ alcanza el valor dado por la ecuación de Young (Bongrand, Capo y Depieds, 1982).

Esta fórmula contiene dos parámetros, el ángulo de contacto y la tensión superficial del líquido, que se pueden medir directamente. Es necesario además, que la superficie sea inerte al líquido. Los diversos líquidos que se emplean tienen que ser puros para evitar interacciones.

Para el cálculo de la tensión superficial de un sólido se emplean las ecuaciones de estado de Antonow y de Berthelot, la primera relaciona γ_{sl} con γ_{sg} y γ_{lg} de la siguiente manera: $\gamma_{sl} = [\gamma_{lg} - \gamma_{sg}]$.

Y la segunda:

$$\gamma_{sl} = \gamma_{lg} + \gamma_{sg} - \sqrt{2 \gamma_{lg} \gamma_{sg}}$$

Combinando estas ecuaciones con la de Young se obtiene la expresión:

$$\cos \theta = -1 + 2 \sqrt{\frac{\gamma_{sg}}{\gamma_{lg}}} e^{\beta(\gamma_{lg} - \gamma_{sg})^2}$$

De acuerdo con la cual, la tensión superficial de un sólido se puede determinar a partir de ángulos de contacto cuando la tensión superficial del líquido y β se conocen, por lo tanto γ_{lg} y β se pueden determinar por un ajuste de mínimos cuadrados de los datos experimentales con la anterior ecuación (Serrano, 2005).

III. Método

3.1 Tipo de investigación

Prospectivo, longitudinal, comparativo, correlacional, experimental y observacional.

3.2 Ámbito temporal y espacial

La investigación se desarrolló en el año 2018 y dentro las instalaciones del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNFV.

3.3 Variables

La variable independiente es energía superficial de las resinas acrílicas y la variable dependiente es Adherencia de *Candida Albicans*.

3.4 Población y muestra

El cálculo de la muestra nos arrojó un total de 18 resinas por marca de polimetilmetacrilato. Sin embargo, en la experimentación se tuvieron que desechar tres de cada tipo por deficiencias en la elaboración (porosidad en su superficie).

3.5 Instrumentos

Se han utilizado fichas de recolección de datos, tanto del número de células adheridas a las placas, como de la tensión superficial de dichas estructuras.

3.6 Procedimientos

1. Preparación de las muestras de PMMA. Se realizó a partir de un modelo maestro de cera, de las dimensiones deseadas (15 x 10 x 1 mm). Cada polímero acrílico, se procesó según las especificaciones del fabricante, a quienes se aplicaran los procedimientos conocidos como es el empaquetado, polimerización, enmuflado y demuflado, para lo cual se utilizara el mismo tipo de yeso, y todo el procedimiento se realizara previa calibración.

Las marcas de resinas acrílicas a utilizar son:

- 1- Vitacryl, A. Tarrillo Barba, Lima, Perú.
- 2- Triplex Ivoclar Vivadent, Alemania

Por cada tipo de acrílico se prepararon 18 muestras. Éstas fueron examinadas mediante una lupa (50x) y las que presentaron defectos o poros superficiales fueron descartadas, para ambas marcas de acrílicos se eliminaron 3.

2. Determinación de la tensión superficial del PMMA. Para la determinación del ángulo de contacto se necesitaban conseguir superficies lo más ideales posibles, las distintas muestras de resina se han sometieron a un pulido al agua. Se realizó el pulido después de la polimerización, este pulido al agua se realizó de forma manual, primero con lija al agua Silicon Carbide (P1200; 3/0) con movimientos circulares durante 30 segundos, y después con lija al agua El Tren (P1600; 4/0) también con movimientos circulares durante otros 30 segundos.

Para este proceso se empleó un goniómetro de contacto, placa porta objetos ajustable para que esté perfectamente horizontal, sobre esta placa se situaron las muestras sobre las que se deposita, por medio de una micropipeta, una gota del líquido, la imagen de la gota sobre la superficie del líquido es captada para determinar la tangente del ángulo de contacto.

Se realizaron 5 medidas de cada muestra de resina y con cada líquido escogido a conveniencia: Agua, glicerol, formamida, dietilenglicol y dimetilsulfoxido

Después de haber realizado las mediciones físicas de las resinas, procedemos realizar las mediciones microbiológicas.

3. Preparación de la suspensión de Candida Albicans. La cepa de Candida albicans se presenta en forma liofilizada en una ampolla de cristal al vacío, para rehidratarla se le

coloco en 0,5 ml de caldo Sabouraud dextrosa y se mantuvo en incubación durante 24 horas a 37 °C.

Cuando finalizo el período de crecimiento se comprobó que la *Candida Albicans* está en fase levaduriforme, realizando el cultivo en agar Sabouraud dextrosa. La separación de las levaduras del caldo de cultivo, se realizó mediante centrifugación a 1200 r.p.m. durante 10 minutos, para luego ser lavado con 10 cc de solución salina fosfatotamponada (PBS).

4. Después de centrifugados los tubos con los cultivos, se eliminó el caldo y se dejó el pellet, a esto se le adiciono 0,5 ml de solución salina fosfatotamponada (PBS) y se comparó con densidad óptica de 0,5 según el estándar de la escala de MacFarland, no se consiguió dicha densidad hasta después de 3 intercambios de PBS. La densidad óptica de 0,5 de la escala de MacFarland corresponde a $1,5 \times 10^8$ células.ml.
5. La incubación de las muestras de PMMA. Las muestras de PMMA se mantuvieron en agua destilada durante 17 días, renovando el agua diariamente, con el objetivo de conseguir su saturación.

Se colocó una muestra de polímero por tubo y se añadió 2 ml de suspensión de levaduras, verificando que la muestra esté completamente cubierta, luego proceder a incubar las muestras durante dos horas a 37°C. Una vez terminado el período de incubación, se extrajeron las muestras de la estufa y se procedió a aclararlas por dos veces con 25 ml de solución tampón fosfato salino, estéril durante un minuto, mediante agitación manual suave. Mediante este aclarado se consiguió eliminar las levaduras que no se encuentran adheridas a las muestras de polímero.

6. Una vez que las muestras estaban secas, se realizó la tinción de las levaduras mediante naranja de acridina a una concentración de 0,003%. Las muestras se colocaron en placas

de Petri añadiendo quince gotas de la solución de naranja de acridina sobre la superficie y dejando teñir por 10 minutos, luego se dejaron secar.

7. Sobre cada muestra se realizará el recuento de nueve campos, las áreas seleccionadas para el recuento se distribuyeron de manera uniforme sobre la superficie de la muestra. El área de cada campo fue observada con un aumento de 10 x 10 y para observar colonias muy densas el aumento de 40x10, es de 0,152 mm².

3.7 Análisis de Datos

Se utilizó el programa Excel para la base de datos y el programa estadístico Stata para el análisis estadístico de los datos. Se elaboraron tablas de estadísticas descriptivas. Se utilizó la prueba t de student para comparar los promedios entre los grupos, para comparar las correlaciones se utilizó la prueba Q de Cohen, el análisis estadístico se realizó con un nivel de significancia de 0.05.

IV. Resultados

En esta sección se presentan las tablas que recogen los valores de la tensión superficial de las muestras de PMMA medidas con los distintos líquidos expuestos, los valores de adhesión de levaduras por campo para cada muestra, expresando la media y la desviación estándar, así como la media global para cada tipo de resina.

Las tablas que se expondrán nos mostraran la media del ángulo tangente entre la gota de cada uno de los líquidos empleados y la muestra de polimetilmetacrilato. La media mostrada es el resultado de 5 medidas de cada una de las muestras (15) de cada marca empleada.

Tabla 1

Angulo entre la superficie de la resina Vitacryl y una gota de un líquido diferente

RESINA 1	AGUA	GLICEROL	FORMAMIDA	DIETILEN- GLICOL	DIMETILSUL -FOXIDO
1	71,93	69,12	50,22	34,3	14,09
2	70,43	68,88	50,75	34,23	15,07
3	70,33	69,31	51,37	35,01	15,49
4	70,04	69,34	51,32	34,46	14,91
5	70,34	69,09	51,2	34,97	15,64
6	70,08	69,98	50,36	35,12	14,33
7	70,72	69,35	50,03	35	14,36
8	70,65	69,09	50,79	34,11	14,79
9	71,21	69,35	50,34	34,98	14,34
10	70,25	70,14	50,79	34,44	14,53
11	70,36	68	50,21	34,69	14,97
12	70,23	70,74	50,45	34,85	14,47
13	70,64	69,33	59,93	34,76	14,75
14	70,48	69,09	50,18	34,85	14,67
15	71,02	69,23	51,41	34,48	14,12

La tabla 3 muestra el promedio del ángulo tangente entre cada una de las muestras de la resina Vitacryl y una gota de agua, glicerol, formamida, dietilenglicol y dimetilsulfoxido.

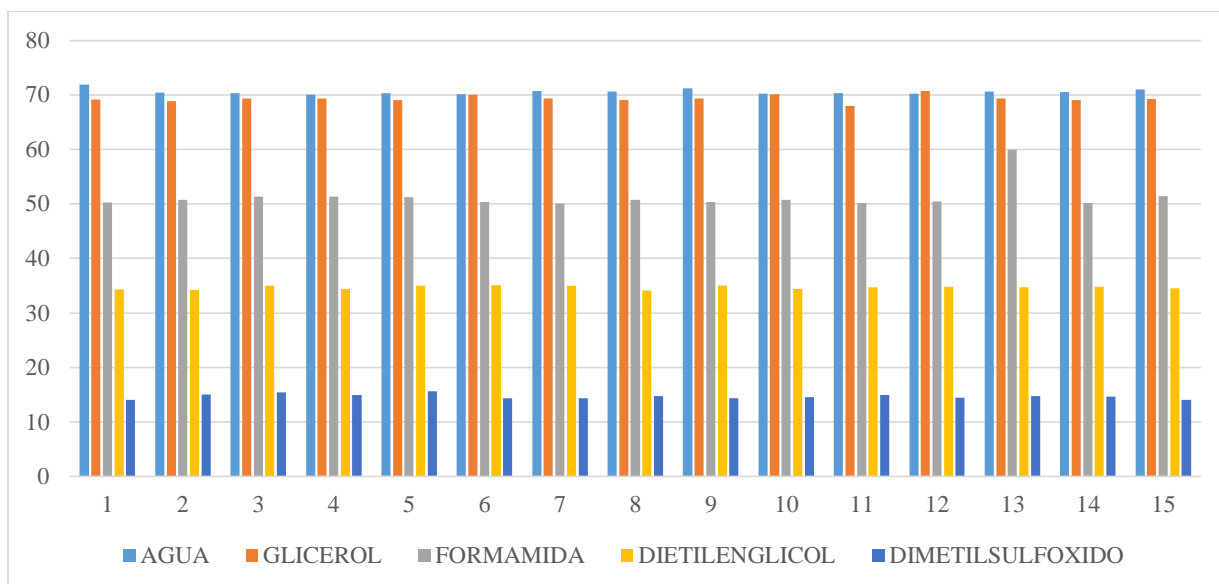


Figura 1. Muestra el promedio del ángulo tangente entre cada una de las muestras de la resina Vitacryl y una gota de agua, glicerol, formamida, dietilenglicol y dimetilsulfoxido.

Tabla 2

Angulo entre la superficie de la resina Triplex y una gota de líquido diferente

RESINA 2	AGUA	GLICEROL	FORMA MIDA	DIETILEN GLICOL	DIMETILS ULFOXIDO
1	70,05	68,05	49,79	34,11	15,71
2	70,26	67,78	49,21	33,69	14,97
3	70,33	68,67	50,37	33,11	14,44
4	69,04	68,24	49,03	34,76	15,05
5	69,91	68,23	49,22	34,11	15,06
6	69,19	68,43	49,45	33,37	15,43
7	69,46	68,22	49,18	33,85	15,67
8	69,02	67,83	49,34	34,99	14,12
9	70,47	68,58	50,75	33,22	14,95
10	69,24	68,37	50,34	34,98	15,34
11	70,34	68,09	49,2	33,7	15,14
12	70,04	68,32	50,32	33,46	14,91
13	70,82	68,39	50,49	33,67	15,38
14	70,25	68,45	50,79	34,44	14,53
15	70,06	68,96	50,12	33,18	14,93

La tabla 2 muestra el promedio del ángulo tangente entre cada una de las muestras de la resina Triplex y una gota de agua, glicerol, formamida, dietilenglicol y dimetilsulfoxido.

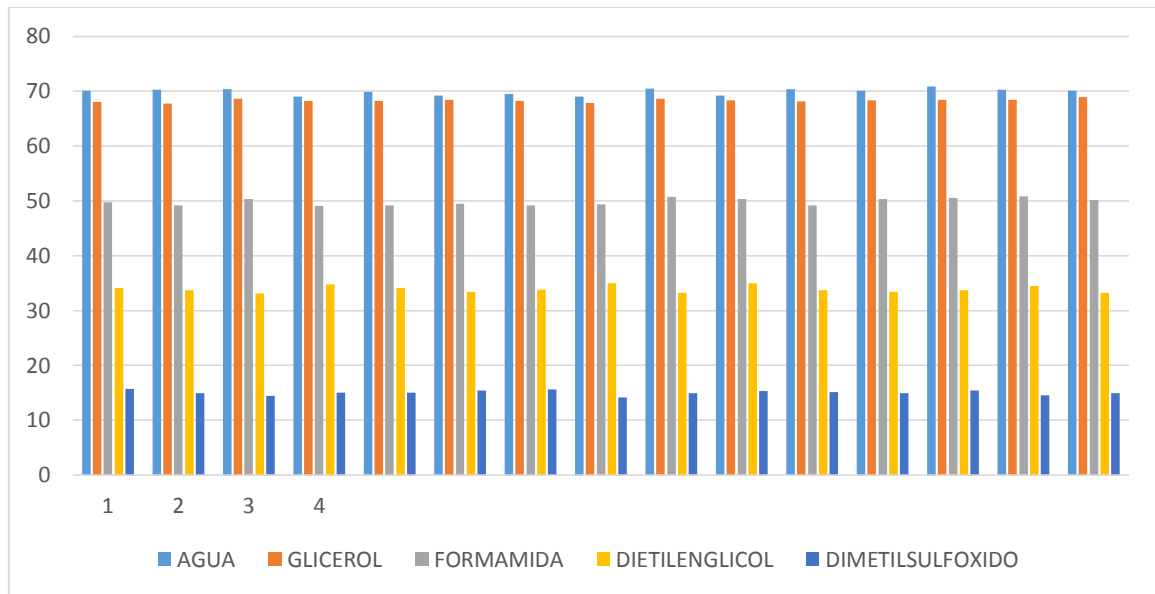


Figura 2. Muestra el promedio del ángulo tangente entre cada una de las muestras de la resina Triplex y una gota de agua, glicerol, formamida, dietilenglicol y dimetilsulfoxido.

Tabla 3

Promedios de ángulos y cálculo de energía superficial de las muestras de Vitacryl

RESINA 1	PROMEDIO ANGULOS	ENERGIA SUPERFICIAL
1	47,932	40,3
2	47,872	40,56
3	48,302	40,44
4	48,014	40,7
5	48,248	40,86
6	47,974	40,02
7	47,892	40,1
8	47,886	40
9	48,044	40,24
10	48,03	40,23
11	47,646	40,63
12	48,148	40,11
13	49,882	40,01
14	47,854	40,21
15	48,052	40,6

La tabla 3 muestra el promedio de la medida de ángulos y el cálculo matemático de la energía superficial de las muestras de Vitacryl.

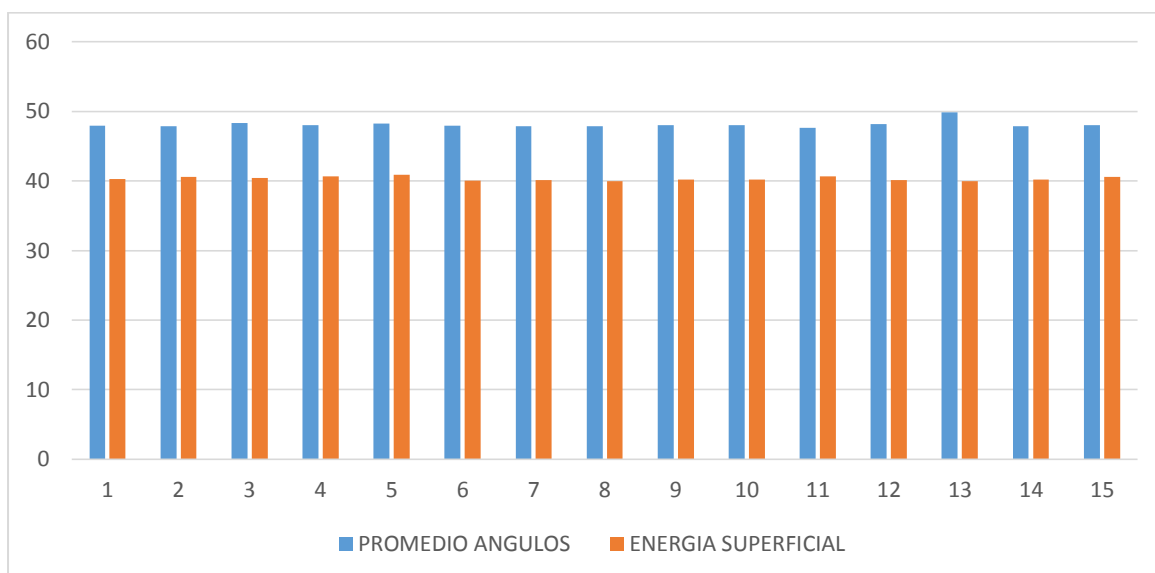


Figura 3. Muestra el promedio de la medida de ángulos y el cálculo matemático de la energía superficial de las muestras de Vitacryl.

Tabla 4

Promedios de ángulos y cálculo de energía superficial de las muestras de Triplex

RESINA 2	PROMEDIO DE ANGULO	ENERGIA SUPERFICIAL
1	47,542	39,55
2	47,182	39,62
3	47,384	39,49
4	47,224	39,33
5	47,306	39,43
6	47,174	39,21
7	47,276	40,21
8	47,06	39,1
9	47,594	39,25
10	47,654	39,86
11	47,294	39,36
12	47,41	39,73
13	47,75	39,93
14	47,692	39,87
15	47,45	39,57

La tabla 4 muestra el promedio de la medida de ángulos y el cálculo matemático de la energía superficial de las muestras de Triplex.

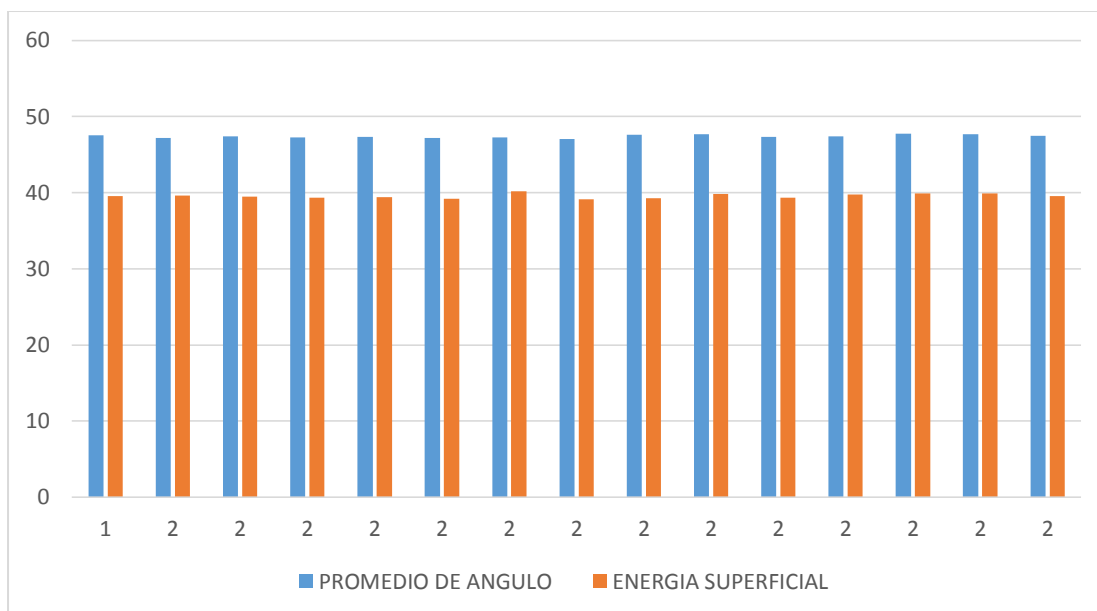


Figura 4. Muestra el promedio de la medida de ángulos y el cálculo matemático de la energía superficial de las muestras de Triplex.

Cada valor que se indica por muestra corresponde a la media de recuento de nueve campos, y en cada tipo de polímero se han empleado quince muestras. Así pues la media global para cada tipo de PMMA se obtiene a partir de ciento treinta y cinco valores de recuento.

Debajo de cada tabla podemos observar la gráfica correspondiente a la media de los valores para cada muestra y la global para cada tipo de resina.

Tabla 5

Media de Candida Albicans por campo de cada tipo de muestra de la resina

Vitacryl.

TIPO DE RESINA	MUESTRA	MEDIA DE CEL/CAMPO	MEDIA GLOBAL	DESVIACION ESTANDAR
1	1	18,2		
1	2	18,7		
1	3	18,5		
1	4	19,3		
1	5	19,9		
1	6	14,6		
1	7	14,7		
1	8	13,3		
1	9	15,7		
1	10	15,1		
1	11	19,2		
1	12	14,8		
1	13	14,5		
1	14	15,1		
1	15	19,2		
			16,72	2,29

La tabla 5 muestra la media de Candida Albicans por campo observado en las distintas muestras de resina Vitacryl. Con una media global de 16,72 células por campo.

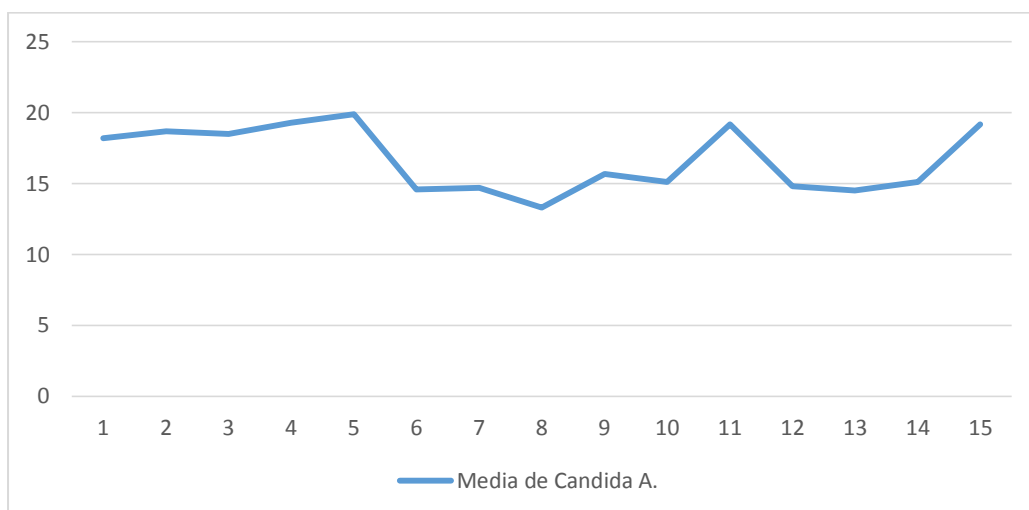


Figura 5. Muestra la media de *Candida Albicans* por campo observado en las distintas muestras de resina Vitacryl. Con una media global de 16,72 células por campo.

Tabla 6

Media de células por campo de cada tipo de muestra de la resina Triplex

TIPO DE RESINA	RESINA	MEDIA DE CEL/CAMPO	MEDIA GLOBAL	DESVIACION ESTANDAR
2	1	15,8		
2	2	16,2		
2	3	15,4		
2	4	14,4		
2	5	15,2		
2	6	14		
2	7	17,2		
2	8	14		
2	9	14,3		
2	10	16,5		
2	11	15,2		
2	12	16,4		
2	13	17,2		
2	14	16,9		
2	15	16,1		
			15,65	1,12

La tabla 6 muestra la media de Candida Albicans por campo observado en las distintas muestras de resina Triplex. Con una media global de 15,65 células por campo

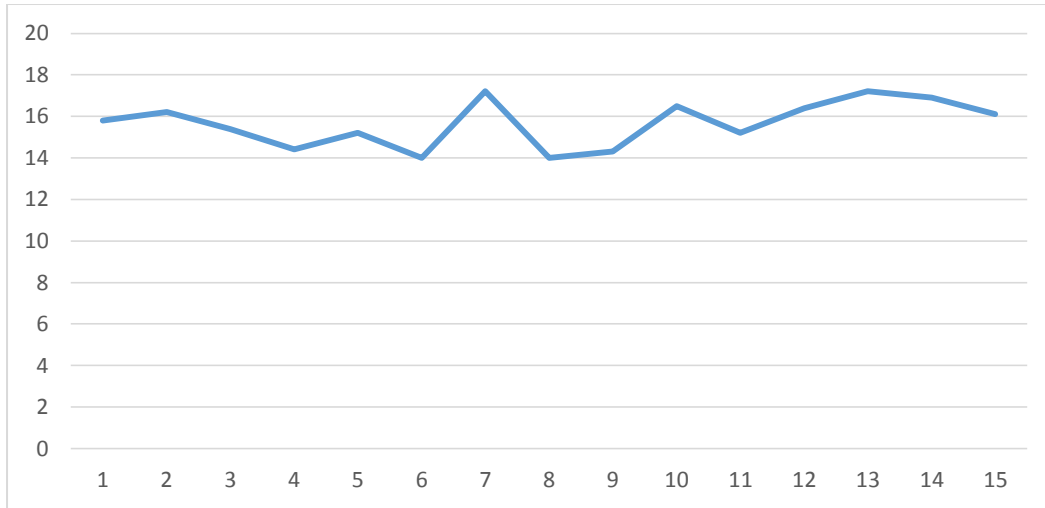


Figura 6. Muestra la media de *Candida Albicans* por campo observado en las distintas muestras de resina Vitacryl. Con una media global de 15,65 células por campo.

Tabla 7

Comparación de medias de levaduras por campo del total de muestras de Vitacryl y Triplex

TIPO DE RESINA	MEDIA GLOBAL
1	16,72
2	15,65

La tabla 7 muestra la comparación entre la media global por campos de levaduras de muestras de Vitacryl (1) y Triplex (2)

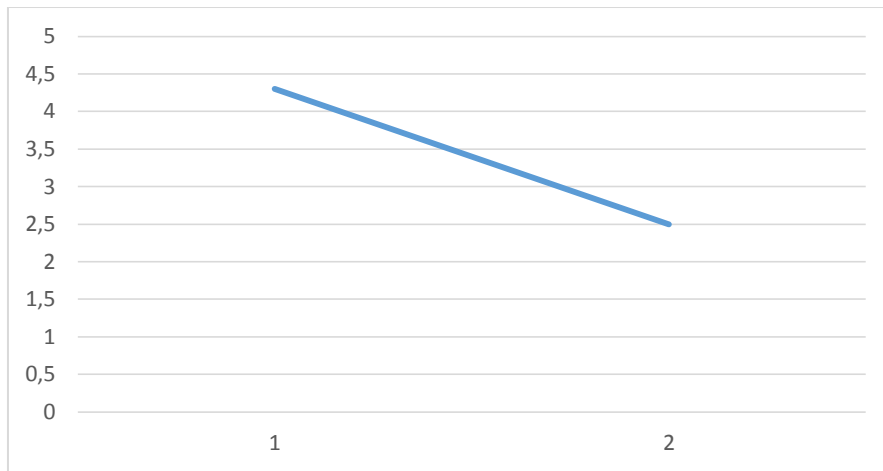


Figura 7. Muestra la media de *Candida Albicans* por campo observado en las distintas muestras de resina Vitacryl. Con una media global de 15,65 células por campo.

El análisis estadístico se realizó en base a los objetivos específicos del estudio. Se analizó la relación entre energía superficial del polimetilmetacrilato y la adherencia de *Candida Albicans* de Triplex y Vitacryl a través del coeficiente de correlación de Pearson. Así mismo se analizó si existía diferencia estadísticamente significativa entre la energía superficial de cada marca y adherencia de *Candida Albicans*.

Tabla 8

Correlación entre la energía superficial y la adherencia de Candida Albicans

	ENERGIA SUPERFICIAL	
	R	P
MEDIA_LEV_~O	0.9559	0.0000

La tabla 8 muestra la una alta correlación entre la energía superficial y la adherencia

Existe una alta correlación entre la energía superficial del polimetilmetacrilato y la adherencia de Candida Albicans en Triplex, esto lo vemos con el coeficiente de correlación de Pearson siendo $r = 0.9559$, es decir que esta entre 0 y 1 siendo muy significativa esta relación, $P < 0.05$.

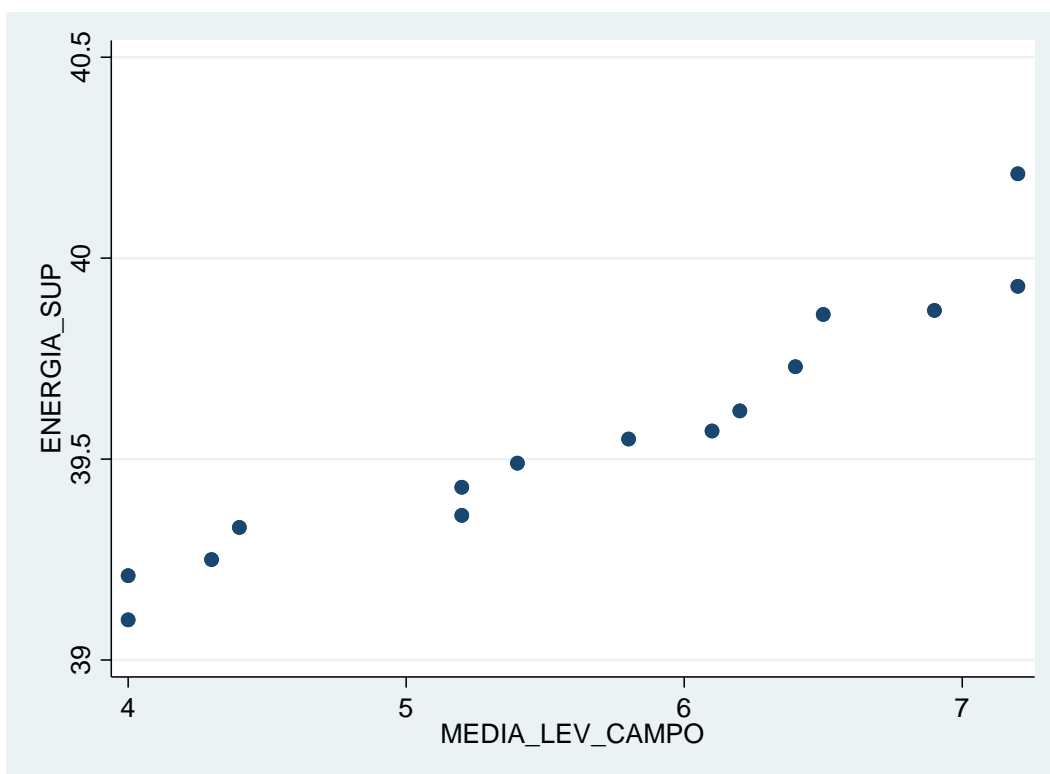


Figura 8. Correlación entre la energía superficial del polimetilmetacrilato y la adherencia de Candida Albicans en Triplex.

Tabla 9

Correlación entre la energía superficial del polimetilmetacrilato y la adherencia de Candida Albicans en Vitacryl

ENERGIA SUPERFICIAL		
	R	P
MEDIA_LEV_~O	0.9496	0.0000

La tabla 9 muestra un coeficiente de correlación de Pearson

$r=0.9496$

Existe una alta correlación entre la energía superficial del polimetilmetacrilato y la adherencia de Candida Albicans en Vitacryl, esto lo vemos con el coeficiente de correlación de Pearson $r = 0.9496$, siendo muy significativa esta relación, $P<0.05$.

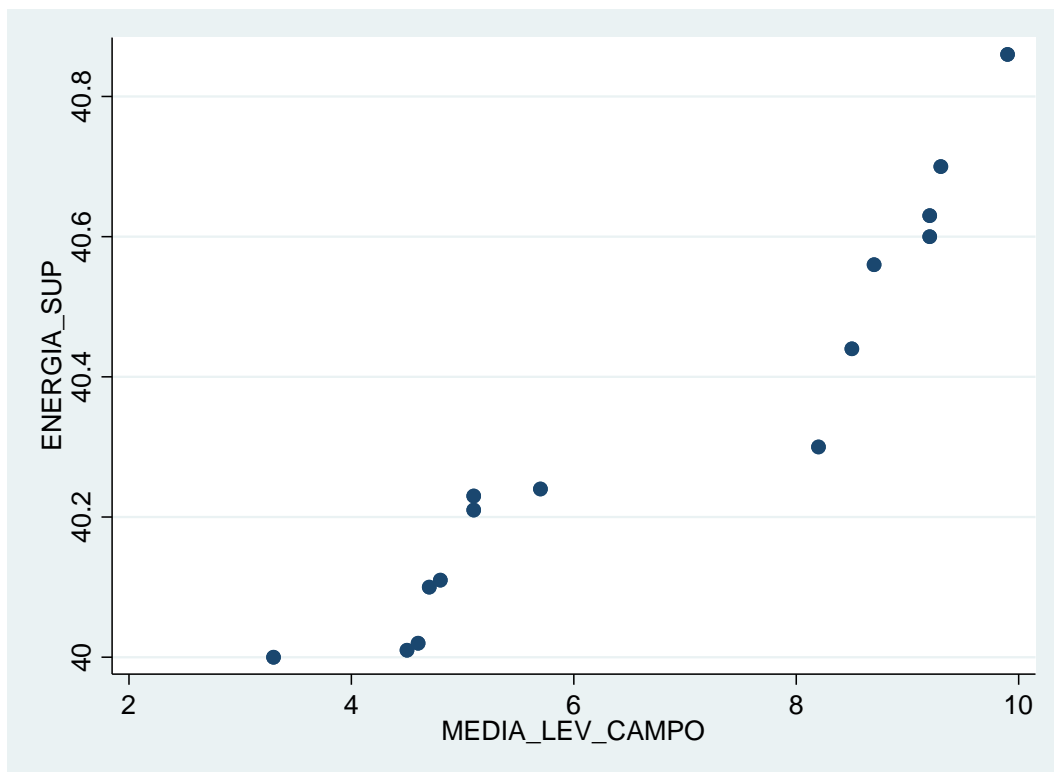


Figura 9. Correlación entre la energía superficial del polimetilmetacrilato y la adherencia de Candida Albicans en Vitacryl.

Tabla 10

Estadística de la energía superficial del polimetilmetacrilato (PMMA) entre las marcas Triplex y Vitacryl

Grupo	N°	Media	E.S.	D.S.	IC 95% DE			
					CONFIANZA	t	P	
VITACRYL	15	40.334	0.072	0.279	40.180	40.488	7.157	0.000
TRIPLEX	15	39.567	0.079	0.307	39.397	39.738		

La tabla 10 muestra la estadística de la energía superficial del polimetilmetacrilato (PMMA) entre las marcas Triplex y Vitacryl

La energía superficial del polimetilmetacrilato (PMMA) entre las marcas Triplex y Vitacryl presentan diferencias significativas, los de la resina Vitacryl presentan un promedio de 40.33 y Triplex un promedio de 39.567, una diferencia promedio significativa de 0.767.

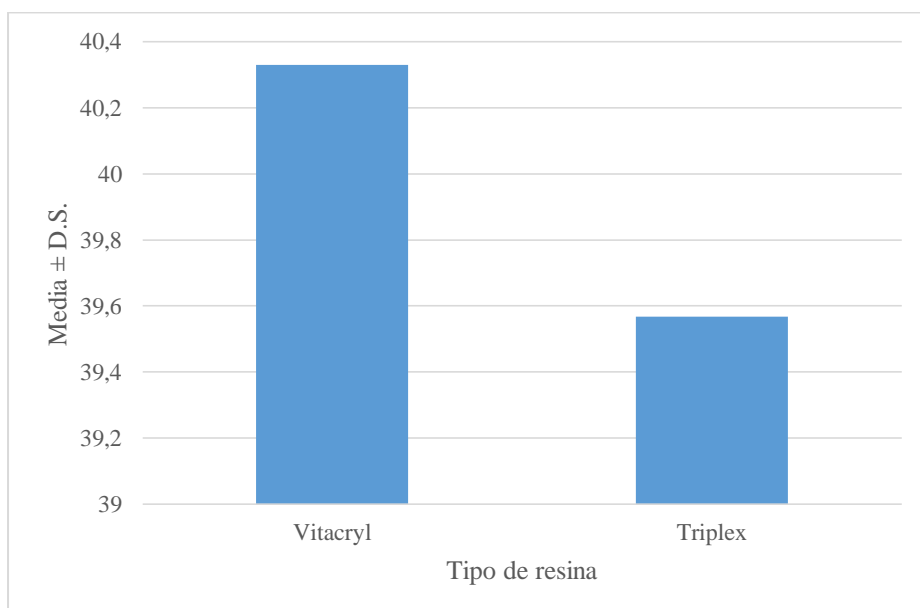


Figura 10. Comparación de la energía superficial del polimetilmetacrilato

(PMMA) entre las marcas Triplex y Vitacryl.

Tabla 11

Estadística de la adherencia de Candida Albicans al polimetilmetacrilato (PMMA) entre las marcas Triplex y Vitacryl

Grupo	N°	Media	E.S.	D.S.	IC 95% DE		
					CONFIANZA	T	P
VITACRYL	15	16.720	0.592	2.292	5.451	7.989	
TRIPLEX	15	15.653	0.288	1.117	5.035	6.272	1.620 0.116

La tabla 11 muestra la estadística de la adherencia de Candida Albicans al polimetilmetacrilato (PMMA) entre las marcas Triplex y Vitacryl

La adherencia de Candida Albicans al polimetilmetacrilato (PMMA) entre las marcas Triplex y Vitacryl presentan resultados similares, los de la resina Vitacryl presentan un promedio de 16.72 y Triplex un promedio de 15.65, una diferencia promedio de 1.06, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, $P > 0.05$.

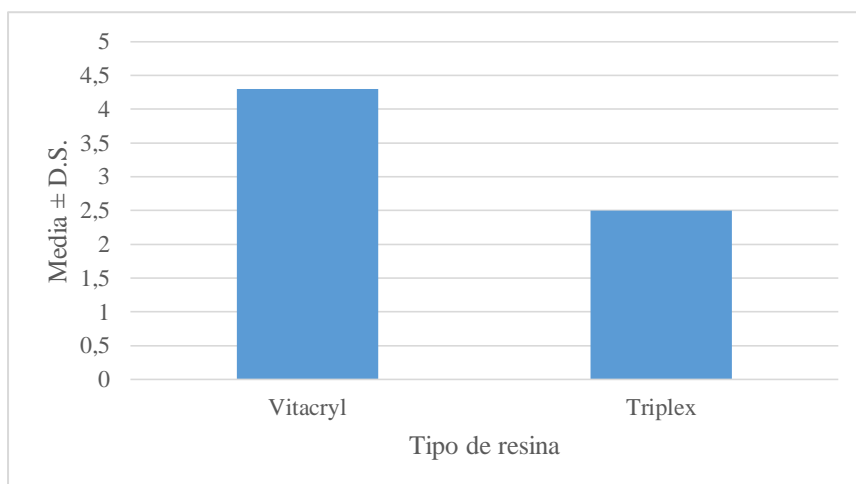


Figura 11. Comparación de la adherencia de Candida Albicans al polimetilmeta- crilato entre la marca Triplex y Vitacryl.

Tabla 12

Las correlaciones de energía superficial con adherencia de Candida Albicans

	ENERGIA SUPERFICIAL			
	TRIPLEX		VITACRYL	
	r	P	r	P
Adherencia				
Candida				
Albicans	0.956	0.0000	0.950	0.0000

La tabla 12 muestra las correlaciones entre la energía superficial con adherencia de Candida Albicans. Q de Cohen=0.068, $P > 0.05$

Las correlaciones de energía superficial con adherencia de Candida Albicans es muy alto en ambas resinas (0.956 y 0.95) Triplex y Vitacryl respectivamente, al comparar estas correlaciones no se encuentra diferencias significativas, $P > 0.05$

V. Discusión de resultados

La asociación de *Candida albicans* con la estomatitis protésica es importante pero no constituye un factor determinante de la aparición de la enfermedad. Este hecho se desprende de los estudios de determinación de microorganismos presentes en la placa asociada a la estomatitis protésica, en donde, dependiendo del grado de enfermedad encontramos más o menos frecuente la presencia de *Candida albicans*.

Budtz-Jørgensen (1973) afirmaba que las principales causas de esta enfermedad era el trauma, la infección y la alergia a los componentes de la prótesis, sin embargo trabajos clínicos como los de Ceballos demostraron que la aparición de la enfermedad estaba determinada por múltiples factores siendo uno de ellos determinante: la condición sistémica del individuo.

Si bien es cierto, el presente trabajo no se han tomado muestras de individuos con la enfermedad, los resultados y las microfotografías de los cultivos pueden servir de referencia para una futura comparación con las investigación de los autores antes mencionados.

La adhesión de *Candida albicans* a la superficie de PMMA es muy compleja por la gran cantidad de factores involucrados. Por ello, algunos de los trabajos in vitro realizados hasta ahora ofrecen resultados que, en ocasiones, son contradictorios. Así ocurre por ejemplo con respecto al papel que desempeña la saliva, aunque se acepta que juega un papel protector con respecto a estomatitis protésica (Samaranayake *et al.*, 1980)

Navazesh (1995) investigo sobre la relación existente entre la cantidad de saliva y el recuento de *Candida Albicans* en personas con Estomatitis protésica, obteniendo una que no existe relación significativa entre ambas variables. Esta investigación es resaltante ya que maneja una variable que la mayoría de investigaciones in vitro, como la presente, no

manejan; siendo esta determinante en la adhesión entre el hongo y la prótesis. Existen trabajos que encuentran mayor adhesión de *Candida albicans* en las muestras de PMMA tratadas con saliva (Edgerton *et al.*, 1993).

La diversidad de métodos empleados hace difícil la comparación de resultados incluso empleando un mismo sistema, al no existir un protocolo establecido, cada autor o grupo de trabajo emplea la cepa de *Candida albicans* que le parece más adecuada para su estudio, igual ocurre con respecto a la concentración de levaduras, tiempo y temperatura de incubación, procedimiento para eliminar levaduras no adheridas o método de tinción.

Otro problema dentro de la metodología es la elección del sistema de tinción adecuado para el recuento de levaduras por campo. Empleando un tipo de PMMA transparente autopolimerizable, se pueden obtener muestras de polímero lo suficientemente delgadas para permitir el recuento de levaduras mediante microscopio óptico de transmisión y el empleo de un colorante como violeta cristal (Minagi *et al.*, 1985; Verran *et al.*, 1987 y Okita *et al.*, 1991).

Otros autores utilizaron tinción Gram, esto se puede conseguir empleando dos cristales entre los cuales se coloca el polímero en su fase plástica, de tal forma que al presionar se obtiene un espesor fino. La superficie resultante de la muestra de PMMA con este sistema es similar a la que tendría un PMMA termopolimerizable. (Samaranayake *et al.*, 1980 y Virga *et al.*, 2001)

Si las muestras se confeccionan de distintos tipos de PMMA, debido a los diferentes métodos de polimerización de cada uno y a la adición de colorantes, no es posible prepararlas de tal forma que se pueda emplear un microscopio de transmisión, ya que la luz no puede atravesar el espesor del polímero. Por ello para visualizar las levaduras adheridas a la superficie, es necesario usar una tinción fluorescente en la que la luz llegue

por epiluminación, sin necesidad de atravesar la muestra de PMMA (Verran *et al.*, 1997; Waters *et al.*, 1997 y Maza *et al.*, 2001).

Verran *et al.* (1997) y Waters *et al.* (1997) utilizaron el colorante fluorescente naranja de acridina, empleado también por el presente estudio. Su elección ha estado condicionada por la disponibilidad y conocimiento de la técnica. Existen otros colorantes fluorescentes que se han empleado con el mismo propósito como el blanco de calcoflúor al 0,1 % o al 1% (Maza *et al.*, 2001y Sentandreu *et al.*, 1997).

Cabe recalcar que la tinción con naranja de acridina se produce por su afinidad a los ácidos nucleicos, tanto ARN como ADN, su estructura aromática plana le permite intercalarse entre dos bases (Montgomery *et al.*, 1998).

Verran *et al.* (1984) recalco que el recuento óptico se produce sobre todas las levaduras, tanto las viables y activas como las inviables por lo que esta variable no puede ser identificada en el presente estudio.

Algunos autores han utilizado de forma simultánea dos métodos para el estudio de la adherencia de *Candida albicans*, así Burns empleó la determinación de las unidades formadoras de colonias y el recuento óptico; Okita, combina dos métodos ópticos como el microscopio óptico y el electrónico; y Nikawa, emplea medición del descenso del pH y microscopio electrónico.

El cálculo de la tensión superficial de los distintos tipos de PMMA empleados, se ha efectuado de acuerdo con procedimientos estandarizados basados en la medición de la tangente del ángulo de contacto de diversos líquidos con la superficie de los distintos tipos de PMMA (Kwok *et al.*, 1998 y Kang, 2013).

Sin embargo algunos autores han realizado el mencionado calculo solo con agua destilada, en donde la posibilidad de tener algún error es mayor (Samaranayake *et al.*, 1980 y Minagi *et al.*, 1985).

La elección de los líquidos está basada en su tensión superficial, que es conocida, de tal forma que los valores comprendan un rango amplio que varía de 42,68 mJ/m² para el dimetilsulfóxido hasta 72,7 mJ/m² para el agua.

Cuanto mayor sea la diversidad de líquidos utilizados para obtener la curva de tensión superficial del sólido, más exacta será la determinación del valor de la energía de superficie de dicho sólido.

Minagi (1985) en su investigación se obtienen los valores de la energía de superficie de las diferentes muestras de PMMA empleando solamente agua destilada. Este cálculo, basado en el valor obtenido de un solo líquido, está sujeto a posibles errores, ya que las variaciones originadas por inexactitud en la medida repercuten en sensibles variaciones de los valores de tensión superficial.

En el presente estudio se analizó la relación entre energía superficial del polimetilmetacrilato y la adherencia de Candida Albicans de Triplex y Vitacryl a través del coeficiente de correlación de Pearson donde se halló que existe una alta correlación entre ambas variables ($r = 0.9559$, $P < 0.05$).

Esta alta correlación también la encontramos en el estudio de Minagi, al comparar la energía superficial de dos Candidas distintas (Albicans y Tropicalis) con su adherencia a resinas termocuradas, éste autor utilizo solo agua destilada para medir los ángulos de contacto de Young con las resinas, diferente a la aplicada en el presente estudio.

También Kang concluyo que los materiales más hidrófilos son los que tienen mayor adherencia de Candida Albicans, el estudio lo realizo en acondicionadores de tejidos,

revestimientos suaves acrílicos y de silicona y materiales de revestimiento rígidos, siendo estos dos últimos los más hidrófilos, es decir los que retuvieron mayor número de células de *Candida Albicans*.

Un hecho a destacar en el recuento óptico es la gran variación que podemos encontrar de unos campos a otros dentro de la misma muestra de PMMA. En las resinas que más adherencia de *Candida albicans* muestran, se observan disposiciones de levaduras y pseudohifa en forma arracimada que hacen muy difícil la realización de un recuento exacto. Estas variaciones están originadas por la adherencia tremendamente irregular de *Candida albicans* a la superficie, dentro de una misma muestra de PMMA podemos observar campos con el microscopio con muy pocas levaduras frente a otros con agregados en forma de racimos muy numerosos, este hecho es recogido por otros autores como Verran y Radford.

Existe también una gran discrepancia en los recuentos efectuados entre las muestras del mismo tipo de PMMA. Estas diferencias también quedan reflejadas en los trabajos de otros autores, Minagi encuentra recuentos de *Candida albicans* en los que se puede observar una media de 1749 lev/mm² y una desviación estándar de ± 559 .

Waters (1997) nos muestra un valor medio de lev/mm² de 373 con una desviación estándar de ± 102 , mientras que en el presente trabajo se muestran 150,48 con una desviación estándar de ± 21 . Tal diferencia podría ser a causa de la evolución del protocolo de pulido de prótesis, así como la implementación de nuevas herramientas que faciliten un mejor acabado final.

Sin embargo Serrano, concluyo, después de incubar 11 marcas distintas de PMMA, las variaciones en la energía superficial que resultan de las diferencias en la composición de las diferentes resinas de PMMA parecen no tener influencia sobre la adhesión de C.

albicans. Es importante resaltar que estos resultados son difícilmente comparables, ya que el método de conteo de células se ha realizado con procedimientos distintos.

Por el contrario Pineda corrobora la capacidad de adherencia de *Candida albicans* a resinas acrílicas y poliamidas; los procedimientos de elaboración y acabado final son un factor determinante en la adherencia de este microorganismo a materiales dentales. La adherencia a poliamidas fue inferior que a las resinas acrílicas, sin embargo, las áreas donde hay porosidades, rugosidades y mal pulido fue donde hubo mayor crecimiento, ya que estos sitios pueden proporcionar una mayor retención para las células.

Cabe recalcar que en el momento en el que se realizaron las vistas de la muestra control (*Candida Albicans* en placa Petri teñido de naranja de acridina) en el microscopio de fluorescencia, se observó la *Cándida Albicans* en forma de levadura, por el contrario en las muestras experimentales (*Candida Albicans* en placa de acrílico tenida con naranja de acridina) se observaron células en forma de pseudohifa. Ninguno de los antecedentes mencionados ha reportado este hallazgo.

La *Candida albicans* tiene gran capacidad de adherencia a materiales no solo a células del hospedero sino también a materiales inertes como resinas acrílicas, esto en gran parte se debe a lo que reporta la literatura sobre las características químicas y estructurales de su pared celular, coadyuvado con las características brindadas por el medio.

VI. Conclusiones

1. Existe una alta correlación ($r = 0.9559$) entre la energía superficial y la adherencia de *Candida Albicans* en Triplex, por lo que podemos concluir que la adherencia de *Candida Albicans* es directamente proporcional a la cantidad de energía superficial que tienen la resina acrílica en la marca Triplex.
2. De la misma forma, la correlación entre la energía superficial y la adherencia de *Candida Albicans* en Vitacryl es alta ($r=0.9496$), por lo que podemos concluir que la adherencia de *Candida Albicans* es directamente proporcional a la cantidad de energía superficial que tienen la resina acrílica en la marca Vitacryl.
3. La energía superficial del polimetilmetacrilato (PMMA) entre las marcas Triplex y Vitacryl presentan diferencias significativas (diferencia promedio significativa de 0.767).
4. La adherencia de *Candida Albicans* al polimetilmetacrilato (PMMA) entre las marcas Triplex y Vitacryl presentan resultados similares, tienen una diferencia promedio de 1.06, que no es estadísticamente significativa, $P > 0.05$.
5. Al comparar las correlaciones de energía superficial con adherencia de *Candida Albicans* no se encuentra diferencias significativas ($P > 0.05$). Para ambas marcas de resina es muy alta la correlación (0.956 y 0.95).

VII. Recomendaciones

Al no existir un protocolo establecido del proceso de elaboración de muestras, incubación, coloración y recuento de colonias, las recomendaciones están realizadas en base a la metodología de experimentación.

Si bien es cierto, las medidas para la elaboración de muestras de PMMA están en función a las dimensiones de un tubo de ensayo convencional y la elaboración de las mismas en función a las especificaciones del fabricante, no existe un patrón para el pulido. Los pulidos de prótesis totales o parciales convencionales, se realizan de distinta forma para la cara externa e interna, ya que la parte interna debe ser la que más adaptada se encuentre a la mucosa del paladar, éste criterio de pulido se sugiere que sea respetado para estudios en muestras de resina acrílica en posteriores estudios in vitro.

En el procedimiento de incubación, cuando las muestras de resinas acrílicas estén sumergidas en el medio, estas deberían estar suspendidas a través de algún dispositivo, ya que si se las deja sumergirse del todo en el caldo, la placa se hundirá hasta el fondo del recipiente lo que hará que solo una cara de la muestra tenga mayor contacto con el caldo de cultivo, mientras que la otra cara estará en contacto directo con el recipiente.

Otra recomendación del proceso de incubación es que para que el cultivo tenga las células suspendidas todo el tiempo de incubación, se debe utilizar un *shaker* que le dé movimiento suficiente para que las células estén suspendidas y pueda estar en contacto uniforme con la muestra de resina acrílica.

Con respecto a la coloración, la ubicación y utilización de naranja de acridina líquida fue una de las mayores dificultades que se encontraron al ejecutar la presente investigación,

siendo ésta no imprescindible para la coloración de colonias de *Candida Albicans*, por lo que se recomienda poder utilizar otro tipo de colorante.

Además, la naranja de acridina nos tiñe las células viables y no viables, por lo que en posteriores investigaciones se podrían utilizar métodos anexos al ya descrito, como el conteo de células a través de la máquina de centelleo.

VIII. Referencias

- Bagán, J.V., Ceballos, A., Bermejo, A., Aguirre, J.M. y Peñarrocha, M. (1995). *Medicina Oral*. Barcelona, España: Masson SA.
- Balerdi, I., Aguirre, J.M., Zamacona, J.M., Ajuria, B., Pontón, J. y Quindós, G. (1994). Analyse clinique et microbiologique de la stomatite par prothese. *Actualités Odontostomatologiques*, 74(9), 173-83.
- Bascones, A. y Llanes, F. (1996). *Medicina Bucal*. Madrid, España: Ed. Avances Medicodentales.
- Bergendal, J.G. (1982). Status and treatment of denture stomatitis patients: a 1-year follow-up. *Scand. J Dent Res*, 90(5), 227-38.
- Bermejo Fenoll, A. (1998). *Medicina Bucal*. Madrid, España: Ed. Síntesis S.A.
- Bongrand, P., Capo, C. y Depieds, R. (1982). Physics of cell adhesion. *Prog Surf Membr. Sci*, 65(9), 127-30.
- Budtz-Jorgensen, E. (1974). The significance of *Candida Albicans* in dentures stomatitis. *Scand. J. Dent. Res*, 9(8), 151-190.
- Caycik, S. y Jagger, R.G. (1992). The effect of cross-linking chain length on mechanical properties of a dough-molded poly(methylmethacrylate) resin. *Dent Mater*, 8(5), 153-57.
- Ceballos, A., Urquia M. y Jiménez, M. (1991). Estudio sobre la posible influencia de la diabetes. *Av odontostomatologia*, 6(7), 151-54.
- Chimenos, E., López, J., Blanco, A. y Gándara, J.M. (2000). Infecciones micóticas en odontostomatología. *Arch Odontostomatol*, 16(9), 497-507.

- Dahlgren, C., Elwing, H. y Magnusson, K. E. (1986). Comparison of contact angles calculated from the diameter of sessile drops and submerged air bubbles in contact with a solid surface. *Colloids Surf*, 32(4), 354-58.
- Dankert, J., Hogt, A. H. y Feijen, J. (1986). Biomedical polymers: bacterial adhesion, colonization and infection. *Rev. Biocompat*, 100(2), 121-31
- Del Pilar, C. y Bernal, L. (2010). Estado de conservación de las prótesis y la presencia de lesiones en mucosas en pacientes portadores de prótesis parcial removible. *Revista Kiru*, 7(5), 9-12.
- Edgerton M., Levine M.J. (1992) Characterization of acquired denture pellicle from healthy and stomatitis patients. *J Prosthet Dent*, 9(2)683-91.
- Gade, J., Pawar, V. y Nikita, S. (2015). Review on Denture Stomatitis: Classification, clinical features and treatment. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 16(7), 114-22.
- García-Rodríguez, J.A. y Picazo, J.J. (1986). *Microbiología Médica General*. Madrid, España: Ed. Mosby Doyma.
- Gingell, D., y Vince, S. (1980). Long-range forces and adhesion: an analysis of cell-substratum studies. In *Cell Adhesion and Motility*. Cambridge University Press, 54(7), 1-38.
- Graig, R.G. (1998). *Materiales de odontología restauradora*. México D.F., México: Harcourt Brace.
- Jawetz, A., Melnick, B. y Adelberg C. (2010). *Microbiología médica*. New York, US: Mac Graw Hill.
- Kang, S.H., Lee, H.J., Hong, S.H., Kim, K.H. y Kwon, T.Y. (2013). Influence of surface characteristics on the adhesion of *Candida albicans* to various denture lining materials. *Acta Odontol Scand*, 34(76), 241-248.

- Kennedy, M.J., Rogers, A.L., Hanselmen, L.R., Soll, D.R. y Yancey, R.J. (1988). Variation in adhesion and cell surface hydrophobicity in *Candida albicans* white and opaque phenotypes. *Mycopathologia*, 102(23), 149-156.
- Kulak, Y. y Kazazogl, U. (1997). Existence of *Candida albicans* and microorganisms in denture stomatitis patients. *Journal of Oral Rehabilitation*, 23(12), 788-90.
- Kwok D.Y., Gietzelt T., Grundke K., Jacobasch H.J., Neumann A.W. (1997). Contact Angle Measurements and Contact Angle Interpretation. 1. Contact Angle Measurements by Axisymmetric Drop Shape Analysis and a Goniometer Sessile Drop Technique. *Langmuir*, 13(2): 239-43.
- Liébana, U. (1995). *Microbiología Oral*. Características generales de los hongos. Madrid, España: Mc Graw Hill Interamericana de España.
- Maza J.L., Fernández M.P., Elguezabal N., Pontón J. (2001). Influencia de la temperatura sobre el grado de adhesión de *Candida Albicans* a resinas restauradoras dentales. *Rev Vasca Odonto Estomatol*, 11(2): 24-28.
- Montgomery, Conway, Spector. (1994). *Bioquímica. Casos y texto*. México: Ed. Harcourt Brace.
- McCourtie, J., MacFarlane, T.W. y Samaranayake, L.P. (1986). Effect of saliva and serum on the adherence of *Candida* species to chlorexidine-treated denture acrylic. *Med Microbioloy*, 32(13): 1234-1241.
- Minagi, S., Miyake Y., Inagaki K. y Tsuru H. (1985). Hydrophobic Interaction in *Candida albicans* and *Candida tropicalis* adherence to various denture base resin materials. *Infect Immun*, 65(23), 11-14.

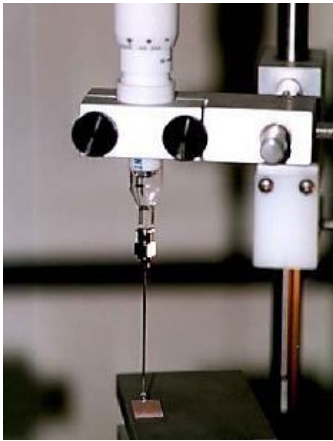
- Nikawa H., Jin C., Hamada T., Makihira S., Polyzois G. (2001). Candida albicans growth on thermal cycled materials for maxillofacial prostheses in vitro. *J Oral Rehabil*, 28(17): 755-65.
- Navazesh, W. G. (1995). Relationship between salivary flow rates and Candida albicans counts. *Oral Medicine*, 54(21), 284-288.
- Okita N., Orstavik D. (1991). In vivo and in vitro studies on soft denture materials: microbial adhesion and tests for antibacterial activity. *Dent Mat*, 7(3): 155-60.
- Pethica, B.A. (1983). *Microbial and cell adhesion. In Microbial Adhesion to Surfaces.* Carolina del Norte, EEUU: Ellis Horwood Ltd.
- Phoenix, R. D. (1996). Materiales para base de dentaduras. *Clinica Odontologica Latinoamericana*, 10(2), 162-73.
- Pineda, S.E. y Mosquera, J. (2017). Adherencia de Candida albicans a resinas acrílicas y poliamidas. Estudio in vitro. *Revista Biosalud*, 16(1), 43-50.
- Pires, F. R., Santos, B. D., Bonan, P. F., De Almeida, O.P. y Lopes, M. A. (2002). Denture stomatitis and salivary Candida in Brazilian edentulous patients. *Jour of Oral Rehab.* 13(9), 12-17.
- Samaranayake, L.P. (1986). Nutritional factors and oral candidosis. *J Oral Pathol*, 15(9), 61-65.
- Sánchez-Vargas, L.O., Pérez-Ríos P., Romo-García J. y Corona-Izquierdo F.P. (2002). Determinación de pH salival y cultivo. *Rev Iberoam Micol*, 19(5),155-160.
- Scully, C. (2008). *Oral and maxillofacial medicine: the basis of diagnosis and treatment.* Edinburgo, Escocia: Churchill Livingstone.

- Sentandreu M., Nieto A., Iborra A., Elorza M.V., Pontón J., Fonzi W.A. (1997). Cloning and Characterization of CSP37, a Novel Gene Encoding a Putative Membrane Protein of *Candida albicans*. *J Bacteriol*, 179(23): 4654-63.
- Serrano, C. (2002). Estudio in vitro de la Adherencia de la *Candida Albicans* a las resinas acrílicas (tesis de postgrado). Universidad Complutense de Madrid, España.
- Skinner, E.W. y Phillips, R.W. (1970). *La ciencia de los materiales dentales*. México D.F., México: Monai.
- Tojo, M., Shibata, N., Mikami, T., Suzuki, M. y Suzuki, S. (1987). Participation of peptide moieties in adhesive behavior of antigenic mannans of *Candida albicans* to the plastic microtiter plate in enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Chem*. 33(23): 1925-28.
- Vega del Barrio, J.M. (1996). *Materiales en Odontología. Fundamentos biológicos, clínicos, biofísicos y físico-químicos*. Barcelona, España: Avances.
- Verran J, Grant A.A. (1984). Studies on the adherence of *Candida albicans* to opaque denture materials. *J Dent Res*, 6(3): 223-69.
- Virga C., Cornejo L.S., Calamari S.E., Bojanich A., Landa C., Beltramo D. (2001). Efecto de polímeros en la agregación y adherencia sobre hidroxiapatita de cepas autóctonas de *St. Mutans* y *C Albicans*. *Rev Vasca Odonto Estomatol*, 11(2): 30-9.
- Zamacona, J.M., Aguirre, J.M., Kutz, R. y Echebarria, R.A. (1990). Estomatitis protética. Aspectos clínico-patológicos y etiopatológicos. *Rev Act Odonto-Est*, 33(22): 921-28.

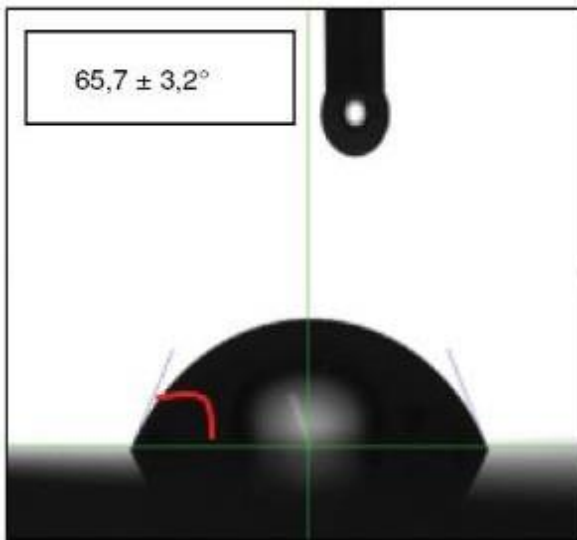
IX. ANEXOS



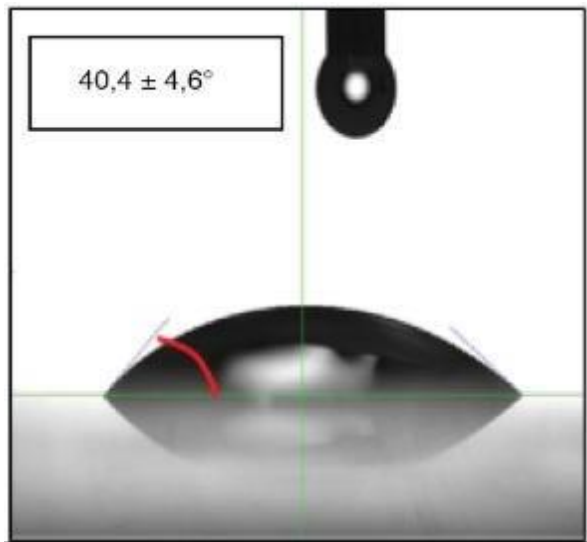
Anexo 1. Goniómetro de contacto



Anexo 2. Micropipeta instalada en el goniómetro de contacto



Anexo 3. Angulo de contacto entre el glicerol y una muestra de Vitacryl



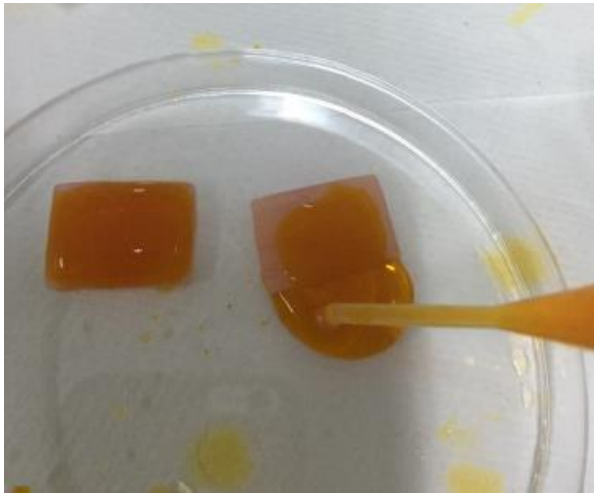
Anexo 4. Angulo de contacto entre el formamida y una muestra de Triplex



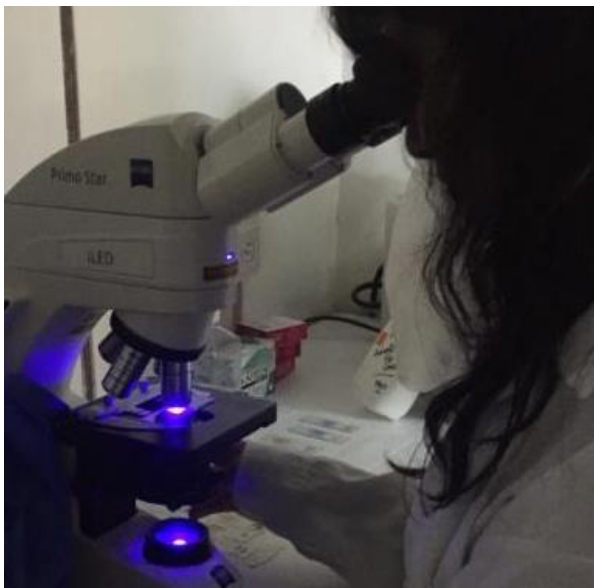
Anexo 5. Cultivo de *Candida Albicans* en Caldo Sabouraud y comparado con la Escala de MacFarland 05



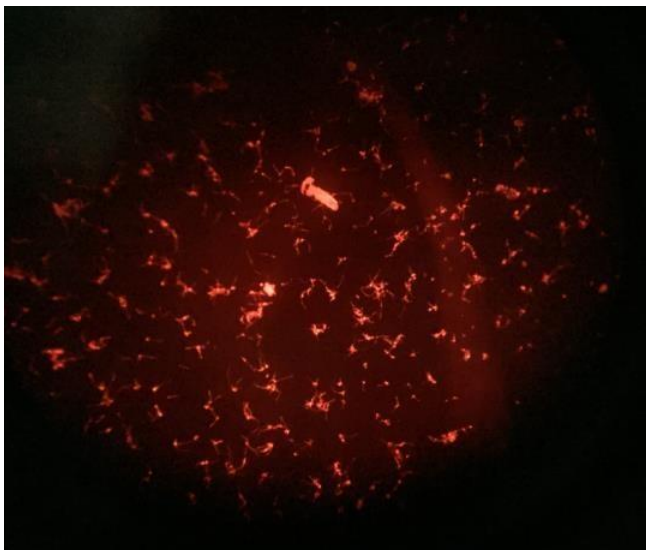
Anexo 6. Cultivo de *Candida Albicans* en Agar Sabouraud. Se muestran levaduras en crecimiento



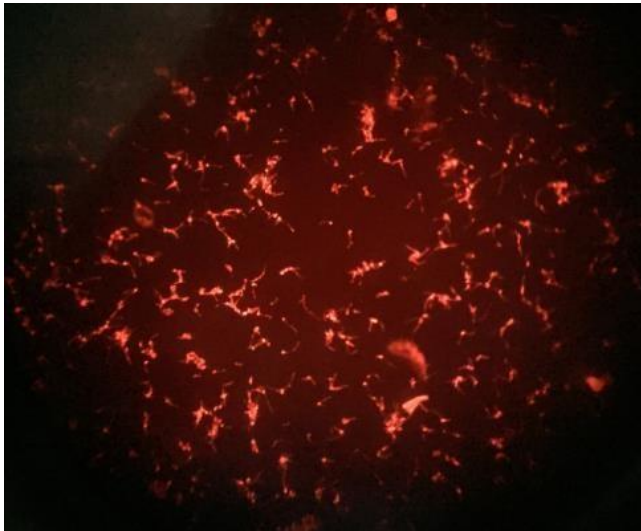
Anexo 7. Coloración de muestras con naranja de acridina al 0,003%



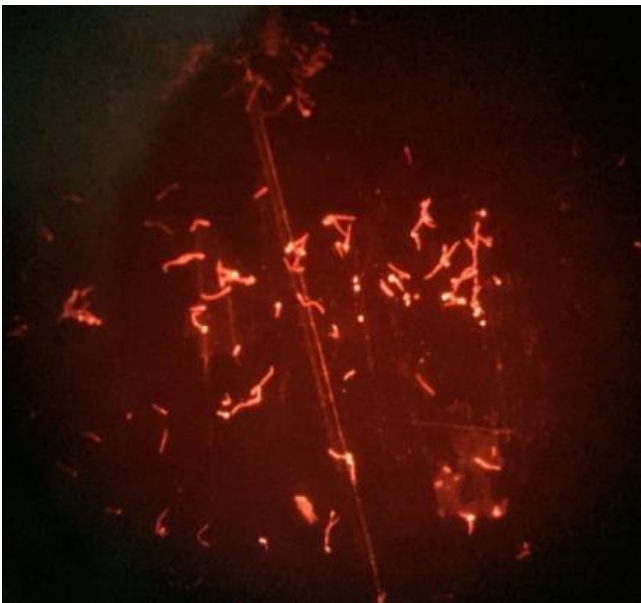
Anexo 8. Microscopio de fluorescencia.



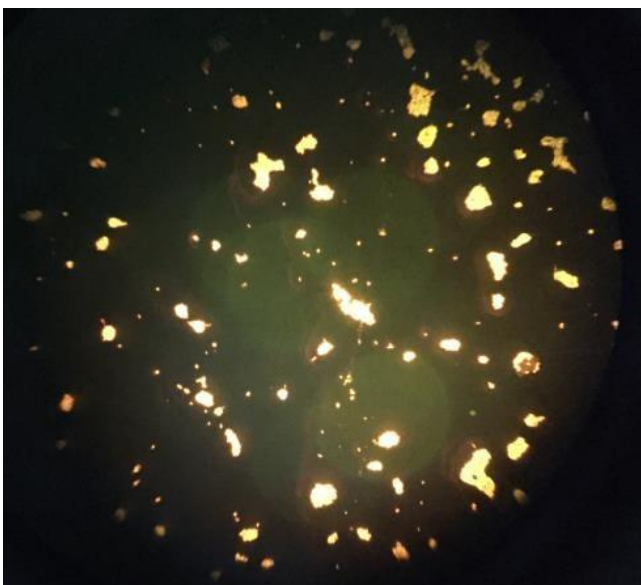
Anexo 9. Células de Candida Albicans en la muestra de Vitacryl, coloreadas con naranja de acridina al 0,003%, vistas con microscopio de fluorescencia (10x).



Anexo 10. Células de Candida Albicans en la muestra de Triplex, coloreadas con naranja de acridina al 0,003%, vistas con microscopio de fluorescencia (10x).



Anexo 11. Células de Candida Albicans en forma de pseudohifa, tomada de una muestra de acrílico. Vista con microscopio de fluorescencia (40x)



Anexo 12. Células de Candida Albicans en forma de levadura, tomado del cultivo en el caldo de sabouraud y puesto en un portaplaca.